

Tesis de Doctorado en Ciencia y Tecnología de los Materiales

**Tecnologías simples y baratas de oxidación
avanzada para el tratamiento de efluentes
acuosos coloreados**

Juliana Belen Rial

Directora: María Luján Ferreira

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctora en Ciencia y Tecnología de los Materiales, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Planta Piloto de Ingeniería Química, dependiente del Departamento de Ingeniería Química y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, y el Departamento de Química durante el período comprendido entre el 19 de agosto de 2019 y el 25 de noviembre de 2024, bajo la dirección de la Dra. María Luján Ferreira.

Lic. Juliana Belen Rial



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Subsecretaría de Posgrado

La presente tesis ha sido aprobada el
mereciendo la calificación de

La revolución científica no ha sido una revolución del conocimiento.

Ha sido, sobre todo, una revolución de la ignorancia.

El gran descubrimiento que puso en marcha la revolución científica fue el descubrimiento de que los humanos no saben todas las respuestas a sus preguntas más importantes.

De animales a dioses.

Yuval Noah Harari

AGRADECIMIENTOS

"Si he logrado ver más lejos, ha sido porque me he subido a hombros de gigantes."

Isaac Newton.

El camino recorrido en la realización de esta tesis supuso un enorme crecimiento tanto a nivel académico como personal. La concreción de este trabajo solo fue posible por las bases de conocimiento que se han construido previamente en torno a la temática, la guía con gran compromiso y dedicación de mi directora y la compañía de quienes han hecho de estos últimos años una experiencia transformadora para mí. Hago extensos mis agradecimientos.

A Luján por haberme dado la oportunidad de trabajar a su lado, lo cual ha sido realmente un honor. Por la pasión, entusiasmo y optimismo puesto en cada paso. Por la confianza, la paciencia y la calidad humana en el liderazgo.

A la Planta Piloto de Ingeniería Química, a la Universidad Nacional del Sur y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por brindar el marco institucional y el soporte financiero para el desarrollo de este trabajo.

A la Facultad de Ciencias del Ambiente y la Salud, Universidad Nacional del Comahue, por ser mi primera casa de estudios y por sentar las bases para mis siguientes pasos.

A Daniel Sánchez, por ser soporte, responder incansablemente a mis dudas y haber colaborado con conocimiento, labor y risas en la síntesis y aplicación del adsorbente.

A todo el grupo de Catálisis, Luján, Gabriela, Daniel, Paula, Nacho, Jaime, Miguel, Ricardo y Antonio, por hacerme sentir parte, por la generosidad y acompañamiento en mis primeros pasos en los laboratorios de Catálisis y en los encuentros mediados por charlas, café, mate y facturas.

A mis compañeros y amigos de La Pecera con quienes compartimos cotidianeidad, admiro y aprendo de sus cualidades: Paula, tu humor y responsabilidad, gracias por ser fuerte soporte emocional; Victoria, tu sensibilidad y escucha; Marcos, tu espontaneidad y alegría; Julieta, tu convicción y dulzura; Jasmín, tu fortaleza, humildad y ternura; Ricardo, tu compromiso y empatía. Y a quienes llegaron en mi último tramo, Antonio, Cynthia, Miguel y Laura, por hacer gratos todos los días compartidos. Sin las charlas,

las risas y los mates, esta experiencia no tendría el mismo valor. Me atrevo a decir, sin lugar a duda, que no podría haberme tocado un grupo humano más cálido, respetuoso y divertido. También, a quienes estuvieron en mis inicios en la oficina, Nazareth, Daniel, Melany, Eduardo, Mariana y Yanina, hicieron amena mi llegada y nos dejaron el legado de los viernes de torta.

A Marta y Nelson, por ser soporte durante mi formación de grado, alentarme y abrirme las puertas de su casa como a alguien más de la familia.

A mis amigas, Micaela y Yamila, por su presencia aún en la distancia, desde mis queridos Cipolletti y Neuquén. Por ser espacio seguro, por compartir los pesares y hacerlos más livianos, por compartir las alegrías y multiplicarlas, por hacer de sus familias, mi familia.

A Marce, mi compañero incondicional, por la familia que construimos juntos todos los días, por los detalles, la confianza y el amor, por tener nuestros corazones latiendo en otro cuerpo, nuestro Santi. A mi Santito, quien llegó a transformar mi vida, por darle sentido a todo. A Marta, Oscar, Daniel, Gisele y Arat, mi familia adquirida, por la compañía y el amor a la distancia.

Y el agradecimiento más importante, a mis padres, Liliana y Lorenzo, y a mis hermanos, Oscar y Cristian, por ser mis pilares, mi refugio, mi ejemplo y el lugar donde siempre volver. A ellos debo todo mi ser.

RESUMEN

La presente tesis aborda la síntesis de un catalizador y un adsorbente y su aplicación en eliminación de colorantes fenólicos en dos etapas, una de oxidación avanzada y luego otra de adsorción. Hematin y diferentes óxidos de hierro nanoparticulados (magnetita y ferritas) han sido estudiados por el grupo de Catálisis como miméticos de enzima peroxidasa y catalasa. Asimismo, se ha explorado la inmovilización de hematin sobre óxidos de hierro y quitosano, evaluando sus capacidades catalíticas y adsorbentes. En función de los logros alcanzados y las dificultades reportadas, este trabajo combinó la acción de hematin y de magnetita nanoparticulada. Se soportó el biomimético sobre esferas magnéticas de quitosano obteniendo un material estable en el medio de reacción. Se optimizó el procedimiento de síntesis, y se aplicó en remoción de colorantes (azoico y antraquinónico) en soluciones individuales y mezcla. Se logró, a través de la síntesis por coprecipitación, una distribución uniforme de las nanopartículas de magnetita en el sólido y se optimizó la inmovilización de hematin. Se obtuvo un catalizador eficaz y eficiente en términos de la remoción de colorantes en sistemas modelo, por unidad de agente oxidante (H_2O_2) consumido y masa de material activo en reacción. Se evaluó la actividad del catalizador utilizando un efluente sintético tipo textil, obteniendo resultados aceptables de eliminación de los colorantes, incluso al reutilizarse. Adicionalmente, se sintetizó un adsorbente esférico compuesto por quitosano y biomasa derivada del fruto de *Araujia sericifera*. El sólido presentó capacidades de adsorción disímiles al comparar la remoción del colorante antraquinónico respecto al azoico. Estos resultados se correlacionaron con un estudio sobre las formas de adsorción de los colorantes sobre el quitosano a través de modelado computacional simple y con el ajuste de los resultados experimentales a los modelos Langmuir y Freundlich. Finalmente se aplicó un proceso en dos etapas, oxidación avanzada seguida de adsorción, a soluciones con mezcla de colorantes en sistema modelo y en efluente sintético. La etapa de oxidación presentó reducciones considerables de demanda química de oxígeno, carbono orgánico total y conductividad, mientras que se encontró un aumento de algunos parámetros en la etapa de adsorción. Si bien es necesario optimizar la estabilidad del sólido adsorbente, presenta potencial considerando que la incorporación de la biomasa no fue en detrimento de la capacidad de adsorción del quitosano.

ABSTRACT

This thesis addresses the synthesis of a catalyst and an adsorbent and their application in removing phenolic dyes through a two-stage process: advanced oxidation and adsorption. Hematin and several nanoparticulate iron oxides (magnetite and ferrites) have been studied by the Catalysis group as mimetics of peroxidase and catalase enzymes. Additionally, hematin immobilization on iron oxides and chitosan has been explored, and their catalytic and adsorptive capacities have been evaluated. In view of the achievements attained and challenges reported, this study combined the actions of hematin and nanoparticulate magnetite. Hematin was supported on magnetic chitosan beads to produce a stable material in the reaction medium. The synthesis procedure for this solid was optimized and applied to remove azo and anthraquinonic dyes from individual and mixed solutions. Through coprecipitation synthesis, a uniform distribution of magnetite nanoparticles in the solid was achieved, and hematin immobilization was optimized, resulting in an efficient solid for dye removal in terms of oxidizing agent (H_2O_2) consumption and the active material mass used in the reaction. The catalytic activity was assessed employing a synthetic effluent, demonstrating satisfactory dye removal efficiency even after multiple reuse cycles. In addition, a spherical adsorbent composed of chitosan and biomass derived from the fruit of *Araujia sericifera* was synthesized. The solid exhibited different adsorption capacities when compared to anthraquinonic and azo dye removal. These results were correlated with a study about the adsorption mechanisms of the dyes on chitosan using simple computational modeling and fitting experimental results to Langmuir and Freundlich models. Finally, the system was applied in a two-stage process: advanced oxidation followed by adsorption, using dye mixtures in a model system and synthetic effluent. The oxidation stage resulted in significant reductions in chemical oxygen demand, total organic carbon, and conductivity, while increases in some parameters were observed after the adsorption stage. Although the stability of the adsorbent solid still requires optimization, it shows potential, as the incorporation of biomass did not diminish the adsorption capacity of chitosan.

ÍNDICE

Capítulo I.....	17
1.1. Industria textil y los procesos de teñido.....	17
1.2. Colorantes.....	20
1.3. Efluentes textiles e implicancias ambientales.....	22
1.4. Tratamientos convencionales para efluentes textiles.....	23
1.5. Procesos de Oxidación Avanzada para el tratamiento de efluentes textiles.....	26
1.5.1. Procesos Fenton y tipo Fenton.....	27
1.5.2. Procesos Fenton y tipo Fenton heterogéneos.....	30
1.6. Catalizadores enzimáticos	32
1.7. Catalizadores biomiméticos: metaloporfirinas.....	33
1.7.1. Hematin.....	37
1.8. Nanozimas basadas en óxidos de hierro (IONzimas)	38
1.9. Soportes para inmovilización.....	43
1.10. Sistemas de tratamiento terciario con procesos secuenciales	45
1.11. Consideraciones generales	46
1.12. Objetivos	48
1.12.1. Objetivos generales.....	48
1.12.2. Objetivos específicos y distribución de la tesis	48
1.12. Referencias.....	52
Publicaciones asociadas.....	70
Capítulo II.....	71
2.1. Introducción	71
2.2. Métodos experimentales.....	71
2.2.1. Reactivos.....	71
2.2.2. Preparación de solución buffer Tris-HCl.....	71
2.2.3. Titulación por permanganometría.....	72

2.3. Técnicas de caracterización.....	75
2.3.1. Espectroscopía ultravioleta - visible (UV-Vis).....	75
2.3.2. Espectrometría de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES).....	78
2.3.3. Espectroscopía de reflectancia difusa en el infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR-DRIFTS)	79
2.3.4. Microscopía electrónica de barrido – Espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (SEM-EDX).....	80
2.3.5. Microscopía electrónica de Transmisión (TEM)	82
2.3.6. Difracción de Rayos X (DRX).....	83
2.3.7. Parámetros de calidad de agua.....	85
2.3.8. Punto de carga cero.....	87
2.4. Referencias.....	88
PARTE 1. ESTUDIO PRELIMINAR.....	89
Capítulo III.....	90
3.1. Introducción	90
3.1.1. Hematin.....	90
3.1.2. Colorantes	91
3.1.3. Objetivos.....	94
3.2. Materiales y métodos	95
3.2.1. Reactivos.....	95
3.2.2. Mediciones de espectros UV-Vis	95
3.3. Resultados	95
3.3.1. Hematin.....	95
3.3.2. Rojo de Alizarina S.....	100
3.3.3. Naranja II.....	105
3.4. Conclusiones	108
3.5. Referencias.....	110

Capítulo IV	117
4.1. Introducción	117
4.2. Materiales y métodos	121
4.2.1. Reactivos.....	121
4.2.2. Síntesis de esferas puras de quitosano	122
4.2.3. Síntesis de esferas de QUIT-MAG entrecruzadas como soporte de HEM.....	123
4.2.4. Caracterización preliminar de HEM soportado mediante reacción con RAS y H ₂ O ₂	127
4.3. Resultados y discusión	128
4.3.1. Síntesis de esferas de QUIT puro	128
4.3.2. Síntesis de esferas magnéticas de QUIT.....	133
4.3.3. Inmovilización de HEM sobre esferas de QUIT-MAG.....	144
4.3.4. Caracterización preliminar de HEM soportado mediante reacción con RAS y H ₂ O ₂	147
4.4. Conclusiones	149
4.5. Referencias.....	151
Capítulo V	161
5.1. Introducción	161
5.2. Materiales y métodos	164
5.2.1. Reactivos.....	164
5.2.2. Selección y creación del diseño experimental	164
5.2.3. Síntesis del soporte (QUIT-MAG-TPP)	166
5.2.4. Tratamiento con agente acoplante	166
5.2.5. Inmovilización de HEM.....	167
5.2.6. Descomposición de peróxido de hidrógeno.....	168
5.2.7. Caracterización	169
5.3. Resultados y discusión	169

5.3.1. Síntesis del catalizador: incorporación de APTS e inmovilización de HEM.....	169
5.3.2. Efecto del APTS sobre la inmovilización de HEM	171
5.3.3. Descomposición de peróxido de hidrógeno.....	176
5.3.4. Optimización de las respuestas	185
5.3.5. Caracterización.....	187
5.4. Conclusiones	191
5.5. Referencias.....	192
Publicaciones asociadas.....	195
PARTE 2. Aplicación del catalizador y del adsorbente.....	196
Etapa I del tratamiento. Proceso de Oxidación Avanzada.....	197
Capítulo VI.....	198
6.1. Introducción	198
6.2. Materiales y métodos	200
6.2.1. Reactivos.....	200
6.2.2. Reacciones de decoloración.....	200
6.2.3. Estudio de blancos de reacción sin catalizador.....	201
6.2.4. Síntesis del catalizador.....	201
6.2.5. Aplicación del catalizador en decoloración de soluciones modelo de RAS.....	201
6.2.6. Aplicación del catalizador en decoloración de soluciones modelo de NII.....	204
6.2.7. Punto de carga cero (PZC) del catalizador	205
6.3. Resultados	206
6.3.1. Análisis de blancos sin catalizador	206
6.3.2. Condiciones de reacción para la decoloración de soluciones modelo de colorantes.....	210
6.3.3. Síntesis del catalizador.....	213

6.3.4. Punto de carga cero (PZC) del catalizador	213
6.3.5. Aplicación del catalizador en la decoloración de soluciones modelo de RAS.....	214
6.3.6. Aplicación del catalizador en la decoloración de soluciones modelo de NII.....	227
6.3.7. Análisis comparativos con sistemas reportados en literatura	231
6.4. Mecanismo catalítico del catalizador	233
6.5. Conclusiones	240
6.6. Referencias.....	242
Capítulo VII	252
7.1. Introducción	252
7.2. Materiales y métodos	253
7.2.1. Reactivos.....	253
7.2.2. Composición de la matriz de efluente simulado.....	254
7.2.3. Caracterización de soluciones mezcla de colorantes en matriz de efluente simulado.....	257
7.2.4. Diseño experimental Box Behnken	257
7.2.5. Efectos del pH, temperatura y agitación.....	261
7.2.6. Reúso	262
7.3. Resultados	263
7.3.1. Soluciones mezcla de colorantes	263
7.3.2. Decoloración de soluciones RAS:NII en matriz de efluente simulado	270
7.3.3. Optimización de la decoloración de RAS/NII en matriz de efluente simulado.....	296
7.3.4. Análisis de los espectros de absorción UV-Vis	298
7.3.5. Efectos del pH, temperatura y agitación.....	301
7.3.6. Reúso	304
7.4. Discusión sobre mecanismos de reacción en el sistema multicatalítico	306

7.5. Conclusiones	311
7.6. Referencias.....	313
Etapa II del tratamiento. Adsorción.....	318
Capítulo VIII.....	319
8.1. Introducción	319
8.2. Materiales y métodos	322
8.2.1. Reactivos.....	322
8.2.2. Obtención de la biomasa derivada de <i>Araujia sericifera</i> Brot.....	322
8.2.3. Acondicionamiento de la biomasa.....	323
8.2.4. Tratamiento químico de la biomasa.....	323
8.2.5. Tratamiento de biomasa con APTS	324
8.2.6. Incorporación de biomasa en esferas de QUIT.....	325
8.2.7. Evaluación del efecto del entrecruzamiento de las esferas de QUIT puro.....	326
8.2.8. Efecto de la variación del contenido de biomasa en esferas de QUIT	327
8.2.9. Efecto de la concentración de adsorbente y de los colorantes en la adsorción de RAS y NII sobre esferas de quitosano y biomasa.....	327
8.2.10. Estudio computacional simple de la adsorción de NII y RAS sobre QUIT.....	329
8.3. Resultados	332
8.3.1. Biomasa derivada de <i>Araujia sericifera</i>	332
8.3.2. Acondicionamiento de la biomasa.....	332
8.3.3. Tratamiento químico de la biomasa.....	334
8.3.4. Tratamiento de biomasa con APTS	337
8.3.5. Incorporación de biomasa en esferas de QUIT.....	338
8.3.6. Efecto del entrecruzamiento en esferas puras de QUIT	341

8.3.7. Efecto de la variación del contenido de biomasa en esferas de quitosano.....	343
8.3.8. Efecto de la concentración de adsorbente y de los colorantes en la adsorción de RAS y NII sobre esferas de quitosano y biomasa	345
8.3.9. Estudio computacional simple sobre adsorción de NII y RAS sobre QUIT...354	
8.4. Conclusiones	362
8.5. Referencias.....	364
Publicaciones asociadas.....	370
PARTE 3. Tratamiento en etapas.....	371
Capítulo IX.....	372
9.1. Introducción	372
9.2. Materiales y métodos	374
9.2.1. Reactivos.....	374
9.2.2. Decoloración de soluciones RAS/NII en sistema modelo y en matriz de efluente simulado.....	374
9.2.3. Caracterización	376
9.3. Resultados	377
9.4. Análisis integrado considerando trabajos previos.....	384
9.5. Conclusiones	398
9.6. Referencias.....	399
Publicaciones asociadas.....	401
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS.....	402
Capítulo X	403
10.1. Conclusiones	403
10.2. Perspectivas futuras.....	406

Capítulo I

Introducción

1.1. Industria textil y los procesos de teñido

El agua es una de las matrices ambientales más importantes, cuya disponibilidad tanto en cantidad como en calidad, es un factor clave para los ecosistemas y la salud de la población. Las actividades antrópicas, particularmente las industriales, están asociadas a un enorme consumo de este recurso.

La industria textil utiliza un gran número de sustancias químicas en sus procesos, y se estima que se consumen aproximadamente 200 L de agua por kg de producto manufacturado, generando importantes volúmenes de efluentes de diversa y compleja composición [1]. El proceso de elaboración de productos textiles consiste en una serie de operaciones unitarias que tienen como objetivo acondicionar la materia prima como algodón, lana, fibras sintéticas, o mezcla de los mismos, hasta obtener el producto terminado. El consumo del recurso hídrico varía de acuerdo al tipo de fibras del material de partida y a los procesos realizados [2].

Las aguas residuales textiles representan alrededor del 65% del total de efluentes a nivel mundial. Adquieren gran importancia debido a su alto contenido de compuestos orgánicos sintéticos como colorantes, surfactantes y moléculas persistentes, como las sales metálicas [3]. Entre el 15 y el 20% de la masa total de colorantes aplicados se pierde en los procesos de teñido, descargando aproximadamente 1.000.000 de kg de colorantes por año en los efluentes [4]. La composición de los efluentes textiles varía desde una fábrica a otra en función de los procesos, el equipamiento usado, los químicos empleados, e incluso las tendencias en los productos textiles demandados. Sin embargo, en términos generales son fuertemente coloreados, con valores elevados de demanda química de oxígeno (DQO) y de demanda biológica de oxígeno (DBO), pH entre neutro y alcalino, y temperaturas entre 35 y 45 °C [5].

En una industria textil típica, los tejidos son elaborados a partir de fibras, las cuales son expuestas a una serie de procedimientos en húmedo hasta obtener el producto final [6], [7] (Figura 1.1).

El proceso de encolado es el primer paso para la preparación, e involucra la adición de agentes de encolado como almidón, polivinil alcohol y carboximetil celulosa para hacer las fibras más fuertes y reducir las roturas. Estos agentes interfieren en los procesos posteriores como el teñido, estampado y acabado. Es necesario una etapa de desencolado para eliminar los químicos añadidos mediante hidrólisis o un agente de oxidación (enzimas, bromuro de sodio, cloruro de sodio o peróxido de hidrógeno (H_2O_2)).

El lavado consiste en el agregado de una solución alcalina (hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o carbonato de sodio) con el fin de remover aceites y ceras presentes en las fibras. Luego, el proceso de blanqueamiento se utiliza para eliminar color no deseado y otorgar brillo a las fibras mediante la adición de químicos blanqueadores como hipoclorito de sodio, H_2O_2 y ácido peracético. El ácido peracético es una alternativa ambientalmente benigna al hipoclorito de sodio.

La mercerización mejora el aspecto de la fibra, su resistencia y la posterior absorción del colorante. Se lleva a cabo mediante la adición de hidróxido de sodio concentrado. La aplicación de agentes de neutralización, que incluyen ácido acético o ácido fórmico, es requerida para neutralizar las fibras luego de este procedimiento.

El proceso de teñido es un importante paso en la manufactura de productos textiles. El teñido implica el uso de colorantes en solución acuosa, mientras que en el estampado el colorante se aplica en forma de pasta espesa. El objetivo es impartir color a las fibras, para ello, los colorantes se aplican con diferentes productos químicos (metales, sales, tensioactivos, auxiliares orgánicos, sulfuro, formaldehído, entre otros) que mejoran la unión entre los colorantes y el tejido. En esta etapa se introducen metales en el efluente, los comúnmente encontrados son zinc, hierro, mercurio, plomo, cobalto, cobre y cromo.

Finalmente, en el proceso de acabado se confieren propiedades definidas (suavidad, impermeabilidad, acción antibacterial, protección UV, entre otras) al tejido.

La generación de aguas residuales en gran volumen y con elevadas cargas de contaminantes es uno de los principales aspectos ambientales asociados a las actividades de una industria textil. Los componentes de estos efluentes, además de otorgar al agua un

aspecto inaceptable, pueden conferir toxicidad tras su descomposición parcial, con el potencial de contaminar el suelo, los sedimentos y las aguas superficiales cercanas.

Las principales características de los efluentes textiles crudos o parcialmente tratados se presentan en la Tabla 1.1. En términos generales presentan valores elevados de color, pH, sólidos suspendidos, DQO y metales. Los valores altos de DQO, representan una de las mayores preocupaciones. Este parámetro se asocia al contenido de materia orgánica que puede ser oxidada químicamente. Una fracción elevada de este contenido orgánico suele no ser biodegradable. La materia orgánica biodegradable presente en agua puede cuantificarse a través de la DBO. Los efluentes textiles suelen tener relaciones de DBO/DQO cercanas a 0,25, indicando un alto contenido de materia orgánica no biodegradable. Adicionalmente, se conoce que los efluentes textiles se caracterizan por altas concentraciones de sales inorgánicas, que pueden aumentar la conductividad.

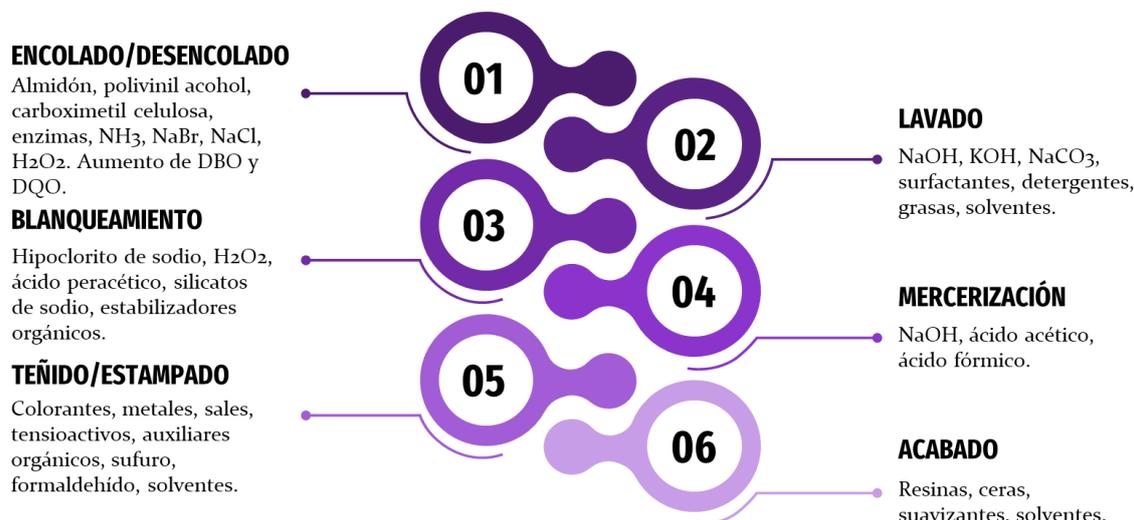


Figura 1.1 – Procesos típicos en una industria textil.

Tabla 1.1 – Rango de valores para los principales parámetros de caracterización de efluentes textiles según reportes en literatura [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18], [19], [20].

Parámetro	Rango de valores reportados
pH	6-11
Temperatura (°C)	35-45
Carbono orgánico disuelto (mg L ⁻¹)	300-3.750
Demanda química de oxígeno (mg L ⁻¹)	150-12.000
Carbono orgánico total (mg L ⁻¹)	30-670
Demanda biológica de oxígeno (mg L ⁻¹)	80-6.000
Oxígeno disuelto (mg L ⁻¹)	1,1-4,0
Sólidos disueltos totales (mg L ⁻¹)	2.900-3.100
Cloruros (mg L ⁻¹)	740-3.300
Conductividad (mS cm ⁻¹)	2-9

Es importante considerar que, si bien se presentan rangos de concentraciones en función de la literatura revisada, pueden encontrarse efluentes cuyos parámetros de calidad se encuentren por fuera de los mismos. Esto se debe a la marcada variabilidad de la carga de contaminantes en los efluentes textiles. A modo de ejemplo, se presenta en la Tabla 1.2, los valores de pH, DQO y DBO de efluentes provenientes de diferentes sectores textiles.

Tabla 1.2 – Valores de pH, DQO y DBO en efluentes procedentes de diferentes sectores textiles [21].

Parámetro	Hilo	Tejido algodón	Tejido lana	Género punto	Lavado Lana
pH	7-11	8-13	5,5-8	5,5-9	8-11
DQO (mg O₂ L⁻¹)	500-1.000	1.500-3.000	300-1.500	800-1.800	20.000-60.000
DBO (mg O₂ L⁻¹)	200-350	400-1.000	100-600	250-500	6.000-20.000

1.2. Colorantes

Los colorantes son sustancias coloreadas naturales o sintéticas que se utilizan para otorgar color a diferentes sustratos [22]. Son compuestos químicos caracterizados por absorber en la región visible del espectro electromagnético (400 a 700 nm), y el color que presentan a la vista se asocia a la radiación no absorbida por la muestra coloreada. Tal como se presenta en la Tabla 1.3, el color visible varía en función de la longitud de onda absorbida [23].

Tabla 1.3 – Relación entre la absorción en determinados rangos de longitud de onda y el color a la vista [23].

Longitud de onda (nm)	Absorbe en el	Color a la vista
400-435	Violeta	Amarillo-verde
435-480	Azul	Amarillo
480-490	Azul-verde	Naranja
490-500	Verde-azul	Rojo
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Verde-amarillo	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-605	Naranja	Azul-verde
605-650	Rojo	Verde-azul
650-750	Púrpura	Verde

Inicialmente, hasta el siglo XIX, los colorantes provenían de fuentes naturales. Luego, la reacción Perkin permitió el desarrollo de un gran número de colorantes sintéticos de diferentes tipos de acuerdo al cromóforo presente en su estructura química. La reacción mencionada fue desarrollada por William Henry Perkin en 1868 y se emplea principalmente para sintetizar compuestos con dobles enlaces conjugados con anillos aromáticos, que son relevantes en la producción de fragancias, colorantes y productos farmacéuticos [24].

Los colorantes son compuestos orgánicos que consisten en cromóforos (-NO₂, -NO, -N=N, -C=O, -C=S, -C=C, entre otros) y auxocromos (-OH, -NH₂, -NHR, -NR₂, -Cl, -COOH, entre otros) [25], [26]. Los cromóforos son responsables de impartir color. Los auxocromos mejoran la intensidad del color, influyen en la solubilidad del colorante, o producen desplazamientos de la absorción hacia longitudes de onda más largas o más cortas (efecto batocrómico o hipsocrómico, respectivamente). En la Tabla 1.4 se presenta una clasificación de los colorantes que se basa en las técnicas utilizadas para su aplicación y, por lo tanto, en la estructura química del sustrato y de la sustancia cromogénica (cromóforos, auxocromos y grupos auxiliares). Hay más de 100.000 tipos de colorantes en el mercado [27], el 60-70% de los mismos corresponde a los azoicos [22], [25]. El grupo de colorantes azoicos se caracteriza por tener estructuras complejas y estables debido a la combinación del grupo azo con anillos aromáticos [26], [28], lo cual dificulta

su biodegradación. De acuerdo con Easton (1995), el segundo grupo más importante corresponde a los compuestos antraquinónicos, que representan alrededor del 15% del total de los colorantes [29]. Se estima que el mercado de colorantes y pigmentos mundial alcanzará los 49,9 billones de dólares en 2027 y que la aplicación textil será la dominante [30].

Tabla 1.4 – Clasificación y caracterización de los colorantes según su aplicación [23].

Colorantes	Características	
Directos	Ácidos	Aniónicos solubles. Tienen grupos ácidos (SO ₃ H, CO ₃ H, NO ₂ , OH)
	Básicos	Catiónicos solubles. Tienen grupos básicos (NHMe ₂ ⁺ , NH ₂ Me ⁺ , NMe ₂ , NH ₂)
	Sustantivos	Grupos polares (sales sódicas, potásicas o de amonio de un sustituyente ácido sulfónico)
Dispersos	Poco solubles en agua. Solubles en solventes orgánicos y/o fibras sintéticas no polares.	
Transferidos	Se transfieren desde un sustrato inerte al tejido por contacto	
Reactivos	Tienen un grupo reactivo en la molécula que se une a la fibra mediante enlaces covalentes formando ésteres o éteres.	
VAT^a	Son insolubles en agua, pero por reducción forman una sal soluble incolora (compuesto leuco). Cuando se impregna en la fibra, se expone al aire y se oxida el compuesto quedando adherido el cromógeno a la fibra impartiendo color.	
De azufre	Son insolubles en agua, contienen azufre como parte del cromóforo o enlazando la cadena del polímero (-S-S-).	
Pigmentos	Sustancias insolubles en agua y en las fibras a teñir, requieren aglutinantes.	

Nota: ^a Se denominan VAT porque requieren su reducción en una tina o *vat* de tintura.

1.3. Efluentes textiles e implicancias ambientales

Las operaciones de manufactura o procesamiento textil vierten considerables cantidades de efluentes, con tratamiento insuficiente o nulo, en cuerpos de agua y generan impactos negativos sobre los ecosistemas acuáticos [27]. Dentro de estos efectos indeseados se puede mencionar turbidez, eutroficación, deterioro de la vida acuática y problemas estéticos [31]. Los colorantes impiden el paso de la luz solar [28], reduciendo la fotosíntesis con la consecuente disminución del oxígeno disuelto en el agua [32]. Además, la salud de la población es puesta en riesgo debido a los efectos tóxicos y carcinógenos que algunos de ellos presentan [1], [33], [34].

En este sentido, las Naciones Unidas han establecido una serie de Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) con metas específicas a ser alcanzadas para el 2030, que incluyen el cuidado, la gestión y el saneamiento del agua [35].

Por lo tanto, el desarrollo de procesos eficientes capaces de producir efluentes que no excedan los límites permisibles para los diversos contaminantes es una necesidad real ante el contexto global actual. Estos procesos deben cumplir con ciertos requisitos que respondan a los 12 principios de la Química Verde, que ha sido definida como “el diseño de productos químicos y procedimientos que permitan reducir y eliminar la síntesis y uso de sustancias peligrosas” [36]. Tales requerimientos incluyen, entre otros, seguridad ambiental, bajo costo y eficiencia para remover grandes cantidades de colorantes en períodos cortos de tiempo [37].

1.4. Tratamientos convencionales para efluentes textiles

El tratamiento de un efluente textil comúnmente comienza con un pretratamiento en el cual se remueven, por cribado o tamices, los materiales gruesos en suspensión, como hilos, pelusas, trozos de tejidos, fibras y trapos. Posteriormente, se realiza la remoción de sólidos suspendidos finos y grasas. El efluente se decanta para remover las partículas en suspensión, por lo general mediante un proceso de coagulación/floculación [38]. Suele realizarse una homogeneización y ajuste de pH, siendo óptimos valores entre 5 y 9 [39]. Los tratamientos primarios remueven 80-90% de sólidos suspendidos, 40-70% de la DBO, 30-60% de la DQO, 80-90% de bacterias, 50-70% de la materia suspendida total, y entre 30-40% de la materia orgánica [40]. En términos generales, las desventajas de los procesos de tratamiento primario (físico-químicos) incluyen la formación de lodos que deben tratarse y disponerse, y el requerimiento de grandes áreas de terreno.

Los tratamientos biológicos son usualmente aplicados luego de los tratamientos primarios, siendo combinados con una o más etapas de tratamiento fisicoquímico, como sedimentación, tamizado, coagulación, ultra filtración o adsorción sobre carbón activado. Los tratamientos biológicos, aeróbicos y anaeróbicos, no son versátiles frente a la gran variación en la composición de los efluentes (pH, conductividad, turbidez, entre otros parámetros). Particularmente, los efluentes textiles varían drásticamente en su composición de acuerdo a la fábrica de origen e incluso dentro de una misma planta. Además, se requieren grandes áreas y la eficiencia en la decoloración no siempre es satisfactoria. La eficiencia está relacionada de manera directa con la relación DBO/DQO.

En términos generales, un colorante industrialmente aplicable debe ser resistente a la exposición a la luz, a lavados o a tratamientos de blanqueado, por lo que son altamente recalitrantes. Como se mencionó con anterioridad, la relación DBO/DQO en un efluente textil suele ser baja, lo cual conduce a una reducción insuficiente en la DQO mediante procesos de degradación biológicos. Además, la presencia de metales pesados tóxicos en los efluentes afecta el crecimiento de los organismos, interfiriendo en la eficiencia del tratamiento.

En consecuencia, se suelen requerir tratamientos terciarios. La remoción de moléculas complejas de colorantes de los efluentes se ha realizado a través de diversas técnicas tales como adsorción [41], [42], coagulación/floculación [31], [43], membranas de nano y ultrafiltración [44], [45], oxidación química [46], y métodos biológicos usando enzimas [47]. La Tabla 1.5 presenta las ventajas y desventajas de los principales métodos de tratamiento para la remoción de colorantes. Algunos tratamientos o la combinación de ellos podrían ser eficientes, pero sus costos prohibitivos de inversión y mantenimiento o la generación de residuos secundarios imponen limitaciones para su aplicación a gran escala [48], [49].

Tabla 1.5 – Ventajas y desventajas de métodos convencionales para la remoción de colorantes [7], [22], [31], [42], [43], [44], [46], [47], [50], [51], [52].

Tratamiento	Ventaja	Desventaja
Adsorción (materiales no magnéticos)	<p>Aplicación simple y altamente efectiva.</p> <p>Preparación de adsorbentes a partir de residuos.</p>	<p>Dificultad en la separación del adsorbente del medio de reacción y en la regeneración para reuso.</p> <p>Ineficiente para algunos colorantes.</p> <p>Generación de residuo a disponer.</p> <p>Costo dependiente del material usado.</p> <p>La modificación química del adsorbente es requisito para mejorar la capacidad de adsorción.</p>
Membranas de ultra y nanofiltración	<p>Alta eficiencia para todo tipo de colorantes.</p> <p>Estabilidad química y térmica a largo plazo.</p> <p>Resistencia mecánica alta.</p>	<p>Costo considerable de operación y mantenimiento.</p> <p>Operación a presiones altas.</p> <p>Corto tiempo de uso y posibilidad de atascamientos.</p> <p>Generación de lodos concentrados.</p>
Coagulación/floculación	<p>Operación simple y efectiva.</p> <p>Remoción completa de color.</p> <p>Uso de coagulantes naturales.</p>	<p>Costo elevado de reactivos.</p> <p>Formación de subproductos de degradación.</p> <p>Ineficiente remoción de colorantes altamente solubles.</p> <p>Los coagulantes químicos no son adecuados ambientalmente.</p> <p>Requisito de combinar con otras técnicas para lograr eficiencias altas.</p>
Oxidación química	<p>Completa degradación de colorantes.</p> <p>Tiempos de reacción cortos.</p>	<p>Baja tasa de degradación de H₂O₂ como agente oxidante.</p> <p>Generación de lodos que requieren tratamiento y disposición.</p> <p>Ajuste de pH.</p> <p>Costos elevados.</p>
Oxidación enzimática	<p>Efectiva degradación de compuestos recalcitrantes.</p> <p>Operación a concentraciones altas de contaminantes y condiciones medias de pH y temperatura.</p>	<p>Altos costos de producción, purificación y almacenamiento de enzimas.</p> <p>Falta de estabilidad y pérdida de actividad en condiciones como pH no fisiológico, concentraciones altas de H₂O₂, temperatura elevada o presencia de inhibidores.</p>

1.5. Procesos de Oxidación Avanzada para el tratamiento de efluentes textiles

Se han dedicado grandes esfuerzos para desarrollar métodos novedosos y económicamente sostenibles para el tratamiento de efluentes textiles. Los procesos de oxidación avanzada (POAs, o AOPs por sus siglas en inglés, *advanced oxidation processes*) han sido propuestos en los últimos años como alternativas eficaces para la remediación de suelos y aguas contaminadas [53]. Los POAs se basan en procesos fisicoquímicos capaces de producir cambios en la estructura química de los contaminantes a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés, *reactive oxygen species*). Entre los ROS se encuentran peróxidos (H_2O_2), superóxidos ($\text{O}_2^{\cdot-}$) y radicales hidroxilos (OH^{\cdot}). Estos son capaces de oxidar la materia orgánica de manera efectiva logrando, en el mejor de los casos, la mineralización de contaminantes orgánicos recalcitrantes en dióxido de carbono, agua y aniones inorgánicos, evitando la formación de subproductos o residuos peligrosos. De este modo, pueden lograrse importantes disminuciones de la DQO.

A pesar del gran progreso alcanzado en términos del entendimiento y aplicación de los POAs, muchos procesos están actualmente limitados a la escala laboratorio o piloto [53]. Dentro de los POAs, algunos requieren un aporte externo de energía utilizando H_2O_2 / luz ultravioleta (UV), O_3 /UV y H_2O_2 / O_3 /UV mediante la fotólisis UV de H_2O_2 y/u O_3 para generar ROS. En general, estos procesos son costosos y complejos en la práctica para ser aplicados a sistemas reales porque involucran la combinación de distintos métodos de tratamiento [54] con equipamientos específicos y recursos humanos especializados.

Diversas investigaciones consideran los POAs utilizando radicales sulfatos (SR-AOPs) como oxidantes [55], [56]. Dado que se emplean precursores que contienen azufre, los productos de degradación podrían ocasionar impactos negativos en los cuerpos de agua receptores [57]. En cuanto a su aplicación práctica, variables como el pH, la dosis de los reactantes, la coexistencia de sustancias y el tipo de contaminante influyen en el SR-AOP [58]. También, dentro de la bibliografía se encuentran estudios que proponen POAs con H_2O_2 activado por carbonatos y bicarbonatos para remoción de colorantes [59]. Ambos procesos mencionados implican la necesidad de un tratamiento adicional limitando su aplicación.

Los POAs se pueden clasificar en procesos homogéneos y heterogéneos de acuerdo al estado de agregación del sistema generador de radicales. Los sistemas heterogéneos presentan la ventaja de permitir la separación del medio de reacción y la recuperación; sin embargo, al ser un sistema con más de una fase, presentan limitaciones relacionadas con la transferencia de masa.

1.5.1. Procesos Fenton y tipo Fenton

El proceso Fenton comienza a estudiarse en 1894 cuando Henry J. Fenton reporta que el H_2O_2 podría ser activado por sales ferrosas para oxidar ácido tartárico [60]. Desde entonces, ha sido ampliamente estudiado. La búsqueda de las palabras clave “*Fenton reaction*” en Google académico muestra cómo, desde 1950, el interés científico en las reacciones Fenton ha aumentado drásticamente (Figura 1.2).

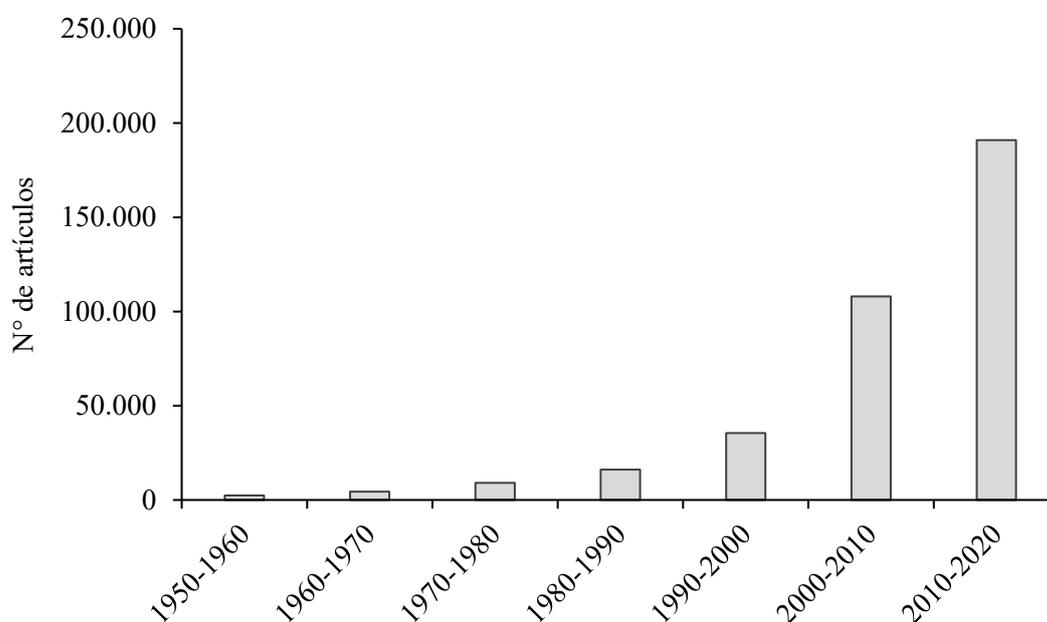


Figura 1.2 – Número de artículos asociados a las palabras clave “*Fenton reaction*” en Google académico.

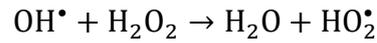
El H_2O_2 es un compuesto ambientalmente amigable, que deja como productos en el ambiente oxígeno y agua. La aplicación directa de H_2O_2 para remediación de efluentes está limitada por su baja velocidad de oxidación. En consecuencia, el H_2O_2 es activado por un catalizador (especies de hierro, por ejemplo) para formar especies reactivas del oxígeno en fase homogénea [61]. Puede descomponerse en presencia de iones Fe^{2+} , sitios activos en el proceso Fenton, para formar radicales hidroxilos (OH^{\bullet}), los cuales son altamente reactivos. En 1934, Haber y Weiss propusieron el OH^{\bullet} como agente oxidante activo. Posteriormente, Barb y colaboradores, ampliaron el mecanismo, postulando el

mecanismo Fenton clásico (Ecuación 1.1 a Ecuación 1.6) [62], [63], [64]. En este proceso, el Fe^{2+} se regenera a partir del Fe^{3+} , tal como describe la Ecuación 1.5.

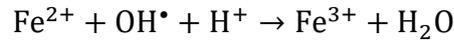
Ecuación 1.1



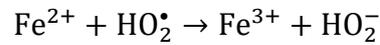
Ecuación 1.2



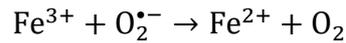
Ecuación 1.3



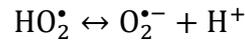
Ecuación 1.4



Ecuación 1.5



Ecuación 1.6



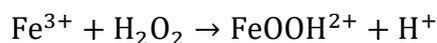
La reacción Fenton y reacciones relacionadas son atractivas debido a que el hierro es un elemento no tóxico y abundante, y el H_2O_2 es relativamente simple de manipular y puede descomponerse hacia productos amigables ambientalmente sin necesidad de equipamiento especial. De este modo, pueden considerarse como alternativas convenientes y económicas para generar especies oxidantes en el tratamiento de efluentes. Los radicales generados pueden, en condiciones ideales, oxidar contaminantes orgánicos hacia CO_2 y H_2O .

Los procesos Fenton implican la reducción del H_2O_2 por el ion ferroso (Fe^{II} ($\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$), mientras que los procesos tipo Fenton involucran la descomposición de H_2O_2 catalizada por iones férricos o hierro en estado reducido. Esto es la reacción de $\text{M}^{\text{n}}\text{L}_m + \text{ROOR}'$ (donde M es Fe u otro metal de transición de valencia baja, L es agua u otro ligando, y R es H u otro sustituyente [65]). Sin embargo, la formación de OH^\bullet es menor con el uso de Fe^{3+} .

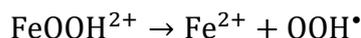
Los iones Fe^{3+} generados pueden reducirse por el exceso de H_2O_2 , permitiendo la regeneración de los iones Fe^{2+} en un mecanismo cíclico eficaz (Ecuación 1.7 a Ecuación

1.9). En las reacciones tipo Fenton se produce una segunda clase de radical, perhidroxilo (HO_2^\bullet), especie capaz de oxidar moléculas orgánicas, pero menos eficientemente que el radical OH^\bullet debido a su menor potencial redox ($E^0 = 1,50 \text{ V}$ vs $E^0 = 2,73 \text{ V}$).

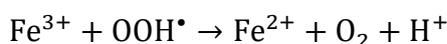
Ecuación 1.7



Ecuación 1.8



Ecuación 1.9



En términos generales, la reacción tipo Fenton es rápida al principio, por la presencia de más radicales HO^\bullet a pH bajo, pero se vuelve lenta gradualmente a medida que se producen radicales HO_2^\bullet .

Las reacciones Fenton utilizando H_2O_2 como oxidante en presencia de iones de hierro a pH ácido se encuentran entre los sistemas homogéneos más estudiados y se han aplicado en la eliminación de colorantes [54]. Sin embargo, en los sistemas Fenton homogéneos, el rango de pH óptimo de operación es acotado (entre 2 y 4), por lo que debe ajustarse previo al tratamiento. Esto se debe a que, bajo condiciones alcalinas, los iones de hierro precipitan y forman un lodo insoluble. Los iones férricos actúan como captadores de radicales y se precipitan en forma de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ en el sistema, generando inconvenientes económicos y ambientales. Luego del tratamiento, debe neutralizarse el efluente, lo cual puede llegar a ser más costoso que los oxidantes utilizados. Además, los iones de hierro deben removerse del efluente tratado sumando un costo operacional [66]. Por otro lado, algunos productos de oxidación, como ácidos orgánicos, eliminan al Fe^{2+} del ciclo catalítico debido a su capacidad para formar complejos. Estas cuestiones, sumadas a la difícil recuperación del catalizador solubilizado y el alto consumo de H_2O_2 , constituyen grandes desventajas en la aplicación del proceso Fenton convencional. En consecuencia, no son prácticos ya que, para considerar la aplicación real, es importante el reúso y la estabilidad química frente al medio acuoso.

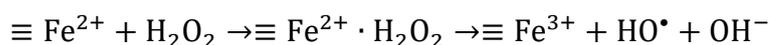
1.5.2. Procesos Fenton y tipo Fenton heterogéneos

Con el fin de superar los obstáculos asociados con el proceso Fenton se han desarrollado técnicas de inmovilización del ion ferroso, de especies férricas o de hierro en estado reducido. Los catalizadores heterogéneos utilizados son generalmente materiales a base de hierro que se caracterizan por costos y niveles bajos de toxicidad, como así también, alta actividad catalítica y simple recuperación. El uso de catalizadores sólidos permite superar el problema asociado con la generación, e inherente disposición, de lodos de óxidos de hierro propios de los sistemas Fenton. Asimismo, la aplicación de catalizadores heterogéneos permite ampliar el intervalo de pH de trabajo efectivo.

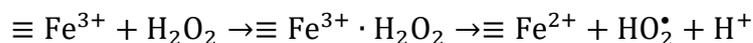
Las reacciones Fenton heterogéneas suelen estar controladas por procesos cinéticos que incluyen adsorción de reactivos, la reacción química en la superficie del catalizador, y la desorción del producto [67], [68]. Sin embargo, en el estudio del mecanismo de reacción generalmente se incluyen dos posibles vías:

- I) Reacción heterogénea provocada por el hierro en superficie (Figura 1.3). Ocurre la difusión y adsorción del H₂O₂ en la superficie del catalizador. Se forma un complejo entre el oxidante y las especies de hierro en superficie (Fe³⁺ y/o Fe²⁺) (Ecuación 1.10 y Ecuación 1.11). Luego, una transferencia electrónica intramolecular en el complejo genera la formación de OH• y Fe³⁺, y/o HO₂• y Fe²⁺. Finalmente, los radicales HO₂• formados pueden regenerar Fe²⁺ (Ecuación 1.12) [69].

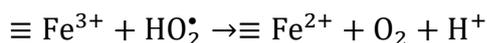
Ecuación 1.10



Ecuación 1.11



Ecuación 1.12



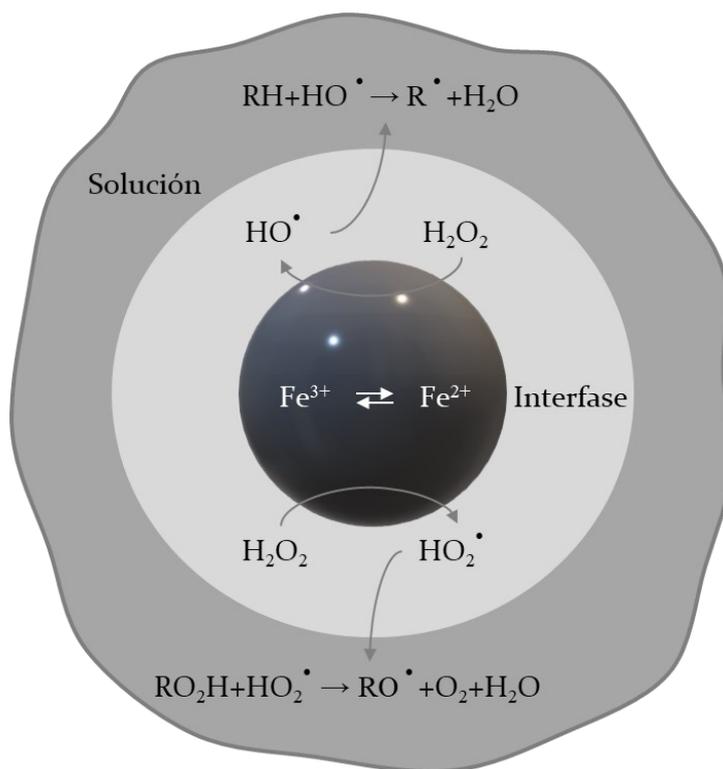


Figura 1.3 – Reacción heterogénea con el hierro en la superficie de un sólido. Adaptado de [68].

II) Reacción homogénea causada por el hierro lixiviado del catalizador. Se reporta que en estudios de sistemas que incluyen óxidos de hierro/ H_2O_2 , los resultados cinéticos de la reacción son explicados a través del mecanismo Haber-Weiss. Este mecanismo implica la disolución del óxido en la reducción del Fe^{3+} en superficie y la generación de iones Fe^{2+} disueltos. Estos reaccionan con el H_2O_2 para producir los radicales OH^\bullet , propagados a través de una reacción en cadena de acuerdo con el proceso Fenton homogéneo. En algunos sistemas, la concentración de hierro disuelto puede ser mínima por lo que podría asumirse insignificante la contribución del proceso homogéneo. Sin embargo, la degradación de moléculas debido a procesos homogéneos no debe ignorarse, dado que la contribución causada por la lixiviación de hierro varía con la reacción, por lo cual no puede determinarse simplemente por la cantidad de hierro disuelto [69]. Por lo tanto, no están claramente definidos los aportes individuales de ambos procesos y se asume que ocurren simultáneamente.

Diversas variables influyen en los pasos involucrados en la catálisis heterogénea (difusión, adsorción, desorción, disolución de especies, características estructurales del catalizador sólido, entre otras), por lo que la interacción entre el H_2O_2 y las especies de

hierro (soluble o en la superficie del catalizador) dependen en gran medida del óxido empleado [70].

Se ha estudiado la degradación de contaminantes mediante sistemas Fenton heterogéneos con diversos catalizadores sólidos [71]. Estos permiten la operación en amplios rangos de pH, la separación del catalizador del medio de reacción y la posibilidad de reuso. Sin embargo, el uso de materiales activos soportados provoca la disminución de la actividad catalítica, se limita la transferencia de masa y las velocidades de degradación suelen ser menores que para el caso de las reacciones Fenton y tipo Fenton homogéneas.

1.6. Catalizadores enzimáticos

Las peroxidasas, hemoproteínas, contienen un anillo porfirínico con hierro en estado de oxidación 3+ siendo una especie penta-coordinada. Estas son una forma particular de un hierro quelado, donde uno de los ligandos es una proteína y los otros ligandos son átomos de nitrógeno del anillo porfirínico [72]. Estas enzimas son capaces de oxidar compuestos fenólicos y aminas aromáticas empleando H₂O₂ como agente oxidante. Las mismas facilitan la abstracción de hidrógenos de los grupos -OH o -NH con la consecuente formación de radicales libres orgánicos.

El uso de enzimas está ampliamente extendido incluyendo aplicaciones tales como síntesis de polímeros orgánicos como polianilina, síntesis de fármacos orgánicos con alto rendimiento, construcción de electrodos enzimáticos, desarrollo de kits de diagnóstico y enzimoimmunoensayos, e incluso en remediación de efluentes coloreados [73], [74]. Las enzimas más utilizadas en los tratamientos de efluentes son las hidrolasas y las oxidorreductasas [75], [76]. Dentro de las oxidorreductasas, las catalasas y las peroxidasas son enzimas hemo que catalizan reacciones de H₂O₂. Algunas de las enzimas que han sido implementadas para la remoción de colorantes en efluentes industriales son la lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, peroxidasa de soja, lacasa, oxidasa polifenólica, micro peroxidasa, azo peroxidasa y peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés *Horseradish Peroxidase*). Esta última, HRP (de *Armoracia rusticana*) es comúnmente utilizada. El grupo hemo (uno de los sitios activos en HRP) se une a la proteína por un enlace coordinado en la quinta posición del hierro con el residuo His170 de la enzima (Figura 1.4).

Específicamente la isoenzima C o HRP-C, la más abundante, ha sido rigurosamente estudiada, siendo uno de los biocatalizadores más versátiles utilizados en la industria biotecnológica.

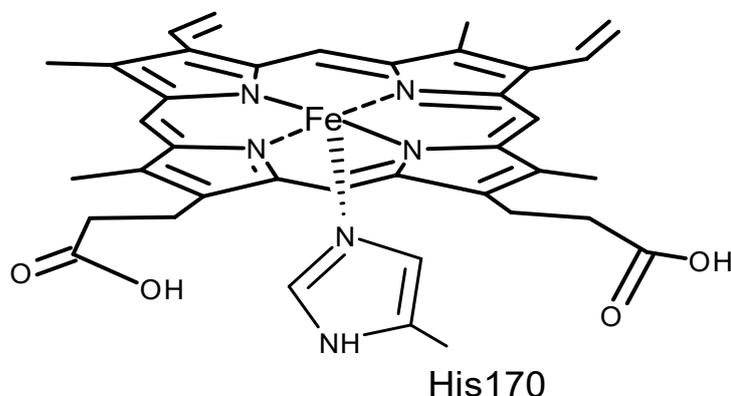


Figura 1.4 – Estructura química del complejo porfirínico de la enzima HRP.

La inmovilización de la enzima es una etapa necesaria para hacer rentable el proceso, que de otra forma sería prohibitivamente oneroso. Se encuentra literatura sobre inmovilización de peroxidasa [77] abarcando aspectos cinéticos [78] y analizando distintos materiales como soporte [79]. Sin embargo, la aplicación de esta enzima en sistemas de tratamiento de efluentes implica una serie de limitaciones asociadas a su alta especificidad a sustratos, fácil inactivación debido a las condiciones de reacción (requiere relativamente baja temperatura y rangos acotados de pH), necesidad de inmovilización para garantizar la recuperación del biocatalizador, inactivación durante la inmovilización, y elevado costo asociado a su obtención y almacenamiento [72]. Estas cuestiones han derivado en la apertura de un campo de investigación que implica el estudio de los catalizadores (bio)miméticos en procesos Fenton o tipo Fenton homogéneos para evaluar características básicas del proceso, pero principalmente en sistemas soportados o inmovilizados cuando el objetivo es la aplicación.

1.7. Catalizadores biomiméticos: metaloporfirinas

Como alternativa al uso de enzimas, se han estudiado materiales miméticos. Las porfirinas son compuestos orgánicos heterocíclicos formados por cuatro anillos de pirrol, tetrapirrol cíclico, unidos por enlaces metileno (=CH-) (Figura 1.5). Poseen una estructura plana y altamente conjugada lo cual les confiere la capacidad de absorber radiación en el visible. Además, tienen sitios de coordinación que les permiten ligar iones metálicos en su centro formando metaloporfirinas.

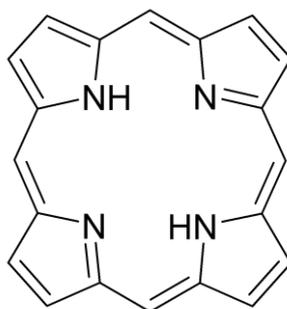


Figura 1.5 – Estructura química de la porfirina.

Las metaloporfirinas, tanto de origen natural como sintético, son complejos formados por una porfirina y un ión metálico en su centro. La estructura plana y fuertemente conjugada de la porfirina facilita la transferencia de electrones y la interacción con moléculas como oxígeno y peróxidos. Adicionalmente, por la flexibilidad en el centro metálico, pueden coordinar diversos metales como hierro, manganeso, cobalto, zinc; influyendo éstos en la propiedad catalítica del compuesto [80]. Pueden actuar como catalizadores en reacciones de oxidación-reducción y, debido a su capacidad de emular enzimas naturales, son muy útiles en biotecnología.

Las metaloporfirinas presentan ventajas, respecto a las enzimas, asociadas a la estabilidad, costo, separación y recuperación. Entre ellos se reportan como eficientes los derivados de las porfirinas de hierro y de complejos férricos o ferrosos con ligandos derivados de la anilina [81], [82].

Las metaloporfirinas sintéticas han sido consideradas como catalizadores efectivos para la oxidación, representando una alternativa económica para sustituir biocatalizadores. En Serra et al. (2005) reportan el desarrollo de un sistema de oxidación con H_2O_2 diluido utilizando complejos de manganeso derivados de meso-tetra-aril porfirina y su aplicación en la degradación de colorantes azo [83]. En Emmert et al. (2008) abordan el estudio de los mecanismos de acción de las metaloporfirinas utilizando colorantes azoicos con sustituyentes amino [81]. Estos autores reportan que, considerando la búsqueda bibliográfica que realizaron, no existían publicaciones de remociones de colorantes azoicos sustituidos por aminas primarias catalizadas por metaloporfirinas.

Un catalizador basado en 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-sulfonato fenil) porfina - Mn (III) soportada en esferas de sílica se reporta para la remoción de Rojo de Alizarina S, un colorante antraquinónico [84]. En presencia de un oxidante adecuado, las

metaloporfirinas con actividad redox son capaces de oxidar diferentes sustratos, incluyendo colorantes, bajo condiciones medias de reacción. 5, 10, 15, 20 - tetrakis (penta fluoro fenil) - 21 H, 23 H - porfina paladio (II) ha sido utilizada en combinación con poli (fluoruro de vinilideno) como fotocatalizador en la degradación de azul de metileno [86]. Adicionalmente, se reporta el incipiente uso de metaloporfirinas como adsorbentes. En Ali Dar et al. (2023) utilizan una metaloporfirina de cloruro de indio (III) como adsorbente en la remoción de azul de metileno [85].

Si bien el uso de metaloporfirinas sintéticas y sus aplicaciones son novedosas, se considera que presentan ciertas limitaciones. La síntesis y purificación requiere precursores específicos (incorporando metales centrales como rutenio, rodio o paladio) y técnicas avanzadas que incrementan el costo de obtención. La incorporación de metales pesados en su núcleo (Co o Ni) puede conferir toxicidad al material si no se inmovilizan adecuadamente. Respecto a la adsorción sobre metaloporfirinas, el proceso implica solo la transferencia del contaminante de una matriz a otra; mientras que los sistemas que requieren radiación UV para activarse están asociados al requerimiento de equipamiento y mano de obra altamente especializada, y elevado consumo energético.

Zucca et al. (2016) publicaron una interesante revisión sobre metaloporfirinas inmovilizadas con comportamiento mimético a la enzima lignina peroxidasa y la aplicación de las mismas en decoloración de efluentes, incluyendo aquellos que contienen colorantes azo y antraquinónicos [87]. Los autores plantean que, si bien es prometedor el uso de metaloporfirinas, especialmente cuando se utiliza H_2O_2 como agente oxidante, deben solventarse ciertas limitaciones. Estas están asociadas a la inmovilización sobre soportes adecuados para garantizar la recuperación y reúso; y a la ausencia de estudios rigurosos acerca de la toxicidad de las metaloporfirinas sintéticas, sobre todo debido a su similitud a las hemoproteínas fisiológicas.

En función de lo expuesto, las metaloporfirinas de origen natural, adquieren relevancia. Las mismas se encuentran, por ejemplo, en la hemoglobina (Figura 1.6a), la clorofila a y b (Figura 1.6b) y el citocromo c (Figura 1.6c). Aquellas derivadas del grupo hemo b tienen la capacidad de actuar como miméticos de peroxidasa en presencia de H_2O_2 .

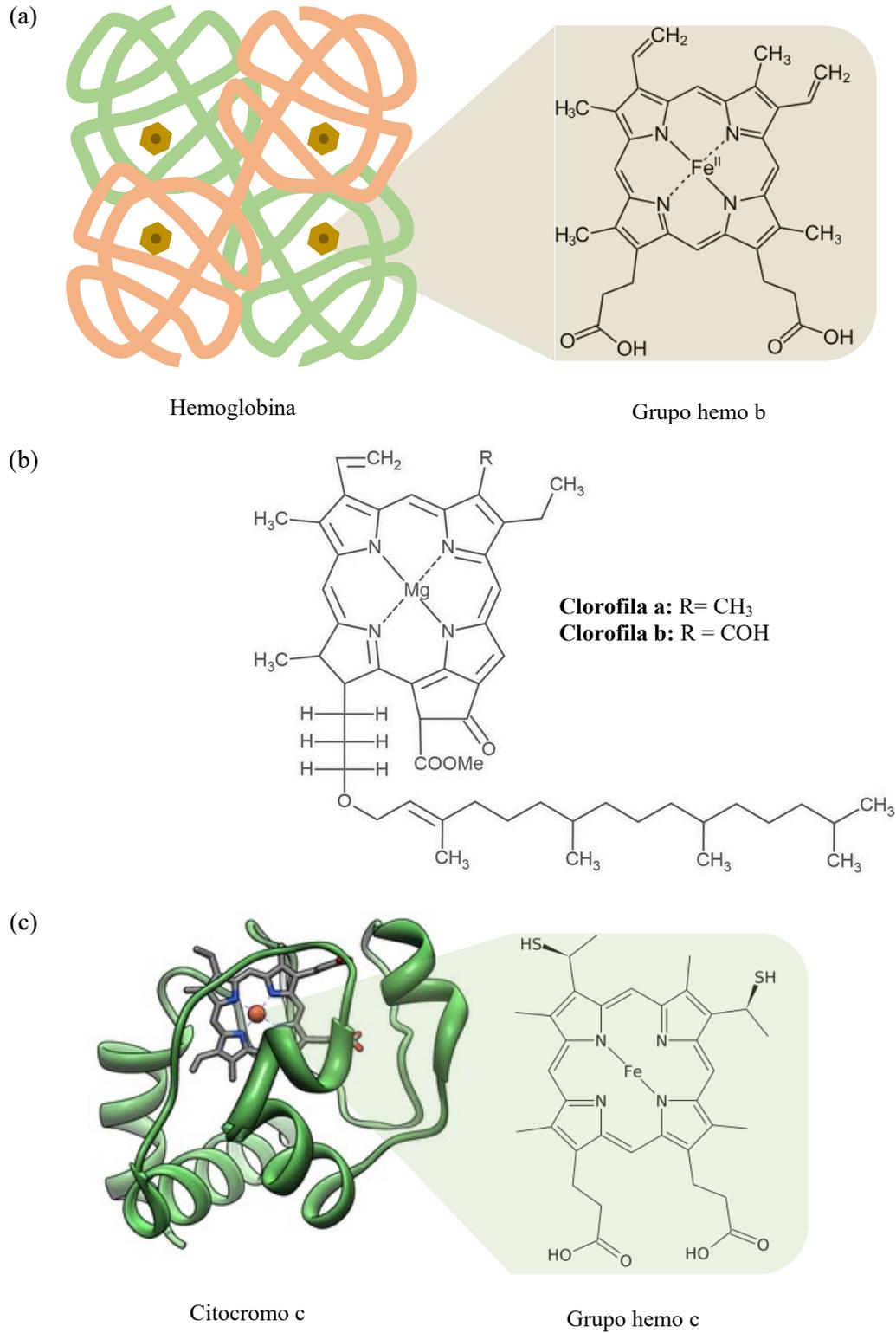


Figura 1.6 – Metaloporfirinas naturales: (a) hemoglobina, (b) clorofila y (c) citocromos.

1.7.1. Hematin

Los biomiméticos de la peroxidasa son compuestos que mantienen características estructurales del grupo hemo de la enzima, pero sin la complejidad que aporta la proteína [72].

Hematin (de aquí en adelante, HEM) es una hidroxil-ferriprotoporfirina IX de origen natural presente en la sangre. Deriva de la hemoglobina mediante la eliminación de la parte proteica y la oxidación del átomo de hierro ferroso (Fe^{2+}) al estado férrico (Fe^{3+}). De este modo, la estructura química de HEM está compuesta por una porfirina y un ion férrico en el centro. Además, como se observa en la Figura 1.7, contiene un grupo OH unido axialmente en la quinta posición del sistema porfirínico del Fe^{3+} [88], [89]. Se caracteriza por ser un compuesto de color negro azulado o marrón.

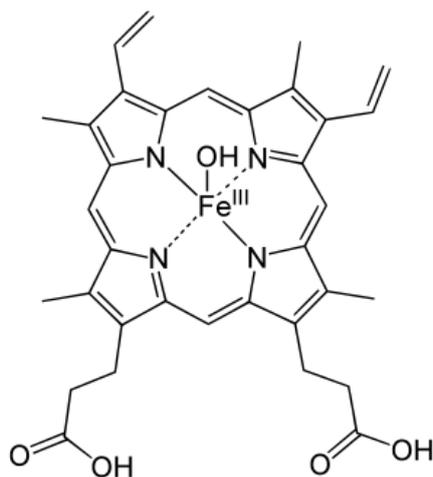


Figura 1.7 – Estructura química de HEM.

La obtención de HEM a partir de sangre animal porcina presenta baja complejidad y es económico, dado que no requiere reactivos costosos ni condiciones extremas de temperatura y presión. En contraste, las metaloporfirinas sintéticas se preparan por métodos de síntesis orgánica, como la condensación de pirroles con aldehídos aromáticos, lo cual implica costos elevados con condiciones experimentales rigurosamente controladas.

HEM ha sido estudiado durante el desarrollo de drogas antimaláricas [90], [91], y también se ha explorado su comportamiento como mimético de la enzima HRP [92]. Esto se debe a que su centro activo contiene hierro [93], habiéndose probado su capacidad de catalizar la conversión de H_2O_2 a OH^\bullet . Forooshani et al. (2020) propone los posibles mecanismos de descomposición de H_2O_2 y de generación de OH^\bullet en presencia de HEM

[94]. Existen antecedentes que demuestran la eficacia de HEM en la decoloración de soluciones acuosas diluidas de colorantes azoicos. Pirillo et al. (2010) compararon las capacidades de la enzima HRP y de HEM como biomimético, libres o sin soporte (forma solubilizada), en reacciones específicas con alizarina (1,2-dihidroxi-9,10-antraquinona) [95]. Los resultados indican que ambos eliminan el 85% de 25 mg L⁻¹ de alizarina a 25 °C con un exceso de H₂O₂. Además, a la mayor concentración evaluada (150 mg L⁻¹ de alizarina), HEM degrada casi el 75% mientras que la enzima HRP degrada cerca del 45%.

La inmovilización de este biomimético es imprescindible para garantizar su recuperación del medio de reacción para reuso. Además, HEM soportado superaría los problemas que implica su uso sin soporte, baja solubilidad y capacidad de formar agregados a bajos valores de pH, los cuales conducen a una disminución de la actividad catalítica. A diferencia de HRP, HEM es más estable en disolventes orgánicos, en condiciones de pH alcalino, así como en concentraciones altas de H₂O₂ [96]. Consecuentemente, HEM resulta una alternativa versátil y económica. Una de las ventajas más importantes asociadas al uso de HEM es su bajo costo en comparación con su contraparte enzimática [88], ya que su valor comercial es aproximadamente el 10% del valor de la enzima HRP.

A diferencia de las metaloporfirinas sintéticas, HEM presenta mayor afinidad por el H₂O₂ en condiciones suaves de pH y temperatura, imitando reacciones enzimáticas de la peroxidasa. Dado que HEM deriva de sangre animal es potencialmente económico y accesible respecto a las metaloporfirinas sintéticas, cuyo costo aumenta debido a procesos complejos de síntesis.

En los capítulos correspondientes de la presente tesis se aborda la caracterización de HEM y el análisis de sus mecanismos de acción, así como los de su contraparte enzimática. Además, se profundiza en los antecedentes específicos asociados a su aplicación con H₂O₂ en sistemas de oxidación avanzada.

1.8. Nanozimas basadas en óxidos de hierro (IONzimas)

Uno de los aspectos más interesantes de la nanotecnología es la posibilidad de obtener nuevas propiedades cuando el tamaño es nanométrico (2-3 a 10 nm). La aparición de propiedades catalíticas especiales se ha estudiado activamente los últimos años según revisiones recientes [97]. Se reporta que nanopartículas magnéticas de magnetita, o Fe₃O₄

(MAG, de aquí en adelante), presentan una actividad intrínseca similar a HRP [98]. Por otro lado, también han sido consideradas análogas a sistemas Fenton soportados, heterogéneos [67], [99], [100], dado que a diferencia de los catalizadores solubles, las nanopartículas, se presentan como sólidos capaces de ser removidos de las soluciones a través de la aplicación de un campo magnético externo. En este sentido estos sistemas pueden considerarse sistemas de oxidación avanzados, pero de bajo costo, ya que no involucran las problemáticas asociadas al uso de luz UV u O₃.

Como se ha mencionado, el grupo de Catálisis ha trabajado desde el 2000 en el estudio e inmovilización de catalasa, peroxidasa y luego biomiméticos como catalizadores de oxidación. La Dra. Ferreira (PLAPIQUI) con la Dra. Lasalle (INQUISUR) han trabajado en síntesis de MAG como parte de soportes de enzimas en el marco de la tesis en Ciencia y Tecnología de los Materiales de la Dra. Paula Nicolás. Adicionalmente, la Dra. Pirillo (2010) estudió MAG como adsorbente de colorantes y en combinación con HEM, en presencia de H₂O₂, como catalizador en la remoción de colorantes. La Dra. Córdoba (2015) trabajó en la optimización de HEM y HRP soportados en la eliminación de colorantes modelo. El trabajo más reciente, de López Pagni (2015-2016), becario de la SECyT de la Universidad Nacional del Sur, se basó en la aplicación de MAG y ferritas en la eliminación de colorantes modelo. En función de lo expuesto, resultó razonable continuar con el estudio de MAG o compuestos a base de MAG. La Figura 1.8 esquematiza la evolución del tema en el grupo de investigación.

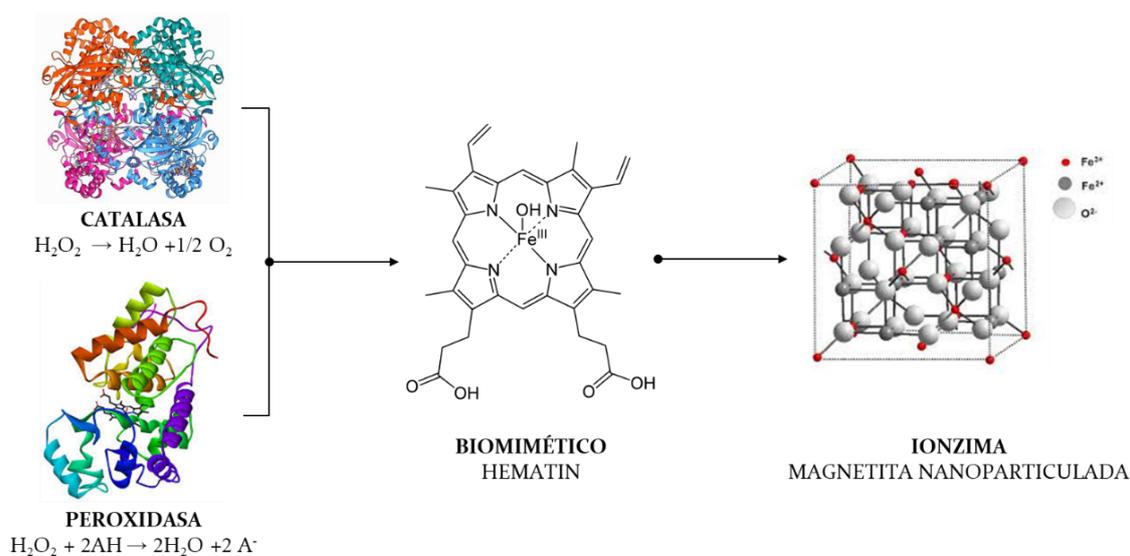


Figura 1.8 – Evolución de la línea de investigación en el grupo de Catálisis, PLAPIQUI (IONZIMA, *iron oxide nanozyme*).

Las partículas magnéticas obtenidas a partir de metales magnéticos de transición (hierro, níquel y cobalto) se oxidan fácilmente, mientras que los óxidos de hierro como MAG son estables frente a la oxidación [101]. Los óxidos de hierro se caracterizan por ser abundantes en la naturaleza y son ampliamente usados debido a su bajo costo. Son materiales no tóxicos y se presentan en forma de varios óxidos, entre ellos, MAG, maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) [102], [103]. La estructura cristalina de los óxidos de hierro está formada por aniones en estructuras compactas (oxígenos) en las cuales los intersticios están parcialmente completos con cationes (Fe^{2+} y/o Fe^{3+}) en coordinación octaédrica o tetraédrica. Las ferritas nanoparticuladas tienen la fórmula AB_2O_4 , donde A y B corresponden a iones divalentes y trivalentes, respectivamente [104]. En MAG, ya que su estructura es una espinela cúbica inversa, los sitios tetraédricos contienen solo iones Fe^{3+} , mientras que los sitios octaédricos están ocupados tanto por iones Fe^{2+} como por Fe^{3+} [105], [106]. Específicamente, la estructura cristalina espinela inversa con una celda unitaria cúbica de la magnetita tiene 32 iones oxígeno dispuestos en una estructura compacta. Además, posee 8 iones Fe^{2+} y 8 iones Fe^{3+} en sitios octaédricos, mientras que 8 Fe^{3+} ocupan los sitios tetraédricos. Ya que el número de iones Fe^{3+} en la MAG es el mismo, tanto en sitios tetraédricos como octaédricos, y que las orientaciones de espín magnético de todos los iones del sitio A están dispuestas en direcciones paralelas y opuestas a las orientaciones de espín magnético de todos los iones del sitio B, los momentos magnéticos se cancelan entre sí. Entonces, la magnetización neta total se debe a los cationes Fe^{2+} solamente [107].

Las partículas con tamaños menores a 100 nm son denominadas nanopartículas [108]. A temperatura ambiente, Fe_3O_4 en bulk es ferrimagnética, mientras que en escala nanométrica (6-8 nm) es superparamagnética [109], [110]. Por lo tanto, las propiedades magnéticas no solo están relacionadas con la composición de los nanomateriales sino también con el tamaño de partícula [111], [112]. La coercitividad es altamente dependiente del tamaño de las nanopartículas. A medida que el diámetro de partícula decrece, la coercitividad incrementa hasta un valor específico. Allí, todos los espines magnéticos están alineados y la magnetización es mayor [113]. Sin embargo, a diámetros menores que un cierto valor crítico, la coercitividad se hace cero. Esto ocurre ya que los momentos magnéticos de los átomos de hierro están orientados aleatoriamente debido a la energía térmica, cancelándose unos a otros. En consecuencia, MAG muestra comportamiento superparamagnético, lo cual se constituye como una ventaja desde el

punto de vista práctico dado que permite su recuperación a través de un campo magnético externo [114].

Adicionalmente, MAG exhibe actividad similar a las enzimas peroxidasa y catalasa [115], siendo recientemente reportado su comportamiento tipo zymolasa [116]. Los nanomateriales miméticos de enzimas son denominados “nanozimas” (*nanozymes*, en inglés) [117], estando las nanopartículas de óxidos de hierro (IONzimas) dentro de las nanozimas más comunes [118]. Las IONzimas han sido estudiadas para ser aplicadas en la eliminación de contaminantes en sistemas tipo Fenton [119]. Si bien el mecanismo por el cual MAG presenta comportamiento tipo peroxidasa no ha sido completamente elucidado, se supone que toma lugar una reacción tipo Fenton heterogénea [120]. La transferencia de electrones entre iones ferrosos y férricos en los sitios octaédricos de MAG favorece la generación de radicales hidroxilos (OH^\bullet) a partir de H_2O_2 . Estos radicales activos son altamente oxidantes capaces de romper las moléculas no saturadas de los colorantes y los dobles enlaces en sus cromóforos, removiendo el color de los efluentes [121], [122]. De este modo, los iones ferrosos/férricos de MAG, y el H_2O_2 tienen la capacidad de oxidar compuestos orgánicos e inorgánicos actuando como un mimético enzimático de la enzima peroxidasa [123].

Los óxidos de hierro nanoparticulados (IONPs, por sus siglas en inglés, *iron oxides nanoparticles*) tienen un gran potencial para ser aplicados en múltiples disciplinas siendo de particular interés en este trabajo la remediación ambiental. Es así que MAG ha sido seleccionada para ser incorporada al sólido multicutalítico a desarrollar y aplicar en un POA, particularmente un sistema tipo Fenton heterogéneo, para la remediación de efluentes coloreados. Dentro de las ventajas que presenta, se pueden mencionar: composición química simple, se puede obtener a partir de materias primas de bajo costo y disponibles localmente; biocompatibilidad y nula toxicidad; comportamiento mimético a la enzima peroxidasa; alta relación área/masa y superficie susceptible de ser modificada; y propiedades superparamagnéticas.

Sin embargo, también se reporta una serie de limitaciones asociadas al uso de MAG. Una de ellas es su tendencia a aglomerarse en solución. En general, las interacciones hidrofóbicas entre las nanopartículas y su elevada relación área superficial/volumen, generan agregados que conducen a la formación de partículas de mayor tamaño [105]. Trujillo Hernández et al. (2015) prepararon MAG por descomposición térmica

obteniendo tamaños de partícula entre 15 y 100 nm, con una media de 42 nm [124]. La micrografía SEM mostró que las partículas presentan una tendencia a la aglomeración. Por otra parte, Ruíz-Baltazar et al. (2019) prepararon MAG por vía verde utilizando extracto de hoja de *Cynara cardunculus* como fuente de agentes reductores [125], y la caracterización por SEM permitió observar aglomerados. La agregación se produce para reducir la energía superficial. En el caso de MAG, la interacción dipolar magnética y las interacciones de van der Waals también son relevantes [126].

Adicionalmente, las nanopartículas son intrínsecamente inestables en períodos prolongados. Poseen una escasa resistencia química a los ácidos fuertes o a los agentes oxidantes fuertes, que acaba provocando la pérdida de su actividad magnética. Tras la síntesis, las IONPs forman rápidamente capas de óxido de hierro sobre su superficie ya que, en condiciones ambientales, MAG puede oxidarse fácilmente a γ -Fe₂O₃ [67]. Además, MAG puede disolverse en medio ácido. Khoshhesab y Modaresnia (2019) emplearon MAG como adsorbente para la eliminación de los colorantes *acid black 210* (AB210, azo) y *remazol brilliant blue R* (RB19, antraquinónico) de soluciones acuosas [127]. La síntesis se realizó por coprecipitación obteniendo un tamaño medio de partícula de 36 nm. Las capacidades de adsorción para AB210 y RB19 fueron de 70,80 mg g⁻¹ a los 45 min y 74,40 mg g⁻¹ a los 5 min, respectivamente. El estudio de reutilización reveló que la eficiencia de adsorción disminuyó aproximadamente un 8% tras cinco ciclos consecutivos, y que era posible la recuperación del adsorbente con un campo magnético. La pérdida de eficiencia se asoció a la disolución de iones hierro, por lo que MAG pierde gradualmente sus sitios superficiales activos [128]. El desprendimiento de MAG de los materiales sobre los que se soporta, puede generar toxicidad tras la acumulación a largo plazo en agua [129].

En resumen, a pesar de que MAG posee diversas ventajas en su papel de NANOzima, a menudo presenta inconvenientes como baja actividad catalítica tras pocos usos, interacciones inesperadas y lixiviación del hierro. Además, tiende a reducir su superficie por agregación y se oxida fácilmente en el aire. Esto provoca la pérdida de dispersabilidad y de propiedades magnéticas [100], [130], [131]. El resultado es una actividad catalítica insatisfactoria, una velocidad de reacción baja y una degradación deficiente del sustrato a degradar. Por lo tanto, las aplicaciones prácticas requieren fundamentalmente, evitar la aglomeración de MAG debido a que su capacidad catalítica está directamente relacionada con los sitios activos disponibles superficialmente [132]. El desarrollo de IONPs

catalíticamente activas y estables en reacciones tipo Fenton es un desafío importante. Para conseguir catalizadores mejorados, se han estudiado diversas estrategias entre las cuales se pueden mencionar la modificación de MAG con metales de transición, la funcionalización, el recubrimiento o la inmovilización [71].

Particularmente, el soporte de MAG sobre materiales orgánicos e inorgánicos es una alternativa interesante. Estos soportes sólidos permiten la deposición de especies activas en su superficie facilitando la recuperación de los catalizadores del medio de reacción. Se mejora la resistencia mecánica y se generan efectos sinérgicos que aumentan la actividad química del material. Además, el uso de un soporte para MAG puede mejorar la estabilidad térmica y química y, por tanto, sus propiedades catalíticas. Existen numerosos informes sobre catalizadores basados en MAG soportada sobre matrices orgánicas e inorgánicas. Entre ellas, las nanoestructuras basadas en carbono, como los nanotubos de carbono, el óxido de grafeno y el óxido de grafeno reducido, han sido ampliamente utilizadas, aún siendo costosas. Song et al. (2019) prepararon óxido de grafeno ultra pequeño modificado con MAG (MAG/usGO) como catalizador heterogéneo para la degradación tipo Fenton de contaminantes tintóreos de nivel ppm [133]. El compuesto se sintetizó por coprecipitación *in situ* de MAG en la superficie del usGO. Como resultado, las partículas fueron esféricas y homogéneamente dispersas con un tamaño aproximado de 12-15 nm. El usGO actúa como plantilla para la coprecipitación, lo cual condujo a una estrecha distribución de tamaños.

1.9. Soportes para inmovilización

El material utilizado para inmovilizar, ya sea enzimas, biomiméticos u óxidos de hierro nanoparticulados, debe cumplir con ciertos requisitos detallados a continuación [134], [135].

- I) Estabilidad química. El soporte debe ser inerte y estable bajo las condiciones experimentales (pH, temperatura y solventes) en las que se aplicará el sólido. No debe degradarse ni reaccionar con los componentes activos.
- II) Elevada área superficial. Esto permite una mayor superficie de inmovilización, proporcionando una cantidad adecuada de sitios activos para interactuar con el compuesto a soportar.

- III) Compatibilidad con el sustrato a soportar. El soporte no debe ocasionar desnaturalización de las enzimas o la inactivación del biomimético o modificar las propiedades magnéticas o catalíticas de las IONPs.
- IV) Oportunidad de funcionalización. Es favorable que el soporte posea grupos funcionales en superficie o que sea susceptible de ser modificado para incluirlos. Los grupos amino, carboxilo o epoxi facilitan enlaces covalentes o interacciones electrostáticas con las biomoléculas o nanopartículas.
- V) Estabilidad mecánica. Si el catalizador está sometido a agitación, cambios de presión o flujos, debe mantener su estructura física.
- VI) Posibilidad de regeneración. El soporte debe permitir el reuso del material activo soportado sin pérdida significativa de actividad.
- VII) Baja toxicidad. Considerando una aplicación en remediación ambiental, el soporte debe ser biocompatible y no tóxico.

Entre los soportes mayoritariamente utilizados se destacan los biopolímeros tales como el quitosano (de aquí en adelante, QUIT), celulosa, almidón, colágeno, pectina, gelatina y *sepharose* (agarosa) [134], [135], [136], [137].

El QUIT (poli (β -1-4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa) es un poliaminosacárido que corresponde a la forma N-deacetilada de la quitina, siendo este último el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza, presente como constituyente mayoritario en los exoesqueletos de los crustáceos [138], [139]. La deacetilación consiste en la hidrólisis de los grupos acetamido de la quitina mediante el tratamiento con álcalis fuertes, liberándose los correspondientes grupos amino. El QUIT ha provocado un gran interés para ser utilizado en diversos campos de aplicación dado que posee varias ventajas asociadas a propiedades biológicas y químicas que incluyen nula toxicidad, biocompatibilidad, bioactividad, biodegradabilidad, entre otras [140], [141], [142]. La presencia de grupos aminos, acetamido e hidroxilos en la estructura química del QUIT lo vuelve un eficiente intercambiador de iones, por lo que dispone de gran capacidad de adsorción [143], [144]. Los grupos amino libres del QUIT se protonan en solución acuosa, y le permiten interactuar con aniones o grupos aniónicos de otros compuestos, permitiendo la modificación superficial del mismo o su entrecruzamiento [141], [145]. Sin embargo, posee características que podrían limitar su aplicación, como pobre resistencia mecánica y térmica, baja porosidad, limitada área superficial, débil estabilidad en medios ácidos, elevada tendencia a la aglomeración, incompleta recuperación después

del proceso de adsorción [145], [146]. Pese a estos inconvenientes, es un material ampliamente reportado como soporte de sustancias activas y como adsorbente.

1.10. Sistemas de tratamiento terciario con procesos secuenciales

Si bien los POAs suelen ser procesos eficientes en términos de remoción de contaminantes orgánicos recalcitrantes, en ocasiones no se alcanza la mineralización completa de los mismos. Estas reacciones oxidativas pueden generar algunos compuestos intermediarios de cadena corta cuya toxicidad podría comprometer la inocuidad del efluente tratado, siendo necesarias acciones complementarias para su eliminación [147]. De este modo, puede requerirse la incorporación de una instancia de tratamiento posterior.

La adsorción puede considerarse adecuada para mejorar la eficiencia del tratamiento de efluentes. Este proceso se basa en la capacidad de ciertos materiales para retener compuestos orgánicos e inorgánicos, permitiendo su remoción del medio acuoso. Las partículas se acumulan en una interfase, líquido-sólido, mediante un proceso de transferencia de masa no reactiva. Entre las ventajas destacan la posibilidad de operar sin requerimientos energéticos elevados y la simplicidad operativa. De este modo, la adsorción puede constituirse como paso final en tratamientos híbridos, optimizando la calidad del efluente.

Sin embargo, para que sea factible la aplicación de un adsorbente, este debe ser sintetizado a partir de materiales con alta disponibilidad y bajo costo. Como se mencionó con anterioridad, el QUIT ha sido ampliamente estudiado como adsorbente tanto en forma de hojuelas como en pellets. Además, los materiales lignocelulósicos derivados de biomasa han demostrado ser adsorbentes eficaces y sostenibles para la remoción de contaminantes en medios acuosos, debido a su elevada porosidad, abundancia y la presencia de grupos funcionales que favorecen la interacción con diversas especies químicas.

Una de las líneas de investigación del grupo de Catálisis utiliza el fruto de *Araujia sericifera*, una planta trepadora de la familia Apocynaceae, como fuente de látex. Esta especie, también conocida como "algodonera" o "mata ganado", es originaria de Sudamérica y se ha expandido a diversas regiones, donde es considerada invasora. El látex obtenido es rico en compuestos bioactivos, y ha sido estudiado por sus propiedades insecticidas y antifúngicas. Una vez extraído el látex, el residuo del fruto, rico en celulosa

y hemicelulosa, puede ser valorizado como un adsorbente natural. De este modo, en la presente tesis se ha utilizado la pulpa del fruto de *Araujia sericifera* y QUIT, como materias primas para la síntesis de un adsorbente, ofreciendo una alternativa sustentable para el proceso de adsorción incorporado en el tratamiento de soluciones con colorantes textiles.

1.11. Consideraciones generales

Tal como se ha delineado, la línea de investigación en el grupo de Catálisis ha evolucionado desde la aplicación de enzimas y biomiméticos, hacia la aplicación de nanopartículas de óxidos de hierro en POAs para remediación ambiental. Particularmente en sistemas Fenton heterogéneos con H₂O₂ como agente oxidante para remoción de colorantes en solución. Se consideró que los antecedentes y evidencias recopilados proporcionan un sustento suficiente para explorar la síntesis de un catalizador heterogéneo que combine la actividad tipo Fenton de MAG con el comportamiento mimético a la enzima peroxidasa de HEM, utilizando QUIT como material soporte.

A partir de la experiencia del grupo y de la bibliografía revisada, se establecieron las siguientes premisas, consideraciones y desafíos a superar en el desarrollo de un catalizador heterogéneo basado en QUIT, MAG y HEM para ser aplicado en remoción de colorantes en solución:

(I) Los efluentes textiles suelen ser saneados a través de tratamientos preliminares, primarios y secundarios. Como se expuso, los colorantes están diseñados para ser resistentes a agentes físicos, químicos y biológicos. Estas instancias de tratamiento resultan ineficientes en la degradación de las moléculas orgánicas recalcitrantes y, en consecuencia, en la disminución de la DQO como parámetro de calidad. El objetivo del presente trabajo de tesis fue desarrollar y caracterizar, tomando en cuenta avances previos, instancias de tratamiento que catalogarían como tratamientos terciarios, destinados a la remoción de contaminantes específicos (Figura 1.9) manteniendo en perspectiva la aplicación final. Sin embargo, existe la posibilidad de que, si la degradación de los colorantes no es total pero se logra transformarlos en sustancias biodegradables, constituyan instancias previas a un tratamiento secundario. Adicionalmente, considerando que la eficiencia de los sistemas de tratamiento para remoción de colorantes puede mejorarse acoplando procesos, se propone la exploración de la síntesis y aplicación

de un sólido adsorbente compuesto por QUIT y biomasa derivada del fruto de *Araujia sericifera*.

(II) HEM es un mimético adecuado de la enzima HRP en términos de costo y actividad, pero su inmovilización y obtención de un sólido robusto y estable es un requisito para su aplicación real.

(III) El material soporte debe ser estable en el medio de reacción y debe garantizar la retención de HEM en las condiciones de uso. La combinación de QUIT y MAG parece ser una alternativa interesante como soporte para HEM. Antecedentes del grupo reportan su inmovilización sobre QUIT en hojuelas. Si bien la manipulación del sólido fue aceptable, se presentan inconvenientes asociados a la solubilidad del QUIT en medio ácido y a la disolución del biomimético en solución. Por lo que se presenta un desafío relacionado con el diseño del formato del sólido soporte y su síntesis. La versatilidad del QUIT permite obtener partículas con morfología esférica y la introducción de MAG podría no solo favorecer la resistencia mecánica del QUIT [148], sino contribuir a la actividad catalítica del sólido.

(IV) La vía de síntesis del catalizador debe dirigirse a minimizar los costos económicos y ambientales, minimizando el uso de productos químicos peligrosos y prácticas insostenibles [75]. Es así que las condiciones experimentales deben seleccionarse procurando: procedimiento sencillo, consumo mínimo de energía y ausencia de precursores tóxicos (sin uso de tensioactivos) [145].

(V) El diseño del sistema debe considerar que su aplicación final está orientada a implementarse en un contexto que exige simplicidad tanto en la infraestructura requerida como en los parámetros operativos de los procedimientos. En consecuencia, el desarrollo de la tecnología debe incluir procesos simples, cuyo escalado implique inversión económica relativamente baja y modificaciones poco sofisticadas en las infraestructuras actualmente disponibles en las plantas de tratamiento de efluentes.

En definitiva, el trabajo desarrollado en la presente tesis tuvo como perspectiva general el desarrollo de conocimiento en relación a un catalizador basado en compuestos rigurosamente estudiados en trabajos previos, y de un adsorbente compuesto por QUIT y biomasa derivada del fruto de *Araujia sericifera*, sin perder de vista la potencial aplicación en una planta de tratamiento de efluentes textiles.

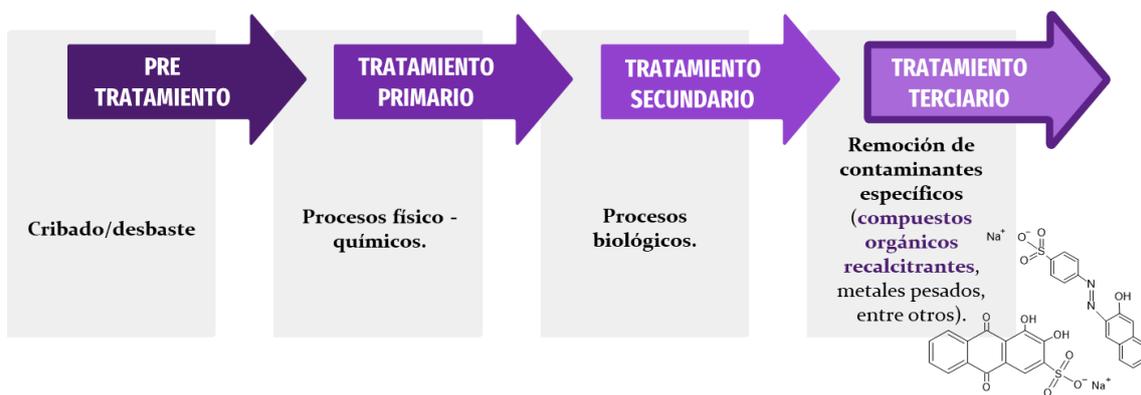


Figura 1.9 – Etapas comúnmente presentes en un sistema de tratamiento de efluentes textiles.

1.12. Objetivos

1.12.1. Objetivos generales

El presente trabajo se enmarca dentro de la catálisis (bio)mimética aplicada en remediación de soluciones acuosas que contienen colorantes. El objetivo general de esta tesis fue el estudio de un sistema de remoción de colorantes en solución acuosa en dos etapas:

Etapla I: Oxidación mediante un POA, particularmente un proceso tipo Fenton heterogéneo, utilizando un sólido multicatalítico basado en HEM soportado sobre esferas de QUIT-MAG y H_2O_2 como agente oxidante. Se considera un sistema multicatalítico debido a que pueden presentarse al menos dos sistemas de generación de radicales, asociados a Fe^{3+} en HEM y a Fe^{2+}/Fe^{3+} en MAG.

Etapla II: Adsorción sobre esferas de QUIT/biomasa derivada de frutos de *Araujia sericifera*.

Estos sistemas se han aplicado al tratamiento de soluciones acuosas coloreadas utilizando colorantes representativos de los grupos azoicos y antraquinónicos (individuales y mezcla) tanto en soluciones modelo como en una matriz de efluente simulado.

1.12.2. Objetivos específicos y distribución de la tesis.

Con el fin de cumplir los objetivos generales, el trabajo de tesis se dividió en tres partes tal como se esquematiza en la Figura 1.10.

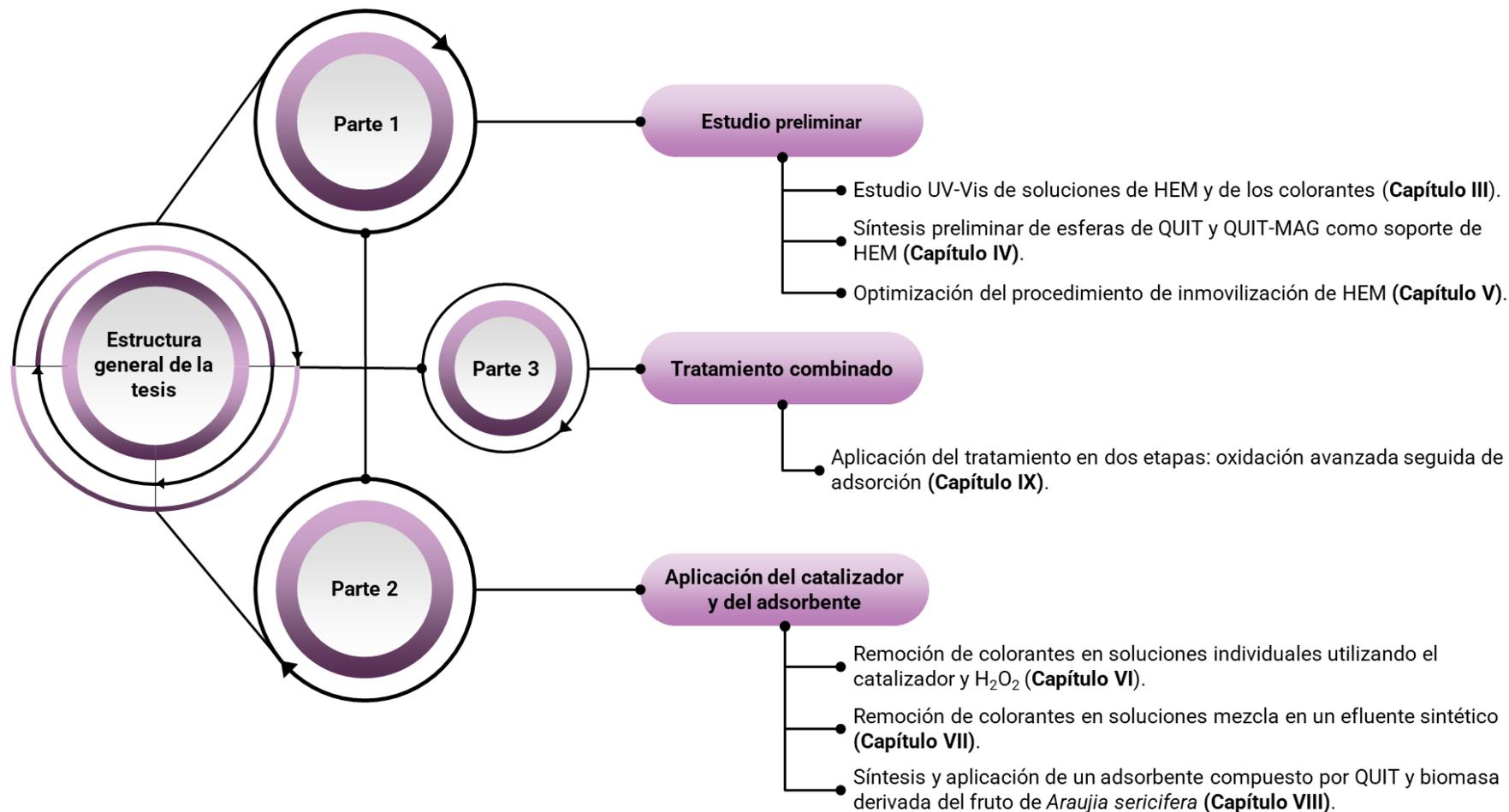


Figura 1.10 – Estructura general de la tesis.

PARTE 1: ESTUDIO PRELIMINAR

- Estudio UV-Vis de las soluciones de HEM y de los colorantes empleados como modelo de contaminantes presentes en efluentes textiles (Rojo de Alizarina S y Naranja II) (Capítulo III).
- Síntesis preliminar de esferas de QUIT puro y de QUIT-MAG como soporte de HEM (Capítulo IV).
- Optimización del procedimiento de inmovilización de HEM mediante la incorporación de 3-aminopropiltrióxido de silano como agente acoplante (Capítulo V).

Como lineamiento general, se buscó que el catalizador presente ventajas asociadas a (1) comportamiento multicatalítico (generación de radicales por iones $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ de MAG y por el Fe^{3+} en HEM en contacto con H_2O_2) con el fin de maximizar la degradación de los colorantes frente a la adsorción; (2) estabilidad en el medio de reacción; (3) posibilidad de múltiples reusos; (4) bajo costo de síntesis; (5) aplicación en condiciones de temperatura y presión ambiente.

PARTE 2: APLICACIÓN DEL CATALIZADOR Y DEL ADSORBENTE

- ETAPA I: Sistema tipo Fenton heterogéneo
 - Aplicación del catalizador con H_2O_2 en la remoción de los colorantes modelo en soluciones individuales (Capítulo VI).
 - Aplicación del catalizador en la remoción de los colorantes en soluciones mezcla y en una matriz de efluente simulado (Capítulo VII).
- ETAPA II: ADSORCIÓN (Capítulo VIII)
 - Síntesis y caracterización mediante ensayos de adsorción de colorantes modelo de un sólido basado en esferas de QUIT/biomasa derivada de frutos de *Araujia sericifera*.
 - Estudio de modelado computacional simple para evaluar las formas de adsorción de los colorantes sobre el QUIT.

PARTE 3: TRATAMIENTO EN ETAPAS. OXIDACIÓN AVANZADA Y ADSORCIÓN.

- Estudio del tratamiento en dos etapas, oxidación avanzada aplicando el catalizador en un sistema tipo Fenton heterogéneo; seguido de adsorción, utilizando esferas de QUIT/biomasa (Capítulo IX). Se caracterizaron las soluciones tratadas en cada una de las etapas en términos de demanda química de oxígeno, carbono orgánico total y conductividad.

Las conclusiones y perspectivas a futuro se abordan en el Capítulo X.

1.13. Referencias

- [1] B. Lellis, C. Z. Fávaro-Polonio, J. A. Pamphile, y J. C. Polonio, «Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms.», *Biotechnology Research and Innovation*, vol. 3, n.º 2, pp. 275-290, 2019, doi: 10.1016/j.biori.2019.09.001.
- [2] V. M. Correia, T. Stephenson, y S. J. Judd, «Characterisation of textile wastewaters - a review», *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 15, n.º 10, pp. 917-929, 1994, doi: 10.1080/09593339409385500.
- [3] S. De Gisi y M. Notarnicola, «Industrial Wastewater Treatment», en *Encyclopedia of Sustainable Technologies*, vol. 4, Elsevier, 2017, pp. 23-42. doi: 10.1016/B978-0-12-409548-9.10167-8.
- [4] S. Pirillo, V. Pedroni, E. Rueda, y M. L. Ferreira, «Elimination of dyes from aqueous solutions using iron oxides and chitosan as adsorbents. A comparative study», *Quim Nova*, vol. 32, n.º 5, pp. 1239-1244, 2009, doi: 10.1590/S0100-40422009000500030.
- [5] A. E. Ghaly, R. Ananthashankar, M. Alhattab, y V. V. Ramakrishnan, «Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review», *Journal of Chemical Engineering & Process Technology*, vol. 05, n.º 01, pp. 1-18, 2014, doi: 10.4172/2157-7048.1000182.
- [6] D. A. Yaseen y M. Scholz, «Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review», *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, n.º 2, pp. 1193-1226, 2019, doi: 10.1007/s13762-018-2130-z.
- [7] C. R. Holkar, A. J. Jadhav, D. V. Pinjari, N. M. Mahamuni, y A. B. Pandit, «A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches», *J Environ Manage*, vol. 182, pp. 351-366, 2016, doi: 10.1016/j.jenvman.2016.07.090.
- [8] R. Shoukat, S. J. Khan, y Y. Jamal, «Hybrid anaerobic-aerobic biological treatment for real textile wastewater», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 29, jun. 2019, doi: 10.1016/j.jwpe.2019.100804.

- [9] M. Faghihinezhad, M. Baghdadi, M. S. Shahin, y A. Torabian, «Catalytic ozonation of real textile wastewater by magnetic oxidized g-C₃N₄ modified with Al₂O₃ nanoparticles as a novel catalyst», *Sep Purif Technol*, vol. 283, ene. 2022, doi: 10.1016/j.seppur.2021.120208.
- [10] A. K. Badawi y K. Zaher, «Hybrid treatment system for real textile wastewater remediation based on coagulation/flocculation, adsorption and filtration processes: Performance and economic evaluation», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 40, abr. 2021, doi: 10.1016/j.jwpe.2021.101963.
- [11] T. G. Ambaye y K. Hagos, «Photocatalytic and biological oxidation treatment of real textile wastewater», *Nanotechnology for Environmental Engineering*, vol. 5, n.º 3, dic. 2020, doi: 10.1007/s41204-020-00094-w.
- [12] U. Sathya, Keerthi, M. Nithya, y N. Balasubramanian, «Evaluation of advanced oxidation processes (AOPs) integrated membrane bioreactor (MBR) for the real textile wastewater treatment», *J Environ Manage*, vol. 246, pp. 768-775, sep. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.06.039.
- [13] Ö. Bulca, B. Palas, S. Atalay, y G. Ersöz, «Performance investigation of the hybrid methods of adsorption or catalytic wet air oxidation subsequent to electrocoagulation in treatment of real textile wastewater and kinetic modelling», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 40, abr. 2021, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101821.
- [14] H. Özgün, H. Sakar, M. Ağtaş, y I. Koyuncu, «Investigation of pre-treatment techniques to improve membrane performance in real textile wastewater treatment», *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 20, n.º 2, pp. 1539-1550, feb. 2023, doi: 10.1007/s13762-022-04034-w.
- [15] S. Jallouli *et al.*, «Living membrane bioreactor for highly effective and eco-friendly treatment of textile wastewater», *Science of the Total Environment*, vol. 871, may 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.161963.
- [16] N. H. Torres, B. S. Souza, L. F. R. Ferreira, Á. S. Lima, G. N. dos Santos, y E. B. Cavalcanti, «Real textile effluents treatment using coagulation/flocculation followed by electrochemical oxidation process and ecotoxicological assessment», *Chemosphere*, vol. 236, dic. 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.07.040.

- [17] M. B. Ceretta, Y. Vieira, E. A. Wolski, E. L. Foletto, y S. Silvestri, «Biological degradation coupled to photocatalysis by ZnO/polypyrrole composite for the treatment of real textile wastewater», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 35, jun. 2020, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101230.
- [18] E. Sahinkaya *et al.*, «Performance of a pilot-scale reverse osmosis process for water recovery from biologically-treated textile wastewater», *J Environ Manage*, vol. 249, nov. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109382.
- [19] D. Pandey, A. Daverey, K. Dutta, y K. Arunachalam, «Dye removal from simulated and real textile effluent using laccase immobilized on pine needle biochar», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 53, jul. 2023, doi: 10.1016/j.jwpe.2023.103710.
- [20] M. Ahmad Wadaan, A. Baabbad, M. Farooq Khan, R. Shanmuganathan, y F. Daniel, «Phytotoxicity and cytotoxicity attributes of immobilized *Bacillus cereus* treated and untreated textile effluents on *Vigna mungo* seeds and *Artemia franciscana* larvae», *Environ Res*, vol. 231, ago. 2023, doi: 10.1016/j.envres.2023.116111.
- [21] G. López, M. Crespi, y V. Rosell, *Gestión de los efluentes de la industria textil. Proyecto mejora de las economías regionales y desarrollo local*. 2015. [En línea]. Disponible en: www.ue-inti.gob.ar
- [22] V. Katheresan, J. Kansedo, y S. Y. Lau, «Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review», *J Environ Chem Eng*, vol. 6, n.º 4, pp. 4676-4697, 2018, doi: 10.1016/j.jece.2018.06.060.
- [23] D. Marcano, *Introducción a la Química de los Colorantes*. Caracas, Venezuela: Colección Divulgación Científica y Tecnológica. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, 2018. Accedido: 7 de noviembre de 2024. [En línea]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10872/19390>
- [24] P. Gregory, «Dyes and dye intermediates», en *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, John Wiley & Sons, Inc., 2009.

- [25] A. Gürses, M. Açıkyıldız, K. Güneş, y M. Sadi Gürses, *Dyes and Pigments. Green Chemistry for Sustainability*. Jaipur, India: Springer Briefs in Molecular Science, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-33892-7.
- [26] S. Benkhaya, S. M' rabet, y A. El Harfi, «A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes», *Inorg Chem Commun*, vol. 115, p. 107891, 2020, doi: 10.1016/j.inoche.2020.107891.
- [27] A. Tkaczyk, K. Mitrowska, y A. Posyniak, «Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review», *Science of the Total Environment*, vol. 717, p. 137222, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137222.
- [28] M. Berradi *et al.*, «Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs», *Heliyon*, vol. 5, n.º 11, p. e02711, 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02711.
- [29] J. R. Easton, «The dye marker's view», en *Colour in Dyehouse Effluent*, Cooper P., Ed., 1995.
- [30] Grand View Research, «Dyes and Pigments Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Dyes (Reactive, Vat, Acid, Direct, Disperse), Pigment (Organic, Inorganic)), By Application, By Region, And Segment Forecasts, 2020 – 2027.», Report ID: GVR-1-68038-545-8. [En línea]. Disponible en: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-dyes-pigments-market> (6/3/2020)
- [31] A. K. Verma, R. R. Dash, y P. Bhunia, «A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters», *J Environ Manage*, vol. 93, n.º 1, pp. 154-168, 2012, doi: 10.1016/j.jenvman.2011.09.012.
- [32] R. D. Saini, «Synthetic Textile Dyes: Constitution, Dying process and Environmental Impacts», *Asian Journal of Research in Chemistry*, vol. 11, n.º 1, pp. 206-214, 2018, doi: 10.5958/0974-4150.2018.00040.8.
- [33] S. S. P. Markandeya y D. Mohan, «Toxicity of Disperse Dyes and its Removal from Wastewater Using Various Adsorbents: A Review», *Research Journal of*

- Environmental Toxicology*, vol. 11, n.º 2, pp. 72-89, 2017, doi: 10.3923/rjet.2017.72.89.
- [34] A. Saravanan, P. Senthil Kumar, y P. R. Yaashikaa, «Treatment of Dye Containing Wastewater Using Agricultural Biomass Derived Magnetic Adsorbents», en *Green Materials for Wastewater Treatment*, M. Naushad y E. Lichtfouse, Eds., 2020, pp. 149-169. doi: 10.1007/978-3-030-17724-9_7.
- [35] Guterres António, «Informe de los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2023, Naciones Unidas.», 2023. Accedido: 19 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible en: https://unstats.un.org/sdgs/report/2023/The-Sustainable-Development-Goals-Report-2023_Spanish.pdf
- [36] P. Anastas y N. Eghbali, «Green chemistry: Principles and practice», *Chem Soc Rev*, vol. 39, n.º 1, pp. 301-312, 2010, doi: 10.1039/b918763b.
- [37] O. K. Nayna y S. M. Tareq, «Application of Semiconductor Nanoparticles for Removal of Organic Pollutants or Dyes From Wastewater», en *Nanotechnology in Water and Wastewater Treatment*, n.º 2, Elsevier Inc., 2019, pp. 267-290. doi: 10.1016/b978-0-12-813902-8.00013-7.
- [38] A. Azanaw, B. Birlie, B. Teshome, y M. Jemberie, «Textile effluent treatment methods and eco-friendly resolution of textile wastewater», *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 6, dic. 2022, doi: 10.1016/j.cscee.2022.100230.
- [39] S. Eswaramoorthi, K. Dhanapal, y D. S. Chauhan, «Advances in Textile Waste Water Treatment: The Case for UV-Ozonation and Membrane Bioreactor for Common Effluent Treatment Plants in Tirupur, Tamil Nadu, India». [En línea]. Disponible en: www.ecpconsulting.in
- [40] B. R. Babu, A. K. Parande, S. Raghu, T. Prem Kumar, B. R. Babu, y T. P. Kumar, «TEXTILE TECHNOLOGY Cotton Textile Processing: Waste Generation and Effluent Treatment», 2007. [En línea]. Disponible en: <http://journal.cotton.org>,
- [41] A. A. Oladipo, M. Gazi, y E. Yilmaz, «Single and binary adsorption of azo and anthraquinone dyes by chitosan-based hydrogel: Selectivity factor and Box-

- Behnken process design», *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 104, pp. 264-279, 2015, doi: 10.1016/j.cherd.2015.08.018.
- [42] P. Semeraro *et al.*, «Removal of an Azo Textile Dye from Wastewater by Cyclodextrin-Epichlorohydrin Polymers», en *Cyclodextrin - A Versatile Ingredient*, A. Poonam, Ed., IntechOpen, 2018, pp. 303-322. doi: 10.5772/intechopen.72502.
- [43] Y. Shiva Shankar, K. Ankur, P. Bhushan, y D. Mohan, «Advances in Waste Management», en *Advances in Waste Management*, A. S. Kalamdhad, Ed., Springer Singapore, 2019, pp. 107-121. doi: 10.1007/978-981-13-0215-2.
- [44] C. Yang *et al.*, «Fabrication and characterization of a high performance polyimide ultrafiltration membrane for dye removal», *J Colloid Interface Sci*, vol. 562, pp. 589-597, 2020, doi: 10.1016/j.jcis.2019.11.075.
- [45] N. Yousefi, R. Nabizadeh, S. Nasser, M. Khoobi, S. Nazmara, y A. H. Mahvi, «Decolorization of Direct Blue 71 solutions using tannic acid/polysulfone thin film nanofiltration composite membrane; preparation, optimization and characterization of anti-fouling», *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 34, n.º 8, pp. 2342-2353, 2017, doi: 10.1007/s11814-017-0127-9.
- [46] N. Beheshtkhoo, M. A. J. Kouhbanani, A. Savardashtaki, A. M. Amani, y S. Taghizadeh, «Green synthesis of iron oxide nanoparticles by aqueous leaf extract of *Daphne mezereum* as a novel dye removing material», *Appl Phys A Mater Sci Process*, vol. 124, pp. 363-369, 2018, doi: 10.1007/s00339-018-1782-3.
- [47] J. D. Baumer, A. Valério, S. M. A. Guelli Ulson de Souza, G. S. Erzinger, A. Furigo, y A. A. Ulson de Souza, «Remazol black dye (reactive black 5) decolorization by horseradish peroxidase enzyme», *Journal of Textile Engineering & Fashion Technology*, vol. 4, n.º 2, pp. 147-149, 2018, doi: 10.15406/jteft.2018.04.00132.
- [48] K. Piaskowski, R. Świdorska-Dąbrowska, y P. K. Zarzycki, «Dye removal from water and wastewater using various physical, chemical, and biological processes», *JAOAC Int*, vol. 101, n.º 5, pp. 1371-1384, 2018, doi: 10.5740/jaoacint.18-0051.

- [49] B. Bethi, S. H. Sonawane, B. A. Bhanvase, y S. P. Gumfekar, «Nanomaterials-based advanced oxidation processes for wastewater treatment: A review», *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 109, pp. 178-189, 2016, doi: 10.1016/j.cep.2016.08.016.
- [50] N. de Camargo Lima Beluci *et al.*, «Hybrid treatment of coagulation/flocculation process followed by ultrafiltration in TIO 2 -modified membranes to improve the removal of reactive black 5 dye», *Science of the Total Environment*, vol. 664, pp. 222-229, 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.01.199.
- [51] M. C. Collivignarelli, M. Canato, A. Abbà, y M. Carnevale Miino, «Biosolids: What are the different types of reuse?», *J Clean Prod*, vol. 238, 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.117844.
- [52] S. Mani, P. Chowdhary, y R. N. Bharagava, «Textile Wastewater Dyes: Toxicity Profile and Treatment Approaches», en *Emerging and Eco-Friendly Approaches for Waste Management*, 2018, pp. 219-244. doi: 10.1007/978-981-10-8669-4.
- [53] A. Vogelpohl, «Applications of AOPs in wastewater treatment», en *Water Science and Technology*, 2007, pp. 207-211. doi: 10.2166/wst.2007.408.
- [54] A. Asghar, A. A. A. Raman, y W. M. A. W. Daud, «Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: A review», *J Clean Prod*, vol. 87, n.º 1, pp. 826-838, 2015, doi: 10.1016/j.jclepro.2014.09.010.
- [55] C. Liu, L. Chen, D. Ding, y T. Cai, «Sulfate radical induced catalytic degradation of metolachlor: Efficiency and mechanism», *Chemical Engineering Journal*, vol. 368, pp. 606-617, jul. 2019, doi: 10.1016/j.cej.2019.03.001.
- [56] H. Dong, J. Chen, L. Feng, W. Zhang, X. Guan, y T. J. Strathmann, «Degradation of organic contaminants through activating bisulfite by cerium(IV): A sulfate radical-predominant oxidation process», *Chemical Engineering Journal*, vol. 357, pp. 328-336, feb. 2019, doi: 10.1016/j.cej.2018.09.024.
- [57] R. Dewil, D. Mantzavinos, I. Poulios, y M. A. Rodrigo, «New perspectives for Advanced Oxidation Processes», *J Environ Manage*, vol. 195, pp. 93-99, 2017, doi: 10.1016/j.jenvman.2017.04.010.

- [58] W. Song, J. Li, Z. Wang, y X. Zhang, «A mini review of activated methods to persulfate-based advanced oxidation process», 1 de febrero de 2019, *IWA Publishing*. doi: 10.2166/wcc.2018.168.
- [59] Y. Li *et al.*, «Carbonate-activated hydrogen peroxide oxidation process for azo dye decolorization: Process, kinetics, and mechanisms», *Chemosphere*, vol. 192, pp. 372-378, feb. 2018, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.10.126.
- [60] B. H. J H Festos, «OXIDATION OF TARTARIC ACID IN PRESEXCE OF IRON. 899 LXXZII.-Oxictutioiz of Tcxriaric Acid iia prcseizce of Jrolz», 1894.
- [61] M. D. N. Ramos, C. S. Santana, C. C. V. Velloso, A. H. M. da Silva, F. Magalhães, y A. Aguiar, «A review on the treatment of textile industry effluents through Fenton processes», 1 de noviembre de 2021, *Institution of Chemical Engineers*. doi: 10.1016/j.psep.2021.09.029.
- [62] W. G. Barb, J. H. Baxendale, G. Philip, y K. R. Hargrave, «Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide», *Nature*, vol. 163, pp. 692-694, abr. 1949.
- [63] W. G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, y K. R. Hargrave, «Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part I. - The ferrous ion reaction», *Transactions of the Faraday Society*, vol. 47, pp. 462-500, 1951, doi: 10.1039/TF9514700462.
- [64] W. G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, y K. R. Hargrave, «Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part II. - The ferric ion reaction», *Transactions of the Faraday Society*, vol. 47, pp. 591-616, 1951, doi: 10.1039/TF9514700591.
- [65] D. Meyerstein, «What Are the Oxidizing Intermediates in the Fenton and Fenton-like Reactions? A Perspective», *Antioxidants*, vol. 11, n.º 7, jul. 2022, doi: 10.3390/antiox11071368.
- [66] Y. Mei, J. Zeng, M. Sun, J. Ma, y S. Komarneni, «A novel Fenton-like system of Fe₂O₃ and NaHSO₃ for Orange II degradation», *Sep Purif Technol*, vol. 230, n.º May 2019, p. 115866, 2020, doi: 10.1016/j.seppur.2019.115866.

- [67] J. He, X. Yang, B. Men, y D. Wang, «Interfacial mechanisms of heterogeneous Fenton reactions catalyzed by iron-based materials: A review», *J Environ Sci (China)*, vol. 39, pp. 97-109, ene. 2016, doi: 10.1016/j.jes.2015.12.003.
- [68] V. Garzón-Cucaita y J. G. Carriazo, «Óxidos de hierro como catalizadores de procesos tipo Fenton con potencial aplicación en tecnologías de remoción de contaminantes», *TecnoLógicas*, vol. 25, n.º 55, p. e2393, nov. 2022, doi: 10.22430/22565337.2393.
- [69] H. Sun, G. Xie, D. He, y L. Zhang, «Ascorbic acid promoted magnetite Fenton degradation of alachlor: Mechanistic insights and kinetic modeling», *Appl Catal B*, vol. 267, jun. 2019, doi: 10.1016/j.apcatb.2019.118383.
- [70] L. Zhao, Z. R. Lin, X. hong Ma, y Y. H. Dong, «Catalytic activity of different iron oxides: Insight from pollutant degradation and hydroxyl radical formation in heterogeneous Fenton-like systems», *Chemical Engineering Journal*, vol. 352, pp. 343-351, nov. 2018, doi: 10.1016/j.cej.2018.07.035.
- [71] J. B. Rial y M. L. Ferreira, «Challenges of dye removal treatments based on IONzymes: Beyond heterogeneous Fenton», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 41, 2021, doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102065.
- [72] I. Magario, F. S. García Einschlag, E. H. Rueda, J. Zygadlo, y M. L. Ferreira, «Mechanisms of radical generation in the removal of phenol derivatives and pigments using different Fe-based catalytic systems», enero de 2012. doi: 10.1016/j.molcata.2011.10.006.
- [73] N. Hidalgo Cuadrado, «Caracterización químico física de la peroxidasa de palma *Chamaerops excelsa*», Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, 2011. [En línea]. Disponible en: https://gedos.usal.es/jspui/bitstream/10366/110695/1/DQFI_Hidalgo_Cuadrado_N_Caracterizacion.pdf
- [74] S. Feng *et al.*, «Roles and applications of enzymes for resistant pollutants removal in wastewater treatment», *Bioresour Technol*, vol. 335, sep. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125278.

- [75] E. Routoula y S. V. Patwardhan, «Degradation of Anthraquinone Dyes from Effluents: A Review Focusing on Enzymatic Dye Degradation with Industrial Potential», *Environ Sci Technol*, vol. 54, n.º 2, pp. 647-664, 2020, doi: 10.1021/acs.est.9b03737.
- [76] B. Mishra *et al.*, «Engineering biocatalytic material for the remediation of pollutants: A comprehensive review», *Environ Technol Innov*, vol. 20, nov. 2020, doi: 10.1016/j.eti.2020.101063.
- [77] X. Xie *et al.*, «Horseradish peroxidase immobilized on the magnetic composite microspheres for high catalytic ability and operational stability», *Enzyme Microb Technol*, vol. 122, pp. 26-35, mar. 2019, doi: 10.1016/j.enzmictec.2018.12.007.
- [78] V. Vojinović, R. H. Carvalho, F. Lemos, J. M. S. Cabral, L. P. Fonseca, y B. S. Ferreira, «Kinetics of soluble and immobilized horseradish peroxidase-mediated oxidation of phenolic compounds», *Biochem Eng J*, vol. 35, n.º 2, pp. 126-135, jul. 2007, doi: 10.1016/j.bej.2007.01.006.
- [79] S. A. Ansari y Q. Husain, «Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: A review», *Biotechnol Adv*, vol. 30, n.º 3, pp. 512-523, may 2012, doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.09.005.
- [80] C. Bilanin Artigado, «Metaloporfirinas: Síntesis, actividad catalítica y soporte en materiales 2D», Universidad Politécnica de Valencia, 2020.
- [81] F. L. Emmert, J. Thomas, B. Hon, y A. J. Gengenbach, «Metalloporphyrin catalyzed oxidation of methyl yellow and related azo compounds», *Inorganica Chim Acta*, vol. 361, n.º 8, pp. 2243-2251, 2008, doi: 10.1016/j.ica.2007.09.048.
- [82] N. G. Giri y S. M. S. Chauhan, «Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons with hydrogen peroxide catalyzed by Iron(III)porphyrins», *Catal Commun*, vol. 10, n.º 4, pp. 383-387, ene. 2009, doi: 10.1016/j.catcom.2008.09.030.
- [83] A. C. Serra, C. Docal, y A. M. D. A. R. Gonsalves, «Efficient azo dye degradation by hydrogen peroxide oxidation with metalloporphyrins as catalysts», *J Mol Catal A Chem*, vol. 238, n.º 1-2, pp. 192-198, sep. 2005, doi: 10.1016/j.molcata.2005.05.017.

- [84] P. Zucca, C. Vinci, F. Sollai, A. Rescigno, y E. Sanjust, «Degradation of Alizarin Red S under mild experimental conditions by immobilized 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphine-Mn(III) as a biomimetic peroxidase-like catalyst», *J Mol Catal A Chem*, vol. 288, n.º 1-2, pp. 97-102, jun. 2008, doi: 10.1016/j.molcata.2008.04.001.
- [85] U. Ali Dar y S. U. Rehman Beig, «Remediation of methylene blue dye in aqueous solution using structurally diverse and porous In(III)chloride metalloporphyrins», *J Mol Struct*, vol. 1273, n.º 134372, feb. 2023.
- [86] R. Lyubimenko, D. Busko, B. S. Richards, A. I. Schäfer, y A. Turshatov, «Efficient Photocatalytic Removal of Methylene Blue Using a Metalloporphyrin-Poly(vinylidene fluoride) Hybrid Membrane in a Flow-Through Reactor», *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 11, n.º 35, pp. 31763-31776, sep. 2019, doi: 10.1021/acsami.9b04601.
- [87] P. Zucca, C. M. B. Neves, M. M. Q. Simões, M. D. G. P. M. S. Neves, G. Cocco, y E. Sanjust, «Immobilized lignin peroxidase-like metalloporphyrins as reusable catalysts in oxidative bleaching of industrial dyes», *Molecules*, vol. 21, n.º 7, pp. 1-40, 2016, doi: 10.3390/molecules21070964.
- [88] J. A. Akkara, J. Wang, D. P. Yang, y K. E. Gonsalves, «Hematin-catalyzed polymerization of phenol compounds», *Macromolecules*, vol. 33, n.º 7, pp. 2377-2382, 2000, doi: 10.1021/ma9906534.
- [89] H. B. Dunford, *Heme Peroxidases*, John Wiley. New York: John Wiley, 1999.
- [90] K. N. Olafson, M. A. Ketchum, J. D. Rimer, y P. G. Vekilov, «Mechanisms of hematin crystallization and inhibition by the antimalarial drug chloroquine», *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 112, n.º 16, pp. 4946-4951, 2015, doi: 10.1073/pnas.1501023112.
- [91] S. Auparakkitanon, W. Noonpakdee, R. K. Ralph, W. A. Denny, y P. Wilairat, «Antimalarial 9-Anilinoacridine Compounds Directed at Hematin», *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 47, n.º 12, pp. 3708-3712, 2003, doi: 10.1128/AAC.47.12.3708-3712.2003.

- [92] A. Córdoba, N. Alasino, M. Asteasuain, I. Magario, y M. L. Ferreira, «Mechanistic evaluation of hematin action as a horseradish peroxidase biomimetic on the 4-aminoantipyrine/phenol oxidation reaction», *Chem Eng Sci*, vol. 129, pp. 249-259, 2015, doi: 10.1016/j.ces.2015.02.031.
- [93] V. T. Nguyen *et al.*, «Cytocompatible dendrimer G3.0-hematin nanoparticle with high stability and solubility for mimicking horseradish peroxidase activity in in-situ forming hydrogel», *Int J Biol Macromol*, vol. 177, pp. 360-369, 2021.
- [94] P. Kord Forooshani *et al.*, «Hydroxyl Radical Generation through the Fenton-like Reaction of Hematin- And Catechol-Functionalized Microgels», *Chemistry of Materials*, vol. 32, n.º 19, pp. 8182-8194, 2020, doi: 10.1021/acs.chemmater.0c01551.
- [95] S. Pirillo, F. S. García Einschlag, E. H. Rueda, y M. L. Ferreira, «Horseradish peroxidase and hematin as biocatalysts for alizarin degradation using hydrogen peroxide», *Ind Eng Chem Res*, vol. 49, n.º 15, pp. 6745-6752, 2010, doi: 10.1021/ie901528y.
- [96] S. Sakai, K. Moriyama, K. Taguchi, y K. Kawakami, «Hematin is an alternative catalyst to horseradish peroxidase for in situ hydrogelation of polymers with phenolic hydroxyl groups in vivo», *Biomacromolecules*, vol. 11, n.º 8, pp. 2179-2183, ago. 2010, doi: 10.1021/bm100623k.
- [97] H. Wei y E. Wang, «Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): Next-generation artificial enzymes», *Chem Soc Rev*, vol. 42, n.º 14, pp. 6060-6093, jun. 2013, doi: 10.1039/c3cs35486e.
- [98] L. Gao *et al.*, «Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles», *Nat Nanotechnol*, vol. 2, n.º 9, pp. 577-583, 2007, doi: 10.1038/nnano.2007.260.
- [99] A. Mirzaei, Z. Chen, F. Haghghat, y L. Yerushalmi, «Removal of pharmaceuticals from water by homo/heterogeneous Fenton-type processes – A review», *Chemosphere*, vol. 174, pp. 665-688, 2017, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.019.
- [100] M. Munoz, Z. M. de Pedro, J. A. Casas, y J. J. Rodriguez, «Preparation of magnetite-based catalysts and their application in heterogeneous Fenton oxidation

- A review», *Appl Catal B*, vol. 176-177, pp. 249-265, 2015, doi: 10.1016/j.apcatb.2015.04.003.
- [101] N. D. Kandpal, N. Sah, R. Loshali, R. Joshi, y J. Prasad, «Co-precipitation method of synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles», *J Sci Ind Res (India)*, vol. 73, pp. 87-90, 2014.
- [102] A. Ali *et al.*, «Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles», *Nanotechnol Sci Appl*, vol. 9, pp. 49-67, 2016, doi: 10.2147/NSA.S99986.
- [103] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, y W. S. Kim, «Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications», *Sci Technol Adv Mater*, vol. 16, n.º 2, p. 023501, 2015, doi: 10.1088/1468-6996/16/2/023501.
- [104] K. K. Kefeni, T. A. M. Msagati, y B. B. Mamba, «Ferrite nanoparticles: Synthesis, characterisation and applications in electronic device», *Mater Sci Eng B Solid State Mater Adv Technol*, vol. 215, pp. 37-55, 2017, doi: 10.1016/j.mseb.2016.11.002.
- [105] M. R. Ghazanfari, M. Kashefi, S. F. Shams, y M. R. Jaafari, «Perspective of Fe₃O₄ Nanoparticles Role in Biomedical Applications», *Biochem Res Int*, vol. 2016, pp. 1-32, 2016, doi: 10.1155/2016/7840161.
- [106] M. Kaur, N. Kaur, y Vibha, «Ferrites: Synthesis and Applications for Environmental Remediation», en *Ferrites and Ferrates: Chemistry and Applications in Sustainable Energy and Environmental Remediation. ACS Symposium Series*, vol. 1238, S. et Al., Ed., Washington, DC: American Chemical Society, 2016, pp. 113-136. doi: 10.1021/bk-2016-1238.ch004.
- [107] M. Usman *et al.*, «Magnetite and Green Rust: Synthesis, Properties, and Environmental Applications of Mixed-Valent Iron Minerals», *Chem Rev*, vol. 118, n.º 7, pp. 3251-3304, 2018, doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00224.
- [108] A. V. Rane, K. Kanny, V. K. Abitha, y S. Thomas, «Methods for Synthesis of Nanoparticles and Fabrication of Nanocomposites», en *Synthesis of Inorganic Nanomaterials*, Elsevier Ltd., 2018, pp. 121-139. doi: 10.1016/b978-0-08-101975-7.00005-1.

- [109] A. S. Teja y P. Y. Koh, «Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles», *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, vol. 55, n.º 1-2, pp. 22-45, 2009, doi: 10.1016/j.pcrysgrow.2008.08.003.
- [110] A. Ghosh, V. Srinivas, y R. Sundara, «Comprehensive structural and magnetic properties of iron oxide nanoparticles synthesized through chemical routes», *J Alloys Compd*, vol. 818, p. 152931, 2019, doi: 10.1016/j.jallcom.2019.152931.
- [111] J. Wallyn, N. Anton, y T. F. Vandamme, «Synthesis, principles, and properties of magnetite nanoparticles for in vivo imaging applications—A review», *Pharmaceutics*, vol. 11, n.º 11, pp. 601-630, 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11110601.
- [112] E. Cali *et al.*, «Functionalised magnetic nanoparticles for uranium adsorption with ultra-high capacity and selectivity», *J Mater Chem A Mater*, vol. 6, n.º 7, pp. 3063-3073, 2018, doi: 10.1039/c7ta09240g.
- [113] K. Zhu, Y. Ju, J. Xu, Z. Yang, S. Gao, y Y. Hou, «Magnetic Nanomaterials: Chemical Design, Synthesis, and Potential Applications», *Acc Chem Res*, vol. 51, n.º 2, pp. 404-413, 2018, doi: 10.1021/acs.accounts.7b00407.
- [114] M. Sajid y J. Płotka-Wasyłka, «Nanoparticles: Synthesis, characteristics, and applications in analytical and other sciences», *Microchemical Journal*, vol. 154, p. 104623, 2020, doi: 10.1016/j.microc.2020.104623.
- [115] Z. Chen *et al.*, «Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity», *ACS Nano*, vol. 6, n.º 5, pp. 4001-4012, 2012, doi: 10.1021/nm300291r.
- [116] M. Xiao, N. Li, y S. Lv, «Iron oxide magnetic nanoparticles exhibiting zymolyase-like lytic activity», *Chemical Engineering Journal*, vol. 394, p. 125000, 2020, doi: 10.1016/j.cej.2020.125000.
- [117] H. Wei y E. Wang, «Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): Next-generation artificial enzymes», *Chem Soc Rev*, vol. 42, n.º 14, pp. 6060-6093, 2013, doi: 10.1039/c3cs35486e.

- [118] L. Gao, K. Fan, y X. Yan, «Iron oxide nanozyme: A multifunctional enzyme mimetic for biomedical applications», *Theranostics*, vol. 7, n.º 13, pp. 3207-3227, 2017, doi: 10.7150/thno.19738.
- [119] M. F. Horst, V. Lassalle, y M. L. Ferreira, «Nanosized magnetite in low cost materials for remediation of water polluted with toxic metals, azo- and antraquinonic dyes», *Front Environ Sci Eng*, vol. 9, n.º 5, pp. 746-769, 2015, doi: 10.1007/s11783-015-0814-x.
- [120] P. Nicolás, G. S. López Pugini, F. Horst, V. Lasalle, y M. L. Ferreira, «Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes», *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.
- [121] Y. Gao *et al.*, «Fe₃O₄ Anisotropic Nanostructures in Hydrogels: Efficient Catalysts for the Rapid Removal of Organic Dyes from Wastewater», *ChemPhysChem*, vol. 17, pp. 1-10, 2016, doi: 10.1002/cphc.201600117.
- [122] P. Bautista, A. F. Mohedano, J. A. Casas, J. A. Zazo, y J. J. Rodriguez, «An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment», *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 83, n.º June, pp. 1323-1338, 2008, doi: 10.1002/jctb.
- [123] H. R. Zebardast, S. Rogak, y E. Asselin, «Kinetics of decomposition of hydrogen peroxide on the surface of magnetite at high temperature», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 705, pp. 30-36, 2013, doi: 10.1016/j.jelechem.2013.06.019.
- [124] J. S. Trujillo Hernandez, A. A. Muriel, J. A. Tabares, G. A. P. Alcázar, y A. Bolaños, «Preparation of Fe₃O₄ nanoparticles and removal of methylene blue through adsorption», *J Phys Conf Ser*, vol. 614, n.º 1, p. 012007, 2015, doi: 10.1088/1742-6596/614/1/012007.
- [125] Á. de J. Ruíz-Baltazar, S. Y. Reyes-López, M. de L. Mondragón-Sánchez, A. I. Robles-Cortés, y R. Pérez, «Eco-friendly synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles: Evaluation of their catalytic activity in methylene blue degradation by kinetic adsorption models», *Results Phys*, vol. 12, n.º October 2018, pp. 989-995, 2019, doi: 10.1016/j.rinp.2018.12.037.

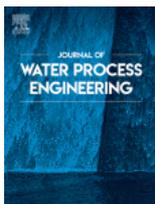
- [126] A. Dadwal y P. A. Joy, «Influence of chain length of long-chain fatty acid surfactant on the thermal conductivity of magnetite nanofluids in a magnetic field», *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 555, pp. 525-531, 2018, doi: 10.1016/j.colsurfa.2018.07.034.
- [127] Z. Monsef Khoshhesab y N. Modaresnia, «Adsorption of Acid Black 210 and Remazol Brilliant Blue R onto magnetite nanoparticles», *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, vol. 49, n.º 8, pp. 231-239, 2019, doi: 10.1080/24701556.2019.1659820.
- [128] C. H. Weng, Y. T. Lin, C. L. Yeh, y Y. C. Sharma, «Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for adsorptive removal of acid dye (new cocchine) from aqueous solutions», *Water Science and Technology*, vol. 62, n.º 4, pp. 844-851, 2010, doi: 10.2166/wst.2010.310.
- [129] N. Tara, S. I. Siddiqui, G. Rathi, S. A. Chaudhry, Inamuddin, y A. M. Asiri, «Nano-engineered Adsorbent for the Removal of Dyes from Water: A Review», *Curr Anal Chem*, vol. 16, n.º 1, pp. 14-40, 2019, doi: 10.2174/1573411015666190117124344.
- [130] F. Mashkooor y A. Nasar, «Magsorbents: Potential candidates in wastewater treatment technology – A review on the removal of methylene blue dye», *J Magn Magn Mater*, vol. 500, p. 166408, 2020, doi: 10.1016/j.jmmm.2020.166408.
- [131] F. Attar *et al.*, «Nanozymes with intrinsic peroxidase-like activities», *J Mol Liq*, vol. 278, pp. 130-144, 2019, doi: 10.1016/j.molliq.2018.12.011.
- [132] J. Deng, X. Wen, y J. Li, «Fabrication highly dispersed Fe₃O₄ nanoparticles on carbon nanotubes and its application as a mimetic enzyme to degrade Orange II», *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 37, n.º 17, pp. 2214-2221, 2016, doi: 10.1080/09593330.2016.1146339.
- [133] S. Song *et al.*, «Ultrasmall Graphene Oxide Modified with Fe₃O₄ Nanoparticles as a Fenton-Like Agent for Methylene Blue Degradation», *ACS Appl Nano Mater*, vol. 2, n.º 11, pp. 7074-7084, 2019, doi: 10.1021/acsanm.9b01608.

- [134] S. Datta, L. R. Christena, y Y. R. S. Rajaram, «Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials», *3 Biotech*, vol. 3, n.º 1, pp. 1-9, feb. 2013, doi: 10.1007/s13205-012-0071-7.
- [135] V. L. Sirisha, A. Jain, y A. Jain, «Enzyme Immobilization: An Overview on Methods, Support Material, and Applications of Immobilized Enzymes», en *Advances in Food and Nutrition Research*, vol. 79, Academic Press Inc., 2016, pp. 179-211. doi: 10.1016/bs.afnr.2016.07.004.
- [136] M. L. Verma, S. Kumar, A. Das, J. S. Randhawa, y M. Chamundeeswari, «Chitin and chitosan-based support materials for enzyme immobilization and biotechnological applications», 1 de marzo de 2020, *Springer*. doi: 10.1007/s10311-019-00942-5.
- [137] J. Zdarta, A. S. Meyer, T. Jesionowski, y M. Pinelo, «A general overview of support materials for enzyme immobilization: Characteristics, properties, practical utility», 24 de febrero de 2018, *MDPI*. doi: 10.3390/catal8020092.
- [138] Q. Li, E. T. Dunn, E. W. Grandmaison, y M. F. A. Goosen, «Chapter 1 - Applications and Properties of Chitosan», en *Applications of Chitin and Chitosan*, CRC Press., M. F. A. Goosen, Ed., 1997, pp. 3-29.
- [139] W. S. W. Ngah, C. S. Endud, y R. Mayanar, «Removal of copper (II) ions from aqueous solution onto chitosan and cross-linked chitosan beads», vol. 50, pp. 181-190, 2002, doi: 10.1016/S1381-5148(01)00113-4.
- [140] E. S. de Alvarenga, «Chapter 5 - Characterization and Properties of Chitosan», en *Biotechnology of Biopolymers*, M. Elnashar, Ed., 2011, pp. 91-108.
- [141] S. B. Khan, F. Ali, T. Kamal, Y. Anwar, A. M. Asiri, y J. Seo, «CuO embedded chitosan spheres as antibacterial adsorbent for dyes», *Int J Biol Macromol*, vol. 88, pp. 113-119, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.03.026.
- [142] K. S. Huang *et al.*, «Synthesis and characterization of oil-chitosan composite spheres», *Molecules*, vol. 18, n.º 5, pp. 5749-5760, 2013, doi: 10.3390/molecules18055749.

- [143] W. S. W. Ngah y S. Fatinathan, «Adsorption of Cu (II) ions in aqueous solution using chitosan beads , chitosan – GLA beads and chitosan – alginate beads», vol. 143, pp. 62-72, 2008, doi: 10.1016/j.cej.2007.12.006.
- [144] E. S. Dragan, D. F. Apopei Loghin, y A. I. Cocarta, «Efficient sorption of Cu²⁺ by composite chelating sorbents based on potato starch- Graft -Polyamidoxime embedded in chitosan beads», *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 6, n.º 19, pp. 16577-16592, 2014, doi: 10.1021/am504480q.
- [145] A. S. Eltaweil *et al.*, «Chitosan based adsorbents for the removal of phosphate and nitrate: A critical review», *Carbohydr Polym*, vol. 274, n.º September, p. 118671, 2021, doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118671.
- [146] A. M. Omer, R. Dey, A. S. Eltaweil, E. M. Abd El-Monaem, y Z. M. Ziora, «Insights into recent advances of chitosan-based adsorbents for sustainable removal of heavy metals and anions», *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 15, n.º 2, p. 103543, 2022, doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103543.
- [147] L. R. da Silva *et al.*, «Application of Photo-Fenton oxidative process followed by adsorption in dairy effluents treatment», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 68, p. 106365, dic. 2024, doi: 10.1016/j.jwpe.2024.106365.
- [148] Y. Niu, J. Wu, Y. Kang, P. Sun, Z. Xiao, y D. Zhao, «Recent advances of magnetic chitosan hydrogel: Preparation, properties and applications», *Int J Biol Macromol*, vol. 247, ago. 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125722.

PUBLICACIONES ASOCIADAS

Como resultado de la búsqueda bibliográfica inicial se publicaron dos artículos de revisión.



Journal of Water Process Engineering. “Challenges of dye removal treatments based on IONzymes: Beyond heterogeneous Fenton.” Autoras: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. 41 (2021) 102065. Doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102065



Science of the Total Environment. “Potential applications of spent adsorbents and catalysts: Re-valorization of waste.” Autoras: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. 823 (2022) 153370. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153370

Capítulo II

Metodologías experimentales

2.1. Introducción

En este capítulo se describen las metodologías experimentales comunes a todo el trabajo de tesis. Adicionalmente, se enumeran las técnicas de caracterización que fueron utilizadas durante el desarrollo del trabajo experimental, con un breve fundamento teórico y los equipos empleados. Las metodologías particulares de cada capítulo se detallarán en las secciones correspondientes.

2.2. Métodos experimentales

2.2.1. Reactivos

Ácido clorhídrico (HCl) 36,5-38%, sal de Mohr (sulfato de amonio ferroso, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y H_2O_2 30% p/v (100 vol.) fueron provistos por Cicarelli (Santa Fe, Argentina). Tris buffer (tris-hidroximetil-amino metano, $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) fueron provistos por Anedra (Buenos Aires, Argentina). Se utilizó permanganato de potasio (KMnO_4) de Química Industrial Bahiense (Bahía Blanca, Argentina).

2.2.2. Preparación de solución buffer Tris-HCl

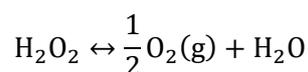
Para preparar 500 mL de solución 0,1 M, 6 g de Tris buffer se disolvieron en 375 mL de agua destilada bajo agitación magnética. Se ajustó el pH a 9,4 con una solución de HCl 1 M, midiendo continuamente con pHmetro. Se trasvasó el volumen a un matraz aforado enjuagando reiteradas veces el vaso de precipitado, y se llevó a volumen final de 500 mL con agua destilada. El pH final se verificó con pHmetro (Ohaus ST20 pH Pen Meter) y tiras de determinación de pH (Whatman).

2.2.3. Titulación por permanganometría

La concentración de H₂O₂ comercial se expresa en volúmenes, indicando el volumen de oxígeno que, en condiciones normales de temperatura y presión (273 K y 1 atm), pueden formarse por descomposición del H₂O₂ contenido en una unidad de volumen de muestra. La reacción de descomposición se presenta en la Ecuación 2.1. De este modo, la concentración de una solución de 30% p/v de H₂O₂ corresponde a 100 vol. (Ecuación 2.2).

Se presenta el diagrama de Latimer para el oxígeno en condiciones ácidas (Ecuación 2.3). La especie a la derecha (H₂O) presenta un potencial mayor que el de la especie a la izquierda (O₂), lo cual indica que el H₂O₂ va a tender a desproporcionarse formando los productos de oxidación. Se calcula el potencial normal de la reacción global, E°, (+1,76 V) – (+0,70 V) = +1,06 V, y dado que este valor es mayor a cero, se verifica que la descomposición es espontánea.

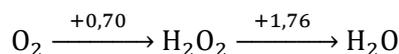
Ecuación 2.1 – Descomposición del peróxido de hidrógeno.



Ecuación 2.2 – Volumen de O₂ generado por descomposición de 1 mol de H₂O₂ 30% p/v en condiciones normales de temperatura y presión (273 K y 1 atm).

$$\frac{30 \text{ g H}_2\text{O}_2}{100 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{\text{L}} \times \frac{1 \text{ mol H}_2\text{O}_2}{34 \text{ g H}_2\text{O}_2} \times \frac{1 \text{ mol O}_2}{2 \text{ mol H}_2\text{O}_2} \times \frac{22,4 \text{ L}}{1 \text{ mol O}_2} \sim 100 \text{ L O}_2$$

Ecuación 2.3 – Diagrama de Latimer para el oxígeno.

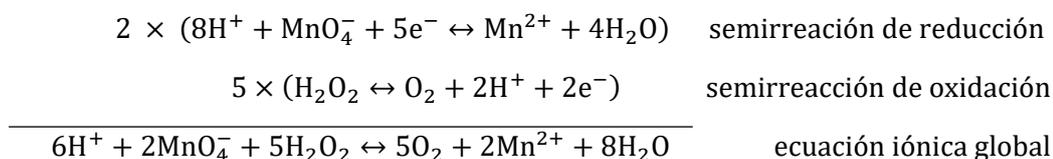


La inestabilidad del H₂O₂ exige su titulación antes de utilizarse. Si bien normalmente actúa como un oxidante, también puede comportarse como un reductor si reacciona con un oxidante más fuerte, como el permanganato de potasio (KMnO₄). Por lo tanto, para titular el H₂O₂ se utiliza una volumetría redox directa con KMnO₄ (permanganometría).

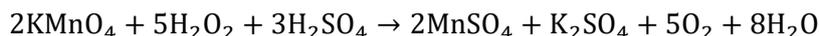
El KMnO₄ es ampliamente utilizado como agente de valoración dado que, además de ser un oxidante fuerte, es auto indicador. A continuación, se presenta la reacción iónica ajustada (Ecuación 2.4) y la reacción global ajustada (Ecuación 2.5) de valoración de H₂O₂ con KMnO₄. La reacción de reducción del ión permanganato a ión manganeso (Mn²⁺) ocurre sólo en soluciones de concentración igual o mayor de 0,1000 M de ácido

fuerte (ácido sulfúrico, H₂SO₄, es comúnmente usado). En soluciones ácidas, el Mn²⁺ es la especie más estable, según diagrama de Frost para el manganeso [1]. En soluciones neutras o levemente alcalinas el producto de reducción es el MnO₂, mientras que en soluciones fuertemente alcalinas se produce MnO₄²⁻. Experiencias previas en el grupo de Catálisis con soluciones de KMnO₄ evidenciaron que la pureza del H₂SO₄ que se utiliza es un parámetro relevante. Si el ácido contiene algún producto de degradación, genera inconvenientes en la estabilidad de la solución, y consecuentemente en la titulación del H₂O₂. Por ende, el KMnO₄ debe ser titulado con Sal de Mohr.

Ecuación 2.4 – Reacción iónica ajustada.



Ecuación 2.5 – Reacción global ajustada.



El procedimiento de titulación consiste en medir el volumen de la disolución de oxidante (V_{OX}, KMnO₄) necesario para que reaccione con el volumen de la solución reductora (V_{RED}, H₂O₂). Cuando se alcanza el punto de equivalencia, se cumple la relación presentada en la Ecuación 2.6, donde N_{OX} y N_{RED} es la concentración de la disolución de oxidante y reductor, respectivamente. El ion Mn²⁺ es incoloro, al alcanzar el punto de equivalencia aparece un color púrpura tenue, debido al exceso de MnO₄⁻ [2].

Ecuación 2.6 – Relación válida en el punto de equivalencia.

$$N_{\text{OX}} \times V_{\text{OX}} = N_{\text{RED}} \times V_{\text{RED}}$$

Las soluciones acuosas de KMnO₄ no son totalmente estables, porque sus iones tienden a oxidar el agua según la reacción presentada en la Ecuación 2.7. Esta es una reacción lenta, aunque catalizada por la luz, el calor, ácidos, bases, manganeso (II) y (IV) [2].

Ecuación 2.7 – Reacción de oxidación del agua por el ion permanganato.



Sin embargo, pueden prepararse soluciones moderadamente estables, si se minimiza el efecto de los catalizadores, principalmente el MnO₂. Este compuesto es un contaminante del KMnO₄ sólido, incluso el de mejor calidad. Asimismo, se forma en las

soluciones recién preparadas como consecuencia de la reacción del KMnO_4 con la materia orgánica y las partículas en suspensión, las cuales pueden estar presentes en el agua destilada empleada para la preparación de soluciones. Por lo tanto, para preparar y mantener las soluciones de KMnO_4 se toman las siguientes precauciones: (I) disminuir presencia de MnO_2 preparando la solución de KMnO_4 y dejando reposar una noche (para que la reacción de la Ecuación 2.7 alcance el equilibrio); (II) evitar la acción de la luz guardando en frascos color caramelo y en la oscuridad.

Solución acidificada de permanganato de potasio 0,05 N

Para preparar 100 mL de solución 0,05 N acidificada con H_2SO_4 se disolvieron 0,158 g de KMnO_4 en 80 mL de agua destilada bajo agitación magnética. Se acidificó la solución definiendo una concentración aproximada a 0,15 M de H_2SO_4 . Para ello, se preparó una dilución 1:5 de H_2SO_4 98 % p/p, y se añadió 4,1 mL a la solución de KMnO_4 . Se trasvasó la solución a matraz aforado, lavando reiteradamente el vaso de precipitado. Finalmente, se llevó a volumen final de 100 mL en matraz aforado.

Solución de sal de Mohr

Para preparar 10 mL de solución de sal de Mohr 0,05 N, se disolvieron 0,196 g en agua destilada llevando a volumen en matraz aforado.

Titulación de solución de KMnO_4

Para la determinación de la concentración de KMnO_4 , se tomó 1 mL de solución de sal de Mohr y se colocó en Erlenmeyer. Con bureta se goteó la solución de KMnO_4 0,05 N acidificada, registrando el volumen consumido hasta alcanzar el punto de equivalencia (momento en que la solución de sal de Mohr adquiere tonalidad rosada/violeta). Se calculó la concentración de KMnO_4 aplicando la Ecuación 2.6 con los datos de concentración y volumen de la solución de sal de Mohr, y el volumen consumido de KMnO_4 . Se realizó cada vez el procedimiento por triplicado.

Titulación de solución de peróxido de hidrógeno por permanganometría

Para la determinación de la concentración de H_2O_2 se tomó 1 mL de solución y se colocó en Erlenmeyer. Se repitió el procedimiento de titulación previamente descrito para la determinación de la concentración del KMnO_4 . Se realizó el procedimiento por triplicado.

2.3. Técnicas de caracterización

Las diversas técnicas de caracterización empleadas durante la síntesis y aplicación de los sólidos sintetizados se resumen en la Tabla 2.1. Se describe brevemente el fundamento de cada una, se reportan los equipos utilizados y las condiciones en que se realizaron los análisis.

Tabla 2.1 – Técnicas de caracterización y equipamiento utilizado durante la síntesis y aplicación de los sólidos sintetizados.

Técnica	Información obtenida	Equipamiento
Espectroscopía UV-Vis	Espectros de absorción UV-Vis. Curvas de calibrado para el cálculo de concentraciones de analitos en solución.	Espectrofotómetro PG T60
ICP-AES	Contenido de hierro en solución.	Shimadzu Simultáneo 9000
FTIR -DRIFTS	Cambios estructurales en la conformación de los sólidos sintetizados.	Espectrómetro Thermo Nicolet Nexus
SEM EDX	Morfología superficial. Análisis elemental cualitativo.	Microscopio electrónico de barrido de presión variable LEO EVO 40-XVP. Sistema de microanálisis por dispersión de energía Oxford X-max 50.
TEM	Tamaño y morfología de partícula.	JEOL 100 CX II CCDGATANES1000W
DRX	Información cristalográfica de óxidos de hierro.	PHILIPS PW con ánodo de cobre y monocromador curvo de grafito
DQO, DBO y COT	Parámetros de calidad de soluciones acuosas.	Instrumental de Laboratorios IACA (Bahía Blanca)
Conductividad		Conductímetro TDS meter 3
PZC	Valor de pH en que la superficie del sólido es neutra.	pHmetro Ohaus ST20

2.3.1. Espectroscopía ultravioleta - visible (UV-Vis)

La espectroscopía UV-Vis es una técnica analítica que permite la determinación de la concentración de analitos en solución. El fundamento radica en que la relación entre la absorción de radiación por parte de las moléculas y la concentración del analito es lineal.

La radiación UV-Vis es capaz de producir transiciones de los electrones en las moléculas hacia niveles energéticos superiores. Cuando se irradia con luz de longitud de onda apropiada ocurre una excitación electrónica que se traduce en bandas de absorción en las regiones UV-Vis [3]. A cada estado fundamental, molecular o atómico, le corresponde uno excitado, donde el electrón pasa manteniendo su espín. Los orbitales moleculares en el estado fundamental son enlazantes (están formando enlaces) mientras que en los excitados son antienlazantes (el enlace se ha roto). En el estado fundamental puede haber más de un orbital enlazante, siendo aquel de mayor energía denominado HOMO (*High Occupied Molecular Orbital*) y correspondientemente, el orbital antienlazante de menor energía y por ende más próximo en energía al HOMO, se denomina LUMO (*Low Unoccupied Molecular Orbital*). Debido a que las transiciones más probables son aquellas que tienen lugar con el menor cambio energético, al excitar una molécula, la transición más probable será HOMO → LUMO.

En la Figura 2.1 se presenta un esquema de las transiciones electrónicas. Estas pueden darse con electrones involucrados en orbitales σ , π (orbitales enlazantes) y electrones no enlazantes presentes en orbitales n hacia estados de mayor energía siendo los orbitales σ^* y π^* (orbitales antienlazantes). Las moléculas orgánicas absorben radiación UV-Vis como resultado de la interacción entre fotones y electrones que forman parte de enlaces dobles o triples, o que están localizados en los orbitales atómicos de O, S, N y halógenos [4]. Los grupos funcionales orgánicos insaturados responsables de absorber la radiación UV-Vis se conocen como cromóforos. Los compuestos orgánicos saturados que contienen heteroátomos (O, N, S o halógenos) tienen electrones no enlazados que pueden ser excitados por radiación cuya longitud de onda se encuentre entre 170 a 250 nm.

Los espectros de absorción representan la absorbancia (Abs) en función de la longitud de onda, λ (nm), de una muestra frente a un blanco compuesto por la matriz que contiene al analito. El compuesto absorbe en este rango de radiación electromagnética debido a la presencia de un cromóforo en su estructura. La Abs se relaciona con la concentración del analito absorbente mediante la Ley de Lambert - Beer (Ecuación 2.8) [5], [6]:

Ecuación 2.8 – Ley de Lambert - Beer.

$$\text{Abs} = -\log T = \epsilon bc$$

Donde ϵ es el coeficiente de absorptividad molar o coeficiente de extinción molar; b es el recorrido óptico; y c es la concentración del analito. La Ley de Lambert - Beer se cumple en soluciones diluidas dado que, en concentraciones elevadas, ϵ varía con la concentración debido a fenómenos de dispersión de la luz, agregación de moléculas, cambios en el medio, entre otros.

La absorción máxima de radiación UV-Vis, absorbancia característica ($Abs_{m\acute{a}x}$), de una determinada sustancia bajo análisis se presenta en un valor específico de λ ($\lambda_{Abs\ m\acute{a}x}$). Las curvas de calibrado y el posterior cálculo experimental del ϵ , se realizan en función de la absorbancia en $\lambda_{Abs\ m\acute{a}x}$ para diferentes concentraciones del analito. Asimismo, la localización e intensidad del pico de $Abs_{m\acute{a}x}$ es relevante en ensayos de tipo cinético a través de mediciones espectrales. Entre los parámetros que afectan los espectros de absorción UV-Vis de las sustancias se encuentran la fuerza iónica, el pH del medio solvente, la concentración en solución y la presencia de otros iones.

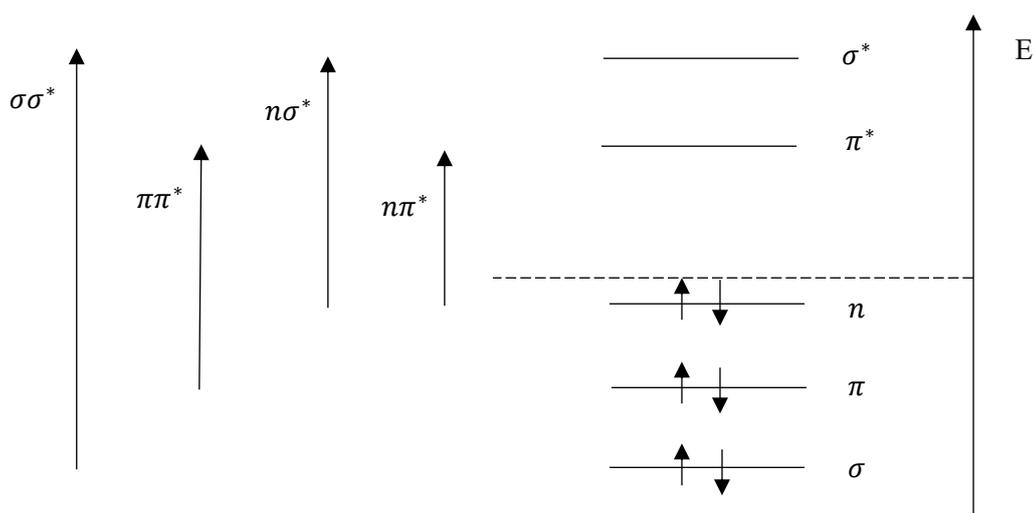


Figura 2.1 – Esquema de las transiciones electrónicas.

Esta técnica se utilizó para asignar las bandas de absorción registradas en longitudes de ondas específicas con las transiciones electrónicas de los cromóforos de los analitos en solución. Para la determinación de concentraciones de estas sustancias, se construyeron curvas de calibrado, calculando los coeficientes de extinción correspondientes, los cuales fueron cotejados con la literatura. Las muestras analizadas por esta técnica requirieron diferentes blancos y diluciones que serán debidamente descritos en los capítulos correspondientes. Todas las medidas se realizaron con un

espectrofotómetro PG T-60 (Lutterworth, Reino Unido) usando una cubeta de cuarzo con un recorrido óptico de 1 cm.

2.3.2. Espectrometría de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES)

La técnica ICP-AES permite determinar simultáneamente y en forma cuantitativa elementos químicos en concentraciones bajas, e incluso trazas. El fundamento radica en la introducción de una muestra líquida mediante un nebulizador hacia el interior de una mezcla gaseosa ionizada (plasma). El plasma se induce en una corriente de flujo de argón mediante un campo electromagnético de radiofrecuencia que se emite desde una bobina (Figura 2.2) [6]. En el plasma la muestra se encuentra en forma de átomos o iones independientes. Los electrones presentes en los átomos o iones se excitan (transiciones electrónicas) por el plasma, y cuando regresan a su estado fundamental, emiten radiación electromagnética característica del elemento en cuestión [4]. Esta radiación emitida es captada por un detector capaz de monitorear simultáneamente un gran rango de longitudes de onda. Para determinar la concentración de los átomos bajo análisis se realizan curvas de calibrado a partir de soluciones patrón certificadas para análisis de emisión atómica en ácido nítrico.

Las determinaciones en el presente trabajo fueron efectuadas con un espectrómetro ICP-AES Shimadzu Simultáneo 9000, según Norma EPA 200.7. Se empleó la metodología de calibración externa utilizando patrones certificados (Chem-Lab, Zedelgem B-8210, Bélgica), ácido nítrico previamente ultrapurificado (sub - boiled) mediante un destilador Berghof distill acid (BSB-939-IR, GmbH, Alemania) y agua ultrapura (Water Purification Systems Millipore - Milli Q, modelo Elix Technology Inside 10, Merck, France). El agua ultrapura presentó $0,05 \text{ mS cm}^{-1}$ de conductividad eléctrica y $18,2 \text{ MW cm}^{-1}$ de resistividad a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

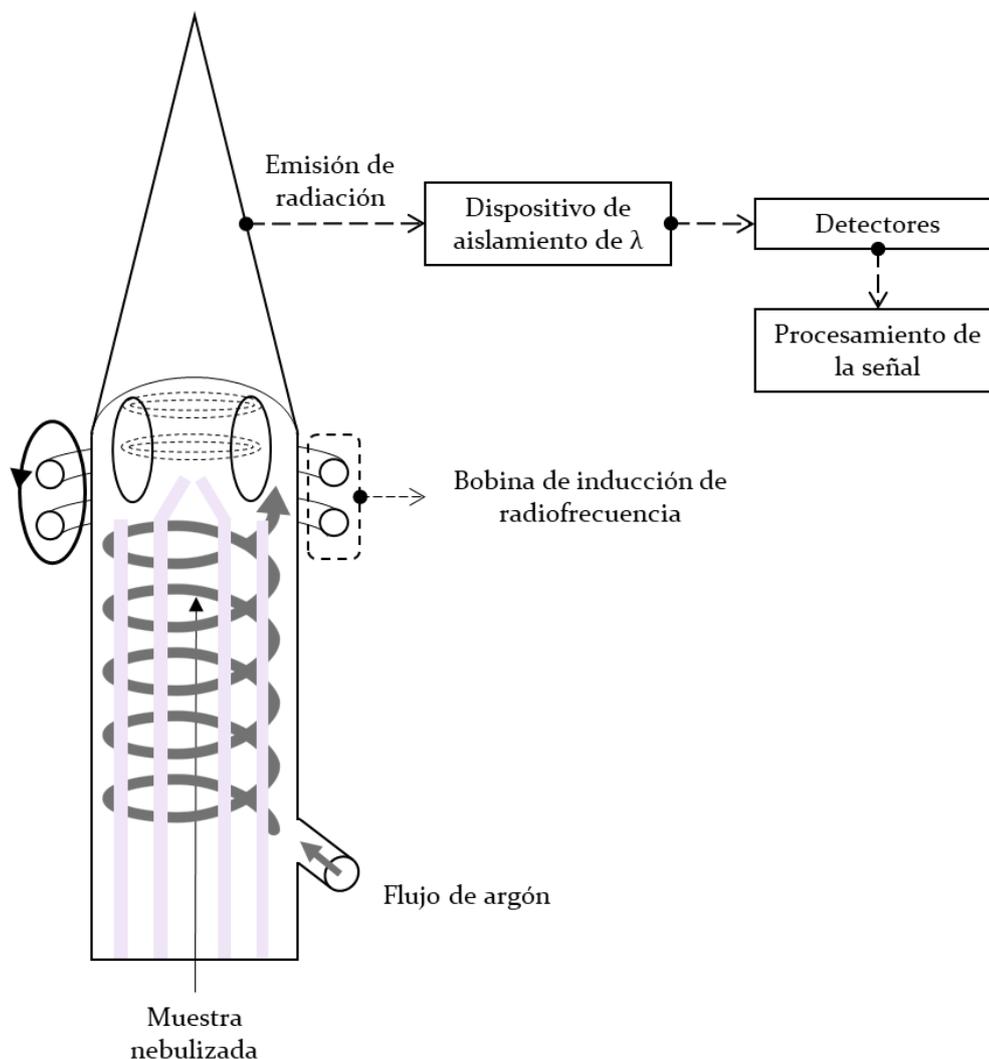


Figura 2.2 – Esquema del equipo ICP-AES. Adaptado de [4].

2.3.3. Espectroscopía de reflectancia difusa en el infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR-DRIFTS)

La espectroscopía molecular se basa en la interacción entre la radiación electromagnética y las moléculas. Particularmente, la técnica FTIR-DRIFTS permite detectar cambios en la estructura molecular de una muestra o identificar los grupos funcionales que la componen.

Los enlaces químicos dentro de las moléculas absorben la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético y la convierten en vibración molecular, dado que su energía no es suficiente para generar transiciones electrónicas. Los movimientos vibracionales incluyen cambios en la longitud del enlace (estiramiento) o en el ángulo del enlace (flexión) [7]. El espectrofotómetro posee un haz de referencia que permite cuantificar la cantidad de energía transmitida a la muestra en función de la longitud de onda (o número

de onda) determinada. De este modo, un espectro infrarrojo registra, a través de la transmitancia, los movimientos vibracionales de los enlaces dentro de una molécula.

Existen muestras sólidas complejas de manipular (películas y fibras de polímeros, alimentos, cauchos, productos agrícolas, entre otros) o que requieren ser analizadas sin introducir alteraciones significativas de su estado original [5]. Para estos casos se dispone de técnicas como la espectroscopía de reflexión en el infrarrojo medio ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$), que incluye la espectrometría de reflectancia difusa. La reflexión difusa tiene lugar cuando un haz de radiación choca con la superficie de un polvo fino opaco y no absorbente. La reflexión en superficies planas es especular (el ángulo de reflexión es igual al ángulo de incidencia) (Figura 2.3a). Dado que hay múltiples superficies planas y se encuentran orientadas en forma aleatoria (Figura 2.3b), el efecto global es una reflexión en todas direcciones posibles (reflectancia difusa, Figura 2.3c). La radiación reflejada es registrada por un detector y se obtiene el interferograma, el cual es digitalizado.

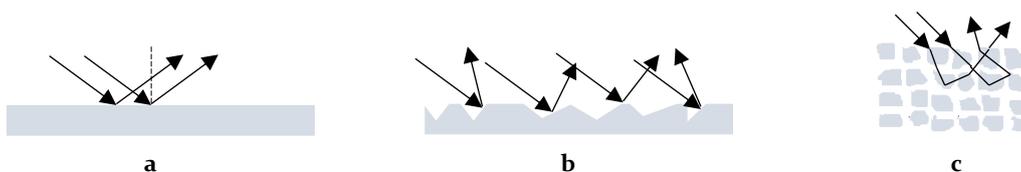


Figura 2.3 – Reflexión en materiales (a) especulares o (b) irregulares. (c) Reflectancia difusa.

Para el análisis de las muestras, se mezclaron de 2 a 20 mg de muestra con KBr seco, con una masa final de 200 mg, utilizando un mortero de ágata. El KBr es una sal transparente al infrarrojo. La mezcla homogénea de muestra y KBr se transfirió al portamuestra. Los espectros infrarrojos se obtuvieron en el rango comprendido entre $4000-400 \text{ cm}^{-1}$. El blanco corresponde a 200 mg de KBr puro previamente secado en estufa. El equipo se mantuvo purgado con nitrógeno. Todos los ensayos FTIR-DRIFTS se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Nicolet 6700 Smart Collector, Nexus Fourier.

2.3.4. Microscopía electrónica de barrido – Espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (SEM-EDX)

El microscopio electrónico de barrido se basa en el principio de la microscopía óptica, pero en lugar de una fuente de luz posee un cañón que genera un haz de electrones. La técnica SEM presenta una resolución mejorada de $0,2 \text{ \AA}$ frente a 2000 \AA del microscopio óptico.

El haz de electrones barre toda la superficie de la muestra y al interactuar con los átomos que la componen, se dispersa (*scattering*) [5]. Existen dos formas de dispersión de electrones: elástica, el electrón cambia su dirección sin perder energía; e inelástica, el electrón no modifica significativamente su dirección pero pierde energía. En la dispersión inelástica, la pérdida de energía de los electrones se transfiere a la muestra como calor y parte de esta energía escapa como electrones secundarios o rayos X (Figura 2.4). Estos constituyen la señal que será captada por detectores específicos. Los electrones secundarios son emitidos desde la muestra y brindan información de la topografía superficial (morfología, estructura y tamaño) a través de una imagen tipo 3D. Los rayos X característicos se producen cuando un electrón de un orbital interno de un átomo es desalojado por un electrón del haz incidente, la vacancia es llenada con un electrón de un orbital externo y el exceso de energía es liberado en forma de radiación electromagnética (rayos X). Cada orbital tiene una cantidad discreta de energía que es característica para cada elemento, por lo que la espectroscopía de rayos x de energía dispersiva (EDX) brinda información sobre la composición elemental de la muestra [8].

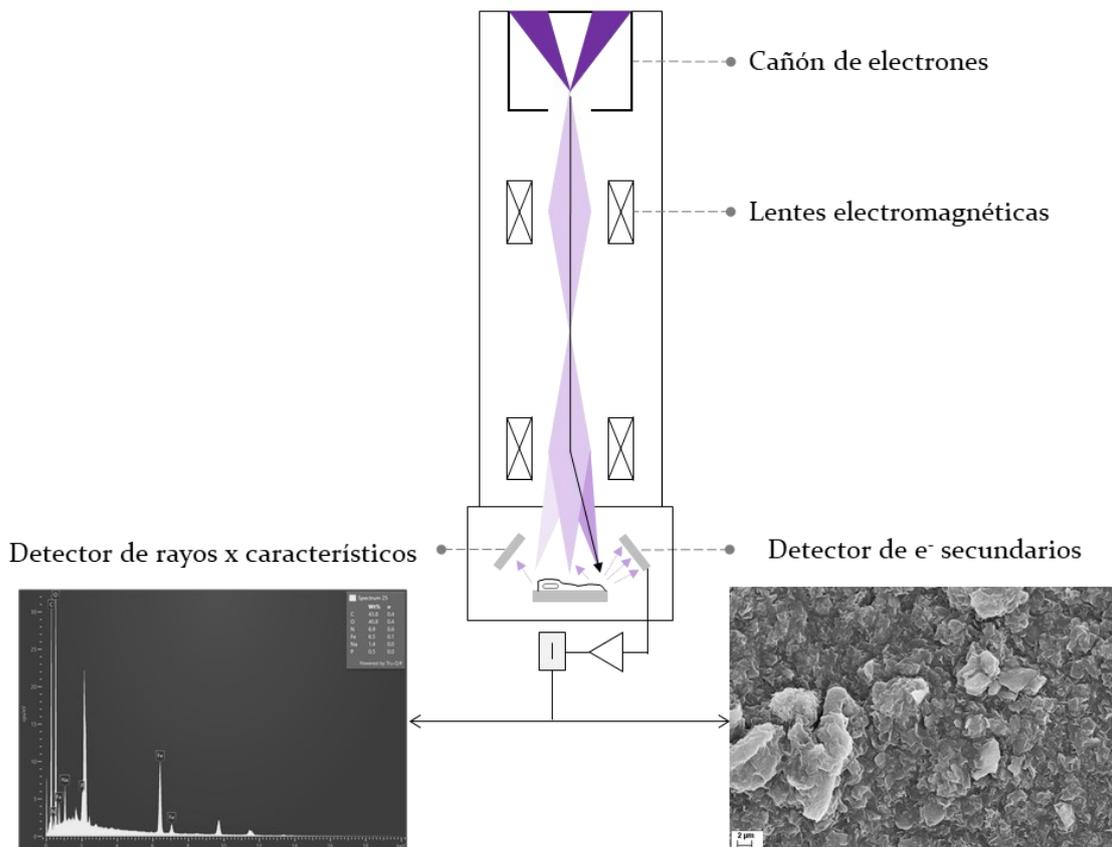


Figura 2.4 - Esquema de microscopía electrónica de barrido. Adaptado de [8].

Las muestras se analizaron con un microscopio electrónico de barrido de presión variable LEO EVO 40-XVP (Oberchoken, Alemania) equipado con un sistema de microanálisis por dispersión de energía Oxford X-max 50. Previo a su observación, las muestras se metalizaron con oro utilizando un equipo Pelco 91000 (Ted Pella, California, Estados Unidos).

2.3.5. Microscopía electrónica de Transmisión (TEM)

En el microscopio electrónico de transmisión, el haz de electrones atraviesa la muestra (Figura 2.5). Parte de la radiación es absorbida por la muestra en función del grosor y la composición de la misma, los electrones emergentes sufren un cambio en la amplitud. Por otro lado, los electrones son desacelerados en función de la composición elemental del material, lo cual genera un cambio en la fase. En términos de interpretación, a mayor número atómico, o igual promedio en número atómico, pero mayor grosor de muestra, hay una mayor dispersión de los electrones y se observan regiones más oscuras. De este modo se producen diferentes tipos de contrastes [9] en una imagen bidimensional con elevada resolución que permite obtener información acerca del tamaño, distribución de tamaño, dispersión y morfología. Las muestras deben ser delgadas (espesor $< 1000 \text{ \AA}$) con el fin de considerar que los electrones sufrirán como máximo un solo evento de *scattering*.

La caracterización por TEM se realizó utilizando un microscopio electrónico de transmisión JEOL modelo 100 CX II. Las nanopartículas fueron dispersadas y colocadas en un baño ultrasónico unos minutos para lograr buena dispersión. Esta solución se colocó en una grilla, se dejó secar a temperatura ambiente, y se introdujo en el portamuestra del microscopio.

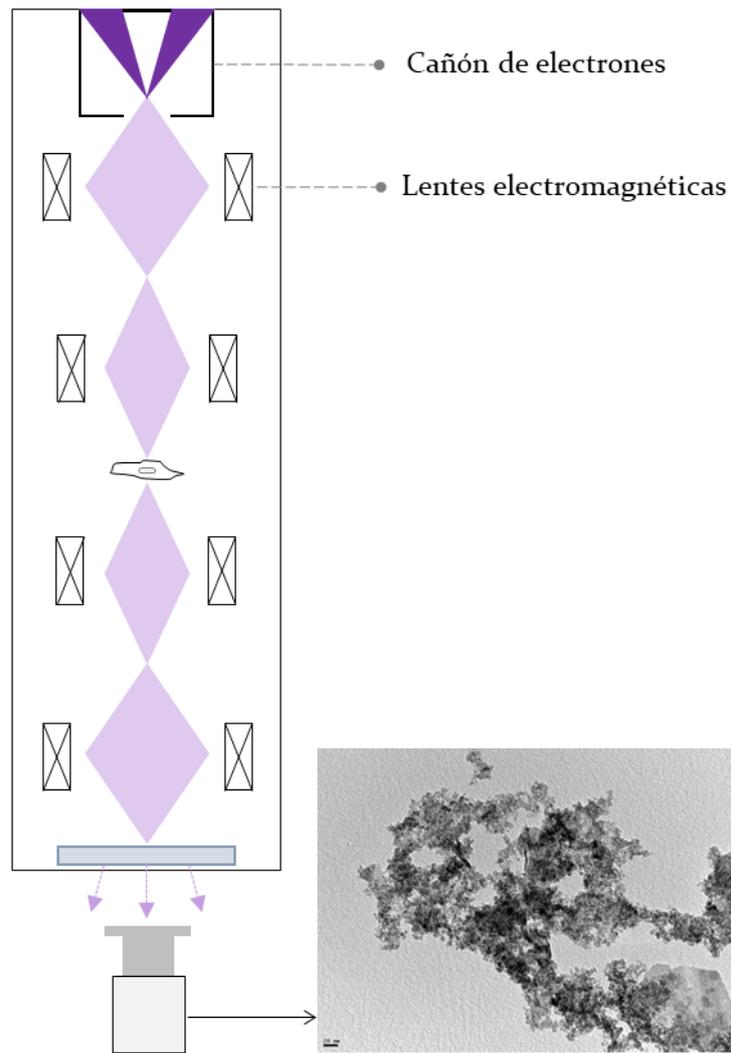


Figura 2.5 – Esquema de microscopía TEM. Adaptado de [8].

2.3.6. Difracción de Rayos X (DRX)

La DRX es una técnica de análisis no destructiva que permite obtener información cristalográfica de los materiales. Los rayos X empleados corresponden a la radiación electromagnética cuyas longitudes de onda se encuentran en el rango comprendido entre 0,5 y 2,5 Å. El análisis se basa en la dispersión elástica de la radiación que incide sobre una muestra.

La difracción ocurre cuando la radiación se refleja por una estructura periódica que se repite regularmente y cuya separación entre las capas de átomos es aproximadamente la misma que la longitud de onda de la radiación [5]. Bajo estas consideraciones, un haz de rayos X perfectamente monocromático y paralelo, de longitud de onda λ , incide sobre planos de átomos paralelos y es difractado en un ángulo θ llamado ángulo de Bragg (Figura 2.6). Las ondas difractadas producen una intensidad máxima si llegan en fase

(interferencia constructiva) al detector, es decir, si la diferencia entre las trayectorias de los rayos es un número entero de veces la longitud de onda según indica la Ley de Bragg (Ecuación 2.9).

Ecuación 2.9 – Ley de Bragg.

$$n \lambda = 2 d_{hkl} \text{sen } \theta$$

Donde n es un número entero; λ es la longitud de onda de los rayos X; d_{hkl} es la distancia entre planos atómico; y θ es el ángulo entre los rayos X y la fila de átomos.

Todos los planos con un espaciado d_{hkl} dado difractan al mismo ángulo 2θ respecto al haz incidente y son colectados por un detector. De este modo, al representar la intensidad de la radiación que llega al detector frente al ángulo 2θ aparecerá un pico cuando se cumpla la Ley de Bragg. Los difractogramas permiten obtener información acerca de las geometrías de las direcciones de difracción (identificación del sistema cristalino y las dimensiones de la celda unidad) y de las intensidades de los rayos difractados (naturaleza de los átomos y posiciones en la red cristalina). Sin embargo, debe considerarse que, en ocasiones, la muestra está constituida en parte por sólidos amorfos. Estos presentan estructura indefinida y al ser irradiados incrementan las interacciones destructivas, por lo que los rayos difractados no son detectados.

El análisis de DRX en el presente trabajo se realizó utilizando un difractómetro de rayos X PHILIPS PW 1710 con ánodo de cobre y monocromador curvo de grafito, operado a 30 kV y 20 mAmp, para un rango de 2θ de 10 a 70°.

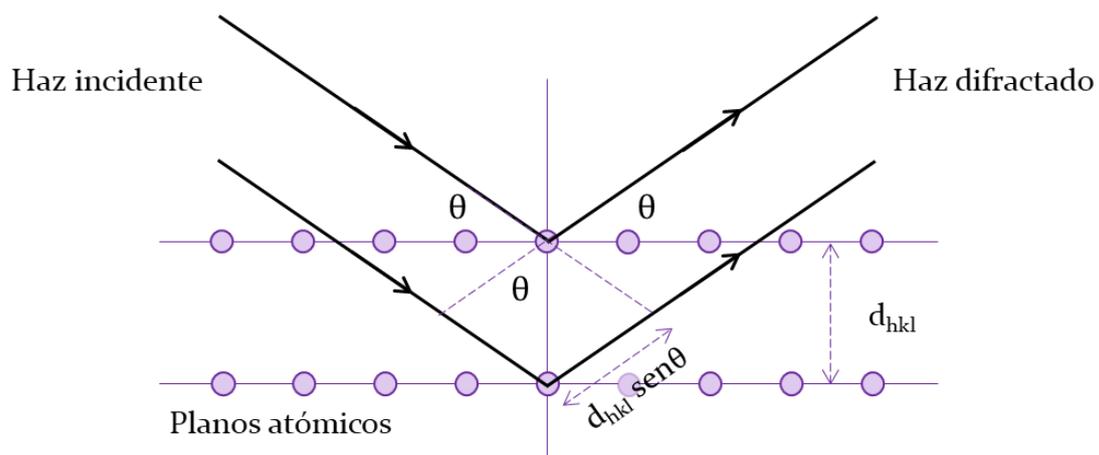


Figura 2.6 – Difracción de rayos X por los planos atómicos de un material.

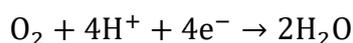
2.3.7. Parámetros de calidad de agua

La demanda química de oxígeno (DQO) es una medida de la cantidad de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) requerido para oxidar la materia orgánica, soluble o en suspensión, por medios químicos con el fin de transformarla en CO_2 y H_2O bajo condiciones específicas [10]. También incluye la oxidación de algunos compuestos minerales oxidables. Se define como la determinación química de la cantidad de un oxidante fuerte requerido para la oxidación de la materia orgánica presente en una muestra. Se utiliza comúnmente dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) y temperatura alta para oxidar la materia orgánica presente en la muestra. Se calcula la cantidad de O_2 químicamente equivalente al $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ consumido en el proceso. Dicha equivalencia queda establecida a partir de las reacciones de oxidación-reducción en medio ácido (Ecuación 2.10 y Ecuación 2.11).

Ecuación 2.10 – Semirreacción para el dicromato.



Ecuación 2.11 – Semirreacción para el oxígeno.

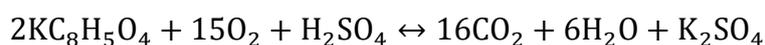


En el método estándar de determinación de la DQO, el oxidante ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) se agrega con un catalizador (Ag^+) y ácido sulfúrico a una muestra acuosa que se calienta durante 2 h [11]. A menudo se utiliza hidrogenoftalato de potasio ($\text{KC}_8\text{H}_5\text{O}_4$) para representar la materia orgánica cuando se analizan los procedimientos. La conversión de $\text{KC}_8\text{H}_5\text{O}_4$ por $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ viene dada por la Ecuación 2.12, y al reemplazar el $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ por el oxígeno se obtiene la Ecuación 2.13.

Ecuación 2.12 – Conversión de hidrogenoftalato de potasio.



Ecuación 2.13 – Reemplazo del $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ por oxígeno.



En definitiva, por cada $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ se consumen 6 electrones al reducirse, mientras que cada molécula de oxígeno consume 4 electrones. En consecuencia, el consumo de 1 mol de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ en la oxidación es equivalente al consumo de 1,5 moles de O_2 .

Actualmente, se realizan las determinaciones por métodos instrumentales rápidos que arrojan resultados reproducibles con un consumo mínimo de volumen de muestras.

Otro parámetro de calidad de agua relacionado con la DQO es la demanda biológica de oxígeno (DBO). Éste refiere a la cantidad de oxígeno disuelto en agua consumido ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) por microorganismos para degradar las sustancias orgánicas contenidas en una muestra bajo condiciones específicas controladas de manera rigurosa. La DQO incluye a la DBO, dado que ésta última solo detecta material orgánico biodegradable. La relación DQO/DBO indica el grado de biodegradabilidad del vertido, clasificando un agua como biodegradable y poco biodegradable para valores inferiores a 2 y superiores a 5, respectivamente.

El carbono orgánico total (COT) es una medida del carbono (mg C L^{-1}) que forma parte de las sustancias orgánicas presentes en el agua. El procedimiento para la determinación incluye la acidificación de las muestras para eliminar el carbono inorgánico (carbonatos y bicarbonatos) y la posterior remoción del CO_2 generado por *sparging* (burbujeo) con aire analítico. Posteriormente, se produce la oxidación catalítica a alta temperatura de la materia orgánica que contiene la muestra, convirtiéndola en CO_2 . Utilizando aire sintético como gas de flujo, se arrastran los productos de la combustión a un deshumificador, donde se elimina el agua, y el CO_2 es detectado por un analizador infrarrojo de gases (Infrarrojo no dispersivo, NDIR) cuantificando de este modo el COT.

Los ensayos de determinación de DQO y COT reportados en la presente tesis se llevaron a cabo en IACA, Laboratorio Bromatológico, Industrial y de Medio Ambiente (Bahía Blanca, Argentina).

La conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$ o mS cm^{-1}) se refiere a la capacidad del agua para conducir electricidad. Esta medida se relaciona con la presencia de iones disueltos en el agua que actúan como portadores de carga eléctrica. En agua pura, la conductividad es baja (cerca a $0,055 \mu\text{S cm}^{-1}$) porque la cantidad de iones presentes es mínima, ya que solo el agua se ioniza en pequeñas cantidades ($\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$). Sin embargo, cuando el agua contiene sales, ácidos o bases disueltas, estos compuestos se disocian en iones, aumentando la conductividad. Esta medida depende de la concentración y naturaleza de los iones, de la temperatura y viscosidad de la solución. Se constituye como un indicador de la calidad del agua. La conductividad se midió utilizando un medidor de conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales y temperatura modelo TDS-3 (exactitud $\pm 2\%$).

2.3.8. Punto de carga cero

El punto de carga cero (PZC, por sus siglas en inglés *point of zero charge*) se define como el valor del pH en el cual la carga neta total (externa e interna) de las partículas sobre la superficie del material adsorbente es neutra, es decir, el número de sitios positivos y negativos es igual [12]. El PZC puede medirse determinando el valor de pH en el que existe un equilibrio de carga entre los iones de una solución acuosa y las partículas bajo análisis. Este parámetro es útil para determinar la afinidad particular de un determinado adsorbente por un adsorbato específico.

En este trabajo se prepararon soluciones en agua destilada de distintos pH ajustando con HCl 0,1 M y NaOH 0,1 M, y controlando con pHmetro. Se colocó una masa determinada de sólido bajo análisis. Se mantuvo bajo agitación (200 rpm) por 24 h utilizando barra magnética. Se midió el pH final de cada solución, y se graficó el pH final en función del pH inicial. El PZC corresponde al punto donde la curva de pH inicial corta la diagonal.

2.4. Referencias

- [1] P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, and F. Armstrong, *Química inorgánica. Cuarta edición*. 2008.
- [2] D. C. Harris, *Análisis químico cuantitativo. Tercera edición (sexta edición original)*, Editorial Reverté. 2016.
- [3] H. Förster, “UV/Vis Spectroscopy,” *Mol. Sieves*, vol. 4, pp. 337–426, 2004, doi: 10.1007/b94239.
- [4] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Fundamentos de química analítica. Novena edición*. México, D.F., 2015.
- [5] D. A. Skoog, Fj. Holler, and S. R. Crouch, *Principios de análisis instrumental*, Sexta edición. México, D.F.: Cengage Learning Editores, 2008. [Online]. Available: www.FreeLibros.me
- [6] K. A. Rubinson and J. F. Rubinson, *Análisis Instrumental*. Madrid: Pearson Educación, S.A., 2021.
- [7] B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd, 2004.
- [8] A. : Sorrivas De Lozano, V. Alfonsina, M. María, and J. Yañez, *Título: “Principios y práctica de la Microscopía Electrónica”*. Ira. Edición. 2014.
- [9] D. E. Ribadeneira, “Microscopía Electrónica: Fundamentos, Teoría y Aplicaciones,” Escuela Politécnica Nacional, Quito, 1998.
- [10] G. López, M. Crespi, and V. Rosell, *Gestión de los efluentes de la industria textil. Proyecto mejora de las economías regionales y desarrollo local*. 2015. [Online]. Available: www.ue-inti.gob.ar
- [11] R. B. Geerdink, R. Sebastiaan van den Hurk, and O. J. Epema, “Chemical oxygen demand: Historical perspectives and future challenges,” Apr. 08, 2017, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.aca.2017.01.009.
- [12] G. Sposito, “On Points of Zero Charge,” *Environ Sci Technol*, vol. 32, no. 19, pp. 2815–2819, 1998.

PARTE 1

ESTUDIO PRELIMINAR

Capítulo III

Caracterización por espectroscopía UV-Vis de hematin y colorantes modelo

3.1. Introducción

3.1.1. Hematin

En solución, HEM puede encontrarse en forma de monómero y, debido a que se encuentra despojado de la estructura proteica respecto a la enzima, la protoporfirina puede ensamblarse en varios tipos de dímeros y agregados de dímeros dependiendo de la concentración, el pH, la temperatura, las sales (fuerza iónica) y polaridad del solvente [1], [2]. Cuando HEM se encuentra en solución como monómero, la variación del pH genera cambios significativos en el espectro UV-Vis completo y en el coeficiente de absorptividad. Esto se debe a la desprotonación del ligando axial [3]. Los cambios en el oxígeno ligado al hierro (III) central de HEM alteran la distribución electrónica en el macrociclo de la porfirina conjugada generando modificaciones en las dos bandas características, Soret y Q. Por otro lado, cuando se encuentra como dímeros (concentraciones mayores a 10^{-5} M) las variaciones de pH generan cambios poco significativos en el coeficiente de absorptividad.

Dependiendo de las condiciones del medio, HEM puede presentarse como dímero enlazado μ -oxo (contiene un enlace tipo Fe-O-Fe) (Figura 3.1a), dímeros π - π (Figura 3.1b), o dímeros μ -Pr (dímero formado por enlaces de coordinación de propionato de hierro simétricos y mutuos) [4] [5]. Los dímeros π - π se presentan en solventes próticos, mientras que los dímeros μ -oxo se forman en solventes apróticos, excepto el alcohol tert-butílico, y bajo un aumento en la concentración de sales [2].

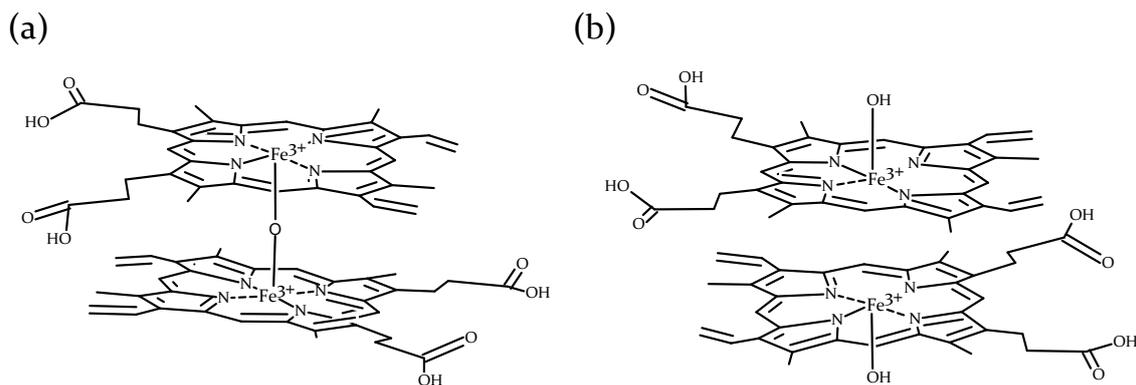


Figura 3.1– HEM en estructura dimérica (a) $\mu - oxo$ y (b) $\pi - \pi$.

3.1.2. Colorantes

Los colorantes pueden definirse como sustancias coloreadas que tienen gran afinidad hacia el sustrato en el que se aplican. Estas sustancias orgánicas imparten color, y esto se debe a que absorben en el rango visible del espectro electromagnético con una longitud de onda específica. En general, poseen altos coeficientes de extinción molar por lo que, en solución acuosa, una pequeña cantidad de colorante puede producir colores intensos. Las moléculas de los colorantes contienen grupos denominados cromóforos ($-\text{NO}_2$, $-\text{NO}$, $-\text{N}=\text{N}$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{C}=\text{S}$, $-\text{C}=\text{C}$, entre otros) y auxocromos ($-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{NR}_2$, $-\text{Cl}$, HSO_3 $-\text{COOH}$, entre otros) [6], [7]. Los cromóforos son los grupos responsables de la absorción de radiación visible (transiciones electrónicas) y, por ende, del color (tinte o tono principal); mientras que los auxocromos, generalmente dadores de electrones (con electrones no enlazantes n), mejoran la intensidad del color, desplazan la longitud de onda de absorción, o influyen en la solubilidad del colorante. Estos grupos se encuentran enlazados a un cromógeno que es normalmente una estructura aromática (por ejemplo, anillos de benceno, naftaleno o antraceno) [8]. De este modo, las moléculas orgánicas usadas como colorantes tienen un sistema de enlaces múltiples que, mediante absorción selectiva de la luz, la cual depende de la energía asociada con tales sistemas, presentan colores específicos. La conjugación en la estructura de la molécula de un colorante determina su color.

Es frecuente que, a medida que aumenta la conjugación, se observa un efecto batocrómico (aumenta la longitud de onda de la absorción máxima, se intensifica el tono). Esta relación, entre la extensión de la conjugación y el máximo de absorción ($\lambda_{\text{Abs máx}}$), sugiere efectos direccionales y se asocian las diferentes bandas del espectro de un

colorante a las orientaciones específicas en la polarización de la molécula, lo que ocurre como consecuencia de la conjugación.

Las familias de colorantes azoicos y antraquinónicos son las mayoritariamente utilizadas en la industria textil y, por ende, fueron seleccionadas como modelo para el desarrollo del presente trabajo. Adicionalmente, se cuenta con antecedentes en el grupo de Catálisis (PLAPIQUI) de estudios que abordan la adsorción y degradación de este tipo de colorantes. En capítulos posteriores se profundiza en los resultados obtenidos en estos trabajos previos.

Los colorantes azoicos se caracterizan por tener enlaces azo ($-N=N-$), conectados a anillos aromáticos y heterociclos, mediante su unión a dos átomos de carbono con hibridación sp^2 . Por otro lado, los antraquinónicos derivan de la antraquinona y tienen dos grupos carbonilo ($C=O$) en su estructura [9], siendo el anillo quinoide el cromóforo. Pueden tener grupos hidroxilos (hidroxi antraquinónicos, como Alizarina y Rojo de Alizarina S) o grupos aminos (amino antraquinónicos), siendo los primeros los más comunes.

Rojo de Alizarina S

En representación de los colorantes antraquinónicos, se analizará la decoloración de Rojo de Alizarina S (1,2-dihidroxi-9,10-antraquinona-3-ácido sulfónico, de aquí en adelante RAS) (Figura 3.2). Es un colorante aniónico y soluble en agua, ampliamente aplicado en la coloración de lana y nylon [10]. RAS deriva del colorante Alizarina por la introducción de un grupo sulfónico en la posición 3. Alizarina es ligeramente soluble en agua a pH ácido, mientras que en RAS el grupo sulfónico induce mayor solubilidad. El color de RAS en solución acuosa varía a medida que aumenta el pH, pasando por la paleta de los amarillos, luego los rosas, hasta el violeta [9]. Estos cambios en la coloración de RAS en solución se deben a que presenta alteraciones en su estructura en función del pH, y consecuentemente en su espectro UV-Vis.

Trabajos anteriores han estudiado la decoloración de Alizarina y de RAS catalizada por HRP y HEM tanto en sus formas solubles como soportadas [11].

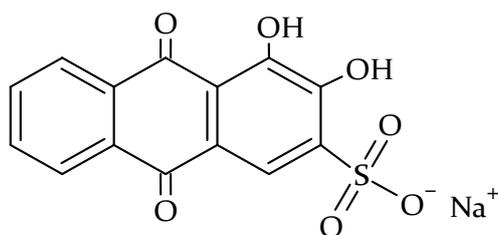


Figura 3.2 – Estructura química de RAS. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

Naranja II

Como representante de los colorantes azoicos se seleccionó Naranja II (de aquí en adelante, NII) (Figura 3.3) cuyo nombre IUPAC es 4-[2-(2-oxonaftaleno-1-ilideno)hidrazinil] benceno sulfonato de sodio (también conocido por sus nombres en inglés, *Acid Orange 7* u *Orange II*). Es un colorante monoazoico que presenta una de las estructuras más simples dentro de esta familia [12]. Se ha probado que es un sustrato conveniente para la evaluación catalítica de metaloporfirinas y complejos metálicos en oxidaciones por H₂O₂ y otros oxidantes.

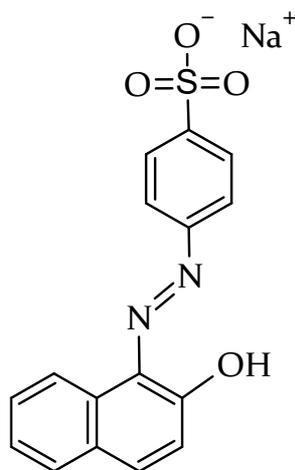


Figura 3.3 – Estructura química de Naranja II. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

Es bien conocido que los colorantes azoicos presentan tautomerismo, existiendo un equilibrio entre las formas azo e hidrazona [13]. El grupo azo y el -OH en posición orto otorgan a la molécula de NII la posibilidad de presentar tautomerismo, es decir, puede encontrarse en diferentes estructuras debido a reordenamientos rápidos y reversibles. El grupo funcional azo (R-N=N-R') se protona para formar el grupo hidrazona (R-HN-N=R'), esto limita la ionización del -OH (Figura 3.4) [14]. Los cambios tautoméricos de protones son reacciones ácido-base internas y los varios isómeros estructurales resultantes

de estas migraciones se conocen como tautómeros. La proporción de cada uno de los isómeros en solución depende del solvente y de los sustituyentes [15]. La forma hidrazona se presenta principalmente en agua, mientras que la forma azo en solventes orgánicos polares. Los colorantes que adoptan la forma tautomérica hidrazona tienden a ser más sensibles a la oxidación, dado que el enlace N–N de la hidrazona es más fácil de romper que el enlace –N=N– en el tautómero azo.

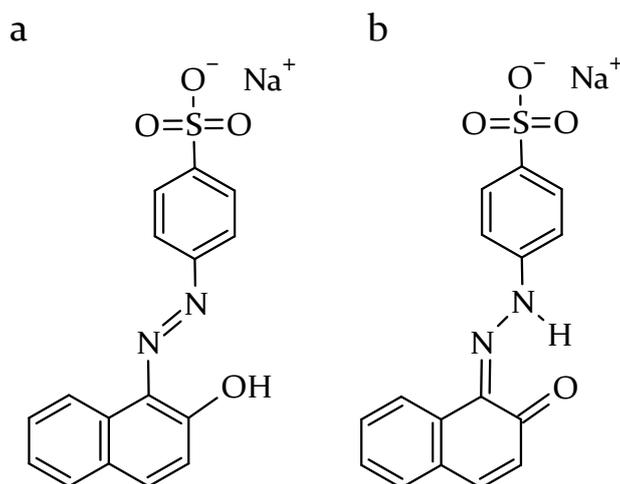


Figura 3.4 – Formas tautoméricas (a) azo e (b) hidrazona de NII. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

3.1.3. Objetivos

En este capítulo se detallan las propiedades y caracterización de HEM, biomimético de la enzima HRP, y de los colorantes (RAS y NII) seleccionados como modelos. Se estudió el comportamiento de estos analitos en solución mediante espectroscopía UV-Vis. Se realizó la identificación y cuantificación de los mismos teniendo en cuenta que pueden darse fenómenos de agregación o tautomerismo que condicionan los espectros de absorción UV-Vis [16].

El estudio realizado implicó el análisis de:

- (I) espectros UV-Vis de HEM y el efecto del tiempo de agitación de la solución madre.
- (II) espectros UV-Vis de RAS y NII en diversos solventes variando el pH.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Reactivos

HEM porcino fue provisto por Sigma Aldrich (San Luis, Estados Unidos). RAS, NII, buffer pH 11, buffer pH 7, buffer pH 9 (bórax) fueron comprados en Biopack (Buenos Aires, Argentina). Tris buffer fue obtenido de Anedra (Buenos Aires, Argentina). El ácido clorhídrico 36,5-38% fue provisto por Cicarelli (Santa Fe, Argentina). Todos los reactivos fueron usados sin purificación. El agua destilada utilizada fue preparada en destilador propio del laboratorio del grupo de Catálisis.

3.2.2. Mediciones de espectros UV-Vis

Se obtuvieron los espectros UV-Vis de HEM porcino en buffer pH 11 y de los colorantes RAS y NII bajo diferentes valores de pH. Se utilizaron como solventes para los colorantes: agua destilada (pH 5-6 y 6-7), buffers comerciales (pH 7, pH 9, y pH 11) y buffer Tris-HCl preparado en laboratorio tal como se indicó en Capítulo 2, Sección 2.2.2. Se analizó el efecto de la fuerza iónica del buffer bórax realizando una dilución del mismo (factor de dilución = 16) con agua destilada para preparar soluciones de RAS.

Ante la posibilidad de que HEM forme dímeros en solución se estudió el efecto del tiempo de agitación de la solución madre sobre la absorción UV-Vis a pH 11.

Para cada solución de trabajo se construyó una curva de calibrado. Se analizaron las posiciones de los picos de absorción y se asignaron a los grupos funcionales correspondientes.

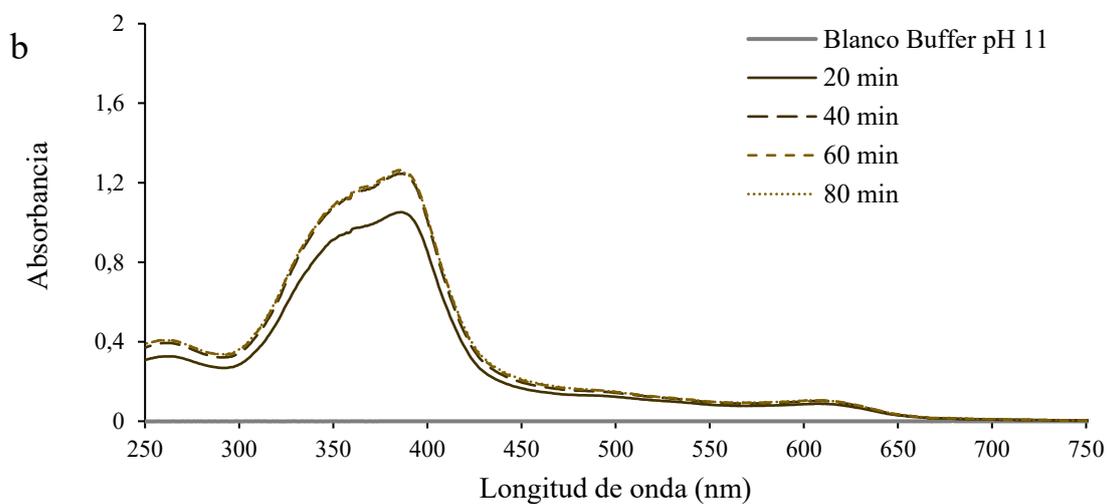
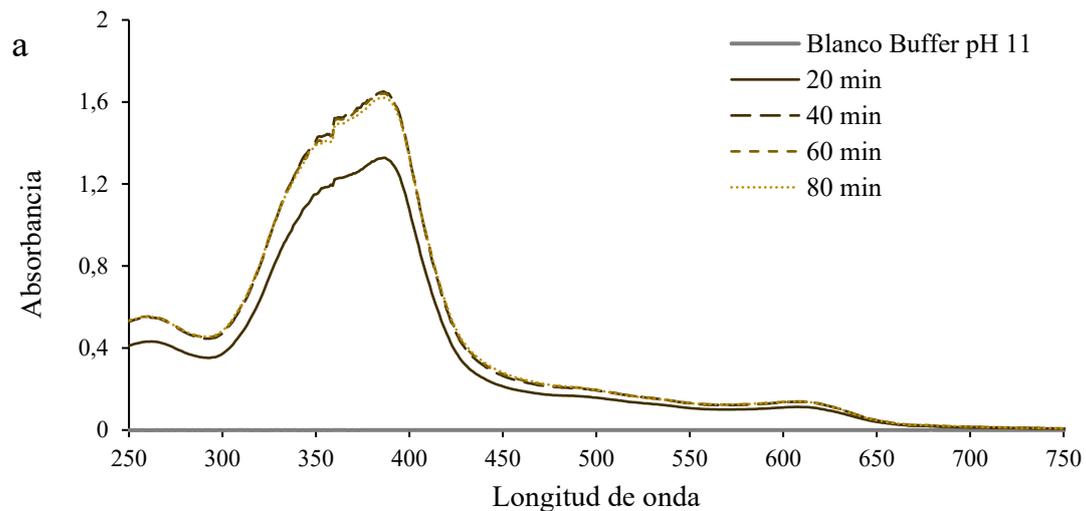
3.3. Resultados

3.3.1. Hematin

Espectros de absorción UV-Vis

En la Figura 3.5 se presentan los espectros UV-Vis de soluciones acuosas de HEM, (a) 20 mg L⁻¹, (b) 16 mg L⁻¹ y (c) 8 mg L⁻¹, en buffer pH 11 preparadas a partir de soluciones madres agitadas durante distintos tiempos (20, 40, 60, 80 min). HEM posee baja solubilidad e inestabilidad a pH neutro y ácido, mientras que presenta mayor solubilidad y actividad a pH superior a 7,4, motivo por lo cual se seleccionó pH 11 para las soluciones de trabajo [17], [18], [19]. Se puede observar que las absorbancias para 40, 60 y 80 min de agitación en el pico máximo de absorción (388 nm) son similares (error relativo menor al 2%), mientras que al pasar de 20 min a 40 min de agitación la absorbancia aumenta considerablemente (ver errores relativos en Tabla 3.1). Esta discrepancia puede asociarse a que las moléculas de HEM en solución acuosa tienen la

posibilidad de presentarse en forma de dímeros, por lo que la menor absorbancia en el pico característico puede ser causada por formación de complejos $\pi - \pi$ (donador-aceptor) [20]. Como consecuencia de la agitación, se rompen los enlaces van der Waals que forman los dímeros y, por lo tanto, la fracción correspondiente a monómeros es mayor en las soluciones agitadas por más de 40 min, viéndose reflejado en el aumento de la absorbancia. En función de este resultado, se fijó un tiempo de agitación de 40 min para las soluciones de HEM.



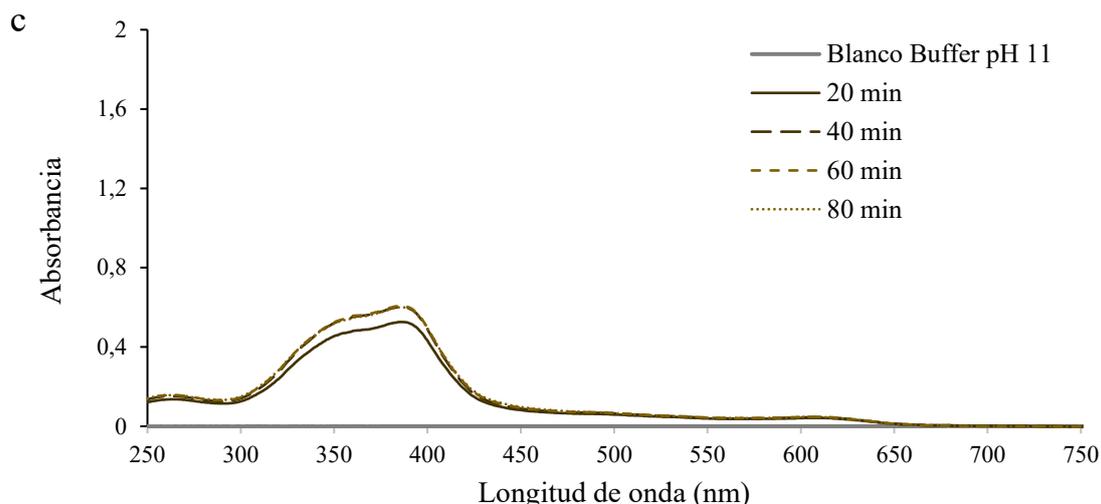


Figura 3.5 – Espectros UV-Vis de soluciones de HEM de concentraciones (a) 20 mg L⁻¹, (b) 16 mg L⁻¹ y (c) 8 mg L⁻¹, para diferentes tiempos de agitación (20, 40, 60 y 80 min).

Tabla 3.1 – Errores relativos (%) de las absorbancias para concentraciones correspondientes a 20, 16 y 8 mg L⁻¹ entre 40-20 min, 60-40 min y 80-60 min.

Longitud de onda (nm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Error relativo (%) entre intervalos de agitación		
		40-20 min	60-40 min	80-60 min
388 nm	20	19,44	0,31	1,24
	16	15,63	1,59	0,96
	8	12,65	0,82	1,17

Se analizaron las bandas UV-Vis que presentan los espectros de las soluciones de HEM. Las protoporfirinas IX de hierro (III) de alto espín poseen un espín $S = 5/2$ con todos los orbitales d semillenos en estrecha proximidad con el HOMO (π) y el LUMO (π^*) de la porfirina, cuya diferencia de energía es lo suficientemente pequeña como para generar bandas de absorción en la región UV-Vis. Esto da lugar a un fuerte solapamiento entre las transiciones $\pi - \pi^*$ de la porfirina y las d del hierro (III) [21]. El núcleo cíclico de HEM tiene 22 electrones π y, de acuerdo a la regla de Huckel de aromaticidad ($4n+2$ electrones π deslocalizados, donde $n=4$), 18 electrones están deslocalizados entre 16 átomos del macrociclo. Debido a la gran circulación de electrones en el anillo porfirínico altamente conjugado, las metaloporfirinas absorben en la región UV-Vis, razón por la cual es considerado un cromóforo aromático. De este modo, se presentan tres bandas asignadas a las transiciones electrónicas $\pi \rightarrow \pi^*$ en las metaloporfirinas: banda Soret (γ) y bandas Q (α y β), posicionadas en los rangos correspondientes a 380-420 nm y 500-650 nm, respectivamente [22], [23]. La banda Soret, localizada a 388 nm (Figura 3.6), proviene del estado basal $1a_{1u}(\pi)$. Dentro de las bandas Q, la α se origina de la transición

desde $3a2u (\pi)$ y el estado final $4eg (\pi^*)$, mientras que la β tiene el mismo origen pero el estado final excitado es $4eg (\pi^*)$ [24]. Para el Fe d^5 hay bandas adicionales asociadas a transiciones electrónicas desde los orbitales ocupados de mayor energía de la porfirina a los estados desocupados de menor energía del Fe (transiciones desde $3a2u (\pi)$ de la porfirina a, por ejemplo, $(d\pi)$ del hierro), o bandas de transferencia de carga (TC). Las bandas de TC tienen lugar en sistemas formados por dos componentes, un donador y un aceptor de electrones designados como complejos donador-aceptor. La fuerza de enlace entre las dos especies va desde la unión fuerte, como en los complejos metal de transición-ligando; hasta el otro extremo, los complejos de contacto transitorio de transferencia de carga, que solo existen durante la duración de las colisiones entre donador y aceptor. Las diferentes estructuras de resonancia que toman lugar son responsables de la estabilización de la energía de resonancia en el complejo [25]. En los espectros UV-Vis presentados en la Figura 3.6 se observa la banda de transferencia de carga localizada aproximadamente en 610 nm.

La formación de dímeros $\mu - oxo$ se caracteriza por la absorción en el visible a ~ 575 nm junto con un hombro a ~ 600 nm. Adicionalmente, los dímeros $\pi - \pi$ producen un desdoblamiento y un ensanchamiento de la banda Soret [21]. Por lo tanto, la banda Soret ancha y desdoblada presente en los espectros de HEM podría asociarse a la presencia de dímeros $\pi - \pi$.

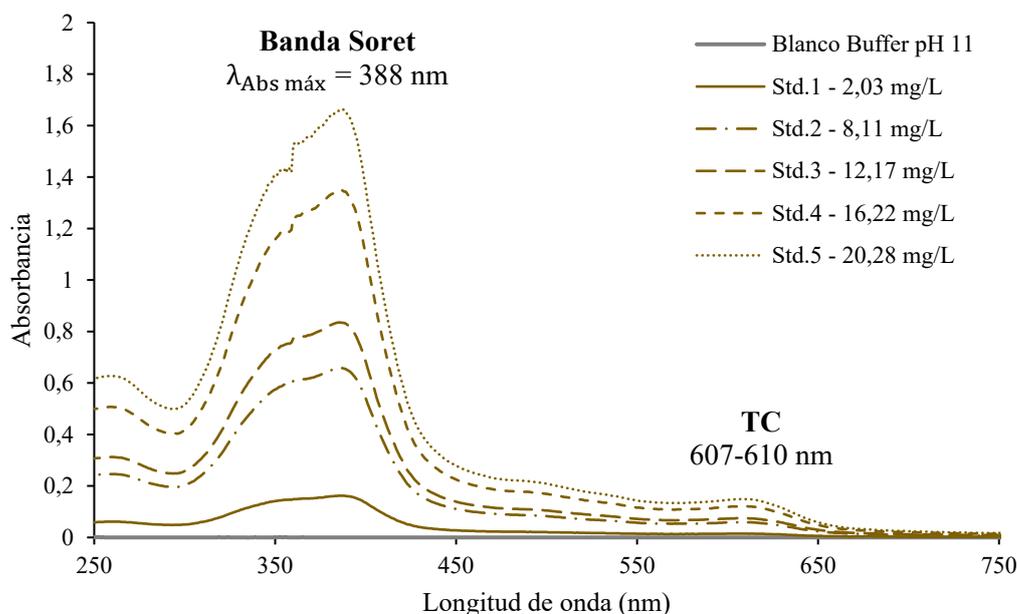


Figura 3.6 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones de HEM a pH 11 en diferentes concentraciones con un tiempo de agitación de 40 min.

Curva de calibrado

El pico característico de HEM se encontró a 388 nm, lo cual es consistente con lo reportado en la bibliografía (Tabla 3.2). Se construyó una curva de calibrado a 388 nm ($R^2 = 0,99984$) a partir de una solución madre, preparada con buffer Biopack pH 11, agitada 40 min para un rango de concentraciones entre 2 y 20 mg L⁻¹ (Figura 3.7). El valor de ϵ calculado fue $5,16 \times 10^4 \pm 0,0651 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹ (con un 1,19% de error respecto al valor reportado por Córdoba (2015) [11]).

Tabla 3.2 – Coeficientes de absortividad molar de HEM reportados en la literatura.

Condiciones	Longitud de onda λ (nm)	Coefficiente de absortividad (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Ref.
Fe (III) PPIX como monómeros (M) Fe (III) PPIX como dímeros (D) Ambos a pH 8,98	393	M = $5,9 \pm 0,1 \times 10^4$ D = $5,07 \pm 0,08 \times 10^4$	[3]
NaOH 0,01 N	387	$5,22 \times 10^4$	[11]
pH 7	387	-	[17]
65,2 mg HEM fueron disueltos en 1,0 mL 0,1 N de KOH, y diluido hasta 100 mL con agua destilada. Para obtener una solución de HEM monomérico se diluyó más que 1000 veces hasta concentración menor a $0,8 \times 10^{-6}$ M. El espectro se midió con una celda de 10,0 cm a pH 6,8	398	$12,2 \pm 3 \times 10^4$	[26]
2 N NaOH (50 mL) y SDS (2.5%, 950 mL)	400	$9,1 \times 10^4$	[27]
Rango de concentración entre 2 y 20 mg L ⁻¹	385	-	[28]
1114 mg L ⁻¹ de HEM en NaOH 0,01 M	387	$3,95 \times 10^4$	[29]
pH 11 – 20 min (aproximado) de agitación de la solución madre	388	$4,22 \times 10^4$	Este trabajo
pH 11 Buffer Biopack – 40 min de agitación de la solución madre	388	$5,16 \times 10^4$	Este trabajo

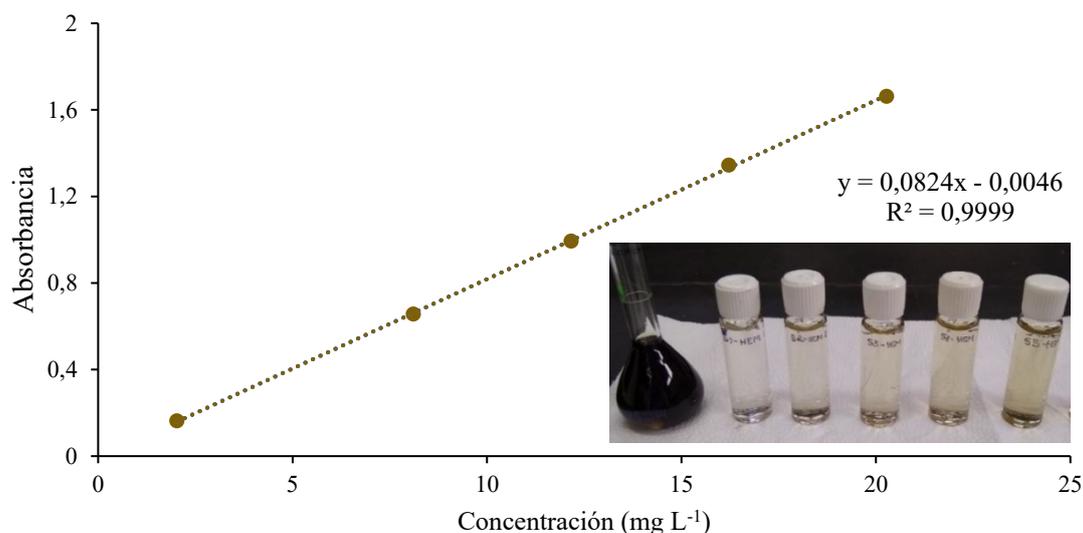


Figura 3.7 – Curva de calibrado de HEM a pH 11.

3.3.2. Rojo de Alizarina S

Espectros de absorción UV-Vis

En la Figura 3.8 se observan los espectros de absorción UV-Vis de RAS para diferentes valores de pH. RAS posee propiedades ácido-base debido a la presencia de dos OH^- en su estructura. Por lo tanto, muestra una desprotonación dependiente del pH con un impacto en el espectro UV-Vis. Los valores de pKa de los dos grupos hidroxilos fenólicos en RAS son 5,5 y 11 [24], [30], [31]. Por lo tanto, RAS se presenta predominantemente en su forma monoaniónica a $\text{pH} < 4$ (amarillo), en forma dianiónica en la región de pH correspondiente a 5,5 a 10,5 (rojo) y la forma trianiónica es la más relevante a $\text{pH} > 12$ (violeta) [30].

En solución alcalina, pH 11, la solución de RAS presentó color violeta. Las bandas de absorbancia localizadas en la región del UV se asignan a las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de la estructura antraquinónica (bandas de bencenoides y quinonoides). A 267 nm presenta un pico asociado al anillo antracénico del colorante, reportado también por Lai et al. (2013) y J. Gao et al. (2008) [32] [33]. Además, se observa un pico de menor intensidad a 324 nm que se asigna a las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ del enlace $-\text{C}=\text{O}$. La banda entre 475 y 575 nm con un máximo en 545 nm se asocia a las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ del enlace $\text{OH}-\text{C}=\text{C}-\text{OH}$ y $n \rightarrow \pi^*$ del enlace $-\text{C}=\text{O}$ del auxocromo $\text{OH}-\text{C}-\text{C}=\text{O}$. El hombro a 600 nm se asigna a los grupos carbonilo conjugados presentes a pH 11, relacionados con la formación de nuevos enlaces $-\text{C}=\text{O}$. En comparación con los espectros de Alizarina, cuyos picos se encuentran a 566 y 608 nm, RAS presenta un leve efecto hipsocrómico que se relaciona con el grupo ácido sulfónico [9]. En soluciones alcalinas se observa un desplazamiento batocrómico respecto a los espectros en soluciones ácidas, debido a la conjugación extendida de la molécula. Adicionalmente, se reporta que a pH fuertemente alcalino, aparece la banda cercana a 587 nm lo que estaría indicando la formación de la forma aniónica del grupo sulfónico [34].

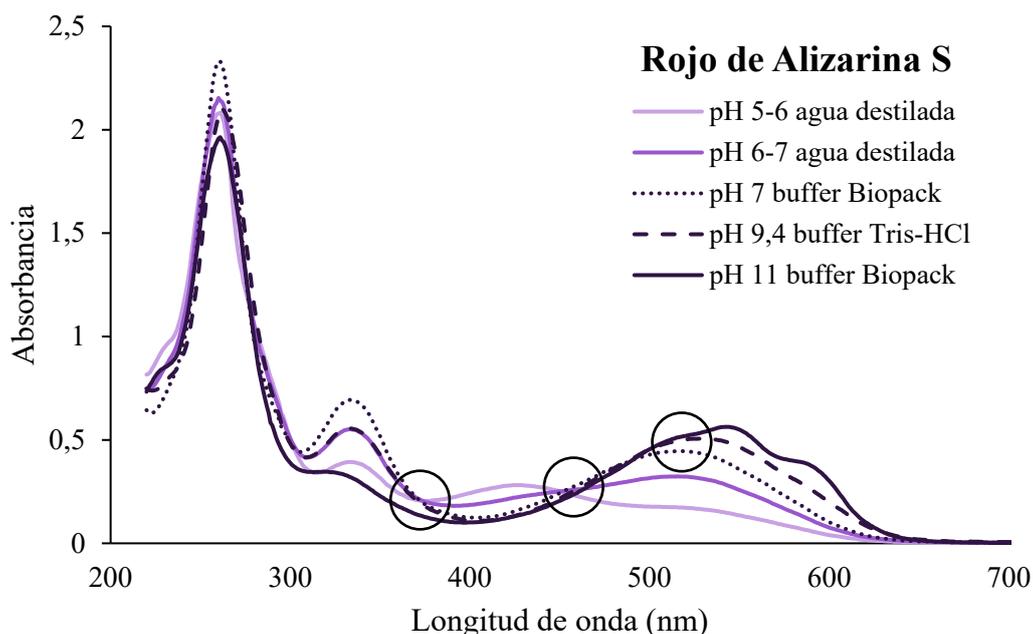


Figura 3.8 – Espectros UV-Vis de RAS (24 mg L⁻¹) a diferentes valores de pH.

A valores altos de pH pueden presentarse desagregados de los colorantes en solución que generan una hipercromicidad, ya que la formación de agregados no covalentes disminuye la absorción de las especies [35]. De este modo, se observa que a medida que disminuye el pH, la absorción del colorante disminuye. Se observan 3 puntos isobésticos, correspondientes a la coexistencia de las formas ácida, monoaniónica y dianiónica del colorante en equilibrio ácido-base. En la bibliografía se reporta el pico característico de RAS a 556 nm y 514 nm para pH 11 y pH 9, respectivamente, con un punto isobéstico en 510 nm [9], [11]. En este trabajo, el pico correspondiente al cromóforo de RAS se encontró a 527 en buffer pH 9,4 y 545 nm a pH 11. En la Figura 3.9 se presentan las formas en las que puede presentarse RAS junto con sus estructuras de resonancia.

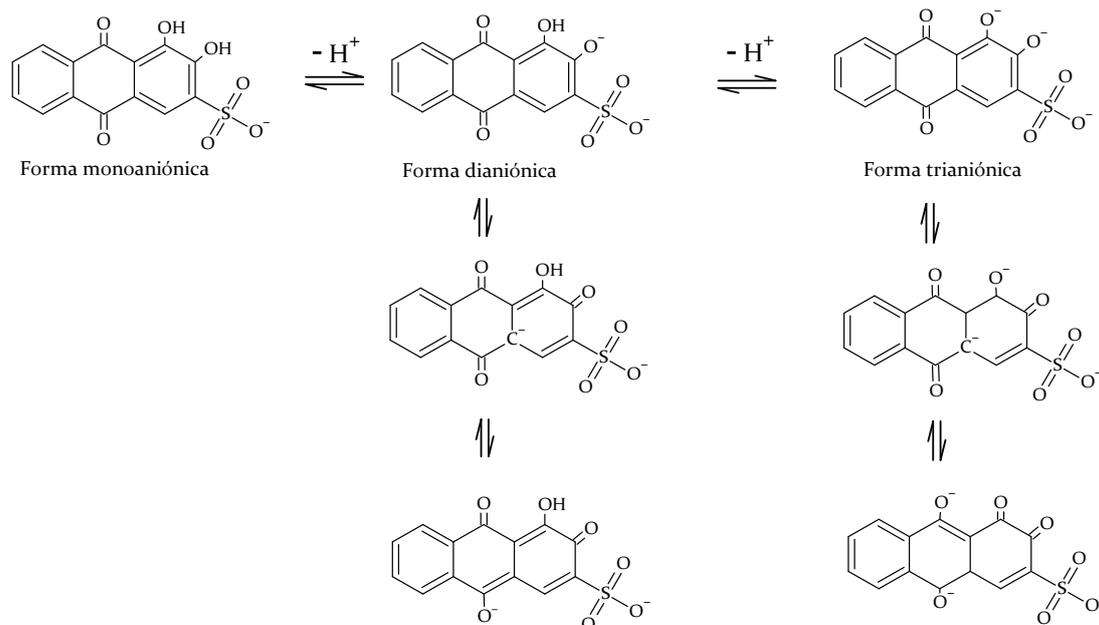


Figura 3.9 – Posibles estructuras químicas y de resonancia de RAS. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

Además, Córdoba (2015) reporta que el pico de absorción presente en 267 nm, aproximadamente, disminuye su intensidad al pasar de 9 a 10,6. En concordancia, se observó una disminución de la absorbancia a 267 nm al comparar los espectros de RAS a pH 9,4 y 11.

Es frecuente observar la variación en el color de un colorante cuando se disuelve en solventes de diferente naturaleza. Previo al estudio de RAS en buffer Tris-HCl a pH 9,4, se estudió el comportamiento de RAS en buffer pH 9 comercial (bórax). El pico del cromóforo de RAS en este caso se presentó en 447 nm (Figura 3.10). Un valor similar al encontrado en este trabajo también fue obtenido por Khosa et al. (2011) en buffer pH 9 (448 nm) [36]. Entre los factores que pueden afectar la localización del pico característico del colorante se encuentra la naturaleza del solvente. En este caso, la composición del buffer pH 9 corresponde a (tetra) borato de sodio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). El borato forma complejos con *o*-difenoles, por lo que reacciona con los grupos fenólicos de RAS dando lugar al complejo presentado en la Figura 3.11 [37], [38]. Esto conduce a la obtención de una solución amarilla de RAS en buffer bórax pH 9, cuyo pico máximo se encuentra en 447 nm. Este complejo podría generar que la molécula del colorante no se encuentre disponible para su oxidación por lo que se descartó el uso del buffer bórax como medio de reacción. Este problema no se encuentra suficientemente analizado en la

literatura específica, y podría ocasionar discrepancias al comparar resultados experimentales publicados.

La fuerza iónica del solvente también genera efectos en el espectro de absorción de RAS, como se observa en la Figura 3.10. Cuando se usa el buffer diluido se presenta el pico máximo de absorción desplazado hacia la derecha.

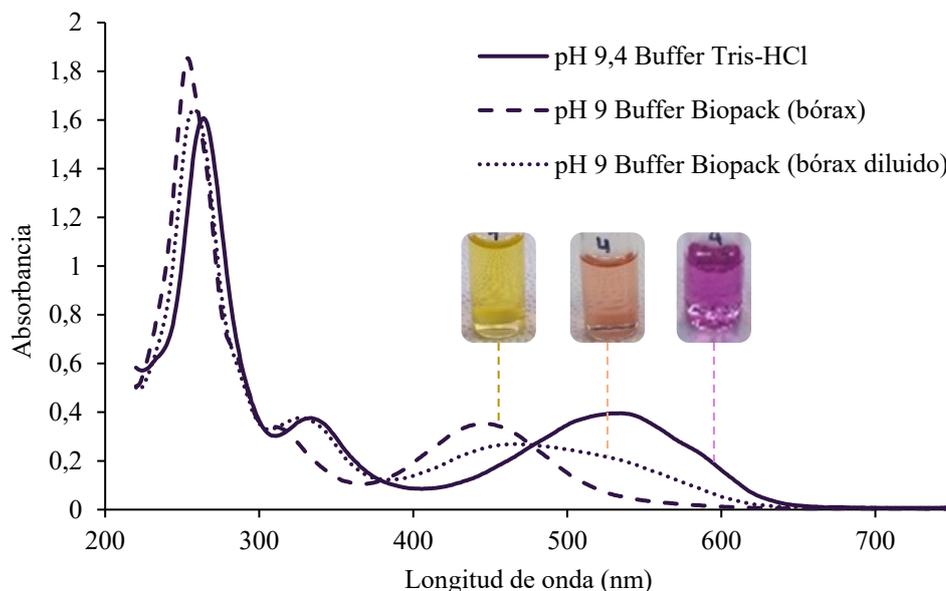


Figura 3.10 – Espectros UV-Vis de RAS a pH 9,4 en buffer Tris-HCl, pH 9 en buffer Biopack (bórax) y en buffer Biopack (bórax) diluido.

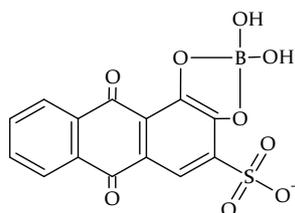


Figura 3.11 – Complejo de coordinación entre RAS y el (tetra) borato [38].

Curvas de calibrado

Se construyeron curvas de calibrado de RAS para diferentes valores de pH (Figura 3.12), y se calcularon los ϵ correspondientes. En la Tabla 3.3 se presentan las longitudes de onda asociadas a los picos máximos de absorción y los coeficientes de absorptividad para RAS reportados en la bibliografía. El valor de ϵ alto en buffer pH 11 respecto a los valores reportados en la literatura podría estar asociado a la disociación de dímeros en solución alcalina [11]. Asimismo, podría asociarse a una mayor proporción de monómeros debido a la agitación de la solución madre.

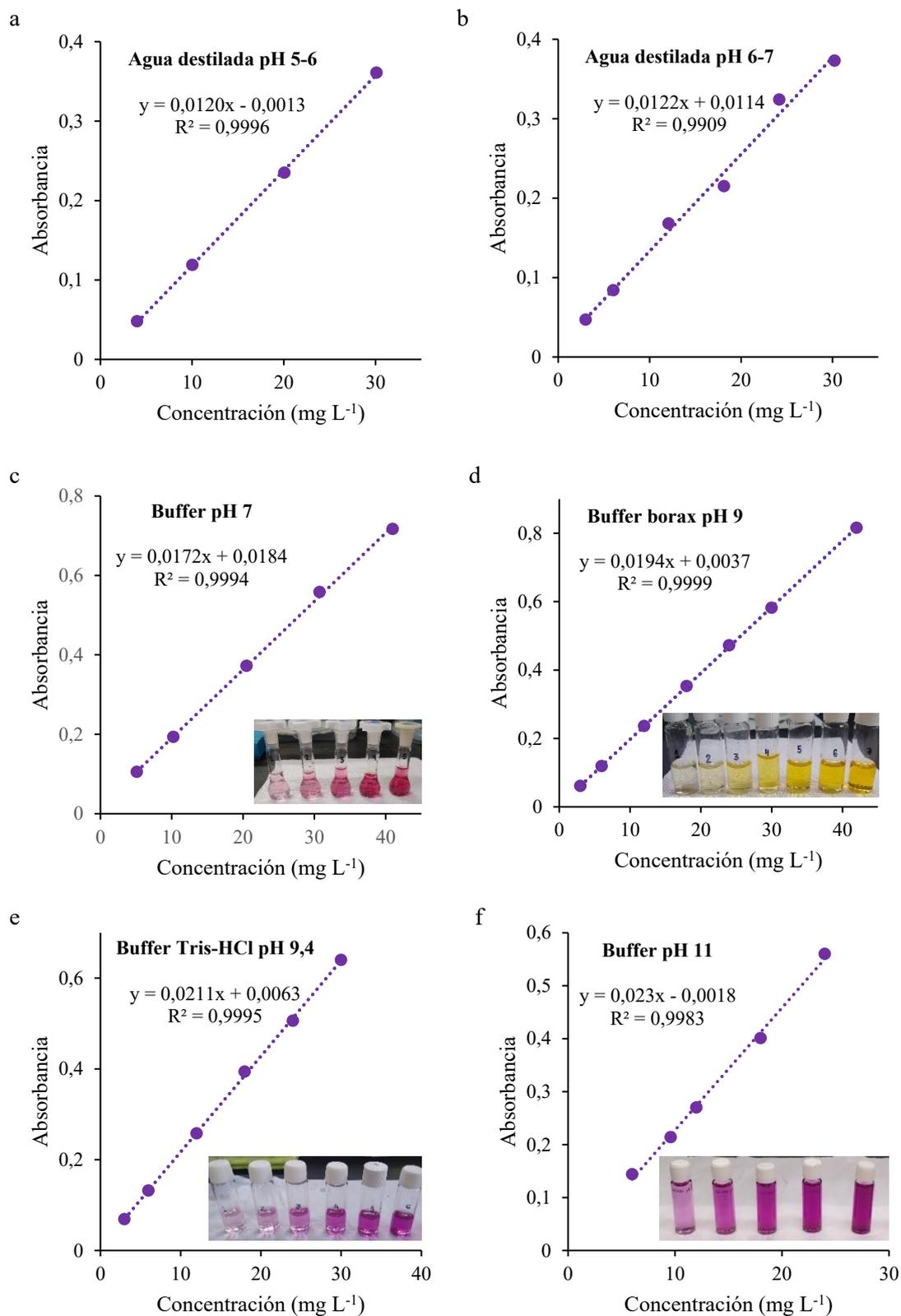


Figura 3.12 - Curvas de calibrado de RAS en (a) agua destilada a pH 5-6 (425 nm), (b) agua destilada a pH 6-7 (516 nm), (c) buffer pH 7 (518 nm), (d) buffer bórax pH 9 (447 nm), (e) buffer Tris-HCl pH 9,4 (527 nm) y (f) buffer pH 11 (545 nm).

Tabla 3.3 - Coeficientes de absorptividad molar de RAS reportados en la literatura.

Condiciones	Longitud de onda λ (nm)	Coefficiente de absorptividad ($L mol^{-1} cm^{-1}$)	Referencias
pH 11	556	$11,60 \times 10^3$	[9]
pH 10.5			
Concentración de RAS en el equilibrio entre $0,6-5,4 \times 10^{-5} M$	520	$2,55 (\pm 0,03) \times 10^3$	[39]
Buffer pH 4,3	418 – 424		
Buffer pH 6,3	510 – 517	-	[40]
Buffer pH 9,4	444 – 450		
Buffer pH 12,0	554 – 558		
pH 12.7			
Concentración de RAS en el equilibrio entre $0,6-5,4 \times 10^{-5} M$	600	$3,15 (\pm 0,02) \times 10^3$	[39]
pH 9	448	-	[36]
pH 9 (predomina especie no protonada)			Trabajo previo en grupo catálisis no publicado
[RAS] $8 mg L^{-1}$ (A)	515-518	$5,80 \times 10^3$ (A)	
[RAS] $80 mg L^{-1}$ (B)		$5,12 \times 10^3$ (B)	
pH 11			
rango [RAS] = $6 - 24 mg L^{-1}$	545	$7,83 (\pm 0,26) \times 10^3$	
pH 9 bórax concentrado			
rango [RAS] = $3 - 42 mg L^{-1}$	447	$6,75 (\pm 0,108) \times 10^3$	
pH 9,4 buffer Tris-HCl			
rango [RAS] = $3 - 42 mg L^{-1}$	527	$7,46 (\pm 0,232) \times 10^3$	Este trabajo
pH 5-6 agua destilada			
rango [RAS] = $4 - 40 mg L^{-1}$	425	$4,1 (\pm 0,086) \times 10^3$	
pH 6-7 agua destilada			
rango [RAS] = $3 - 30 mg L^{-1}$	516	$4,02 (\pm 0,296) \times 10^3$	
pH 7 buffer			
rango [RAS] = $5 - 40 mg L^{-1}$	518	$6,37 (\pm 0,392) \times 10^3$	

3.3.3. Naranja II

Espectros de absorción UV-Vis

El colorante azoico, NII, consiste básicamente en un enlace azo ($-N=N-$), un anillo de benceno y un anillo de naftaleno, los cuales presentan diferentes picos de absorción. En la Figura 3.13 se presentan los espectros de absorción UV-Vis para soluciones de NII de concentración $24 mg L^{-1}$ bajo diferentes valores de pH para un tiempo de agitación correspondiente a 40 min. Los picos de absorbancia encontrados a 231 y 304 nm se asocian a las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos de benceno y naftaleno, respectivamente, en concordancia a lo reportado en la literatura [41] [42]. Además, se presenta un aumento leve de la absorbancia cercano a 410 nm, lo cual es propio de transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ del enlace $C-N=N-C$ de la forma azo, lo cual podría indicar que se encuentra esta forma tautomérica en menor proporción a pH 11. La banda a 484 nm se corresponde con transiciones $n \rightarrow \pi^*$ de los enlaces $-C=O$ y $-N=C$, siendo la banda responsable del color

[16]. Wang y Zang (2012) reportan un pico en 488 nm correspondiente a transiciones de la forma hidrazona de NII [43]. Esto permite concluir que NII se encuentra predominantemente en su forma hidrazona. En medio básico, el ion fenolato no se forma fácilmente debido a la estabilización de la forma hidrazona, por un átomo de hidrógeno conectado al β nitrógeno del grupo azo. Y para medios fuertemente básicos, cercanos a pH 12, el hombro alrededor de 400 nm desaparece y la banda de absorción en la región visible se extiende (proceso de agregación y dimerización) [9]. Se conoce que en solución acuosa se presenta principalmente la forma tautomérica hidrazona [16].

Córdoba (2015) encontró que NII no presenta modificaciones en su estructura con la variación del pH del medio disolvente para un rango de 5 a 9, presentando una ligera hipercromicidad con el aumento del pH a 9 [11]. La energía de la transición en la banda principal en 484 nm es dependiente del pH, si bien no presentó modificaciones en su estructura al variar el pH entre 6-7 y 11, dado que la banda presenta el máximo en 484 nm, la absorbancia aumenta al pasar de pH 6-7 a 9,4. Además, disminuye significativamente con el aumento de la basicidad desde pH 9,4 a 11, tal como reporta Procner et al. (2018) [44].

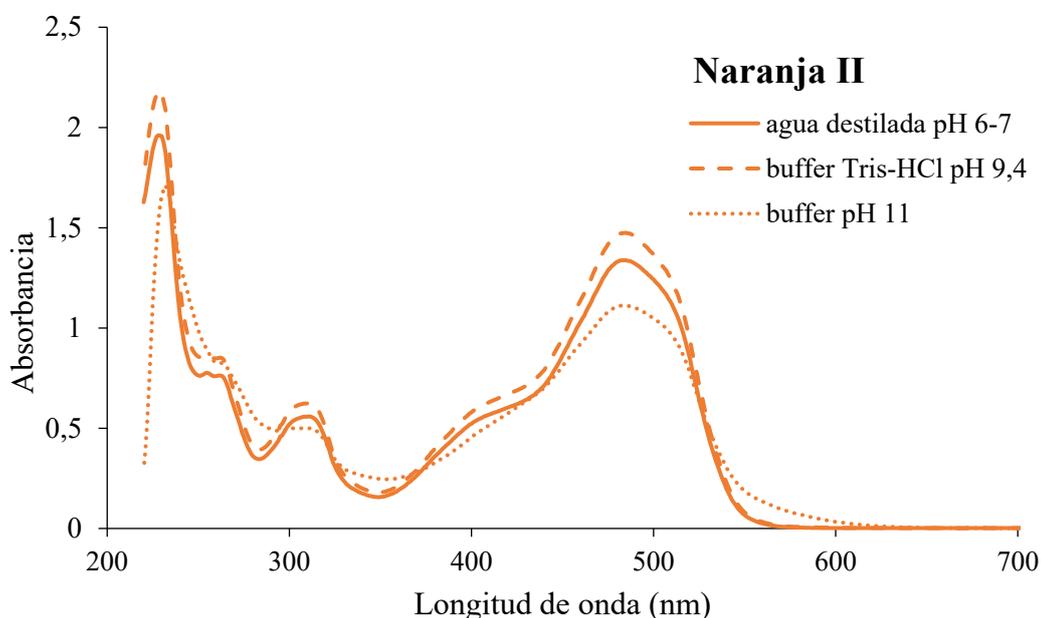


Figura 3.13 - Espectros UV-Vis de NII (24 mg L^{-1}) a diferentes valores de pH.

Curvas de calibrado

El pico máximo de absorbancia en el visible para NII se encontró a 484 nm, esto se corresponde con los valores reportados en la literatura: 483 nm [45], 484 nm [41] [42];

485 nm [28], [46], [47], [48]; 486 nm [49]. Nicolás et al. (2021) reportan además un pico característico de NII en 310 nm [28].

Se construyeron curvas de calibrado de NII para diferentes valores de pH (6-7 en agua destilada, pH 9,4 en buffer Tris-HCl y en buffer comercial pH 11) (Figura 3.14). En la Tabla 3.4 se muestran las longitudes de onda asociadas a los picos máximos de absorción y los coeficientes de absorptividad para NII reportados en la bibliografía. Para soluciones de NII donde predomina su forma monomérica, ϵ tiene valores cercanos a $20000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Los valores menores encontrados en este trabajo a pH 11 y en agua destilada, podrían estar asociados a procesos de agregación y dimerización que se traducen en una disminución de la absorbancia en el pico característico [9].

Tabla 3.4 - Coeficientes de absorptividad molar de NII reportados en la literatura.

Condiciones	Longitud de onda λ (nm)	Coefficiente de absorptividad molar ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	Ref.
buffer fosfato (100 mM, pH 7,2) espectrofotómetro Shimadzu UV-1800	485	$1,9500 \times 10^4$	[50]
Medio ácido	483	$1,7970 \times 10^4$	[9]
100 ppm	485	$1,9476 \times 10^4$	[51]
pH 8	485	$2,3352 \times 10^4$	[52]
pH 2,6	484	$2,1857 \times 10^4$	[53]
pH 11 buffer fosfato	485	$1,9400 \times 10^4$	[54]
pH 9-12 Sol. madre 420 mg L^{-1} $0,01 \text{ M}$ buffer fosfato (1,0 mL) en cubetas de poliestireno	484	$2,0600 \times 10^4$	[55]
$10\text{-}50 \text{ mg L}^{-1}$ Disuelto en agua	486	$2,0469 \times 10^4$	[56]
Agua destilada	484	$1,6 \times 10^4$	[16]
Agua destilada pH 6-7	484	$1,7874 (\pm 0,0724) \times 10^4$	
Buffer Tris-HCl pH 9,4	485	$2,0760 (\pm 0,0182) \times 10^4$	
pH 11 Tiempo de agitación de solución madre 40 min	484	$1,7378 (\pm 0,0188) \times 10^4$	Este trabajo

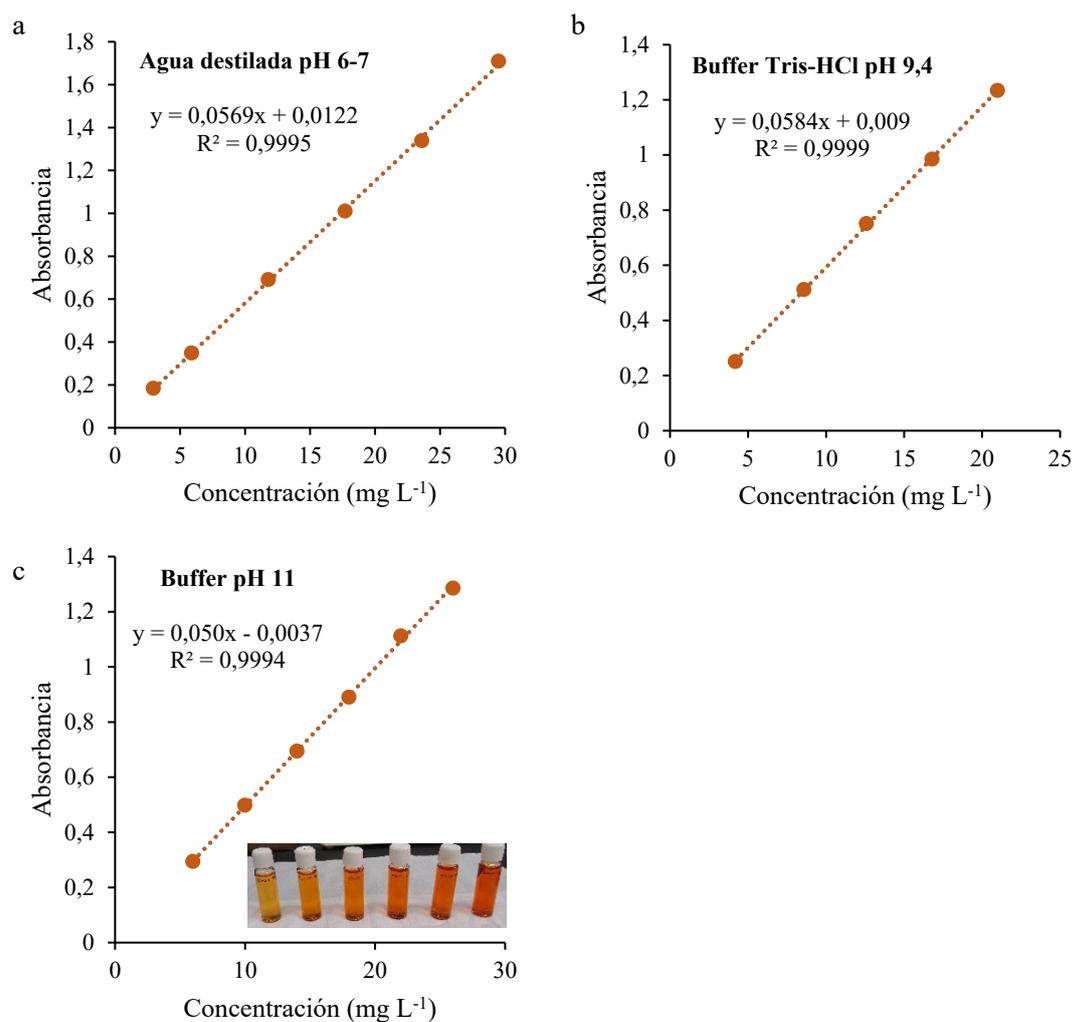


Figura 3.14 - Curvas de calibrado de NII en (a) agua destilada a pH 6-7 (484 nm), (b) buffer Tris-HCl pH 9,4 (485 nm) y (c) buffer pH 11 (484 nm).

3.4. Conclusiones

Las concentraciones de los colorantes y de HEM en solución pueden determinarse de forma confiable utilizando espectroscopía UV-Vis.

El colorante antraquinónico, RAS, se ve considerablemente afectado por la naturaleza del solvente y el pH del medio de reacción. Se seleccionó el buffer Tris-HCl 0,1 M a pH 9,4 como solvente para la preparación de las soluciones modelo de RAS. Se descartó el uso de soluciones de RAS a pH 11, dado que presenta movimientos del pico característico (545 nm) al encontrarse el pH del medio cerca del pKa (11). Dado que ocurre una desprotonación dependiente del pH, el espectro de absorción UV-Vis cambia en función de la proporción en la que se encuentren las formas monoaniónicas, dianiónicas y trianiónicas del colorante. Asimismo, el buffer bórax pH 9 no resultó

apropiado para la preparación de las soluciones modelo de RAS dado que el borato presente forma complejos con *o*-difenoles, por lo que al usar este buffer como solvente la molécula podría encontrarse no disponible para la reacción de oxidación. Tal como se mencionó, este tópico no se encuentra suficientemente analizado en la literatura específica, a conocimiento de esta tesista, lo cual podría ocasionar discrepancias al comparar resultados experimentales publicados.

El análisis de los espectros de absorbancia UV-Vis de NII permitió corroborar la existencia de las formas azoica e hidrazona del colorante, siendo ésta última la de mayor presencia, debido a la estabilización producida por el tautomerismo.

Las longitudes de onda de máxima absorción para HEM, RAS y NII en valores correspondiente de pH y las curvas de calibrado asociadas, se utilizaron en todo el trabajo de tesis para establecer las concentraciones de estos analitos en solución.

3.5. Referencias

- [1] S. Azouzi, K. El Kirat, and S. Morandat, “Hematin loses its membranotropic activity upon oligomerization into malaria pigment,” *Biochim Biophys Acta Biomembr*, vol. 1848, no. 11, pp. 2952–2959, 2015, doi: 10.1016/j.bbamem.2015.08.010.
- [2] C. Asher, K. A. De Villiers, and T. J. Egan, “Speciation of ferriprotoporphyrin IX in aqueous and mixed aqueous solution Is controlled by solvent identity, pH, and salt concentration,” *Inorg Chem*, vol. 48, no. 16, pp. 7994–8003, 2009, doi: 10.1021/ic900647y.
- [3] K. A. De Villiers, C. H. Kaschula, T. J. Egan, and H. M. Marques, “Speciation and structure of ferriprotoporphyrin IX in aqueous solution: Spectroscopic and diffusion measurements demonstrate dimerization, but not μ -oxo dimer formation,” *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, vol. 12, no. 1, pp. 101–117, 2007, doi: 10.1007/s00775-006-0170-1.
- [4] D. Ostfeld, “Splitting of Hematin Dimers in Nonaqueous Solution,” *Inorg Chem*, vol. 17, no. 7, pp. 1796–1799, 1978, doi: 10.1021/ic50185a018.
- [5] N. Klonis *et al.*, “Hematin-hematin self-association states involved in the formation and reactivity of the malaria parasite pigment, hemozoin,” *Biochemistry*, vol. 49, no. 31, pp. 6804–6811, 2010, doi: 10.1021/bi100567j.
- [6] A. Gürses, M. Açıkıldız, K. Güneş, and M. Sadi Gürses, *Dyes and Pigments. Green Chemistry for Sustainability*. Jaipur, India: Springer Briefs in Molecular Science, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-33892-7.
- [7] S. Benkhaya, S. M’rabet, and A. El Harfi, “A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes,” *Inorg Chem Commun*, vol. 115, p. 107891, 2020, doi: 10.1016/j.inoche.2020.107891.
- [8] L. Pereira and M. Alves, “Dyes-Environmental Impact and Remediation,” in *Environmental Protection Strategies for Sustainable Development, Strategies for Sustainability*, 2012, pp. 111–162.

- [9] O. Thomas and M. Brogat, “Organic Constituents,” in *UV-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater*, Elsevier B.V., 2017, ch. 3, pp. 73–138. doi: 10.1016/B978-0-444-63897-7.00003-2.
- [10] B. Ramavandi, A. A. Najafpoor, H. Alidadi, and Z. Bonyadi, “Alizarin red-S removal from aqueous solutions using *saccharomyces cerevisiae*: Kinetic and equilibrium study,” *Desalination Water Treat*, vol. 144, pp. 286–291, Mar. 2019, doi: 10.5004/dwt.2019.23556.
- [11] A. Córdoba, “Catalizadores enzimáticos y biomiméticos soportados para la eliminación de colorantes modelo de soluciones acuosas,” Universidad Nacional de Córdoba, 2015. Accessed: Mar. 19, 2025. [Online]. Available: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/4648>
- [12] K. Hunger, *Industrial Dyes. Chemistry, Properties, Applications*. Wiley-VCH, 2003.
- [13] J. Kelemen, S. Moss, H. Sauter, and T. Winkler, “Azo-hydrazone tautomerism in azo dyes, NMR and mass spectrometric investigations of 1-phenyl azo-2-naphthylamine and 1-phenyl azo-Z-naphthol derivatives,” *Dyes ad Pigments*, vol. 3, p. 2747, 1982.
- [14] L. C. Abbott, S. N. Batchelor, J. R. Lindsay Smith, and J. N. Moore, “Reductive reaction mechanisms of the Azo Dye Orange II in aqueous solution and in cellulose: From radical intermediates to products,” *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 113, no. 21, pp. 6091–6103, May 2009, doi: 10.1021/jp9021147.
- [15] W. Herbst and K. Hunger, *Industrial Organic Pigments: Production, Properties, Applications*, Wiley-VCH. Frankfurt, 2003.
- [16] L. C. Abbott *et al.*, “Experimental and computational studies of structure and bonding in parent and reduced forms of the azo dye orange II,” *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 109, no. 12, pp. 2894–2905, Mar. 2005, doi: 10.1021/jp045216s.
- [17] J. A. Akkara, J. Wang, D. P. Yang, and K. E. Gonsalves, “Hematin-catalyzed polymerization of phenol compounds,” *Macromolecules*, vol. 33, no. 7, pp. 2377–2382, 2000, doi: 10.1021/ma9906534.

- [18] S. Sakai, K. Moriyama, K. Taguchi, and K. Kawakami, “Hematin is an alternative catalyst to horseradish peroxidase for in situ hydrogelation of polymers with phenolic hydroxyl groups in vivo,” *Biomacromolecules*, vol. 11, no. 8, pp. 2179–2183, Aug. 2010, doi: 10.1021/bm100623k.
- [19] J. H. Ryu *et al.*, “Chitosan-g-hematin: Enzyme-mimicking polymeric catalyst for adhesive hydrogels,” *Acta Biomater*, vol. 10, no. 1, pp. 224–233, 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2013.09.014.
- [20] Y. Parra, R. E. Ferrer, and K. Montero, “Espectroscopía de las interacciones de drogas quinolónicas antimaláricas con Fe(III)PPIX,” *Química Viva*, vol. 10, no. 3, pp. 154–186, 2011.
- [21] L. Johann, “A Physico-Biochemical Study on Potential Redox-Cyclers as Antimalarial and Antischistosomal Drugs,” *Curr Pharm Des*, no. June 2016, 2012, doi: 10.2174/138161212801327284.
- [22] M. Ozawa, A. Fukutome, Y. Sannami, H. Kamitakahara, and T. Takano, “Preparation and evaluation of the oxidation ability of hematin-appended 6-amino-6-deoxycellulose,” *Journal of Wood Chemistry and Technology*, vol. 34, no. 4, pp. 262–272, 2014, doi: 10.1080/02773813.2013.869605.
- [23] E. Tierrablanca, J. Romero-García, P. Roman, and R. Cruz-Silva, “Biomimetic polymerization of aniline using hematin supported on halloysite nanotubes,” *Appl Catal A Gen*, vol. 381, no. 1–2, pp. 267–273, 2010, doi: 10.1016/j.apcata.2010.04.021.
- [24] A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Experimental design and MM2-PM6 molecular modelling of hematin as a peroxidase-like catalyst in Alizarin Red S degradation,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 355, pp. 44–60, 2012, doi: 10.1016/j.molcata.2011.12.011.
- [25] H. Förster, “UV—visible Spectroscopy and its Applications,” *Anal Chim Acta*, vol. 284, no. 1, p. 245, 1993, doi: 10.1016/0003-2670(93)80039-n.
- [26] Y. Inada and K. Shibata, “Received September 25, 1962,” vol. 9, no. 4, pp. 323–327, 1962, [Online]. Available: file:///C:/Users/Egan/Documents/Mendeley Desktop/Inda Biochem Biophys Res Commun 1962.pdf

- [27] A. V. Pandey, N. Singh, B. L. Tekwani, S. K. Puri, and V. S. Chauhan, “Assay of β -hematin formation by malaria parasite,” *J Pharm Biomed Anal*, vol. 20, no. 1–2, pp. 203–207, 1999, doi: 10.1016/S0731-7085(99)00021-7.
- [28] P. Nicolás, G. S. López Pugini, F. Horst, V. Lasalle, and M. L. Ferreira, “Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes,” *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.
- [29] F. A. Lesser and M. F. Ovejero Humia, “Derivados oxidados de glicerol: Obtención e impregnación en film polimérico comercial,” Universidad Nacional de Córdoba, 2018.
- [30] A. Turcanu and T. Bechtold, “PH Dependent redox behaviour of Alizarin Red S (1,2-dihydroxy-9,10- anthraquinone-3-sulfonate) - Cyclic voltammetry in presence of dispersed vat dye,” *Dyes and Pigments*, vol. 91, no. 3, pp. 324–331, 2011, doi: 10.1016/j.dyepig.2011.04.011.
- [31] H. E. Zittel and T. M. Florence, “Voltammetric and Spectrophotometric Study of the Zirconium-Alizarin Red S Complex,” *Anal Chem*, vol. 39, no. 3, pp. 320–326, 1967, doi: 10.1021/ac60247a031.
- [32] B. Lai, Y. Zhou, J. Wang, Z. Yang, and Z. Chen, “Application of excitation and emission matrix fluorescence (EEM) and UV-vis absorption to monitor the characteristics of Alizarin Red S (ARS) during electro-Fenton degradation process,” *Chemosphere*, vol. 93, no. 11, pp. 2805–2813, 2013, doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.056.
- [33] J. Gao *et al.*, “Decoloration of alizarin red S in aqueous solution by glow discharge electrolysis,” *Dyes and Pigments*, vol. 76, no. 1, pp. 47–52, 2008, doi: 10.1016/j.dyepig.2006.08.033.
- [34] H. Fujikawa, S. Yamaguchi, and K. Matsui, “Spectroscopic Study of Alizarin and Alizarin Red Adsorbed on Anodic Aluminum Oxide Films,” *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, vol. 43, no. 3, pp. 197–200, 2018, doi: 10.14723/tmrsj.43.197.
- [35] B. B. Koleva, S. Stoyanov, T. Kolev, I. Petkov, and M. Spitteller, “Spectroscopic and structural elucidation of merocyanine dye 2,5-[1-metyl-4-[2-(4-

- hydroxyphenyl)ethenyl]]piridinium]-hexane tetraphenylborate. Aggregation processes,” *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, vol. 71, no. 3, pp. 847–853, 2008, doi: 10.1016/j.saa.2008.02.036.
- [36] M. A. Khosa, S. S. Shah, and M. F. Nazar, “Uv-visible spectrometric study and micellar enhanced ultrafiltration of alizarin red s dye,” *J Dispers Sci Technol*, vol. 32, no. 11, pp. 1634–1640, 2011, doi: 10.1080/01932691.2010.528338.
- [37] C. Rizzo, J. L. Andrews, J. W. Steed, and F. D’Anna, “Carbohydrate-supramolecular gels: Adsorbents for chromium(VI) removal from wastewater,” *J Colloid Interface Sci*, vol. 548, pp. 184–196, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.jcis.2019.04.034.
- [38] G. E. Batley, “A catalytic method for the determination of cobalt impurities in reactor cooling-water circuits,” *Talanta, Pergamon Press, Printed in Northern Ireland*, vol. 18, pp. 1225–1232, 1971.
- [39] V. M. Ivanov, E. M. Adamova, and V. N. Figurovskaya, “Acid-base, spectrophotometric, and colorimetric properties of 1,2-dihydroxyantraquinone-3-sulfoacid (Alizarin Red S),” *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 65, no. 5, pp. 473–481, 2010, doi: 10.1134/S1061934810050072.
- [40] D. A. y/o sus filiales. Merck KGaA, “Rojo de Alizarina S, sal monosódica (C.I. 58005).” Accessed: Nov. 23, 2024. [Online]. Available: https://www.merckmillipore.com/AR/es/product/Alizarin-red-S-mono-sodiumsalt-C.I.-58005,MDA_CHEM-106278
- [41] B. H. Moon, Y. B. Park, and K. H. Park, “Fenton oxidation of Orange II by pre-reduction using nanoscale zero-valent iron,” *Desalination*, vol. 268, no. 1–3, pp. 249–252, 2011, doi: 10.1016/j.desal.2010.10.036.
- [42] A. Zhang, L. Fang, J. Wang, and W. Liu, “Enzymatic Decolorization of Orange II: Optimization by Response Surface Methodology and Pathway,” vol. 00, no. 00, pp. 1–8, 2012, doi: 10.1002/ep.
- [43] Y. Q. Wang and H. M. Zhang, “Investigations on the binding of human hemoglobin with orange i and orange II,” *J Photochem Photobiol B*, vol. 113, pp. 14–21, 2012, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2012.04.009.

- [44] M. Prochner, Ł. Orzeł, G. Stochel, and R. van Eldik, “Catalytic Degradation of Orange II by MnIII(TPPS) in Basic Hydrogen Peroxide Medium: A Detailed Kinetic Analysis,” *Eur J Inorg Chem*, vol. 2018, no. 30, pp. 3462–3471, 2018, doi: 10.1002/ejic.201800485.
- [45] M. Dükkanci, M. Vinatoru, and T. J. Mason, “Sonochemical treatment of Orange II using ultrasound at a range of frequencies and powers,” *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, vol. 15, no. 2, pp. 277–283, 2012, doi: 10.1515/jaots-2012-0205.
- [46] Y. Bessekhoud, N. Chaoui, M. Trzpit, N. Ghazzal, D. Robert, and J. V. Weber, “UV-vis versus visible degradation of Acid Orange II in a coupled CdS/TiO₂ semiconductors suspension,” *J Photochem Photobiol A Chem*, vol. 183, no. 1–2, pp. 218–224, 2006, doi: 10.1016/j.jphotochem.2006.03.025.
- [47] J. O. Onyatta, P. K. Tum, J. G. N. Kithure, and F. D. O. Oduor., “Photocatalytic Degradation of Acid Orange Ii Dye on Selected Commercial Titanium Dioxide Catalysts.,” *Int J Adv Res (Indore)*, vol. 4, no. 10, pp. 1149–1155, 2016, doi: 10.21474/ijar01/1905.
- [48] S. Anandan, G. J. Lee, P. K. Chen, C. Fan, and J. J. Wu, “Removal of Orange II dye in water by visible light assisted photocatalytic ozonation using Bi₂O₃ and Au/Bi₂O₃ nanorods,” *Ind Eng Chem Res*, vol. 49, no. 20, pp. 9729–9737, 2010, doi: 10.1021/ie101361c.
- [49] J. Luo, J. Yartym, and M. Hepel, “Photoelectrochemical Degradation of Orange II Textile Dye on Nanostructured WO₃ Film Electrodes,” *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*, vol. 5, no. 4, pp. 315–321, 2002.
- [50] D. A. Morales Urrea, P. M. Haure, and E. M. Contreras, “Cinética de decoloración de Orange II con peróxido de hidrógeno en presencia de una peroxidasa de soja,” in *II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental, II Congreso Nacional de Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental*, 2015.
- [51] M. Y. A. Mollah, J. A. G. Gomes, K. K. Das, and D. L. Cocke, “Electrochemical treatment of Orange II dye solution-Use of aluminum sacrificial electrodes and floc characterization,” *J Hazard Mater*, vol. 174, no. 1–3, pp. 851–858, 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.09.131.

- [52] J. M. Molina-Guijarro *et al.*, “Detoxification of azo dyes by a novel pH-versatile, salt-resistant laccase from *Streptomyces ipomoea*,” *International Microbiology*, vol. 12, no. 1, pp. 13–21, 2009, doi: 10.2436/20.1501.01.77.
- [53] I. Arslan-Alaton and J. L. Ferry, “Application of polyoxotungstates as environmental catalysts: Wet air oxidation of acid dye Orange II,” *Dyes and Pigments*, vol. 54, no. 1, pp. 25–36, 2002, doi: 10.1016/S0143-7208(02)00031-1.
- [54] N. Chahbane *et al.*, “FeIII–TAML-catalyzed green oxidative degradation of the azo dye Orange II by H₂O₂ and organic peroxides: Products, toxicity, kinetics, and mechanisms,” *Green Chemistry*, vol. 9, no. 1, pp. 49–57, 2007, doi: 10.1039/b604990g.
- [55] G. R. Warner *et al.*, “Reactivity and Operational Stability of N-Tailed TAMLs through Kinetic Studies of the Catalyzed Oxidation of Orangea II by H₂O₂: Synthesis and X-ray Structure of an N-Phenyl TAML,” *Chemistry - A European Journal*, vol. 21, no. 16, pp. 6226–6233, 2015, doi: 10.1002/chem.201406061.
- [56] P. Ozdural, “Catalytic Wet Air Oxidation of Mono Azo Dye Orange II : Catalyst Selection , Reaction Kinetics , and Modeling,” Doctor of Philosophy (PhD), Dissertation, Civil & Environmental Eneering, Old Dominion University, 2008. doi: 10.25777/k9ec-sj94.

Capítulo IV

Síntesis de macro esferas magnéticas de quitosano como soporte de hematin

4.1. Introducción

La aplicación a gran escala de enzimas o biomiméticos en sistemas homogéneos presenta limitaciones en relación al elevado costo asociado. En consecuencia, la inmovilización es un proceso necesario para confinar la sustancia activa en una región del espacio, conduciendo a una forma insoluble que, idealmente, conserva su actividad. En la inmovilización, el catalizador pasa de su forma homogénea (libre o soluble) a heterogénea (inmovilizado) mejorando las propiedades para su aplicación práctica [1]. En el caso particular de HEM, su forma soportada podría evitar los principales problemas asociados con su uso en forma homogénea (baja solubilidad y agregación en pH bajos). Además, la posibilidad de reuso del biomimético compensa la menor actividad frente a su contraparte enzimática.

El material utilizado como soporte debe caracterizarse por ser estable bajo condiciones de reacción e inerte frente a reactivos y productos. Además, debe contar con elevada área superficial y con alta resistencia mecánica [2]. El QUIT, es un material ampliamente utilizado como soporte, dado que, desde un punto de vista tecnológico, su solubilidad en medio ácido permite la obtención de esferas, films, fibras, membranas, entre otros [3]. Sin embargo, presenta inconvenientes asociados con su baja estabilidad en medio acuoso, baja resistencia mecánica y dificultad en la recuperación del medio de reacción. Consecuentemente, para superar estos inconvenientes se han desarrollado modificaciones físicas y químicas, siendo el tratamiento químico mediante un agente reticulante una de las más importantes. Se han investigado varios agentes de reticulación para mejorar sus propiedades, como el glutaraldehído (GA), el glioxal, la epíclorhidrina y el éter diglicídico de etilenglicol [4], [5]. El tripolifosfato de sodio (TPP), un polianión

de bajo costo, ha sido reportado como agente reticulante alternativo dado que permite la reticulación física reversible por interacción electrostática en lugar de la reticulación química, evitando la toxicidad de los reactivos y otros efectos indeseables [6].

En el campo del desarrollo de catalizadores y adsorbentes, la nanotecnología ha adquirido gran relevancia [7], [8], [9]. Los materiales nanoparticulados tienen propiedades novedosas que pueden ser empleadas para mejorar las propiedades existentes. La incorporación de MAG en catalizadores ha sido explorada en el grupo de Catálisis y hay numerosos reportes en la literatura [10], [11], [12], [13].

Existen diferentes rutas de síntesis para obtener MAG, entre las cuales se pueden mencionar coprecipitación [14], [15], síntesis hidrotérmica/solvotérmica [16], [17], [18], sol/gel [19] y síntesis verde [20], [21], [22]. Dentro de estas opciones, la coprecipitación es uno de los métodos más empleados para sintetizar nanopartículas de óxidos de hierro ya que es una vía simple, eficaz, de bajo costo y sin intermediarios tóxicos. Este método utiliza una solución salina acuosa que contiene especies disueltas de Fe^{2+} y Fe^{3+} a temperatura ambiente o elevada, y una solución alcalina (NaOH o NH_4OH) para precipitar el óxido de hierro [23], [24], [25]. La síntesis de MAG se realiza bajo una atmósfera inerte, generada con un flujo de nitrógeno gaseoso (N_2) para desplazar el oxígeno y evitar la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} con la consecuente obtención de otros óxidos de Fe (como maghemita, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) [26].

Como antecedente, Nicolás (2017) en su tesis doctoral, sintetizó MAG utilizando hexametilentetramina (HMTA) y/o polietilenglicol (PEG) como estabilizadores [27]. Para obtener 500 mg de MAG, utilizó $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,6007 g) y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1,1681 g) como precursores. Asimismo, se reporta la síntesis de nanopartículas de MnFe_2O_4 y CoFe_2O_4 [13]. Para ello, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3,271 g) y $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,022 g) o $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,70 g) se usaron para la obtención de MnFe_2O_4 o CoFe_2O_4 , respectivamente. Adicionalmente, se sintetizaron otros catalizadores que incluyen nanopartículas de ferritas y MAG estabilizadas con un biopolímero (QUIT o goma arábica), un tensioactivo (dodecilsulfato sódico) o un compuesto orgánico heterocíclico (HMTA). En algunos de estos catalizadores se utilizó un agente entrecruzante (GA) con el fin de minimizar la disolución del biopolímero. La incorporación de MAG en el QUIT, tiene una doble funcionalidad, aumentar la resistencia mecánica del sólido y otorgar sitios activos de

generación de radicales. En los trabajos mencionados, el QUIT fue aplicado en hojuelas (Figura 4.1).



Figura 4.1 – QUIT en hojuelas.

En los últimos años, ha habido un creciente interés en la fabricación de adsorbentes y catalizadores esféricos debido a sus ventajas, que incluyen procedimientos de síntesis simples, la posibilidad de obtener diversos tamaños, elevada área efectiva, fuerzas similares aplicadas en todas las direcciones de la esfera durante el transporte, entre otras [28]. La estructura esférica es favorable respecto a los polvos u hojuelas, en el caso de QUIT, dado que los catalizadores y adsorbentes pueden ser usados de manera práctica en columnas o lechos en aplicaciones a gran escala y son simples de almacenar [29].

En función de lo expuesto, el objetivo principal de este capítulo fue establecer las condiciones de síntesis para la obtención de sólidos esféricos basados en QUIT y MAG con el fin de ser utilizados como soporte de HEM. Para ello, se exploró:

- (I) Síntesis de esferas de QUIT puras y entrecruzadas con TPP mediante precipitación química. Se realizó mediante precipitación y entrecruzamiento en serie [4], [30] y en simultáneo [31], tal como se reporta en la literatura.
- (II) Síntesis de esferas magnéticas de QUIT entrecruzadas con TPP, y con GA a modo de comparación. Las condiciones operativas de los procedimientos de incorporación de MAG en la matriz esférica de QUIT se definieron de modo que requieran el mínimo consumo energético sin introducir precursores tóxicos (temperatura ambiente y sin uso de surfactantes). Los métodos de síntesis empleados fueron coprecipitación de MAG en presencia de las esferas de QUIT y coprecipitación de MAG y gelificación de QUIT en simultáneo.
- (III) Inmovilización de HEM sobre las esferas QUIT-MAG-entrecruzante (TPP o GA).

El sólido compuesto por QUIT y MAG se caracterizó a través de técnicas que brindan información específica del material (DRX y SEM-EDX). Una técnica adicional ampliamente reportada para la caracterización de sólidos adsorbentes o catalizadores es la determinación del área BET (Brunauer-Emmett-Teller). Este parámetro es una medida del área superficial específica de un sólido calculado mediante la adsorción física de moléculas de gas en la superficie del material a bajas temperaturas (por lo general, usando nitrógeno líquido) [32]. El fundamento radica en el cálculo de la cantidad de gas adsorbido correspondiente a una capa monomolecular en la superficie del material. Para este análisis la muestra debe estar completamente seca y libre de compuestos volátiles o adsorbidos, como agua o gases, que puedan interferir con la adsorción del nitrógeno [33]. Los sólidos estudiados en la presente tesis, que contienen QUIT, poseen una estructura definida en estado húmedo y reducen drásticamente su volumen al perder la humedad. Además, presentan la capacidad de *hinchamiento* en medio acuoso luego del secado (se profundizan estos conceptos en el capítulo V y VI). Es importante considerar que el contenido de agua, la aglomeración, la pérdida de grupos funcionales asociadas al secado y las modificaciones ocasionadas por el hinchamiento al rehidratarse en medio acuoso, afectan la funcionalidad del material. Estas variables relevantes no son consideradas en la medida de la superficie específica, dado que la muestra a analizar por esta técnica debe estar seca. En consecuencia, se consideró que esta técnica no brindaría información factible de correlacionar con los resultados de su aplicación. Esto fue evidente en un estudio previo realizado por Pirillo et al. (2009), en el cual se comparó la capacidad de adsorción de alizarina (difiere de RAS por la ausencia del grupo sulfónico) sobre MAG y QUIT. Las áreas BET de MAG y QUIT fueron 42 y 4 m² g⁻¹, respectivamente. Sin embargo, no se pudieron correlacionar adecuadamente con las capacidades de adsorción a pH 7, siendo del orden de 0,05 mmol colorante por g de MAG (concentración inicial de alizarina igual a 25 mg L⁻¹ y 2 g L⁻¹ de adsorbente) frente a aproximadamente 5 mmol colorante por g de QUIT (concentración inicial de alizarina igual a 50 mg L⁻¹ y 0,1 g L⁻¹ de adsorbente) [34].

Respecto a las nanopartículas obtenidas, la caracterización se realizó mediante TEM en ausencia de QUIT, debido a la dificultad de obtener muestras de las esferas magnéticas de QUIT del espesor requerido por la técnica, y por DRX en la matriz esférica de QUIT. Otra técnica reportada para caracterizar materiales magnéticos es la magnetometría de muestra vibrante (VSM). Esta técnica mide las propiedades magnéticas de un material al analizar su respuesta a un campo magnético aplicado. El principio fundamental radica en la inducción electromagnética. La muestra se coloca en un campo magnético homogéneo y vibra a una frecuencia conocida, lo que genera un cambio periódico en el flujo magnético detectado por bobinas de captación. Este cambio se traduce en una señal eléctrica proporcional a la magnetización de la muestra, permitiendo caracterizar propiedades como la magnetización de saturación (valor máximo de magnetización alcanzado cuando todos los momentos magnéticos están alineados bajo un campo magnético externo intenso), la coercitividad (resistencia del material a la desmagnetización) y la curva de histéresis (relación entre el campo magnético aplicado y la magnetización del material). Como el objetivo principal en este trabajo no es el estudio del desempeño magnético de MAG, sino su funcionalidad química y física como parte de un soporte, esta técnica de caracterización no brindaría información adicional útil, considerando además que en trabajos previos se ha verificado mediante esta técnica el comportamiento superparamagnético de MAG obtenida por coprecipitación [26]. Por otro lado, la respuesta magnética puede comprobarse utilizando imanes de alta potencia como Nd.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Reactivos

QUIT (CAS: 9012-76-4) (100% más fino que 100 mallas y 70% más fino que 150 mallas) con 2% de acetilación fue provisto por Primex S.A. TM 809 (Siglufjorður, Fjallabyggð, Islandia). La superficie BET es de $4 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Ácido acético 100% (glacial CH_3COOH , PM = 60,052), RAS y buffer pH 11 fueron comprados a Biopack (Buenos Aires, Argentina). Hidróxido de sodio (NaOH), sulfato ferroso heptahidrato ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 10 vol. (3%) fueron obtenidos de Cicarelli (Santa Fe, Buenos Aires). El cloruro de hierro hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) se compró a Tetrahedron Laboratorio Andes (Mendoza, Argentina). El TPP 85% y HEM derivado de sangre animal porcina fueron provistos por Sigma Aldrich (San Luis, USA). Glutaraldehído fue obtenido de Fluka (Carolina del Norte, USA). Todos los reactivos

fueron usados sin mayor purificación. El agua destilada fue preparada con el destilador propio del laboratorio de Catálisis.

4.2.2. Síntesis de esferas puras de quitosano

200 mg de QUIT se disolvieron bajo agitación magnética en 10 mL de ácido acético 0,5 y 5% v/v, con el fin de determinar la concentración de ácido que favorece la disolución del biopolímero.

Inicialmente, se sintetizaron esferas entrecruzadas de QUIT mediante precipitación química y entrecruzamiento en simultáneo. Para ello, 200, 350 y 400 mg de QUIT fueron disueltos en 10 mL de ácido acético 5% v/v buscando establecer la concentración óptima del biopolímero que permita obtener una solución con una viscosidad adecuada para su manipulación y posterior precipitación. El QUIT se agregó gradualmente y se mantuvo bajo agitación magnética durante 30 min a temperatura ambiente. Las soluciones de QUIT se gotearon manualmente en 20 mL de NaOH 3,75 M y TPP 5% v/v usando una aguja-jeringa. Se utilizó una jeringa hipodérmica descartable (2,5 mL) Darling con terminación Luer-Slip y una aguja con diámetro de 0,9 mm. Este sistema aguja-jeringa se empleó en la precipitación de soluciones de QUIT en todo el trabajo de tesis. El goteo se realizó a una distancia mínima de la solución para minimizar la deformación de la esfera debido al impacto de la gota al caer. El tiempo de residencia de la última gota en la solución precipitante fue de 15 min. El sólido obtenido se recuperó retirando la solución alcalina y se lavó con agua destilada hasta la neutralidad. Las esferas sintetizadas por este procedimiento se denominaron QUIT-2.

Adicionalmente, se sintetizaron esferas de QUIT mediante un método en tres pasos: (I) disolución, (II) formación de la esfera por precipitación química y (III) entrecruzamiento. 200 y 350 mg de QUIT se disolvieron en 10 mL de ácido acético 5% v/v manteniendo 30 min bajo agitación magnética. Las soluciones se gotearon manualmente en 20 mL de NaOH 3,75 M utilizando la aguja-jeringa. El sólido obtenido se mantuvo 15 min en la solución alcalina, se recuperó y se lavó con agua destilada hasta la neutralidad. Las esferas sin entrecruzante se denominaron QUIT-1.

El sólido QUIT-1 se entrecruzó poniéndolo en contacto con 20 mL de una solución de NaOH 1 M y TPP 5% p/v durante 1 h a temperatura ambiente. Este procedimiento se realizó con y sin agitación magnética para evaluar el efecto del impacto mecánico del agitador sobre las esferas sintetizadas. Al finalizar, se lavaron con agua destilada hasta la

neutralidad. Las esferas entrecruzadas luego de la precipitación, en una instancia posterior, se denominaron QUIT-3.

La estabilidad de las esferas QUIT-3 frente a un medio ácido fue evaluada poniéndolas en contacto con soluciones de ácido acético al 0,05, 0,5 y 5% (pH 2,4, 2,9 y 3,4, respectivamente). Se registró el tiempo transcurrido hasta la disolución del sólido en el medio ácido.

4.2.3. Síntesis de esferas de QUIT-MAG entrecruzadas como soporte de HEM

4.2.3.1. Precipitación de esferas magnéticas de QUIT

La incorporación de MAG en las esferas de QUIT se realizó utilizando $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Fe^{3+}) y $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Fe^{2+}) como precursores. El procedimiento se llevó a cabo mediante 2 métodos, los cuales se detallan a continuación.

Método I: Coprecipitación química de MAG en presencia de esferas QUIT-3.

El método de síntesis de MAG utilizado se adaptó de Martínez-Mera et al (2007) [35]. El procedimiento, a temperatura ambiente y sin el uso de surfactantes, implica la precipitación de sales de hierro (relación molar $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+} = 2$) sobre una solución alcalina en ausencia de oxígeno. En reemplazo del hidróxido de amonio, se utilizó NaOH.

Se colocaron 100 esferas de QUIT-3 en una solución de NaOH 0,2 M (12,5 mL). El sólido esférico colocado correspondió a 60 mg nominales del biopolímero, considerando que cada esfera equivale a 0,6 mg de QUIT nominal. Se buscó precipitar 6 mg de MAG, 10% respecto al QUIT.

Se prepararon soluciones stock de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disolviendo 36,05 y 70,00 mg, respectivamente, en 10 mL de agua destilada. Se tomaron 2 mL de la solución con iones ferrosos y se agregaron sobre 2 mL de solución con iones férricos. La mezcla de sales de hierro se tomó con una aguja-jeringa y se precipitó sobre la solución alcalina en la que se encontraban las esferas de QUIT-3. El procedimiento se realizó bajo atmósfera inerte (burbujeo con N_2 durante 15 min previo a la precipitación). Al formarse el precipitado negro, este se mantuvo en solución alcalina por 5 min considerando que períodos mayores podrían implicar formación de impurezas como $\text{Fe}^{3+}\text{O}(\text{OH})$ (lepidocrocita) [35]. Las esferas fueron recolectadas y lavadas con agua destilada. La formación de nanopartículas magnéticas presentes en la solución se verificó con imán de Nd.

Método II: Coprecipitación química de MAG y gelificación de QUIT en simultáneo.

La metodología para coprecipitación y gelificación en simultáneo de MAG y QUIT, respectivamente, se adaptó de Fan et al. (2018) [36]. El procedimiento reportado consiste en la preparación de una solución de QUIT en ácido acético 3% v/v, con cantidades estequiométricas de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. La solución resultante se agrega por goteo en NaOH 2 M y se agita durante 3 h. Las esferas magnéticas de QUIT se colectan y lavan con agua desionizada hasta la neutralidad. En este trabajo, se realizaron leves modificaciones al procedimiento. Una solución ácida (6,6 mL) de QUIT y sales de hierro se preparó disolviendo 231 mg de QUIT en ácido acético al 5% v/v (2,6 mL) y sales de hierro (relación molar $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+} = 2$) en agua destilada (4 mL). Se agregaron cantidades estequiométricas de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (53,96 mg y 27,75 mg, respectivamente), para obtener 23,11 mg de MAG. Las masas de QUIT y MAG definidas, se correlacionan con un 91 y 9% de la masa total, respectivamente. La mezcla se mantuvo bajo agitación magnética hasta la disolución del QUIT.

Un volumen de 1,6 mL de la solución resultante se agregó por goteo manual con el sistema aguja-jeringa en una solución de NaOH 3,75 M (20 mL). La precipitación se realizó bajo atmósfera inerte generada por burbujeo con N_2 durante 15 min en un sistema hermético (Figura 4.2). Las gotas se dejaron caer desde una distancia mínima (< 1 cm). Luego de 15 min, el sólido se recolectó y se lavó con agua destilada hasta la neutralidad. En una segunda instancia, se preparó nuevamente una solución 3,75 M de NaOH (20 mL) y los 5 mL de solución ácida de QUIT y sales de hierro restantes fueron agregándose por goteo con la jeringa. En este caso, las gotas se dejaron caer desde una distancia superior a 3 cm. Se mantuvieron 15 min en la solución de NaOH, luego se removieron y se lavaron con agua destilada hasta la neutralidad.

El sólido sintetizado se colocó bajo agitación magnética en contacto directo con el agitador para evaluar su resistencia mecánica. Además, se agregó H_2O_2 10 vol. (3%) para analizar, cualitativamente, el comportamiento de las nanopartículas de óxido de hierro presentes en las esferas sintetizadas.

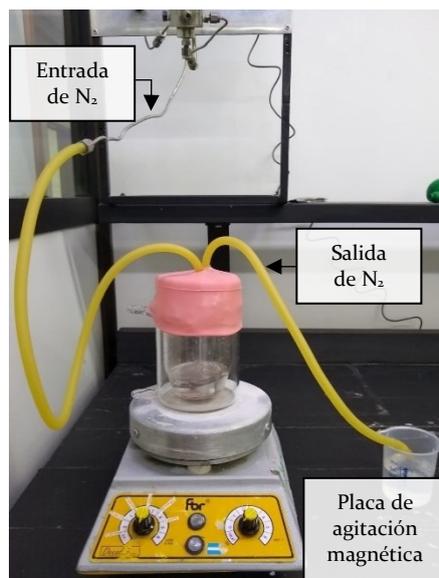


Figura 4.2 – Sistema hermético utilizado para la precipitación de esferas magnéticas de QUIT en atmósfera inerte.

Luego, se evaluó el efecto del contenido de MAG (10, 20 y 30% respecto a la masa nominal del sólido) sobre la estabilidad estructural de las esferas preparadas por el método II. Se mantuvo fija la masa nominal de QUIT-MAG en 231 mg. Cada síntesis se realizó por duplicado. La fragmentación del sólido se consideró inapropiada dado que implicaría la pérdida del catalizador en el medio de reacción, lo cual limita su completa recuperación y el posterior reúso. El sólido con el contenido de MAG óptimo fue caracterizado por DRX. Para ello, las esferas húmedas se secaron sobre una placa calefactora y se mortearon hasta obtener un polvo fino, que se espolvoreó sobre una base de vaselina en el portamuestras. Adicionalmente, la pérdida de hierro en la solución precipitante fue determinada mediante ICP-AES.

El óxido de hierro nanoparticulado se caracterizó por TEM. Debido a las limitaciones de la técnica no fue posible caracterizarlo como parte del sólido esférico. Por lo tanto, se sintetizaron las nanopartículas bajo las mismas condiciones, pero en ausencia de QUIT considerando que éste reconfigura sus enlaces poliméricos durante la gelificación atrapando a las nanopartículas en el sólido. Para ello, una solución de sales de hierro $\text{Fe}^{2+} : \text{Fe}^{3+} = 1 : 2$ (mol/mol) se goteó con jeringa en una solución de NaOH (3,75 M) en atmósfera inerte. La solución alcalina fue burbujeada 15 min con N_2 antes y después de la precipitación. Las nanopartículas fueron removidas, lavadas con agua destilada y almacenadas hasta su caracterización.

4.2.3.2. Entrecruzamiento de las esferas magnéticas de QUIT

Las esferas magnéticas de QUIT (100 esferas con un contenido nominal de QUIT igual a 80 mg) se entrecruzaron con TPP poniéndolas en contacto con 60 mL de solución entrecruzante (0,011M TPP) bajo agitación magnética durante 1 h a temperatura ambiente. Se utilizaron las siguientes relaciones en masa: QUIT/NaOH = 0,4375 y QUIT/TPP = 0,3743, en función de ensayos previos de entrecruzamiento de esferas de QUIT puro. Debido a la baja resistencia mecánica de las esferas QUIT/MAG, el procedimiento de entrecruzamiento se realizó conteniendo el sólido en una malla de fibra de vidrio para evitar el contacto directo con el agitador magnético (Figura 4.3).

Finalizado el entrecruzamiento, se retiró la solución entrecruzante y se lavó el sólido con agua destilada hasta la neutralidad. Con el fin de evaluar la resistencia mecánica del sólido entrecruzado con TPP se colocaron esferas en 2 mL de agua destilada, y se mantuvieron bajo agitación magnética (1500 rpm) durante 1 h. Adicionalmente, se agregó H₂O₂ 10 vol. (3%) para evaluar, cualitativamente, el comportamiento de la MAG presente en el sólido entrecruzado. Las esferas de QUIT-MAG-TPP fueron caracterizadas por SEM-EDX. Previo al análisis, las muestras se secaron y se metalizaron con oro.

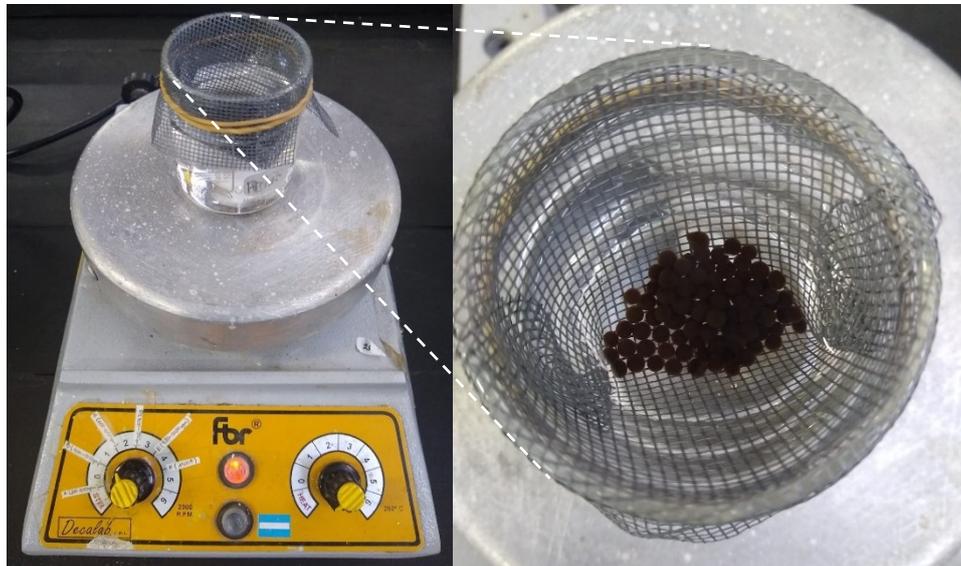


Figura 4.3 - Sistema empleado para el entrecruzamiento de las esferas de QUIT-MAG.

A modo comparativo, se entrecruzaron esferas QUIT-MAG (contenido nominal de QUIT igual a 80 mg) con GA. El sólido se colocó en una malla de fibra de vidrio y se puso en contacto con 60 mL de una solución de GA 0,013 M, similar a la concentración de la solución entrecruzante de TPP. Se mantuvo 1 h bajo agitación magnética. Finalmente, el sólido se lavó con agua destilada para eliminar el exceso de reticulante.

4.2.3.3. Inmovilización de HEM

Se utilizaron las esferas QUIT-MAG-TPP y QUIT-MAG-GA como soporte de HEM. Se puso en contacto el sólido (100 esferas de cada sólido soporte) con una solución del biomimético a pH 11. La masa de HEM en solución correspondió al 22,5% respecto a la masa nominal de MAG (relación molar MAG/HEM = 12,16). El sólido sobre el cual se soportó HEM representó una masa nominal de MAG igual a 8 mg.

Se disolvieron 1,8 mg de HEM en 60 mL de buffer pH=11 (30 mg L⁻¹) bajo agitación magnética hasta disolución. Para verificar la concentración se utilizó la curva de calibrado, a 388 nm, reportada en Capítulo 3, sección 3.3.1. El sólido (QUIT-MAG-TPP o QUIT-MAG-GA) se colocó en una malla contenedora de fibra de vidrio. Se agregó la solución de HEM y se mantuvieron las esferas en contacto por 2 h bajo agitación magnética. Se tomaron alícuotas a tiempo inicial, a 1 h y a 2 h, y se analizaron mediante espectroscopía UV-Vis, con un factor de dilución igual a 3. La masa de HEM soportada se calculó considerando que la disminución de la concentración de HEM en solución se relaciona directamente con la inmovilización del biomimético en el sólido. Se estimó la eficiencia del proceso de inmovilización (E_{HEM}) según Ecuación 4.1.

Ecuación 4.1 – Cálculo de la eficiencia del proceso de inmovilización de HEM.

$$E_{\text{HEM}} = \left[\frac{(\text{Abs}_{0 \text{ a } 388 \text{ nm}} - \text{Abs}_{2 \text{ h a } 388 \text{ nm}})}{\text{Abs}_{0 \text{ a } 388 \text{ nm}}} \right] \times 100$$

Adicionalmente, el sólido compuesto por QUIT-MAG-TPP fue puesto en contacto con una solución de HEM cuya masa corresponde al 5 y 25% respecto a la masa nominal de MAG. Se consideró la pérdida de HEM en el agua de lavado en el cálculo de la masa soportada del biomimético.

4.2.4. Caracterización preliminar de HEM soportado mediante reacción con RAS y H₂O₂

Las esferas QUIT-MAG-TPP-HEM y QUIT-MAG-GA-HEM se pusieron en contacto con 8 mL de solución de RAS (20 mg L⁻¹) y H₂O₂ 80 mM como agente oxidante. Para esta prueba de concepto, la concentración del H₂O₂ se fijó en 80 mM como un extremo del rango de concentraciones a explorar. Para ello, se tomaron como referencia trabajos previos en el grupo que demostraban capacidad de eliminación de RAS y NII con sistemas que contenían MAG y HEM [13]. La reacción se realizó a 30 °C durante 2 h bajo agitación magnética. Se utilizaron viales con tapa, y una malla de fibra de vidrio

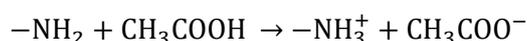
para contener el sólido y evitar su contacto con el agitador magnético. Se verificó que la malla de fibra de vidrio no adsorbe colorante bajo las condiciones de reacción.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Síntesis de esferas de QUIT puro

La formación de esferas implica la neutralización de las gotas de la solución ácida de QUIT en un medio básico [37]. En soluciones neutras y alcalinas el QUIT es prácticamente insoluble. Se disuelve bajo agitación en ácidos como el acético, nítrico, hidroclicórico, perclórico y fosfórico [38], [39]. Durante la disolución en medio acuoso ácido ocurre una reacción entre los grupos amino en las cadenas moleculares del biopolímero y el ácido acético (Ecuación 4.2):

Ecuación 4.2 – Protonación de los grupos aminos del quitosano al disolverse en ácido acético.



Se encontró que la concentración de 0,5% v/v de ácido acético (10 mL) no fue adecuada para disolver 200 mg de QUIT. Una baja concentración del ácido puede protonar parcialmente los grupos amino del polisacárido, pero no lo suficiente como para superar las interacciones intermoleculares y facilitar la solubilidad. Al aumentar la concentración del ácido al 5% v/v, la solubilidad del QUIT fue favorecida en concordancia con lo reportado en la literatura [4], [40], [41], [42]. Incluso bajo esta concentración, una porción del QUIT fue insoluble en este trabajo (Figura 4.4). No se aumentó la concentración del ácido dado que una protonación excesiva del QUIT puede inducir la deformación de su estructura y favorecer la depolimerización por hidrólisis ácida de los enlaces glicosídicos.

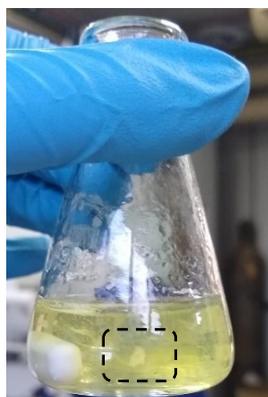


Figura 4.4 – Fracción insoluble de QUIT en una solución preparada con 350 mg en ácido acético 5% v/v.

Las cadenas moleculares del QUIT disueltas están dispersas de manera desordenada en una solución acuosa ácida [43]. La neutralización de los grupos NH_3^+ en NH_2 conduce a la desaparición de las repulsiones iónicas entre las cadenas del polímero, y este proceso genera un sólido esférico que contiene agua y QUIT en forma de amina libre [44]. De este modo, la solución alcalina utilizada permite la regeneración del QUIT en su forma insoluble, facilitando la reestructuración del polímero mediante enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre las cadenas [45]. El agente no solvente favorece la inversión de fase, es decir, el cambio de la fase gel del QUIT a la fase sólida mediante la reestructuración de los enlaces glicosídicos [45], [46].

En términos generales, la síntesis de esferas de QUIT implica: (I) preparación de la solución ácida del biopolímero; (II) precipitación química; y (III) entrecruzamiento. Las etapas (II) y (III) pueden realizarse de forma simultánea [31], [47] o consecutivas [30], [41], [48], [49], en procedimientos en dos o tres etapas, respectivamente.

Inicialmente, se sintetizaron esferas de QUIT (QUIT-2) utilizando el procedimiento en dos etapas (disolución y precipitación/entrecruzamiento) (Figura 4.5). Se prepararon soluciones de QUIT disolviendo 200 mg (Figura 4.6a) y 350 mg (Figura 4.6b) en 10 mL de ácido acético 5% v/v y se precipitaron sobre la solución alcalina con el entrecruzante, con el fin de explorar la forma y la consistencia de las esferas en función de la concentración del biopolímero. De acuerdo con Choe et al. (2018), un aumento en la viscosidad del hidrogel antes de la gelificación en medio alcalino conduce a un incremento en la resistencia mecánica del hidrogel [50]. Con la solución ácida de QUIT preparada disolviendo 20 mg mL^{-1} se precipitaron partículas no esféricas, con distribución de forma no homogénea y con baja resistencia (Figura 4.6c). Al precipitar soluciones con concentraciones bajas del biopolímero, puede ocurrir que éste reforme en parte sus cadenas polisacáridas, pero no se agregue en esferas por el bajo entrecruzamiento de las mismas [45]. La concentración óptima para obtener esferas con adecuada consistencia fue de 35 mg mL^{-1} , obteniendo partículas esféricas con distribución de tamaño homogénea (Figura 4.6d). De este modo, el aumento de la concentración de QUIT permite la agregación en esferas firmes y esféricas. El NaOH presente en la solución neutraliza eficientemente al QUIT y las gotas gelifican correctamente debido al mayor entrecruzamiento de las cadenas polisacáridas al precipitar. El sólido precipitado sedimentó a los 15 min, debido al aumento de la densidad por la reticulación. En Suo et al. (2018) encontraron un incremento en la resistencia a la tracción y a la compresibilidad

de hidrogeles de QUIT en función de un aumento en la concentración del biopolímero desde 0,5 a 2,0 % p/v (5 a 20 mg mL⁻¹) [51]. Sin embargo, a concentraciones muy altas (≥ 40 mg mL⁻¹), se obtiene una solución excesivamente viscosa que dificulta su manipulación.

La concentración óptima obtenida (35 mg por mL⁻¹ de ácido acético 5% v/v), permite un entrelazamiento intermolecular suficiente para que ocurra la adecuada formación de esferas de QUIT en medio alcalino. Además, permite el óptimo manejo de la solución, incluyendo el goteo con aguja-jeringa.

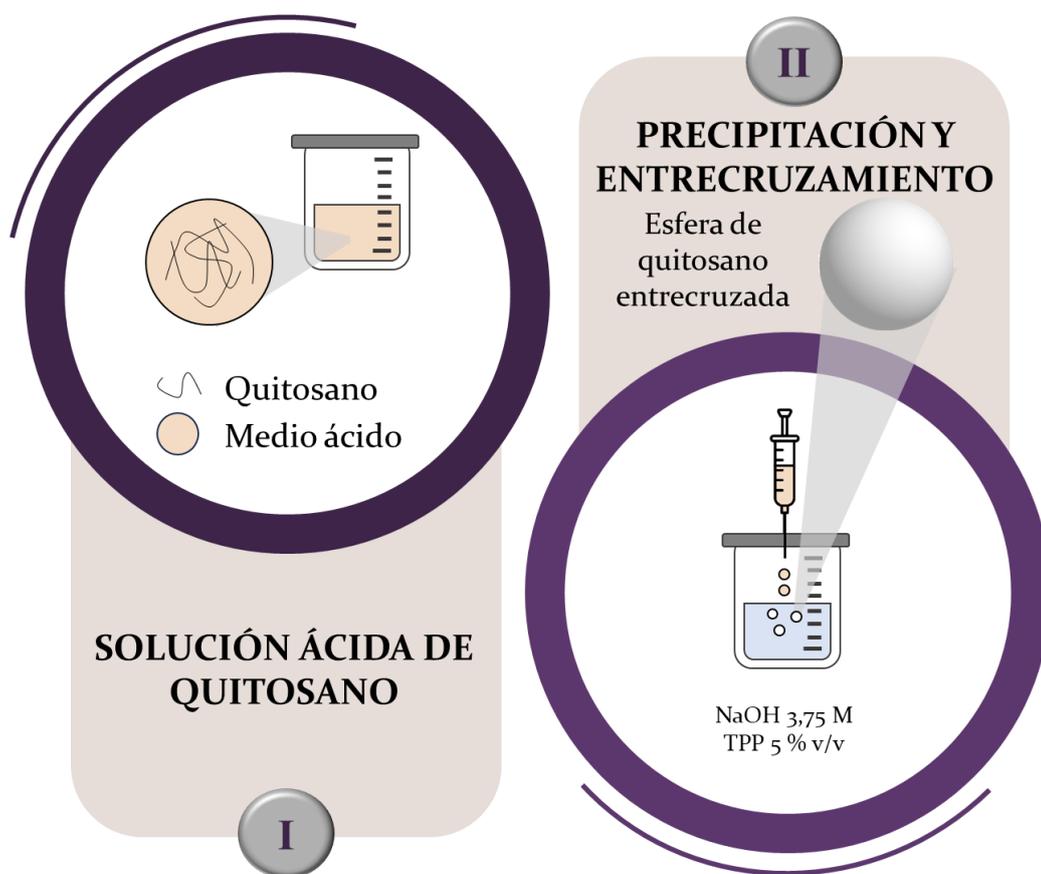


Figura 4.5 - Esquema del procedimiento de precipitación de esferas de QUIT entrecruzadas en 2 etapas (QUIT-2): (I) disolución; (II) precipitación química y entrecruzamiento con TPP en simultáneo.

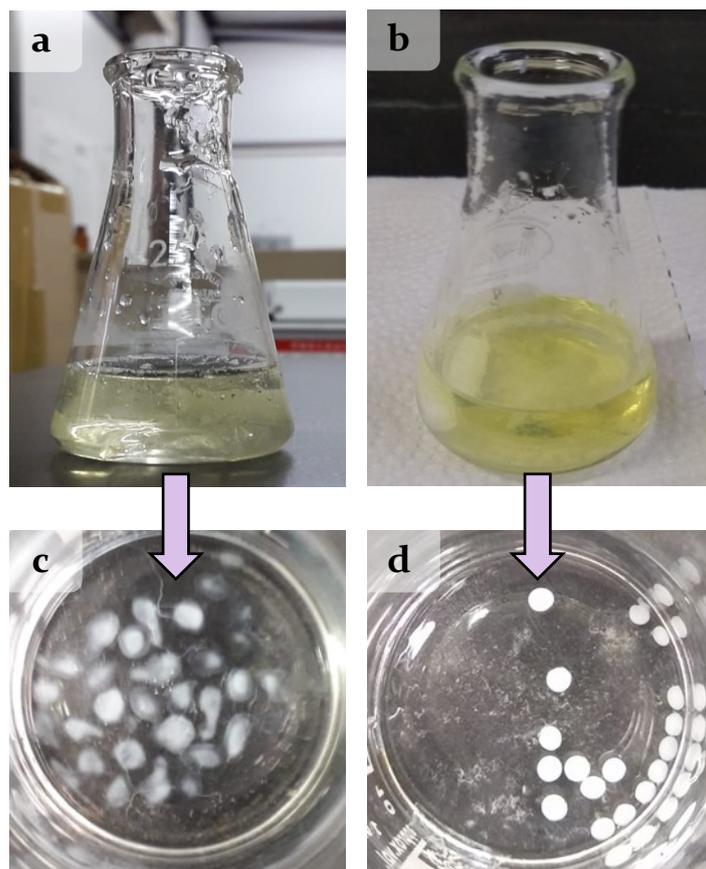


Figura 4.6 – Soluciones de QUIT preparadas a partir de (a) 20 mg y (b) 35 mg por mL de ácido acético 5% v/v. Partículas de QUIT obtenidas a partir de soluciones de: (c) 20 mg y (d) 35 mg de QUIT por mL ácido acético 5% v/v, precipitadas en NaOH 3,75 M y TPP 5% p/v

La metodología de síntesis en tres etapas implicó la precipitación de la solución ácida de QUIT en NaOH 3,75 M, sin entrecruzante, dado que este procedimiento se realizó en una instancia posterior (Figura 4.7). Utilizando una concentración de 35 mg mL⁻¹, se obtuvieron partículas homogéneas de QUIT puro. Las mismas fueron de color blanco y esféricas (Figura 4.8a). La solución de QUIT agregada por goteo comienza a precipitar lentamente a medida que entra en contacto con los OH⁻, por lo que aquellas que presentan transparencia, son esferas recientemente introducidas en la solución. Por cada mL de solución precipitada se obtuvieron 57 esferas, por lo que la masa nominal de QUIT por esfera fue de 0,6 mg. Las esferas de QUIT que han perdido su contenido de humedad presentan color amarillento y considerable reducción de su tamaño (Figura 4.8b).

El entrecruzamiento (TPP 5,5% en NaOH 4% p/v por 1 h) de las esferas de QUIT puro obtenidas bajo agitación magnética provocó la fragmentación del sólido debido al contacto directo con el buzo magnético. En la Figura 4.9 se observa el resultado de este procedimiento. En este estudio exploratorio, se realizó el entrecruzamiento sin agitación.

Sin embargo, en los ensayos posteriores se evitó el contacto directo del agitador magnético con el sólido utilizando una malla de fibra de vidrio.

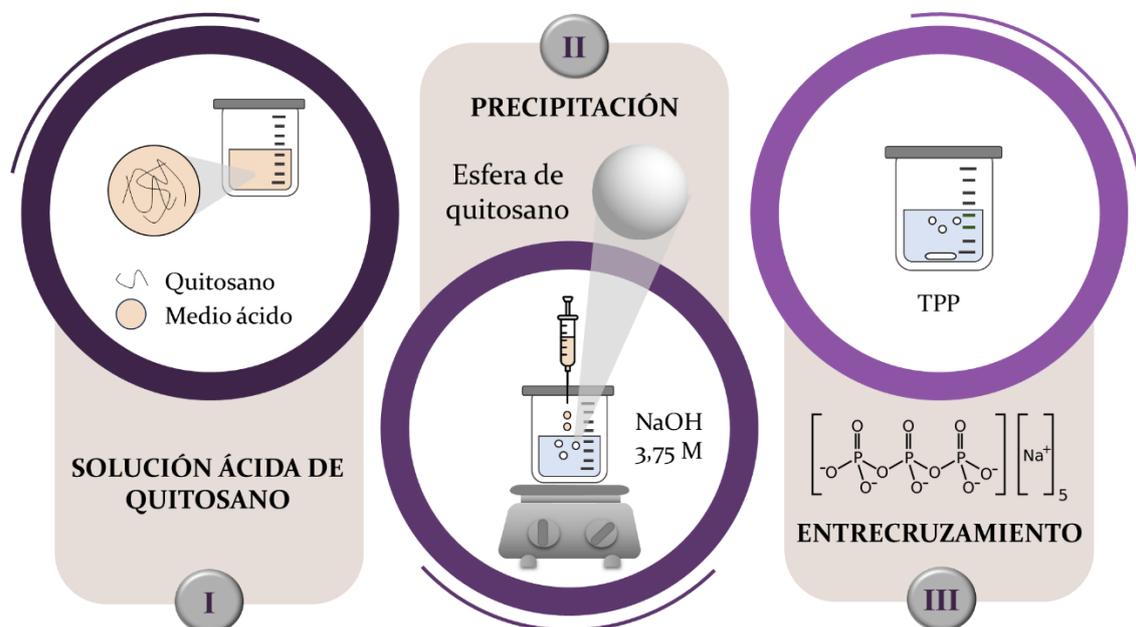


Figura 4.7 – Esquema del procedimiento de precipitación de esferas de QUIT entrecruzadas en 3 etapas (QUIT-3): (I) disolución; (II) precipitación química; (III) entrecruzamiento con TPP.

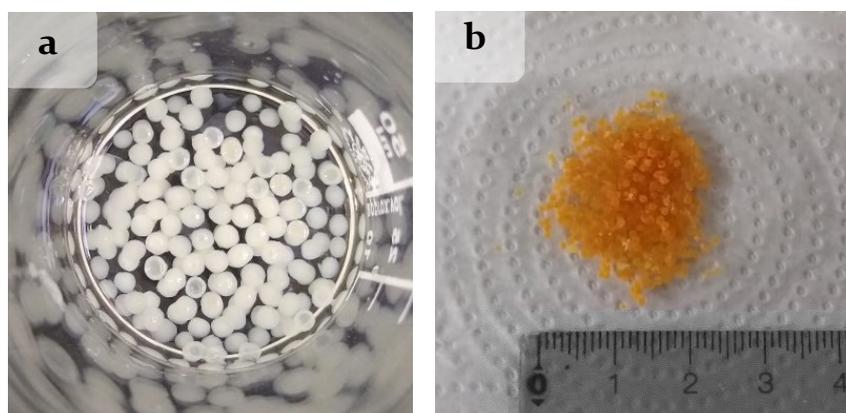


Figura 4.8 –Partículas (a) húmedas y (b) secas de QUIT obtenidas a partir de soluciones de 350 mg de QUIT en 10 mL de ácido acético 5% v/v precipitada en NaOH 3,75 M sin entrecruzante.



Figura 4.9 – Esferas de QUIT sometidas a entrecruzamiento con TPP durante 1 h bajo agitación magnética mínima.

En cuanto a la estabilidad química en medio ácido, el sólido QUIT-3 en contacto con ácido acético a pH 2,3 se disolvió por completo en 4 min; a pH 2,9, redujo su tamaño hasta la mitad en 7 min y se disolvió por completo a los 14 min; y a pH 3,4 no presentó cambios hasta los 37 min, y solo redujo levemente su tamaño inicial al cabo de 1 h. Estos resultados serán considerados al estudiar la preparación de un adsorbente basado en esferas de QUIT para la remoción de colorantes en solución acuosa (Capítulo VIII).

Se establecieron las concentraciones de ácido acético (5% v/v) y de QUIT (35 mg mL⁻¹) que, mediante precipitación en medio alcalino (NaOH 3,75 M), conducen a la formación de un sólido esférico con características adecuadas para la posterior incorporación de MAG.

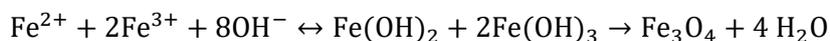
4.3.2. Síntesis de esferas magnéticas de QUIT

La reacción química de síntesis de MAG puede ser descrita, de forma general, según la Ecuación 4.3. Esta reacción implica la precipitación de hidróxidos de hierro, seguida de la formación de óxido de hierro debido a la baja actividad del agua [52]. El mecanismo de reacción global es una ecuación de equilibrio dinámico que explica la formación de nanopartículas de Fe₃O₄ a partir de Fe²⁺, Fe³⁺ y OH⁻.

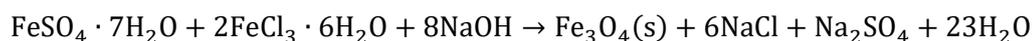
La coprecipitación de sales de hierro para obtener MAG a temperatura ambiente mediante precipitación química inversa está ampliamente reportada en la literatura [24], [35], [53], [54]. La síntesis implica la precipitación de una solución de sales de Fe²⁺ y Fe³⁺ en concentración estequiométrica, (relación molar 1:2) en una solución alcalina en ausencia de oxígeno con el fin de evitar su oxidación a otros óxidos de hierro. La

concentración de OH^- final es relevante, es necesario que el pH se encuentre entre 8 y 14 para la precipitación completa. La Ecuación 4.4 presenta la reacción de formación de MAG utilizando $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ como precursores.

Ecuación 4.3 – Reacción general de formación de MAG.



Ecuación 4.4 – Reacción de formación de MAG utilizando $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ como precursores.



La incorporación de nanopartículas de óxido de hierro, a través del método I, implicó la precipitación de una solución de sales de hierro sobre NaOH en presencia de QUIT-3, resultando en una baja inmovilización (Figura 4.10). Si bien se precipitaron nanopartículas magnéticas, las mismas permanecieron en suspensión y no quedaron retenidas sobre las esferas de QUIT en cantidades requeridas para su aplicación práctica (Figura 4.11a). Con un imán de Nd se verificó que las nanopartículas de óxido de hierro obtenidas se ven atraídas por un campo magnético externo (Figura 4.11b). Trabajos anteriores en el grupo de Catálisis demostraron, mediante magnetometría de muestra vibrante, que partículas obtenidas por coprecipitación alcalina eran superparamagnéticas [27].

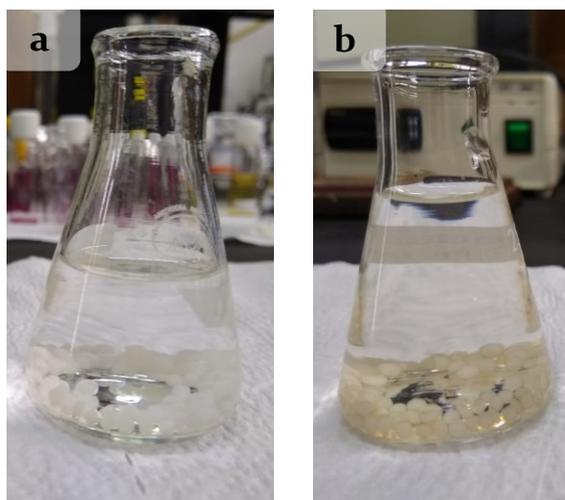


Figura 4.10 – Esferas QUIT-3 (a) antes y (b) después de la precipitación de las nanopartículas de óxido de hierro.

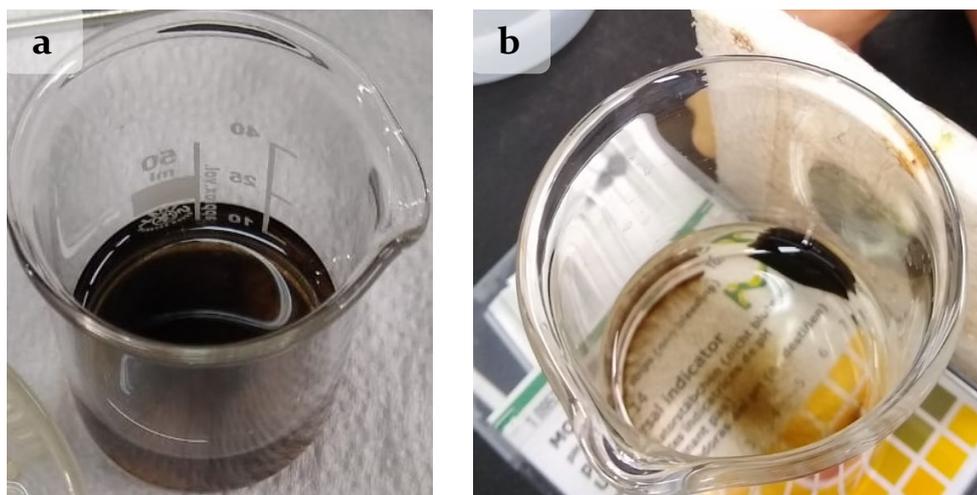


Figura 4.11 – (a) Óxido de hierro nanoparticulado suspendido en solución alcalina, una vez retiradas las esferas de QUIT al finalizar el tratamiento. (b) Comportamiento del óxido de hierro nanoparticulado frente a un imán de Nd.

El método II, que corresponde a la coprecipitación de MAG y la gelificación del QUIT, condujo al efectivo atrapamiento del óxido de hierro nanoparticulado dando lugar a un sólido esférico negro. Los cationes ferrosos y férricos se encuentran mezclados en la solución ácida de QUIT. Los abundantes grupos amino que éste presenta, le otorgan la capacidad de tomar cationes ferrosos y férricos a través de mecanismos quelantes [55]. Las gotas de solución de QUIT y sales de hierro, en contacto con la solución alcalina, solidifican en partículas esféricas debido a la neutralización de los grupos aminos del QUIT. Y en simultáneo, por coprecipitación de las sales de hierro se forma el óxido de hierro nanoparticulado. En contacto con los OH^- , los iones ferrosos y férricos quelados proporcionan sitios para la cristalización de MAG. La reacción de formación de las esferas sólidas de QUIT y MAG se presenta en la Ecuación 4.5.

Ecuación 4.5 – Reacción de formación de esferas de QUIT y MAG.



La solución, de un color naranja rojizo (Figura 4.12a), adquiere rápidamente un color negro (Figura 4.12b), indicando la formación del óxido de hierro nanoparticulado [56]. Cuando el valor del pH está por encima del punto isoeléctrico de las nanopartículas de MAG (pH = 6,5) la superficie de las mismas está cargada negativamente [57]. Por ende, podría ocurrir una atracción electrostática entre la superficie de las nanopartículas de MAG y los grupos $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$ aun cargados positivamente en el QUIT que no ha tomado contacto con la solución alcalina [58]. La pérdida de hierro en la solución precipitante fue

menor al 1% respecto al hierro presente en la solución ácida de QUIT, según los resultados de ICP-AES.

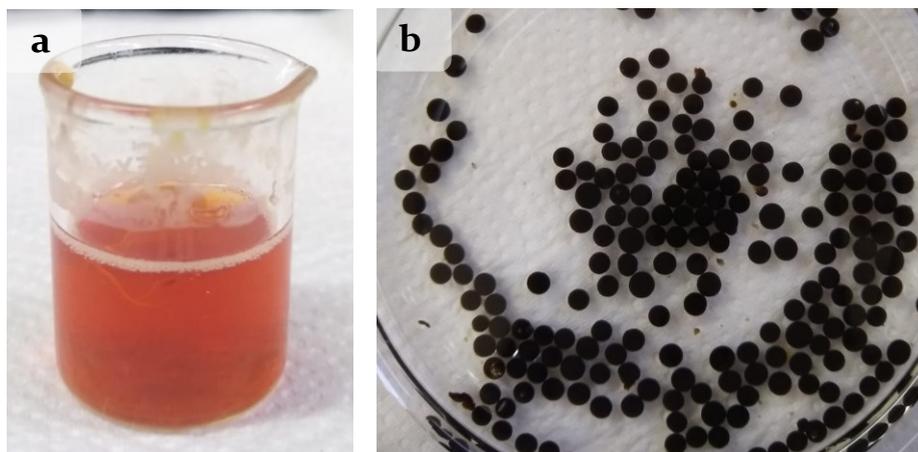


Figura 4.12 – (a) Solución ácida de QUIT (35 mg mL^{-1}) y sales de hierro ($4,2 \text{ mg mL}^{-1}$ de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $8,18 \text{ mg mL}^{-1}$ de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en ácido acético 1,97% v/v. (b) Sólido esférico obtenido al precipitar la solución ácida de QUIT y sales de hierro en NaOH 3,75 M.

En un primer ensayo exploratorio, la aguja-jeringa se mantuvo cerca de la superficie de la solución ($< 1 \text{ cm}$) sin agitación magnética. Algunas partículas no precipitaron en forma esférica (Figura 4.13). Esto se asoció a que una porción de la gota no estuvo en contacto con la solución de NaOH , generando media esfera y una estructura cónica delgada propensa a desprenderse. Partículas magnéticas de QUIT similares fueron reportadas por Fernández-Lucas et al (2013) [59]. La forma del sólido precipitado se ve influenciada principalmente por la técnica de goteo empleada [60].

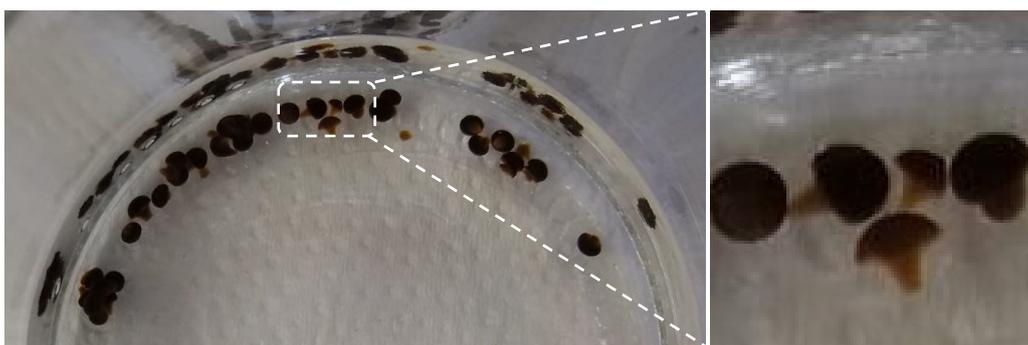


Figura 4.13 – Partículas de QUIT-MAG obtenidas mediante goteo con jeringa a menos de 1 cm de la superficie de NaOH 3,75 M.

En un segundo ensayo, las gotas se dejaron caer desde una distancia superior a 3 cm. Por lo tanto, las gotas se sumergieron por completo en la solución precipitando como partículas esféricas y uniformes (Figura 4.14a). Se obtuvieron 220 partículas esféricas de QUIT-MAG a partir de 5 mL de solución ácida de QUIT y sales de hierro. Dicho volumen condujo a la precipitación de 175 mg nominales de QUIT y 17,5 mg nominales de MAG, por lo que cada esfera precipitada estuvo compuesta por 0,8 y 0,08 mg de QUIT y MAG, respectivamente. El diámetro aproximado de las esferas húmedas fue de 2 mm. Las esferas de QUIT-MAG reaccionaron frente a un imán de Nd (Figura 4.14b). Esta característica permite la posibilidad de manipular el sólido en solución mediante la aplicación de un campo magnético externo [61].

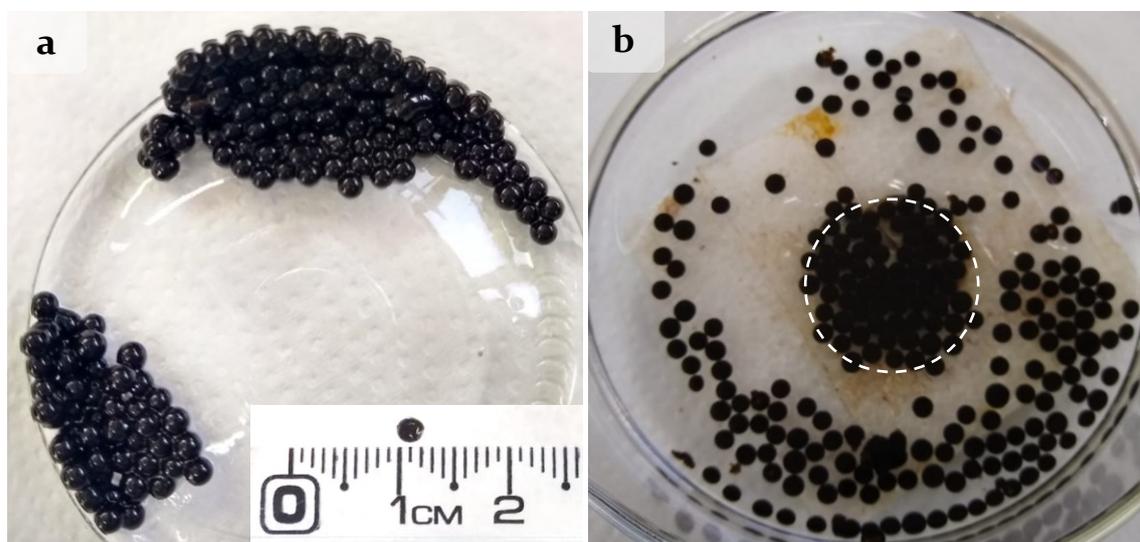


Figura 4.14 – (a) Esferas de QUIT-MAG obtenidas mediante goteo con jeringa a más de 3 cm de la superficie de NaOH 3,75 M. (b) Comportamiento de esferas de QUIT-MAG sintetizadas por coprecipitación frente a un imán circular.

Además, se probó la resistencia mecánica de las esferas de QUIT-MAG colocándolas bajo agitación magnética. Se obtuvo mayor resistencia al impacto mecánico del agitador que las esferas de QUIT sin MAG, manteniéndose sin cambios durante los primeros 15 min. Luego de 1 h, las esferas perdieron su integridad. En la misma solución que contenía partículas de las esferas disgregadas, se agregó peróxido de hidrógeno 10 vol. (3%). Se observó el desprendimiento de burbujas sobre la superficie de las partículas de sólido, lo que podría asociarse con el comportamiento mimético de catalasa del óxido de hierro nanoparticulado presente en el sólido sintetizado (Figura 4.15).



Figura 4.15 – Resultado de la evaluación de la resistencia mecánica de las esferas de QUIT-MAG y de su comportamiento frente al H_2O_2 .

Al evaluar el efecto del porcentaje de MAG nominal se obtuvo que un 10% condujo a una estabilidad estructural adecuada del sólido esférico, mientras que 20 y 30% condujeron a la fragmentación de las esferas durante la manipulación (Figura 4.16). Se puede observar que con el incremento del contenido de MAG, la heterogeneidad y la fragilidad del sólido aumenta. Esto constituye un problema, dado que la pérdida de fragmentos, o la disolución en el medio de reacción, limita la recuperación del sólido y su posterior reúso. Un contenido de 10% de MAG respecto a masa nominal total del sólido fue establecido como óptimo, y es el valor utilizado en las posteriores síntesis en el presente trabajo de tesis.



Figura 4.16 – Partículas obtenidas con un porcentaje de MAG nominal correspondiente a (a) 30, (b) 20, (c) 10 % respecto a masa nominal total del sólido.

En la Figura 4.17 se presenta el difractograma obtenido por DRX de las esferas de QUIT-MAG. Se observa una fase amorfa correspondiente al QUIT, cuyo pico característico se encuentra en $2\theta = 20^\circ$ de acuerdo con lo reportado en la literatura [62], [63]. En la coprecipitación de MAG, la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) es un subproducto posible que se forma por oxidación parcial de los iones ferrosos. Sus picos principales tienen posiciones cercanas a los de MAG, y los restantes no pueden distinguirse del fondo del difractograma. Teniendo en cuenta la concentración de MAG en la muestra y su preparación bajo atmósfera inerte (ausencia de oxígeno), es posible inferir que es el producto principal de la coprecipitación. Los picos principales de MAG corresponden a los índices (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0), (5 1 1) y (4 4 0). Estos índices están asociados a $2\theta = 29,985^\circ$, $35,575^\circ$, $43,160^\circ$, $57,295^\circ$ y $62,670^\circ$ [64].

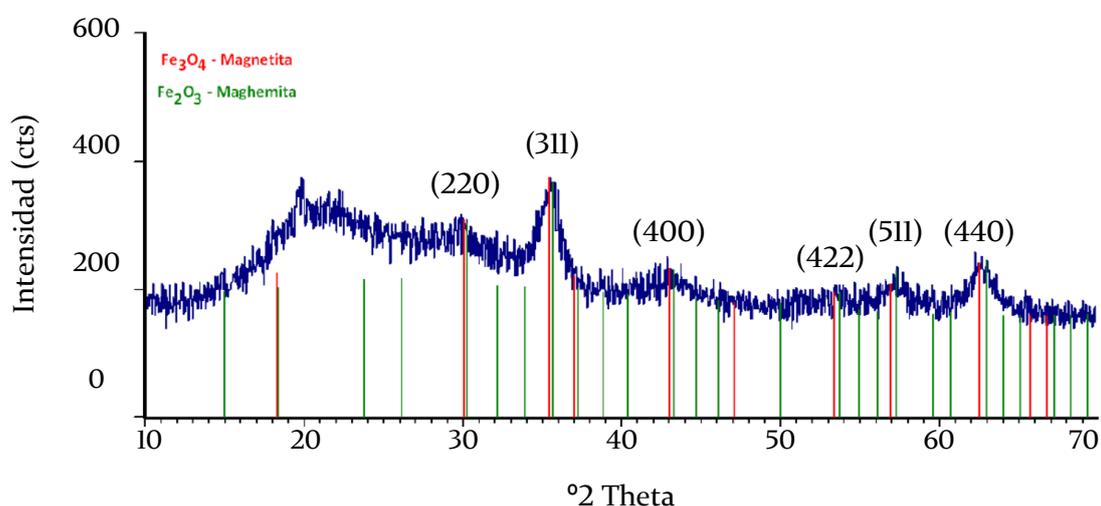


Figura 4.17 – DRX de esferas de QUIT-MAG (con un contenido nominal de MAG correspondiente al 10% respecto a la masa nominal total del sólido).

MAG sintetizada en ausencia de QUIT se muestra en la Figura 4.18a, se observa cómo responde ante un campo magnético externo. La micrografía TEM (Figura 4.18b) indica que el óxido de hierro obtenido se encuentra en escala nanométrica. Se observan las nanopartículas claramente aglomeradas, esto podría relacionarse con la presencia de fuerzas de atracción (como las fuerzas de van der Waals), entre las nanopartículas magnéticas. Además, la disminución del pH debido al lavado respecto al medio de síntesis, favorece la agregación, considerando que no han recibido ningún tratamiento (recubrimiento o funcionalización) [65]. Al utilizar el QUIT como soporte, la aglomeración de MAG podría ser inhibida [66].

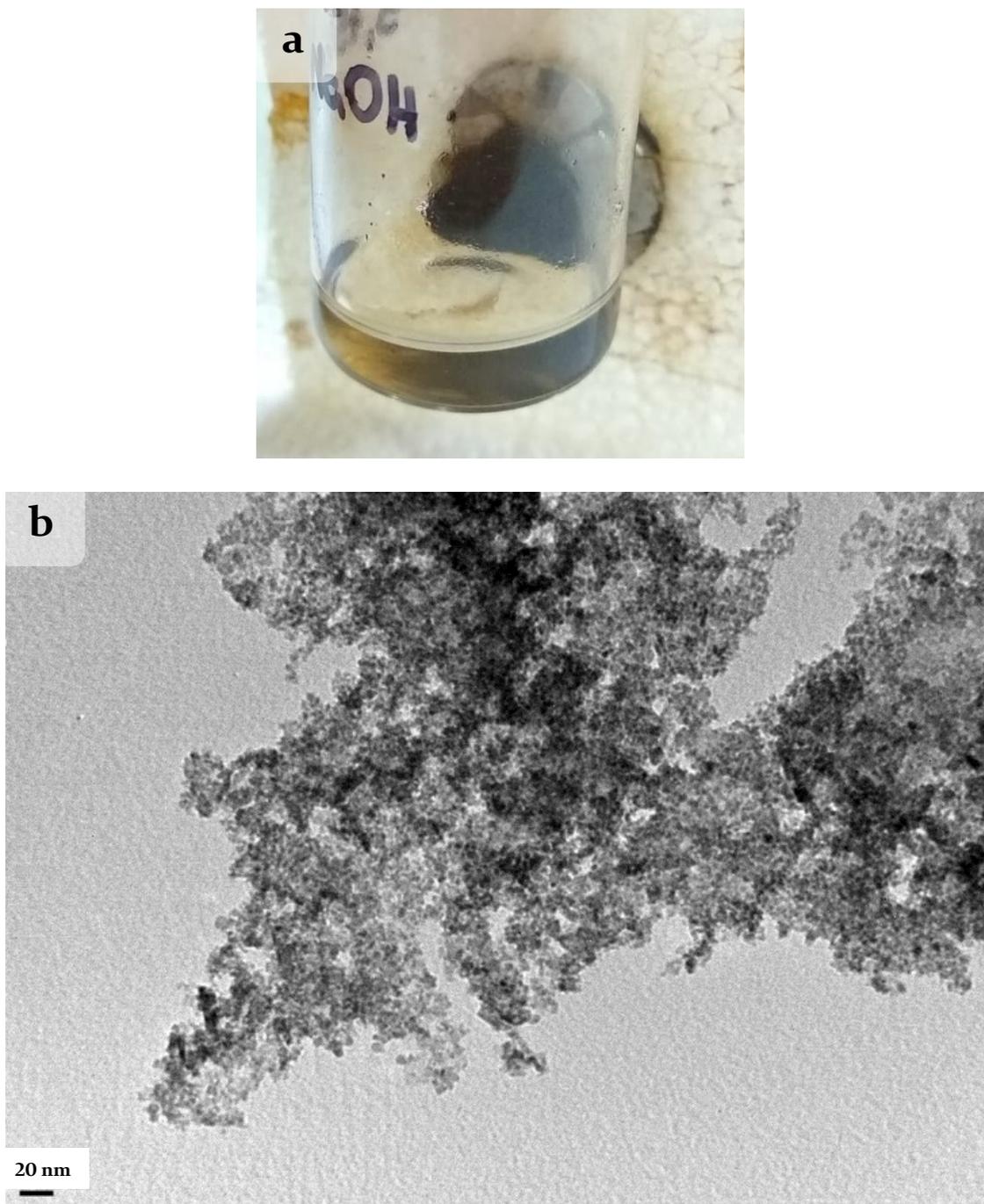


Figura 4.18 – (a) MAG en presencia de un campo magnético externo (imán de Nd). (b) Micrografía TEM de MAG.

El entrecruzamiento de las esferas magnéticas de QUIT se realizó conteniendo el sólido en una malla de fibra de vidrio para evitar el contacto con el agitador magnético. Este sistema resultó práctico, cumplió su función y la recuperación del sólido fue simple desde el punto de vista operativo. Se evaluó la resistencia mecánica de las esferas entrecruzadas con TPP manteniéndolas bajo agitación magnética (1500 rpm) durante 1 h. La Figura 4.19a muestra las esferas luego de 25 min bajo agitación. Al cabo de 1 h, las

esferas mantuvieron su estructura, aunque presentaron pequeñas porciones desprendidas. Al poner en contacto las esferas de QUIT-MAG-TPP con H_2O_2 se observó el desprendimiento de burbujas correspondiente a la descomposición del H_2O_2 por parte de MAG presente en el sólido (Figura 4.19b).

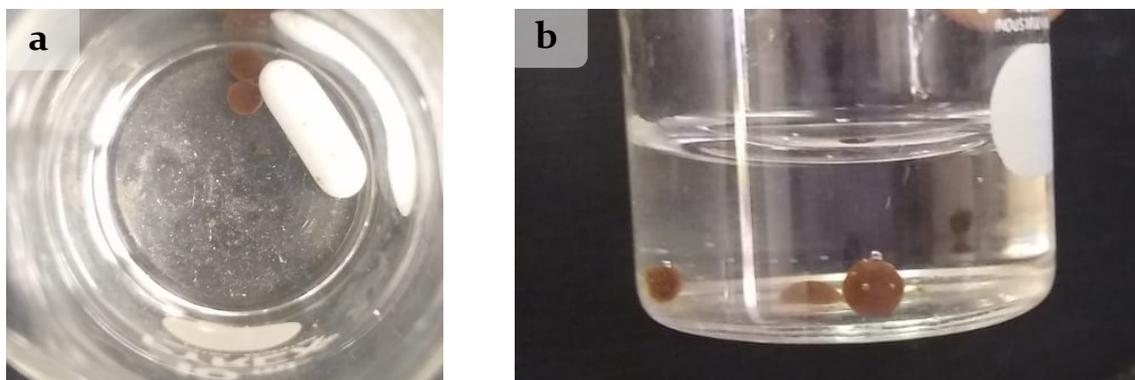


Figura 4.19 – (a) Esferas de QUIT-MAG-TPP luego de mantenerse 25 min a 1500 rpm. (b) Esferas QUIT-MAG-TPP en contacto con H_2O_2 .

El TPP interactúa con el QUIT mediante fuerzas electrostáticas debido a su naturaleza polianiónica (Figura 4.20). Los grupos amino protonados del biopolímero interactúan con el contraión de carga negativa del TPP, a través de una interacción iónica creando redes iónicas reticuladas [67]. De este modo, se generan enlaces intermoleculares o intramoleculares en el QUIT utilizando TPP como entrelazante. Chiou y Li (2003) utilizaron TPP como agente entrecruzante en comparación con epíclorhidrina, los resultados mostraron que las esferas de QUIT entrecruzadas con TPP no sólo mantuvieron una alta capacidad de adsorción, sino que también son más prácticas incluso en el almacenamiento y transporte [68]. Asimismo, estudiaron la fuerza iónica de los enlaces establecidos entre QUIT y diferentes agentes reticulantes (TPP, citrato y fosfato) y comprobaron que el enlace QUIT-TPP era 10 veces más fuerte que los enlaces establecidos entre el QUIT y los otros agentes reticulantes [69]. Este resultado se relaciona probablemente con la interacción entre el TPP y el QUIT, dado que el TPP posee mayor número de carga y mayor densidad de carga. El empleo de TPP como agente entrecruzante durante la síntesis de esferas poliméricas se constituye como una estrategia efectiva para obtener un sólido estable que contenga QUIT.

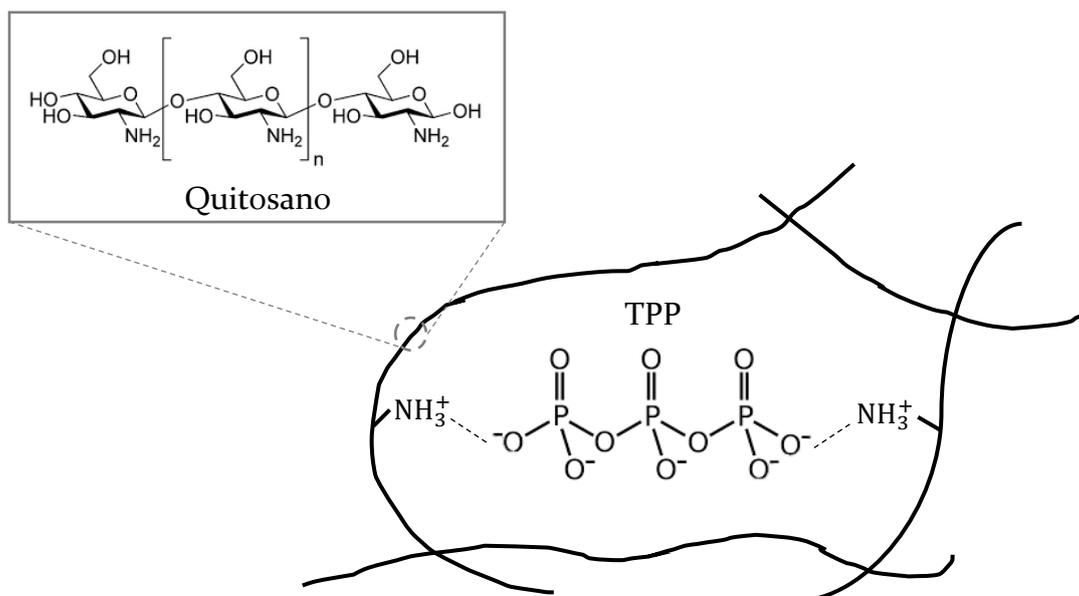


Figura 4.20 – Interacción electrostática entre las cadenas de QUIT y el TPP como agente entrecruzante.

Las esferas de QUIT-MAG-TPP secas redujeron su tamaño debido a la pérdida de humedad (Figura 4.21a) y mantuvieron la respuesta frente a un campo magnético externo (Figura 4.21b). La diferencia de tamaño de las esferas húmedas respecto a las secas sugiere una gran capacidad de hinchamiento y retención de agua de las microesferas [70]. La micrografía SEM de la superficie de la esfera de QUIT-MAG-TPP se muestra en la Figura 4.21c. Se observa un desprendimiento de una porción de la partícula producto de la manipulación durante el análisis. A una mayor magnificación se observa rugosidad en forma de escamas (Figura 4.21d). La rugosidad es un aspecto importante, ya que podría asociarse a una mayor superficie de contacto [71]. La sección transversal muestra un patrón radial interno formado por cavidades paralelas, que se encuentra distorsionado debido a la contracción del material al secarse (Figura 4.21f). Las cavidades se observan claramente en la Figura 4.21g. Yang et al. (2012) informan de un procedimiento de síntesis de esferas de QUIT cargadas con óxidos de hierro con tamaño uniforme, con un diámetro medio de $2,67 \pm 0,08$ μm (utilizando NaOH 5% p/p como solución precipitante) [55]. Al caracterizarlas, encontraron que las esferas de QUIT puras tienen una estructura interna compacta, mientras que las esferas que contienen nanopartículas de óxido de hierro muestran un patrón interno radial con macroporos cuya morfología no es esférica sino de largas cavidades interconectadas. Los autores asocian el patrón en la estructura de los macroporos a la interacción de la coprecipitación del óxido de hierro y la gelificación del QUIT, aunque requiere mayor investigación. Los resultados de los análisis SEM-EDX tanto de la superficie como de la sección transversal (Figura 4.21e y

Figura 4.21h, respectivamente) indican una distribución uniforme del hierro en el sólido, lo cual podría deberse a la interacción de MAG con los grupos amino distribuidos uniformemente en la matriz del QUIT. Por lo tanto, las nanopartículas están fuertemente enlazadas con los abundantes sitios activos del polímero. El QUIT interviene en la síntesis de las nanopartículas de MAG influyendo positivamente en su estabilización. El aislamiento interpartícula que se logra al hacer la coprecipitación en simultáneo con la gelificación del QUIT reduce el problema de la agregación [72].

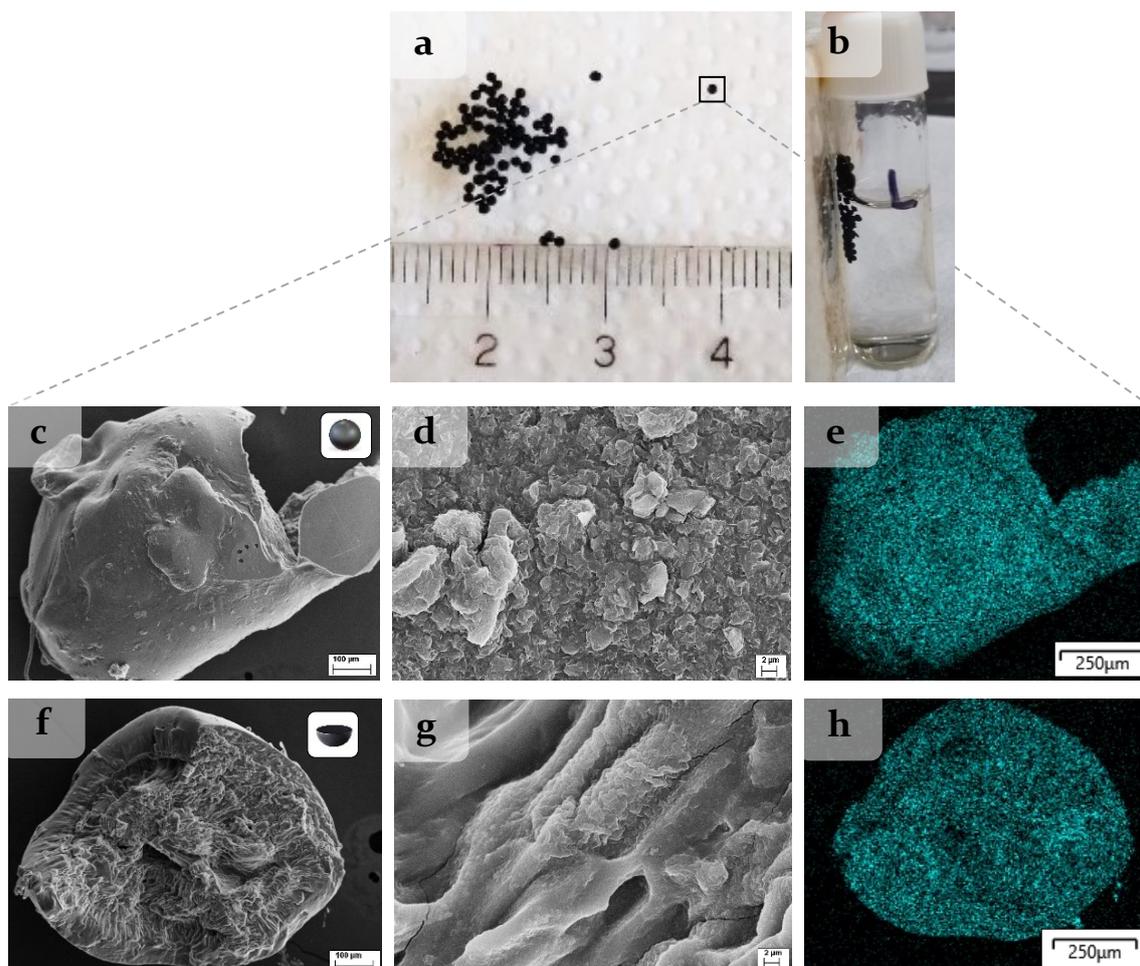


Figura 4.21 – Esferas de QUIT-MAG-TPP (a) secas y (b) su comportamiento en presencia de un campo magnético externo. Micrografías SEM ((c) 250X y (d) 5,00KX)) y (e) SEM-EDX para hierro de la superficie de las esferas QUIT-MAG-TPP. Micrografías SEM ((f) 250X y (g) 5,00KX)) y (h) SEM-EDX para hierro de un corte transversal de las esferas QUIT-MAG-TPP.

El análisis SEM-EDX (Figura 4.22) muestra la presencia de elementos característicos del QUIT (C, O y N), MAG (Fe y O) y TPP (P y O). La presencia de Na en el interior del sólido podría asociarse al Na proveniente del NaOH de la solución precipitante o de la disociación de TPP en agua.

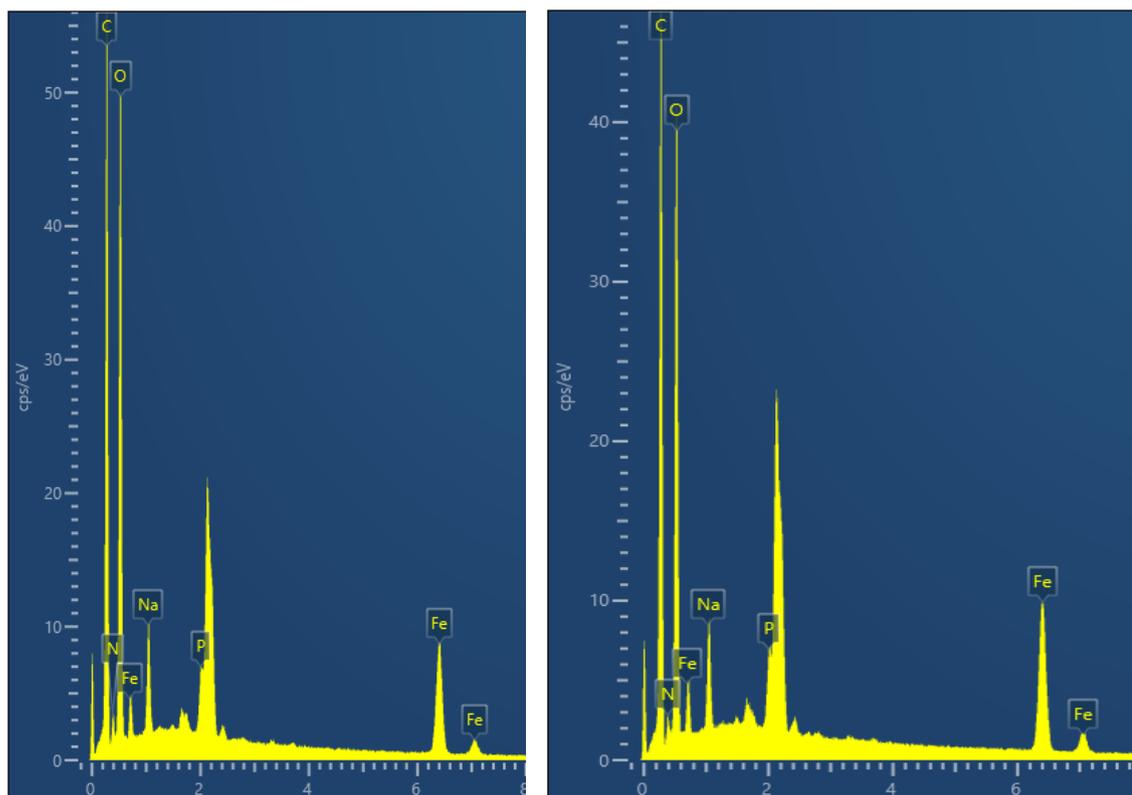


Figura 4.22 – Resultados del análisis SEM-EDX. Composición elemental de dos sitios específicos en el corte transversal de una esfera QUIT-MAG-TPP.

4.3.3. Inmovilización de HEM sobre esferas de QUIT-MAG

Se soportó HEM sobre esferas de QUIT-MAG entrecruzadas poniéndolas en contacto con una solución del biomimético cuya concentración experimental fue de 30,7 mg L⁻¹.

En los espectros de absorción UV-Vis de las soluciones de HEM a 0, 1 y 2 h de contacto con QUIT-MAG-TPP, se pueden observar las bandas características de HEM a 388 nm y cerca de 600 nm (Figura 4.23a).

Se evaluó el efecto del tipo de reticulante sobre la inmovilización de HEM soportándolo sobre esferas de QUIT-MAG entrecruzadas con GA, que corresponde a un dialdehído lineal de 5 carbonos (Figura 4.24). En la literatura se encuentra ampliamente reportado su uso como agente entrecruzante en una etapa posterior a la precipitación de esferas de QUIT [30], [47], [48], [73], [74], [75]. Su capacidad de formar enlaces estables con grupos amino a valores neutros de pH lo vuelve un importante agente de inmovilización de enzimas [76]. En la Figura 4.23b se presentan los espectros de absorción UV-Vis de las soluciones de HEM en contacto con QUIT-MAG-GA,

observándose bandas en el UV cercano que podrían asociarse a la presencia de GA en solución [77]. Nicolás et al. (2021) reportan los picos característicos de GA (2,5% a temperatura ambiente) en 233 y 280 nm [13].

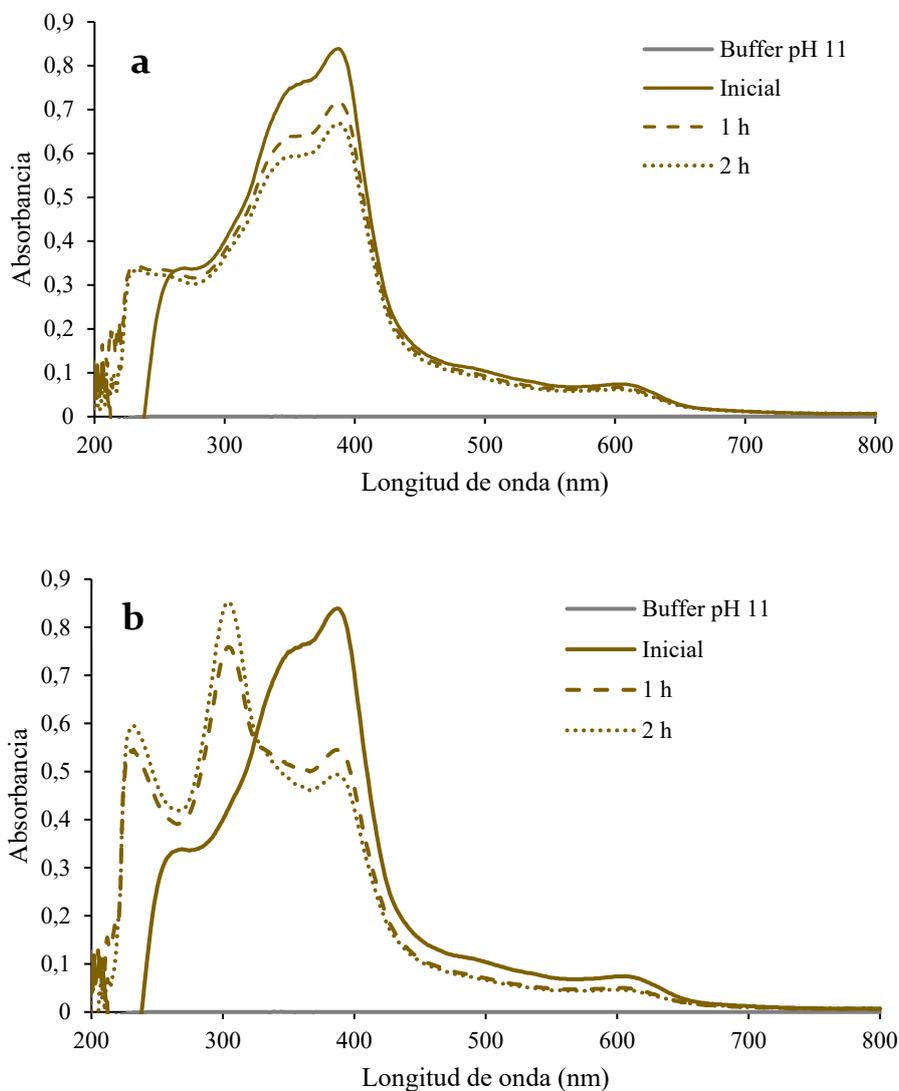


Figura 4.23 – Espectros de absorción UV-Vis (200-800 nm) de la solución de HEM en contacto con las esferas de (a) QUIT-MAG-TPP y (b) QUIT-MAG-GA a tiempo cero (inicial), 1 h y 2 h.

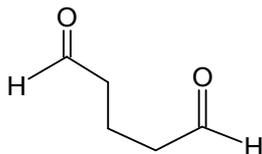


Figura 4.24 - Estructura química de glutaraldehído. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

Los resultados indican que se logró inmovilizar un 20,5% (0,38 mg HEM) y un 41,2% (0,76 mg HEM) sobre 100 esferas de QUIT-MAG-TPP y QUIT-MAG-GA, respectivamente (Tabla 4.1). Si bien las esferas de QUIT-MAG-GA lograron un mayor porcentaje de inmovilización de HEM, existen inconvenientes para su aplicación. Se observó un aumento de la banda asociada a este reticulante con el paso del tiempo de tratamiento, por lo que la remoción del excedente de GA luego del entrecruzamiento impone una limitante en términos prácticos. Su uso implicaría aumentar el número de lavados, lo cual acentúa otra restricción que se relaciona con el carácter tóxico del GA. En consecuencia, el TPP, de baja toxicidad y de bajo costo, podría emplearse como alternativa en vista de la seguridad ambiental y la perspectiva económica [78], [79].

Tabla 4.1 – Resultados de inmovilización de HEM sobre esferas de QUIT-MAG-TPP y QUIT-MAG-GA.

Soporte	Tiempo de toma de muestra (h)	Abs a 388 nm	HEM soportado (%)	HEM (mg) en 100 esferas
QUIT-MAG-TPP	0	0,839	-	-
	1	0,717	14,5	0,27
	2	0,667	20,5	0,38
QUIT-MAG-GA	0	0,839	-	-
	1	0,544	35,2	0,64
	2	0,493	41,2	0,76

Al evaluar la inmovilización del biomimético partiendo de una masa en solución correspondiente al 5 y 25% respecto a la masa nominal de MAG, se encontró que la eficiencia en la inmovilización de HEM fue del 32 y el 10%, respectivamente. Para la obtención de estas eficiencias en la inmovilización, se consideró la pérdida de HEM en el agua de lavado. En la Tabla 4.2 se presenta la masa de HEM por esfera de QUIT-MAG-TPP. Es evidente que un 25% de HEM respecto a la masa nominal de MAG excede considerablemente la cantidad del biomimético que el sólido puede soportar. Además, incluso para un 5% de HEM respecto a MAG nominal, la eficiencia en la inmovilización fue baja, por lo que en posteriores ensayos fue necesario activar la superficie del sólido para aumentar la masa del biomimético soportada.

Tabla 4.2 – Resultados de inmovilización de HEM para una masa inicial correspondiente al 5 y al 25% de la masa nominal de MAG.

% HEM respecto a masa nominal de MAG	% HEM soportado	HEM/esfera de QUIT-MAG-TPP (mg)
5	32	$1,21 \times 10^{-3}$
25	10	$1,75 \times 10^{-3}$

En la Figura 4.25 se presenta un esquema del protocolo base de síntesis de esferas de QUIT-MAG-TPP-HEM.

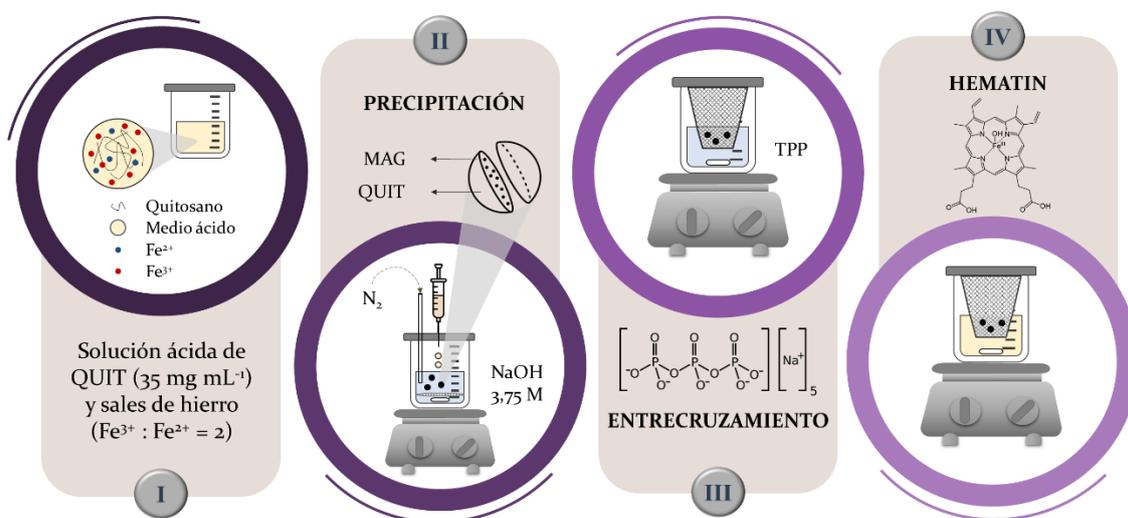


Figura 4.25 – Esquema del protocolo de síntesis del sólido basado en QUIT-MAG-TPP-HEM.

4.3.4. Caracterización preliminar de HEM soportado mediante reacción con RAS y H₂O₂

En la Figura 4.26a-f se observa la evolución del color de soluciones de RAS (20 mg L⁻¹) con el tiempo de reacción utilizando HEM-QUIT-entrecruzante (TPP o GA) como catalizadores y H₂O₂ 80 mM como agente oxidante. Se observó que, utilizando ambos catalizadores, rápidamente (6 min) hubo un apreciable cambio de color en las soluciones. Si bien la cinética de la reacción parece diferir por la diferencia en la coloración, al cabo de 30 min tanto QUIT-MAG-TPP-HEM como QUIT-MAG-GA-HEM lograron similar reducción de color (Figura 4.26e). A las 2 h de reacción se observa un considerable cambio respecto a las soluciones iniciales (comparar Figura 4.26a y Figura 4.26f).

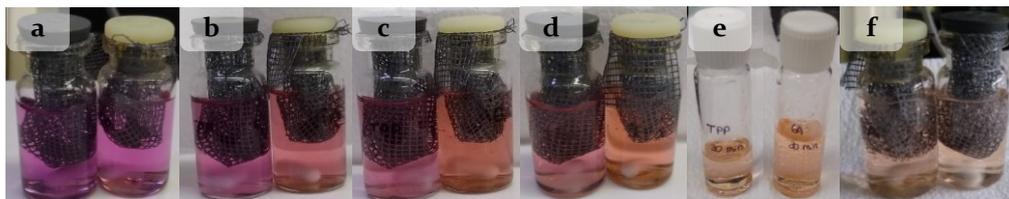


Figura 4.26 – Soluciones de RAS (20 mg L^{-1}) en contacto con esferas de QUIT-MAG-TPP-HEM (vial tapa negra) y esferas de QUIT-MAG-GA-HEM (vial tapa blanca) y H_2O_2 80 mM (a) inicial; (b) 6 min; (c) 12 min; (d) 18 min; (e) 30 min; y (f) 2 h.

En la Figura 4.27 se observan los espectros de absorción UV-Vis (400 - 800 nm) de las soluciones de RAS (20 mg L^{-1}), al inicio y luego de 30 min de reacción, con H_2O_2 y las esferas de QUIT-MAG-TPP-HEM y QUIT-MAG-GA-HEM. Estos resultados muestran que el pico característico de RAS, encontrado a 545 nm a pH 11, disminuye su intensidad (efecto hipocrómico) tanto para la reacción que involucra las esferas entrecruzadas con GA como para las que tienen TPP como entrecruzante. Asimismo, se observa un efecto hipsocrómico (corrimiento hacia longitudes de onda menores). Si bien la masa de HEM soportada en las esferas de QUIT-MAG-GA fue mayor que en las de QUIT-MAG-TPP, ambos catalizadores lograron similar remoción de RAS bajo las condiciones analizadas. Es importante aclarar que, en esta prueba de concepto, no puede descartarse la contribución de una oxidación espontánea del colorante por acción del H_2O_2 .

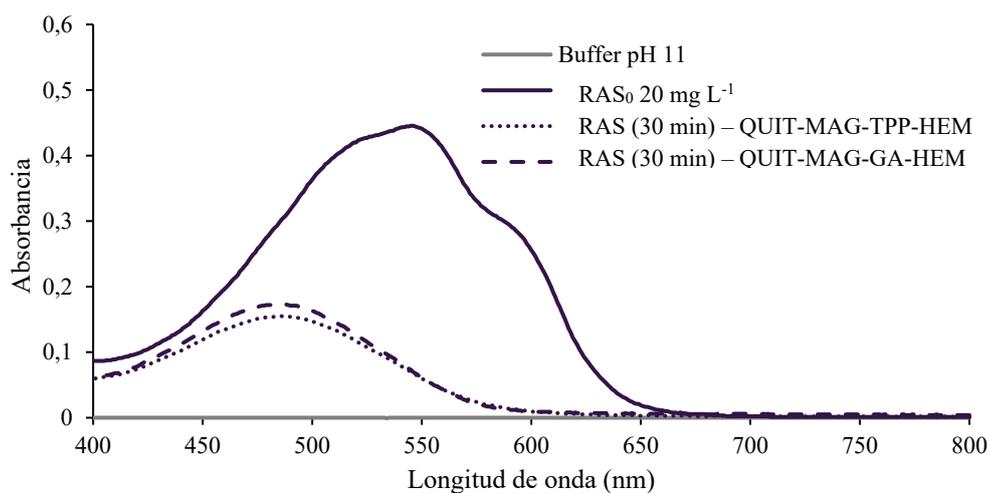


Figura 4.27 - Espectros de absorción UV-vis entre 400 y 800 nm de solución de RAS 20 mg L^{-1} inicial y luego de 30 min en contacto con esferas de QUIT-MAG-TPP-HEM y QUIT-MAG-GA-HEM.

4.4. Conclusiones

Se logró establecer un protocolo simple de síntesis de un sólido esférico basado en QUIT. Se logró incorporar MAG al material, obteniendo esferas magnéticas de QUIT. El método seleccionado fue la coprecipitación química de sales de hierro y gelificación para obtención de MAG y QUIT, respectivamente. El sólido esférico obtenido se sintetizó de manera simple, en condiciones estándar de temperatura y presión (25 °C y 1 atm), goteando manualmente una solución ácida de QUIT con una aguja-jeringa sobre una solución alcalina (NaOH 3,75 M). Se identificó la concentración de QUIT (35 mg mL⁻¹) que conduce a la formación de un sólido esférico óptimo. El conocimiento desarrollado en torno a la metodología para la obtención de esferas de QUIT puro, se retoma en el Capítulo VIII donde se caracterizó su aplicación en un proceso de adsorción como parte de un sistema de tratamiento de soluciones que contienen colorantes.

Se identificó que el sólido soporte es frágil, por lo que todos los tratamientos posteriores a la precipitación (entrecruzamiento, inmovilización de HEM) que requirieron agitación magnética, debieron evitar el contacto directo del sólido con el agitador magnético. El procedimiento propuesto, el uso de una malla de fibra de vidrio para contener las esferas de QUIT/MAG, resultó apropiado y práctico.

Se caracterizaron las esferas magnéticas de QUIT mediante DRX y se verificó la escala nanométrica de MAG mediante TEM. Las nanopartículas de MAG sintetizadas responden a un campo magnético externo. La distribución homogénea del hierro en la matriz esférica de QUIT pudo determinarse mediante SEM-EDX. Se infiere, preliminarmente, que poseen la capacidad de descomponer H₂O₂.

El agente entrecruzante TPP se seleccionó como óptimo frente a GA. Este último presenta inconvenientes tales como su toxicidad y la necesidad de múltiples lavados para remover excedentes, mientras que el TPP excedente se remueve del sólido, no es tóxico y presenta menor costo.

Finalmente, se encontró que las esferas QUIT-MAG-TPP-HEM y QUIT-MAG-GA-HEM fueron capaces de reducir el color de una solución de RAS, con H₂O₂ 80 mM como agente oxidante, bajo las condiciones estudiadas. En capítulos posteriores, se estudiará en profundidad la aplicación del catalizador en la remoción de RAS y NII, como así también los blancos de reacción.

Se concluye que el sólido magnético resultó ser un soporte adecuado para HEM presentando poros en cavidades paralelas, una homogénea distribución del hierro en todo el volumen del sólido y respuesta magnética. No obstante, el sólido en estado húmedo resultó frágil y la eficiencia en la inmovilización del biomimético fue baja. Se propone la activación de la superficie del sólido con el fin de optimizar el procedimiento de inmovilización de HEM, y explorar el secado del material para aumentar la resistencia. Estas cuestiones se abordaron en el Capítulo V.

El procedimiento de síntesis establecido constituyó la base para la preparación del catalizador a estudiar durante todo el trabajo de tesis.

4.5. Referencias

- [1] M. Bilal, H. M. N. Iqbal, H. Hu, W. Wang, and X. Zhang, “Development of horseradish peroxidase-based cross-linked enzyme aggregates and their environmental exploitation for bioremediation purposes,” *J Environ Manage*, vol. 188, pp. 137–143, 2017, doi: 10.1016/j.jenvman.2016.12.015.
- [2] F. A. Lesser and M. F. Ovejero Humia, “Derivados oxidados de glicerol: Obtención e impregnación en film polimérico comercial,” Universidad Nacional de Córdoba, 2018. doi: oai:rdu.unc.edu.ar:11086/6460.
- [3] B. Krajewska, “Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: A review,” *Enzyme Microb Technol*, vol. 35, no. 2–3, pp. 126–139, Aug. 2004, doi: 10.1016/j.enzmictec.2003.12.013.
- [4] A. S. Abdulhameed, A. K. T. Mohammad, and A. H. Jawad, “Application of response surface methodology for enhanced synthesis of chitosan tripolyphosphate/TiO₂ nanocomposite and adsorption of reactive orange 16 dye,” *J Clean Prod*, vol. 232, pp. 43–56, 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.05.291.
- [5] W. S. W. Ngah, C. S. Endud, and R. Mayanar, “Removal of copper (II) ions from aqueous solution onto chitosan and cross-linked chitosan beads,” vol. 50, pp. 181–190, 2002, doi: 10.1016/S1381-5148(01)00113-4.
- [6] A. Moeini *et al.*, “Effect of pH and TPP concentration on chemico-physical properties, release kinetics and antifungal activity of Chitosan-TPP-Ungeremine microbeads,” *Carbohydr Polym*, vol. 195, pp. 631–641, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.05.005.
- [7] I. Gehrke, A. Geiser, and A. Somborn-Schulz, “Innovations in nanotechnology for water treatment,” *Nanotechnol Sci Appl*, vol. 8, pp. 1–17, 2015, doi: 10.2147/NSA.S43773.
- [8] X. Qu, P. J. J. Alvarez, and Q. Li, “Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment,” *Water Res*, vol. 47, no. 12, pp. 3931–3946, 2013, doi: 10.1016/j.watres.2012.09.058.
- [9] L. Madhura, S. Singh, S. Kanchi, M. Sabela, K. Bisetty, and Inamuddin, *Nanotechnology-based water quality management for wastewater treatment*, vol.

- 17, no. 1. Springer International Publishing, 2019. doi: 10.1007/s10311-018-0778-8.
- [10] A. Masudi, G. E. Harimisa, N. A. Ghafar, and N. W. C. Jusoh, “Magnetite-based catalysts for wastewater treatment,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 5, pp. 4664–4682, 2020, doi: 10.1007/s11356-019-07415-w.
- [11] M. F. Horst, V. Lassalle, and M. L. Ferreira, “Nanosized magnetite in low cost materials for remediation of water polluted with toxic metals, azo- and antraquinonic dyes,” *Front Environ Sci Eng*, vol. 9, no. 5, pp. 746–769, 2015, doi: 10.1007/s11783-015-0814-x.
- [12] F. Horst, E. H. Rueda, and M. L. Ferreira, “Activity of magnetite-immobilized catalase in hydrogen peroxide decomposition,” *Enzyme Microb Technol*, vol. 38, no. 7, pp. 1005–1012, 2006, doi: 10.1016/j.enzmictec.2005.08.035.
- [13] P. Nicolás, G. S. López Pagni, F. Horst, V. Lasalle, and M. L. Ferreira, “Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes,” *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.
- [14] F. Yazdani and M. Seddigh, “Magnetite nanoparticles synthesized by co-precipitation method: The effects of various iron anions on specifications,” *Mater Chem Phys*, vol. 184, pp. 318–323, 2016, doi: 10.1016/j.matchemphys.2016.09.058.
- [15] A. Fadli, Komalasari, A. Adnan, Iwantono, Rahimah, and A. S. Addabsi, “Synthesis of Magnetite Nanoparticles via Co-precipitation Method,” *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*, vol. 622, no. 1, p. 012013, 2019, doi: 10.1088/1757-899X/622/1/012013.
- [16] J. Li, Q. Wu, and J. Wu, “Synthesis of Nanoparticles via Solvothermal and Hydrothermal Methods,” in *Handbook of Nanoparticles*, M. Aliofkhazraei, Ed., 2015, pp. 1–1426. doi: 10.1007/978-3-319-15338-4.
- [17] N. Torres-Gómez, O. Nava, L. Argueta-Figueroa, R. García-Contreras, A. Baeza-Barrera, and A. R. Vilchis-Nestor, “Shape tuning of magnetite nanoparticles

- obtained by hydrothermal synthesis: Effect of temperature,” *J Nanomater*, vol. 2019, pp. 1–15, 2019, doi: 10.1155/2019/7921273.
- [18] A. Watcharenwong, Y. Bailuang, and P. Kajitvichyanukul, “Synthesis and characterization of monodisperse magnetite nanoparticles by hydrothermal method,” *Key Eng Mater*, vol. 737, pp. 367–372, 2017, doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.737.367.
- [19] Z. I. Takai, M. K. Mustafa, S. Asman, and K. A. Sekak, “Preparation and characterization of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles by sol-gel method,” *International Journal of Nanoelectronics and Materials*, vol. 12, no. 1, pp. 37–46, 2019.
- [20] N. A. I. Md Ishak, S. K. Kamarudin, and S. N. Timmiati, “Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles via plant extracts: an overview,” *Mater Res Express*, vol. 6, no. 11, p. 112004, 2019, doi: 10.1088/2053-1591/ab4458.
- [21] O. P. Bolade, A. B. Williams, and N. U. Benson, “Green synthesis of iron-based nanomaterials for environmental remediation: A review,” *Environ Nanotechnol Monit Manag*, vol. 13, p. 100279, 2020, doi: 10.1016/j.enmm.2019.100279.
- [22] Y. P. Yew *et al.*, “Green Synthesis of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles Using Seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) Extract,” *Nanoscale Res Lett*, vol. 11, no. 1, pp. 1–7, 2016, doi: 10.1186/s11671-016-1498-2.
- [23] J. H. Kim, S. M. Kim, and Y. Il Kim, “Properties of magnetic nanoparticles prepared by co-precipitation,” *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 14, no. 11, pp. 8739–8744, 2014, doi: 10.1166/jnn.2014.9993.
- [24] A. Ghosh, V. Srinivas, and R. Sundara, “Comprehensive structural and magnetic properties of iron oxide nanoparticles synthesized through chemical routes,” *J Alloys Compd*, vol. 818, p. 152931, 2019, doi: 10.1016/j.jallcom.2019.152931.
- [25] A. H. Lu, E. L. Salabas, and F. Schüth, “Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 46, no. 8, pp. 1222–1244, 2007, doi: 10.1002/anie.200602866.

- [26] P. Nicolás, M. Saleta, H. Troiani, R. Zysler, V. Lassalle, and M. L. Ferreira, “Preparation of iron oxide nanoparticles stabilized with biomolecules: Experimental and mechanistic issues,” *Acta Biomater*, vol. 9, no. 1, pp. 4754–4762, 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2012.09.040.
- [27] P. Nicolás, “Síntesis y caracterización de partículas magnéticas para su aplicación en biotecnología,” Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, 2017.
- [28] N. A. Ekayem, A. A. Alhwaige, W. Elhrari, and M. Amer, “Removal of lead (II) ions from water using chitosan/polyester crosslinked spheres derived from chitosan and glycerol-based polyester,” *J Environ Chem Eng*, vol. 9, no. 6, p. 106628, 2021, doi: 10.1016/j.jece.2021.106628.
- [29] D. Malwal and P. Gopinath, “Silica Stabilized Magnetic-Chitosan Beads for Removal of Arsenic from Water,” *Colloids and Interface Science Communications*, vol. 19, pp. 14–19, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.colcom.2017.06.003.
- [30] B. Lima Santos Klienchén Dalari, C. Lisboa Giroletti, L. Dalri-Cecato, D. Gonzaga Domingos, and M. E. Nagel Hassemer, “Application of heterogeneous photo-fenton process using chitosan beads for textile wastewater treatment,” *J Environ Chem Eng*, vol. 8, no. 4, p. 103893, 2020, doi: 10.1016/j.jece.2020.103893.
- [31] J. D. Giraldo, B. L. Rivas, E. Elgueta, and A. Mancisidor, “Metal ion sorption by chitosan–tripolyphosphate beads,” *J Appl Polym Sci*, vol. 134, no. 46, Dec. 2017, doi: 10.1002/app.45511.
- [32] M. Naderi, “Surface Area: Brunauer-Emmett-Teller (BET),” in *Progress in Filtration and Separation*, Elsevier Ltd, 2015, pp. 585–608. doi: 10.1016/B978-0-12-384746-1.00014-8.
- [33] K. S. W. Sing *et al.*, “Reporting physisorption data for gas/solid systems—with special reference to the determination of surface area and porosity,” *Pure & Appl. Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 603–619, 1985.
- [34] S. Pirillo, V. Pedroni, E. Rueda, and M. L. Ferreira, “Elimination of dyes from aqueous solutions using iron oxides and chitosan as adsorbents. A comparative

- study,” *Quim Nova*, vol. 32, no. 5, pp. 1239–1244, 2009, doi: 10.1590/S0100-40422009000500030.
- [35] I. Martínez-Mera, M. E. Espinosa-Pesqueira, R. Pérez-Hernández, and J. Arenas-Alatorre, “Synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles without surfactants at room temperature,” *Mater Lett*, vol. 61, no. 23–24, pp. 4447–4451, 2007, doi: 10.1016/j.matlet.2007.02.018.
- [36] C. Fan, K. Li, Y. He, Y. Wang, X. Qian, and J. Jia, “Evaluation of magnetic chitosan beads for adsorption of heavy metal ions,” *Science of the Total Environment*, vol. 627, pp. 1396–1403, 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.033.
- [37] S. Jabeen *et al.*, “Effect of single and binary mixed surfactant impregnation on the adsorption capabilities of chitosan hydrogel beads toward rhodamine B,” *New Journal of Chemistry*, vol. 44, no. 28, pp. 12216–12226, Jul. 2020, doi: 10.1039/d0nj02496a.
- [38] E. S. de Alvarenga, “Chapter 5 - Characterization and Properties of Chitosan,” in *Biotechnology of Biopolymers*, M. Elnashar, Ed., 2011, pp. 91–108.
- [39] C. H. Liu, H. T. Jiang, and C. H. Wang, “Fabrication and characterization of a toughened spherical chitosan adsorbent only through physical crosslinking based on mechanism of Chain Rearrangement,” *RSC Adv*, vol. 12, no. 15, pp. 9179–9185, Mar. 2022, doi: 10.1039/d1ra09438f.
- [40] W. S. W. Ngah and S. Fatinathan, “Adsorption of Cu(II) ions in aqueous solution using chitosan beads, chitosan-GLA beads and chitosan-alginate beads,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 143, no. 1–3, pp. 62–72, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.cej.2007.12.006.
- [41] A. Babakhani and M. Sartaj, “Removal of Cadmium (II) from aqueous solution using tripolyphosphate cross-linked chitosan,” *J Environ Chem Eng*, vol. 8, no. 4, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.jece.2020.103842.
- [42] M. Nitsae, A. Madjid, L. Hakim, and A. Sabarudin, “Preparation of chitosan beads using tripolyphosphate and ethylene glycol diglycidyl ether as crosslinker for

- Cr(VI) adsorption,” *Chemistry and Chemical Technology*, vol. 10, no. 1, pp. 105–114, 2016, doi: 10.23939/chcht10.01.105.
- [43] C. H. Liu, H. T. Jiang, and C. H. Wang, “Fabrication and characterization of a toughened spherical chitosan adsorbent only through physical crosslinking based on mechanism of Chain Rearrangement,” *RSC Adv*, vol. 12, no. 15, pp. 9179–9185, 2022, doi: 10.1039/d1ra09438f.
- [44] W. S. Wan Ngah, L. C. Teong, and M. A. K. M. Hanafiah, “Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review,” Feb. 01, 2011. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.11.004.
- [45] M. Vakili *et al.*, “Effect of beading parameters on cross-linked chitosan adsorptive properties,” *React Funct Polym*, vol. 144, no. July, p. 104354, 2019, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104354.
- [46] G. L. Rorrer’, T.-Y. Hsien, and J. D. Way, “Synthesis of Porous-Magnetic Chitosan Beads for Removal of Cadmium Ions from Waste Water,” pp. 2170–2178, 1993, doi: 10.1021/ie00021a042.
- [47] M. I. Wahba, “Porous chitosan beads of superior mechanical properties for the covalent immobilization of enzymes,” *Int J Biol Macromol*, 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.102.
- [48] P. V. S. Farias *et al.*, “Natural and cross-linked chitosan spheres as adsorbents for diesel oil removal,” *Adsorption Science and Technology*, vol. 33, no. 9, pp. 783–792, 2015, doi: 10.1260/0263-6174.33.9.783.
- [49] P. Mazancová, V. Némethová, D. Treľová, L. Kleščíková, I. Lacík, and F. Rázga, “Dissociation of chitosan/tripolyphosphate complexes into separate components upon pH elevation,” *Carbohydr Polym*, vol. 192, pp. 104–110, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.03.030.
- [50] D. Choe, Y. M. Kim, J. E. Nam, K. Nam, C. S. Shin, and Y. H. Roh, “Synthesis of high-strength microcrystalline cellulose hydrogel by viscosity adjustment,” *Carbohydr Polym*, vol. 180, pp. 231–237, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.10.017.

- [51] H. Suo, D. Zhang, J. Yin, J. Qian, Z. L. Wu, and J. Fu, “Interpenetrating polymer network hydrogels composed of chitosan and photocrosslinkable gelatin with enhanced mechanical properties for tissue engineering,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 92, pp. 612–620, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.msec.2018.07.016.
- [52] K. N. Koo, A. F. Ismail, M. H. Dzarfan Othman, M. A. Rahman, and T. Z. Sheng, “Preparation and characterization of superparamagnetic (Fe₃O₄) nanoparticles: A short review,” *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, vol. 15, no. 1, pp. 23–31, 2019, doi: 10.1007/s11595-017-1555-4.
- [53] J. H. Wu, S. P. Ko, H. L. Liu, S. Kim, J. S. Ju, and Y. K. Kim, “Sub 5 nm magnetite nanoparticles: Synthesis, microstructure, and magnetic properties,” *Mater Lett*, vol. 61, no. 14–15, pp. 3124–3129, 2007, doi: 10.1016/j.matlet.2006.11.032.
- [54] H. E. Rizk and N. E. El-Hefny, “Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles from polyol medium for sorption and selective separation of Pd(II) from aqueous solution,” *J Alloys Compd*, vol. 812, 2020, doi: 10.1016/j.jallcom.2019.152041.
- [55] C. H. Yang *et al.*, “Facile Synthesis of Radial-Like Macroporous Superparamagnetic Chitosan Spheres with In-Situ Co-Precipitation and Gelation of Ferro-Gels,” *PLoS One*, vol. 7, no. 11, pp. 1–7, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0049329.
- [56] J. Park *et al.*, “Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals,” *Nat Mater*, vol. 3, no. 12, pp. 891–895, Dec. 2004, doi: 10.1038/nmat1251.
- [57] L. R. Gómez Sotomayor, “Nanocompuestos de hierro-polímero biodegradable como sistemas de liberación de fármacos antitumorales,” Universidad de Granada, 2014.
- [58] H. Bagheri, A. Roostaie, and M. Y. Baktash, “A chitosan-polypyrrole magnetic nanocomposite as μ -sorbent for isolation of naproxen,” *Anal Chim Acta*, vol. 816, pp. 1–7, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.aca.2014.01.028.
- [59] J. Fernández-Lucas, R. Harris, I. Mata-Casar, A. Heras, I. De La Mata, and M. Arroyo, “Magnetic chitosan beads for covalent immobilization of nucleoside 2'-deoxyribosyltransferase: Application in nucleoside analogues synthesis,” *J Ind*

- Microbiol Biotechnol*, vol. 40, no. 9, pp. 955–966, 2013, doi: 10.1007/s10295-013-1304-4.
- [60] Rahmi, Julinawati, M. Nina, H. Fathana, and M. Iqhrammullah, “Preparation and characterization of new magnetic chitosan-glycine-PEGDE (Fe₃O₄/Ch-G-P) beads for aqueous Cd(II) removal,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 45, no. September 2021, p. 102493, 2022, doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102493.
- [61] S. H. Sanlier, G. Ak, H. Yilmaz, G. Ozbakir, and O. Cagliyan, “Removal of textile dye, direct red 23, with glutaraldehyde cross-linked magnetic chitosan beads,” *Prep Biochem Biotechnol*, vol. 43, no. 2, pp. 163–176, Jan. 2013, doi: 10.1080/10826068.2012.712937.
- [62] B. Tanhaei, A. Ayati, M. Lahtinen, and M. Sillanpää, “Preparation and characterization of a novel chitosan/Al₂O₃/magnetite nanoparticles composite adsorbent for kinetic , thermodynamic and isotherm studies of Methyl Orange adsorption,” *CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL*, vol. 259, pp. 1–10, 2015, doi: 10.1016/j.cej.2014.07.109.
- [63] W. Zou, H. Geng, M. Lin, and X. Xiong, “Facile One-Pot Preparation of Superparamagnetic Chitosan Sphere and Its Derived Hollow Sphere,” *J Appl Polym Sci*, vol. 123, pp. 3587–3594, 2012, doi: 10.1002/app.34887.
- [64] F. Zhao, B. Zhang, and L. Feng, “Preparation and magnetic properties of magnetite nanoparticles,” *Mater Lett*, vol. 68, pp. 112–114, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.matlet.2011.09.116.
- [65] A. Godymchuk, I. Papina, E. Karepina, D. Kuznetsov, I. Lapin, and V. Svetlichnyi, “Agglomeration of iron oxide nanoparticles: pH effect is stronger than amino acid acidity,” *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 21, no. 10, Oct. 2019, doi: 10.1007/s11051-019-4634-y.
- [66] X. Li *et al.*, “Heterogeneous Fenton-like degradation of tetracyclines using porous magnetic chitosan microspheres as an efficient catalyst compared with two preparation methods,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 379, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.cej.2019.122324.

- [67] F.-L. Mi, S. S. Shyu, S. T. Lee, and T. B. I. Wong, “Kinetic study of chitosan-tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan-tripolyphosphate gel beads prepared by in-liquid curing method,” *J Polym Sci B Polym Phys*, vol. 37, no. 14, pp. 1551–1564, 1999, doi: 10.1002/(SICI)1099-0488(19990715)37:14<1551::AID-POLB1>3.0.CO;2-H.
- [68] M. S. Chiou and H. Y. Li, “Adsorption behavior of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads,” vol. 50, pp. 1095–1105, 2003, doi: 10.1016/S0045-6535(02)00636-7.
- [69] X. Z. Shu and K. J. Zhu, “Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure,” 2002. [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/ijpharm
- [70] A. Srinatha, J. K. Pandit, and S. Singh, “Ionic Cross-linked Chitosan Beads for Extended Release of Ciprofloxacin: In vitro Characterization,” *Indian J Pharm Sci*, vol. 70, no. 1, pp. 16–21, 2008, doi: 10.4103/0250-474X.40326.
- [71] G. Z. Kyzas, M. Kostoglou, N. K. Lazaridis, and D. N. Bikiaris, “N-(2-Carboxybenzyl) grafted chitosan as adsorptive agent for simultaneous removal of positively and negatively charged toxic metal ions,” *J Hazard Mater*, vol. 244–245, pp. 29–38, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.11.049.
- [72] M. Lee, B. Y. Chen, and W. Den, “Chitosan as a natural polymer for heterogeneous catalysts support: A short review on its applications,” 2015, *MDPI AG*. doi: 10.3390/app5041272.
- [73] W. A. Morais, A. L. P. de Almeida, M. R. Pereira, and J. L. C. Fonseca, “Equilibrium and kinetic analysis of methyl orange sorption on chitosan spheres,” *Carbohydr Res*, vol. 343, no. 14, pp. 2489–2493, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.carres.2008.06.024.
- [74] E. Biró, A. S. Németh, C. Sisak, T. Feczko, and J. Gyenis, “Preparation of chitosan particles suitable for enzyme immobilization,” *J Biochem Biophys Methods*, vol. 70, no. 6, pp. 1240–1246, 2008, doi: 10.1016/j.jprot.2007.11.005.
- [75] T. Huu Bui, W. Lee, S. Jeon, K. Kim, and Y. Lee, “Enhanced Gold (III) adsorption using glutaraldehyde-crosslinked chitosan beads : Effect of crosslinking degree on

- adsorption selectivity , capacity , and mechanism,” *Sep Purif Technol*, vol. 248, no. March, p. 116989, 2020, doi: 10.1016/j.seppur.2020.116989.
- [76] K. Okuda, I. Urabe, Y. Yamada, and H. Okada, “Reaction of Glutaraldehyde with Amino and Thiol Compounds,” *J Ferment Bioeng*, vol. 71, no. 2, pp. 100–105, 1991.
- [77] A. Matei *et al.*, “On the stability of glutaraldehyde in biocide compositions,” *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 9, 2020, doi: 10.3390/ijms21093372.
- [78] A. Sabarudin and A. D. R. Madjid, “Preparation and Kinetic Studies of Cross-Linked Chitosan Beads Using Dual Crosslinkers of Tripolyphosphate and Epichlorohydrin for Adsorption of Methyl Orange,” vol. 2021, 2021, doi: 10.1155/2021/6648457.
- [79] N. P. Raval, S. Mukherjee, N. K. Shah, P. Gikas, and M. Kumar, “Hexametaphosphate cross-linked chitosan beads for the eco-efficient removal of organic dyes : Tackling water quality,” *J Environ Manage*, vol. 280, no. November 2020, p. 111680, 2021, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111680.

Capítulo V

Optimización de la síntesis de hematin soportado en quitosano-magnetita

5.1. Introducción

Se ha establecido en el Capítulo IV un procedimiento base para la síntesis de un sólido esférico basado en QUIT-MAG-TPP. El sólido presentó una distribución homogénea de hierro en todo el volumen y fue activo en contacto con H_2O_2 según caracterización cualitativa inicial. Esto confiere la posibilidad de que, al inmovilizar HEM, se obtenga un sólido con comportamiento multicatalítico con dos sistemas de generación de radicales en contacto con H_2O_2 ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ en MAG y Fe^{3+} en HEM). Sin embargo, la eficiencia en la inmovilización de HEM fue baja.

En la literatura se reporta el uso de 3-aminopropil trietoxisilano (APTS de aquí en adelante, Figura 5.1) como agente de funcionalización de nanopartículas magnéticas para inmovilización de enzimas (Tabla 5.1). El APTS ($\text{C}_9\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{Si}$, $\text{PM} = 221,37$) es una molécula orgánica simple y económica. Es ampliamente utilizado para la funcionalización, mediante silanización, de materiales orgánicos e inorgánicos, entre ellos quitina, QUIT, MAG y sílica [1], [2].

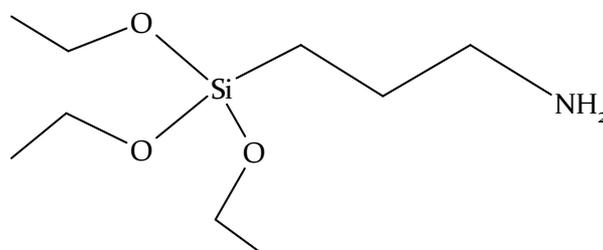


Figura 5.1 – Estructura química del APTS. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

Tabla 5.1 – Aplicaciones de APTS reportadas en la literatura.

Material tratado	Condiciones	Función del APTS	Ref.
QUIT-GA	QUIT = 0,1 g APTS 98% = 77,6 µL Solvente = 5 mL buffer fosfato pH 7 Agitación magnética Temperatura ambiente Tiempo de tratamiento = 2 h	Espaciador para evitar impedimentos estéricos con los sustratos.	[3]
MAG - ATP (atapulgita)	MAG/ATP = 0,5 g APTS = 4 mL Solvente = etanol/agua destilada (500:100) pH 4 (ajustado con ácido acético) Tratamiento por 4 h bajo agitación mecánica	Agente de funcionalización para inmovilización de polianilina.	[4]
MAG	MAG = 0,43 g Solvente = 9,7 mL etanol APTS = 0,3 mL Temperatura = 25 °C Atmósfera de N ₂ durante toda la noche en un sistema Schlenk	Agente de funcionalización para inmovilizar proteína.	[2]
MAG-SiO₂	MAG-SiO ₂ = 2,5 g Solvente = 500 mL de metanol-tolueno 50% v/v 6 h bajo reflujo a 70 °C	Agente de funcionalización del material basado en sílica (introducción de grupos amino).	[5]
MAG	MAG = 0,3639 g aprox. (0,3125 g de FeCl ₂ precipitadas en 10 mL agua destilada + 1,6 mL de solución de amonio 25%) APTS = 0,625 mL Agitación Autoclave en un recipiente a presión sellado de 75 mL a 134 °C durante 3 h	Agente surfactante para lograr buena dispersión en agua del sólido sintetizado para aplicaciones biomédicas.	[6]
MAG	MAG = 0,2475 g aprox. (0,278 g FeSO ₄ 6H ₂ O) APTS = 62,55 µL 40 mL de agua millipore absolutamente desoxigenada bajo argón Tiempo = 15 min	Agente de funcionalización para inmovilización.	[7]
MAG	MAG = 1,5 g APTS = 150 mL 2% v/v Agitación magnética vigorosa durante 7 h a 70 °C	Agente de funcionalización (introducción de grupos amino) para inmovilizar hemoglobina.	[8]
Fibras de bambú	Fibras de bambú = 100 g 1 L de solución etanol/agua desionizada 80:20 v/v 1% en peso de APTS 120 °C por 2 h	Agente acoplante.	[9]
MAG	MAG = 2,33 g + 25 mL de etanol 150 mL etanol + 1 mL agua APTS = 2 µL/mL 5 h bajo agitación magnética	Agente acoplante para inmovilización de HRP.	[10]

La incorporación de grupos amino silanos en MAG produce aminas disponibles para la inmovilización de proteínas. En Kumar et al. (2013) sintetizaron MAG utilizando APTS, 3-aminopropil trimetoxisilano (APTMS) y n-octiltrietoxisilano (en acetona), con el fin de activar la superficie con grupos silano antes de recubrir con QUIT [11]. Luego, inmovilizaron covalentemente la enzima lipasa *Rhizopus oryzae*, con un máximo de inmovilización (48,3%) usando 3-APTMS. Los autores reportan que el proceso podría ocurrir en dos etapas: (1) el agente de acoplamiento silano condensa en polímeros de silano; y (2) estos polímeros se asocian mediante el grupo silanol (Si-OH) sobre la superficie de las nanopartículas magnéticas [11]. Esta asociación podría darse mediante la incorporación de enlaces covalentes con los grupos OH de la superficie a través de la deshidratación. En la superficie de MAG hay numerosos grupos OH, que pueden acoplarse fácilmente con los grupos silano mediante la formación de enlaces covalentes Si-O-Si. La funcionalización de las nanopartículas de óxidos de hierro con estos compuestos evita su oxidación [12].

Como antecedente en el grupo de Catálisis, Nicolás (2017) utilizó APTS como aditivo en MAG-GA, con el fin de inmovilizar la enzima lipasa B de *Candida antártica*. Adicionalmente, en Córdoba et al. (2014) estudiaron la incorporación de APTS como un bloque espaciador entre la matriz polimérica del QUIT y HEM utilizando GA como agente acoplante [3]. Encontraron que la masa de HEM soportado con APTS aumenta más del 100% respecto a su inmovilización sin APTS. Estos trabajos previos constituyen la base para el desarrollo del presente capítulo.

El propósito fue optimizar la inmovilización de HEM evaluando el efecto de la incorporación de APTS como agente acoplante. Se buscó maximizar la carga de material activo y evitar su pérdida en el medio de reacción. Respecto a la caracterización, se consideró que aquellas metodologías que mantienen al material en su estado hidratado permiten correlacionar de forma más adecuada las propiedades con su funcionalidad, como la actividad catalítica en solución acuosa. En consecuencia, se optó por caracterizar el catalizador a través de la reacción de descomposición de H₂O₂ evaluando su actividad mimética a la enzima catalasa. Adicionalmente, se caracterizó el sólido con los parámetros de síntesis óptimos por SEM-EDX y FTIR-DRIFTS.

El propósito final fue obtener el protocolo de síntesis definitivo de un catalizador robusto y estable para ser aplicado posteriormente en un proceso de oxidación avanzada para remediación de soluciones acuosas que contengan colorantes.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Reactivos

QUIT fue provisto por Primex S.A. TM 809 (Siglufjörður, Fjallabyggð, Islandia). Ácido acético 100% (glacial CH_3COOH , $\text{PM} = 60,052$) y buffer pH 11 fueron comprados a Biopack (Buenos Aires, Argentina). Hidróxido de sodio (NaOH), sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), ferroso amonio sulfato (Sal de Mohr, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 100 vol. (30%) fueron obtenidos de Cicarelli (Santa Fe, Buenos Aires). El cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) se compró a Tetrahedron Laboratorio Andes (Mendoza, Argentina). El TPP ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) 85%, HEM y APTS ($\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$) 99% fueron provistos por Sigma Aldrich (San Luis, USA). KBr fue provisto por J.T. Baker (Filadelfia, USA). Todos los reactivos fueron usados sin mayor purificación. El agua destilada fue preparada en el destilador del laboratorio de Catálisis.

5.2.2. Selección y creación del diseño experimental

Se utilizó el software Statgraphics Centurion XV para diseñar las corridas experimentales y analizar estadísticamente los resultados. Para la selección del diseño experimental de *Screening* se ingresaron al software las condiciones indicadas en la Tabla 5.2. Se establecieron 3 factores experimentales: (I) porcentaje de HEM respecto a la masa nominal de MAG; (II) relación molar acoplante/MAG; (III) tiempo de tratamiento con agente acoplante.

Tabla 5.2 – Condiciones ingresadas al software para la selección del diseño experimental.

Número de factores	Número mínimo de puntos centrales por bloque	Número máximo de corridas por bloque	Error experimental (sigma)	Potencia deseada (%)	Efecto objetivo	Nivel de confianza (%)
3	1	10	0,5	90,0	2,0	95,0

Los diseños que el software propone se presentan en la Tabla 5.3. Los diseños factoriales fraccionados son aquellos en los que las corridas a ejecutar son un subconjunto de las correspondientes a un diseño factorial completo. Los diseños experimentales

pueden clasificarse en función de su resolución. Aquellos cuya resolución es: (a) V, pueden estimar todos los efectos principales e interacciones de dos factores; (b) IV, pueden estimar todos los efectos principales, pero algunas o todas las interacciones de dos factores pueden estar confundidas con otras interacciones o efectos de bloque; (c) III, solo pueden estimar los efectos principales, lo que requiere que no haya interacciones para una interpretación adecuada [13]. La potencia es la probabilidad de que un factor con un efecto de una magnitud dada sea significativo estadísticamente luego de realizar los ensayos y analizar los datos. Los grados de libertad influyen en este parámetro, y es preferible que estén disponibles al menos 3.

Tabla 5.3 – Diseños experimentales propuestos por el software.

Diseño	Corridas	Resol.	Puntos extremos	Puntos centrales	Grados de libertad (error)	Rep.	Bloques	Potencia (%)
Factorial 2^3	10	V+	8	2	3	1	1	95,6669
Media fracción saturada 2^{3-1}	10	III	4	6	6	1	1	91,4633

Se seleccionó el diseño factorial 2^3 , que implica 1 bloque de 10 corridas, con 8 puntos extremos y 2 centrales. El orden de los experimentos fue aleatorizado por el software. Se establecieron 3 niveles por factor experimental, detallados en Tabla 5.4. Las variables de respuesta fueron: (I) masa de HEM efectivamente inmovilizada (mg/esfera); y (II) porcentaje de descomposición de H_2O_2 (%). El diseño experimental de *Screening* aleatorizado que el programa definió se presenta en la Tabla 5.5.

Tabla 5.4 – Factores experimentales y variables de respuesta.

Nivel	Factores experimentales			Variables de respuesta
	% HEM respecto a masa nominal de MAG	Mol APTS/mol MAG	Tiempo de tratamiento (min)	
-1	1	0,2	45	HEM soportado (mg/esfera)
0	3	0,6	90	Descomposición de H_2O_2 (%)
+1	5	1	135	

Tabla 5.5 – Diseño experimental factorial 2³ creado por el software.

Corridas	HEMATIN	ACOPLANTE	
	% HEM respecto a la masa nominal de MAG	mol APTS/mol MAG nominal	Tiempo de tratamiento con APTS (min)
1	5	1	45
2	5	0,2	135
3	1	1	45
4	1	1	135
5	1	0,2	135
6	5	1	135
7	3	0,6	90
8	1	0,2	45
9	5	0,2	45
10	3	0,6	90

5.2.3. Síntesis del soporte (QUIT-MAG-TPP)

La síntesis del catalizador se realizó en función de los resultados del Capítulo IV. El sólido se obtuvo por coprecipitación de las sales de hierro para la obtención de MAG (10%) y la gelificación del QUIT (90%) en simultáneo. Se disolvieron 623,49 mg de QUIT en una solución compuesta por 6,9 mL de ácido acético 5% v/v y 10,8 mL de sales de hierro ($Fe^{3+}:Fe^{2+} = 2$) disueltas en agua destilada. 15,7 mL de esta solución obtenida se gotearon manualmente sobre NaOH 3,75 M en atmósfera inerte (flujo de N₂). El entrecruzamiento con TPP se realizó poniendo en contacto el sólido con 60 mL de solución entrecruzante con las siguientes relaciones en masa QUIT/NaOH = 0,4375 y QUIT/TPP = 0,3743 durante 1 h a temperatura ambiente y bajo agitación magnética (600-650 rpm). La cantidad total de esferas (762) a entrecruzar se dividió en 3 corridas (*batch*) de entrecruzamiento.

5.2.4. Tratamiento con agente acoplante

Diferentes relaciones molares de APTS/MAG nominal (0,2, 0,6 y 1) y tiempos de tratamiento (45, 90 y 135 min) fueron estudiados. Inicialmente, se trasvasó APTS a un vial con septum utilizando el sistema que se presenta en la Figura 5.2. Luego, se añadió APTS (50 µL) en 25 mL de etanol. Se tomó un volumen determinado de APTS/etanol (véase Tabla 5.6) y se llevó a 20 mL con agua destilada. A continuación, esta solución se añadió a un vaso de precipitado que contenía 140 esferas de QUIT-MAG-TPP a tratar en una malla de fibra de vidrio. Se mantuvieron en contacto bajo agitación magnética (600-650 rpm) durante el tiempo definido en el diseño experimental.



Figura 5.2 – Sistema utilizado para el trasvase de APTS.

Tabla 5.6 – Condiciones utilizadas para el tratamiento de 140 esferas de QUIT-MAG-TPP con APTS como agente acoplante.

Relación molar APTS/ MAG nominal	Corridas ^a	Tiempo de tratamiento (min)	APTS/etanol (mL)
0,2	2; 5	135	1
	8; 9	45	1
0,6	7; 10	90	3
1	1; 3	45	5
	4; 6	135	5

Nota: ^a Las corridas que requirieron un catalizador con igual relación molar APTS/MAG y tiempo de tratamiento, se realizaron con un sólido sintetizado en un único batch de tratamiento con APTS.

5.2.5. Inmovilización de HEM

El catalizador (70 esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS cuyo contenido nominal de QUIT-MAG corresponde a 5,15 mg) se colocó en un vial con una malla de fibra de vidrio (Figura 5.3). Se añadieron 15 mL de una solución de concentración conocida de HEM, con una masa del biomimético correspondiente al 1, 3 o 5% según la corrida del diseño experimental (Tabla 5.7). Se mantuvieron en contacto durante 2 h bajo agitación magnética (600-650 rpm). Se registraron los espectros UV-Vis de la solución de HEM antes y después del tratamiento, y se calculó la concentración del biomimético utilizando la curva de calibrado elaborada previamente (Capítulo III, Sección 3.3.1.). Por balance de masa, se obtuvieron los mg de HEM efectivamente inmovilizados en 70 esferas y por esfera, para cada uno de los ensayos. Se evaluó el efecto de la relación molar APTS/MAG nominal y del tiempo de tratamiento sobre la inmovilización de HEM, comparando con el “blanco” (QUIT 90%-MAG 10%-TPP y 5% de HEM respecto a masa nominal de MAG, sin agente acoplante). Se realizaron 3 experiencias adicionales, bajo las mismas

condiciones de tratamiento, explorando un contenido de HEM de 7,5, 10 y 12,5% respecto a la masa nominal de MAG.



Figura 5.3 – Viales con malla de fibra de vidrio empleados para la inmovilización de HEM sobre esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS.

Tabla 5.7 – Masa teórica de HEM en solución a pH 11 utilizada para tratar los sólidos según la corrida del diseño experimental.

Run	% HEM respecto a la masa nominal de MAG	Masa teórica de HEM en 15 mL de buffer pH 11 (mg) ^a
1	5	0,26
2	5	0,26
3	1	0,05
4	1	0,05
5	1	0,05
6	5	0,26
7	3	0,15
8	1	0,05
9	5	0,26
10	3	0,15

Nota: ^a Masa de HEM en solución puesta en contacto con 70 esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS cuyo contenido nominal de MAG es de 5,15 mg.

5.2.6. Descomposición de peróxido de hidrógeno

Las condiciones de reacción de descomposición de H₂O₂ establecidas fueron: cantidad de esferas correspondientes a 18,75 mg nominales de QUIT-MAG, 15 mL de H₂O₂ 80 mM, tiempo de contacto de 2 h a pH 11, 30 °C con baño termostatzado y agitación en placa magnética (300-400 rpm). La concentración del H₂O₂ se seleccionó en función de un trabajo previo del grupo en el cual diferentes sólidos basados en MAG fueron utilizados para descomponer H₂O₂, cuyo rango de concentración varió desde 20 mM a 80 mM [14]. Las soluciones de H₂O₂, inicial y luego de 2 h de reacción, fueron tituladas por permanganometría para conocer su concentración precisa. La descripción

detallada del procedimiento se encuentra en el Capítulo II, Sección 2.2.3. La solución de H₂O₂ resultante luego de la reacción se almacenó en viales hasta su caracterización mediante ICP-AES para determinar el contenido de hierro en solución y evaluar, de este modo, la estabilidad del catalizador en el medio de reacción.

La eficiencia en la descomposición de H₂O₂ fue calculada según la Ecuación 5.1.

Ecuación 5.1 – Ecuación para el cálculo de la descomposición de H₂O₂.

$$\text{Descomposición de H}_2\text{O}_2 (\%) = \frac{[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{inicial}} - [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{final}}}{[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{inicial}}} \times 100$$

5.2.7. Caracterización

El sólido basado en QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM con los parámetros de síntesis optimizados, pre y post descomposición de H₂O₂, se caracterizó mediante SEM-EDX. Además, se obtuvieron los espectros FTIR-DRIFTS (400-4000 cm⁻¹) del sólido en cada instancia de síntesis. Las muestras (2 mg) se secaron, y mezclaron con KBr (98 mg) utilizando un mortero de ágata. El polvo obtenido se colocó en el portamuestras para el análisis.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Síntesis del catalizador: incorporación de APTS e inmovilización de HEM

En la Figura 5.4 se presenta el esquema de la síntesis del catalizador utilizado, incorporando el tratamiento con APTS como agente acoplante. En la etapa II, de precipitación, se obtuvieron 835 esferas. Del total de esferas obtenidas, 762 se trataron posteriormente con TPP, de las cuales 700 se trataron con APTS (en 5 corridas de 140 esferas cada una) y se les inmovilizó HEM (en 10 corridas de 70 esferas cada una), ambos procedimientos bajo las condiciones específicas establecidas en el diseño experimental.



Figura 5.4 – Esquema del protocolo de síntesis del catalizador con la incorporación de APTS como agente acoplante.

5.3.2. Efecto del APTS sobre la inmovilización de HEM

La Tabla 5.8 presenta la masa de HEM experimental presente en la solución puesta en contacto con 70 esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS y la masa del biomimético efectivamente inmovilizada. La Figura 5.5 muestra la eficiencia en la inmovilización de HEM. La incorporación de APTS como agente acoplante mejoró la eficiencia en el proceso de inmovilización de HEM. Analizando los catalizadores con un 5% de HEM respecto a la masa nominal de MAG en la solución inicial, se observa que el porcentaje de HEM efectivamente inmovilizado pasó de un 32% sin la adición del agente acoplante a una media del 52% cuando se trató con APTS. Estos porcentajes se traducen en 0,09 mg de HEM en 70 esferas (5,15 mg nominal QUIT-MAG) sin acoplar a, en promedio, 0,14 mg con el tratamiento con APTS. APTS tiene 3 grupos reactivos etoxi y un grupo amino por cada molécula. La polimerización de estas moléculas sobre superficies que contienen grupos OH es una reacción compleja que involucra: (I) la hidrólisis del APTS (un grupo OH sustituye el grupo etoxi en un medio ácido, alcalino o neutral formando un grupo silanol); (II) la condensación mediante la formación de enlaces siloxanos (Si-O-Si) entre las moléculas de APTS hidrolizadas; y (III) la fase final de formación de enlace siloxano con la superficie que contiene grupos OH mediante la pérdida de una molécula de H₂O (Figura 5.6) [15], [16]. El APTS en contacto con el sólido soporte tiene la posibilidad de reaccionar con los grupos OH presentes en MAG y en QUIT (Figura 5.7), quedando propilaminos expuestos. Los resultados demuestran que la funcionalización de la superficie del sólido permite una mejora en la inmovilización de HEM.

Tabla 5.8 – Masa de HEM experimental en solución inicial y soportada sobre 70 esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS.

Run	% HEM respecto a masa nominal de MAG	Masa experimental de HEM en 15 mL de buffer pH 11 (mg) ^a	Masa de HEM soportada en 70 esferas (mg)	Masa HEM por esfera (mg)
1	5	0,27	0,13	1,91E-03
2	5	0,27	0,15	2,17E-03
3	1	0,05	0,03	3,78E-04
4	1	0,06	0,03	3,80E-04
5	1	0,05	0,03	4,25E-04
6	5	0,27	0,14	2,01E-03
7	3	0,17	0,09	1,34E-03
8	1	0,05	0,03	4,17E-04
9	5	0,27	0,14	1,96E-03
10	3	0,16	0,09	1,23E-03
11 ^b	7,5	0,52	0,19	2,15E-03
12 ^b	10	0,69	0,26	2,85E-03
13 ^b	12,5	0,89	0,35	3,93E-03
Blanco 1 ^c	5	0,28	0,09	1,21E-03
Blanco 2 ^c	25	1,19	0,12	1,75E-03

Nota: ^a Masa de HEM en solución puesta en contacto con 70 esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS cuyo contenido nominal de MAG es de 5,15 mg. ^b Las corridas adicionales se realizaron con un soporte cuya relación molar APTS/MAG nominal fue igual a 1 y el tiempo de tratamiento 135 min. ^c Los ensayos blancos representan la inmovilización de HEM sobre esferas de QUIT-MAG-TPP, sin acoplante.

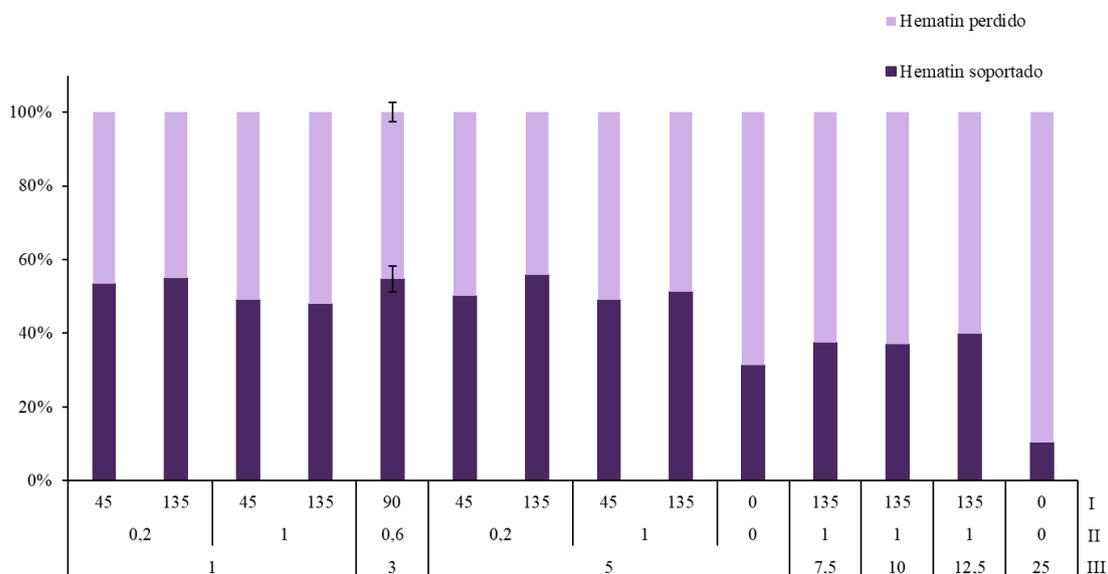


Figura 5.5 – Eficiencia en la inmovilización de HEM. **Notas:** I, tiempo de tratamiento (min); II, relación molar APTS/MAG nominal; III, %HEM respecto a masa nominal de MAG.

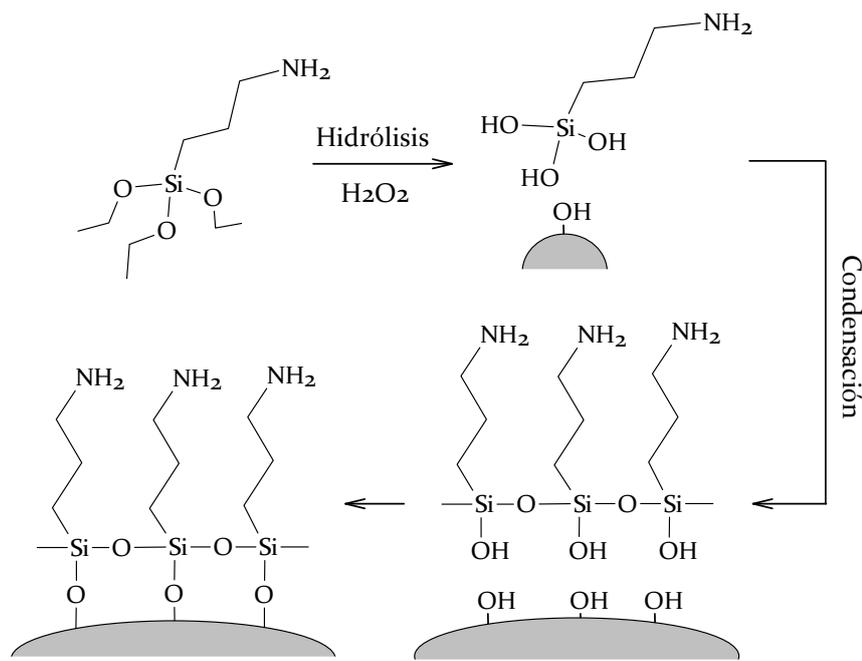


Figura 5.6 – Reacción de APTS con grupos funcionales OH. Elaboración propia en ACD/ChemSketch Freeware 2021.2.1.

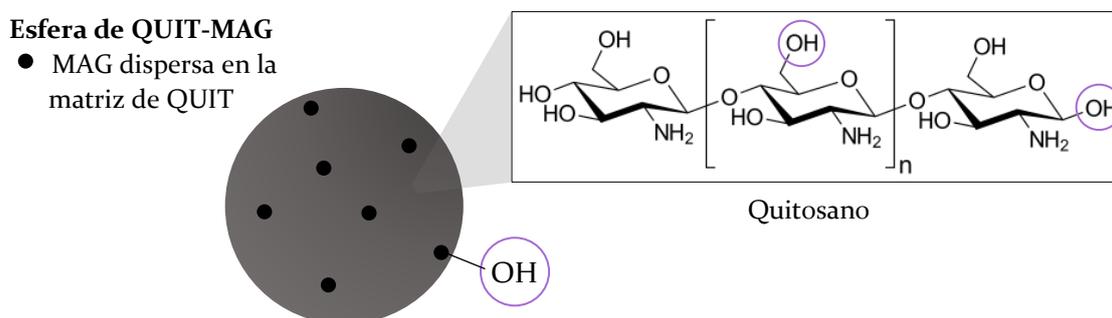


Figura 5.7 – Grupos OH disponibles en la esfera de QUIT-MAG para interactuar con APTS.

Los resultados de la eficiencia en la inmovilización de HEM presentan un error del 6%, calculado a partir de los ensayos duplicados en los puntos centrales del diseño experimental. De Oliveira Cruz et al. (2020) reportan la síntesis de partículas de QUIT por precipitación química usando una jeringa equipada con una aguja (0,7 mm), sobre las que depositaron nanopartículas de Fe/Ni para aplicarlas en remoción de color de un efluente textil [17]. Considerando que los autores indican que todos los ensayos fueron realizados con el mismo batch de partículas, podría inferirse que esta aclaración se asocia con la variabilidad intrínseca al método de síntesis usando goteo manual con jeringa.

En la Figura 5.8 se puede observar que, utilizando APTS como agente acoplante, un aumento desde el 1 al 5% de HEM incrementa la masa del biomimético soportada, manteniendo la eficiencia del tratamiento. La Tabla 5.9 presenta las estimaciones para los efectos y las interacciones, y el error estándar de cada uno de los efectos, contemplando el error de muestreo. El valor del Factor de Inflación de la Varianza (VIF) fue igual a 1,0, indicando un diseño perfectamente ortogonal (valores de 10 implican sería confusión entre los efectos). El test ANOVA prueba que, en efecto, el factor experimental “% HEM con respecto a la masa nominal de MAG” tiene un p-valor inferior a 0,05, lo que indica que es significativamente diferente de cero con un nivel de confianza del 95,0% (Tabla 5.10 y Figura 5.9). El estadístico R² indica que el modelo ajustado explica el 99,0112% de la variabilidad de la respuesta “masa de HEM efectivamente inmovilizada (mg/esfera)”.

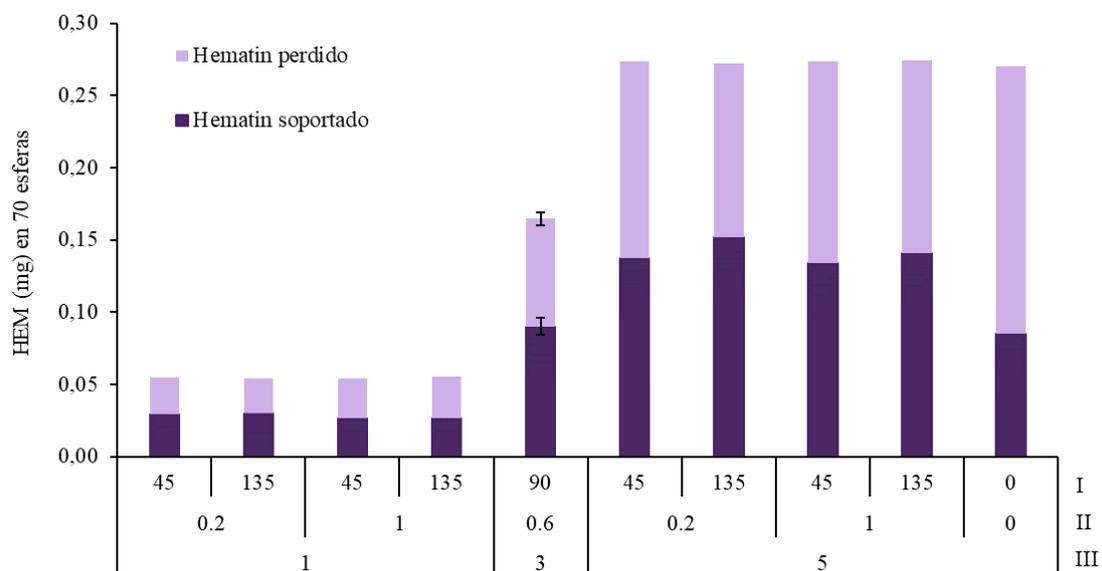


Figura 5.8 – HEM (mg) soportado en 70 esferas. **Nota:** I, tiempo de tratamiento (min); II, relación molar APTS/MAG nominal; III, %HEM respecto a masa nominal de MAG.

Tabla 5.9 – Errores estándar basados en el error total con 3 grados de libertad para “Hematin efectivamente inmovilizado (mg/esfera)”.

Efecto promedio	Estimado	Error estándar	V.I.F.
	0,001222	0,0000240309	
A:HEM	0,0016125	0,0000537347	1,0
B:Acoplante	-0,0000735	0,0000537347	1,0
C:Tiempo	0,00008	0,0000537347	1,0
AB	-0,0000315	0,0000537347	1,0
AC	0,000075	0,0000537347	1,0
BC	-0,000029	0,0000537347	1,0

VIF = Factor de inflación de varianza.

Tabla 5.10 - Análisis de la varianza para la variable de respuesta "Hematin efectivamente inmovilizado".

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A: HEM	0,00000520031	1	0,00000520031	900,51	0,0001
B: Acoplante	1,08045E-8	1	1,08045E-8	1,87	0,2648
C: Tiempo	1,28E-8	1	1,28E-8	2,22	0,2333
AB	1,9845E-9	1	1,9845E-9	0,34	0,5989
AC	1,125E-8	1	1,125E-8	1,95	0,2572
BC	1,682E-9	1	1,682E-9	0,29	0,6269
Total error	1,73245E-8	3	5,77483E-9		
Total (corr.)	0,00000525616	9			

$R^2 = 99,6704$; R^2 (ajustado por grados de libertad) = 99,0112. Standard Error of Est. = 0,0000759923; Mean absolute error = 0,0000252; Durbin-Watson statistic = 2,31872 (P=0,8283); Lag 1 residual autocorrelation = -0,161426

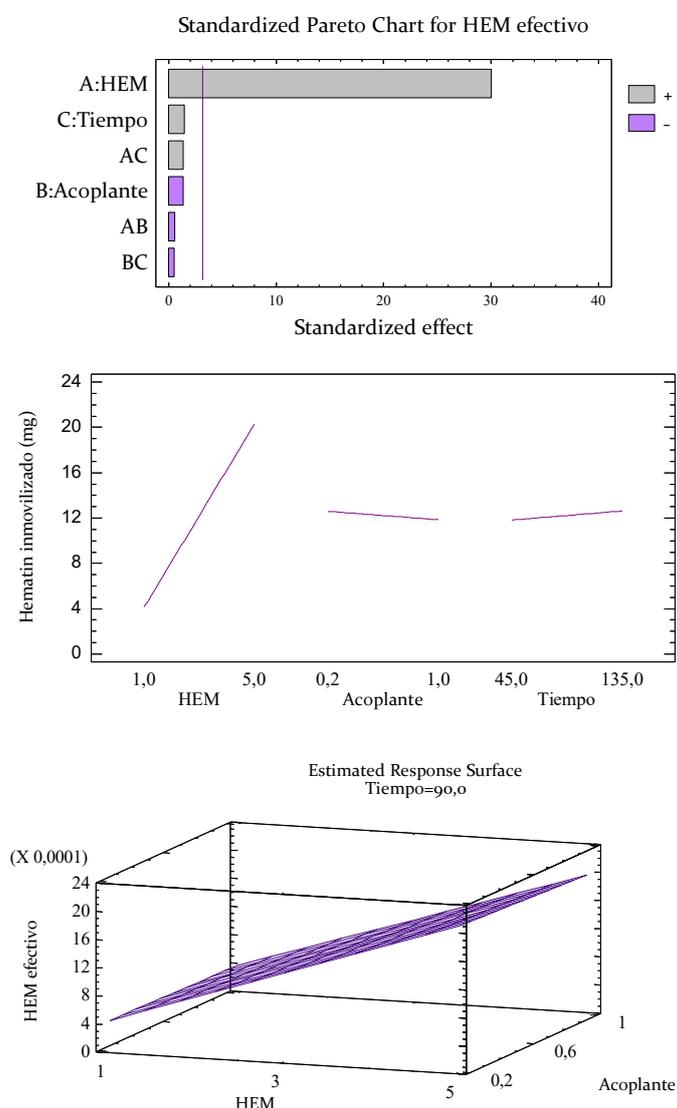


Figura 5.9 – Gráficas de efectos principales y superficie de respuesta para la variable de respuesta correspondiente a la “masa de HEM (mg) efectivamente inmovilizada por esfera”.

Considerando que el “% de HEM respecto a masa nominal de MAG” es el factor que más contribuye a la variabilidad de la respuesta “masa de HEM efectivamente inmovilizada por esfera”, se exploró el proceso de inmovilización para 7,5, 10 y 12,5% de HEM (para relación molar APTS/MAG nominal = 1 y tiempo de tratamiento = 135 min). Los resultados fueron presentados en Tabla 5.8 y Figura 5.5. Se obtuvo que la eficiencia de inmovilización de HEM para estas pruebas disminuyó hasta un 37%. Por lo tanto, con el fin de minimizar la pérdida de HEM y reducir el costo económico de la síntesis, se selecciona como óptimo un máximo del 5% de biomimético respecto a la masa nominal de MAG.

5.3.3. Descomposición de peróxido de hidrógeno

El contenido de HEM en el sólido utilizado en reacción y los resultados de la descomposición de H₂O₂ se presentan en la Tabla 5.11. La concentración inicial de las soluciones de H₂O₂ fue de 78 ± 0,58 mM. El contenido de QUIT-MAG experimental, según los resultados de síntesis, corresponde a 18,4 mg nominales.

Tabla 5.11 – Contenido de HEM (mg) sobre esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS (18,4 mg nominal de QUIT-MAG) y porcentaje de descomposición de H₂O₂ ([H₂O₂] = 80 mM; pH 11; 2 h; 30 °C; 300-400 rpm; 15 mL).

Run	HEM % HEM respecto a masa nominal de MAG	APTS Relación molar de APTS/ MAG	TIEMPO Tiempo de tratamiento con APTS (min)	HEM soportado HEM en 18,4 mg nominales de QUIT-MAG (25 esferas) (mg)	Descomposición de H ₂ O ₂ %
1	5	1	45	0,044	54
2	5	0,2	135	0,050	48
3	1	1	45	0,009	42
4	1	1	135	0,009	45
5	1	0,2	135	0,010	41
6	5	1	135	0,047	56
7	3	0,6	90	0,031	46
8	1	0,2	45	0,010	40
9	5	0,2	45	0,045	48
10	3	0,6	90	0,029	46

Analizando la descomposición de H₂O₂ en función de la masa de HEM inmovilizada sobre 18,4 mg nominales de QUIT-MAG, se comprobó que la actividad tipo catalasa del catalizador a pH 11 aumentó con el incremento de la masa de HEM soportada. La descomposición del H₂O₂ osciló entre el 40 y el 56%. Se encontró una relación cercana a

la linealidad con el aumento del % de HEM respecto a masa nominal de MAG (Figura 5.10).

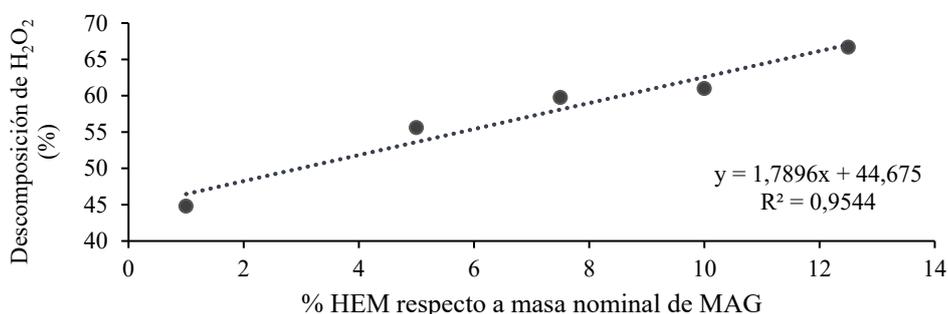


Figura 5.10 – Descomposición de H₂O₂ (%) en función del porcentaje de HEM respecto a la masa nominal de MAG.

La Tabla 5.12 presenta las estimaciones para cada efecto y las interacciones. Además, muestra el error estándar de cada efecto. Los valores VIF son todos iguales a 1,0. El test ANOVA prueba que los factores experimentales porcentaje de HEM respecto a la masa nominal de MAG, la relación molar APTS/MAG nominal y el tiempo de tratamiento, fueron significativos (Tabla 5.13 y Figura 5.11). Los valores de P-Valor inferiores a 0,05 indican que los términos del modelo son significativos.

Tabla 5.12 – Errores estándar basados en el error total con 3 grados de libertad para “Descomposición de peróxido de hidrógeno (%)”.

Efecto promedio	Estimado	Error estándar	V.I.F.
	46,6	0,173205	
A:HEM	9,5	0,387298	1,0
B:Acoplante	5,0	0,387298	1,0
C:Tiempo	1,5	0,387298	1,0
AB	2,0	0,387298	1,0
AC	-0,5	0,387298	1,0
BC	1,0	0,387298	1,0

VIF = Factor de inflación de varianza

Tabla 5.13- Análisis de la varianza para la variable de respuesta “Descomposición de peróxido de hidrógeno (%)”.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A: HEM	180,5	1	180,5	601,67	0,0001
B: Acoplante	50,0	1	50,0	166,67	0,0010
C: Tiempo	4,5	1	4,5	15,00	0,0305
AB	8,0	1	8,0	26,67	0,0141
AC	0,5	1	0,5	1,67	0,2872
BC	2,0	1	2,0	6,67	0,0816
Total error	0,9	3	0,3		
Total (corr.)	246,4	9			

R² = 99,6347; R² (ajustado por grados de libertad) = 98,9042

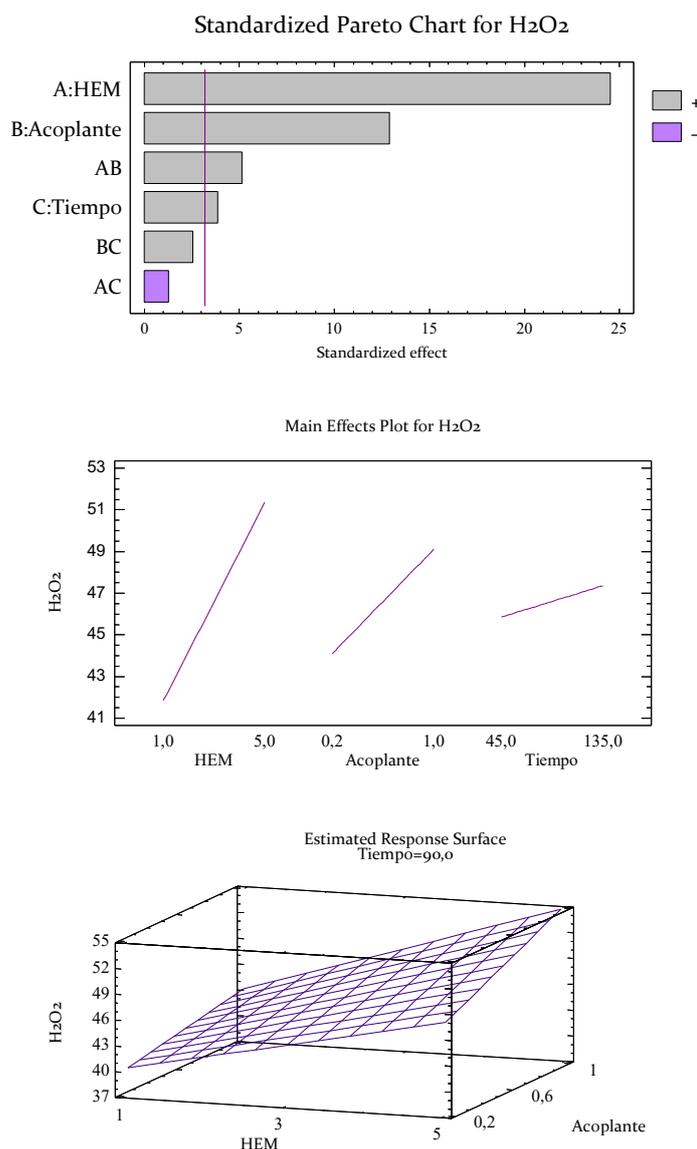


Figura 5.11 - Gráficas de efectos principales y superficie de respuesta para la variable de respuesta correspondiente a la “descomposición de peróxido de hidrógeno (%)”.

Resulta interesante evaluar la actividad catalasa de los sólidos preparados en términos de descomposición de H₂O₂ (mmol removido) por masa de material activo (mg de HEM y MAG presentes en el catalizador utilizado en reacción) (Tabla 5.14). Es claro que un aumento en la masa de HEM conduce a una mayor remoción de H₂O₂ por mg de material activo. Sin embargo, esto es válido con sólidos puestos en contacto con HEM cuya masa en solución corresponde hasta 5% respecto a la masa nominal de MAG. Los sólidos preparados con soluciones de HEM más concentradas (7,5, 10 y 12,5 % HEM respecto a masa nominal de MAG, ensayos 11, 12 y 13, respectivamente), no conducen a valores considerablemente mayores de remoción de H₂O₂ por mg de material activo. Esto

podría asociarse a que, si bien se logra una mayor inmovilización del biomimético, una fracción podría no estar activa debido a la formación de agregados [18], [19]. Estos están particularmente presentes en soluciones concentradas de HEM. La formación de dímeros no covalentes π - π puede asociarse a la presencia de una banda de transferencia de carga cerca de 610 nm en los espectros de absorción UV-Vis de HEM. Al comparar dos espectros del biomimético en diferentes concentraciones (Figura 5.12), se observa que la banda localizada a 610 nm se encuentra pronunciada en la solución con mayor concentración (18,22 mg L⁻¹) respecto a la de menor concentración (8,88 mg L⁻¹). Los sólidos utilizados en los ensayos 11, 12 y 13 estuvieron en contacto con soluciones de HEM cuyas concentraciones fueron 19,10, 25,58 y 32,87 mg L⁻¹, respectivamente. Córdoba (2015) reporta los posibles agregados que puede formar HEM, incluyendo dímeros, trímeros y tetrameros formados por puente hidrógeno (Figura 5.13) [18]. La autora menciona que las reacciones de formación de oligómeros de HEM pueden tener lugar en soluciones alcalinas. En consecuencia, es probable que el biomimético se encuentre formando agregados en la superficie de estos sólidos, reduciendo su actividad catalítica.

Tabla 5.14 – Actividad catalítica de los sólidos en función del material activo (MAG + HEM) ([H₂O₂] = 78 ± 0,58 mM; pH 11; 2 h; 30 °C; 300-400 rpm; 15 mL).

Run	H ₂ O ₂ removido (mmol)	HEM en reacción (mg)	MAG nominal en reacción (mg)	Material activo (HEM + MAG) (mg)	mmol de H ₂ O ₂ removido por mg de material activo
1	0,63	0,04	1,84	1,88	0,33
2	0,64	0,05	1,84	1,89	0,34
3	0,50	0,01	1,84	1,85	0,27
4	0,52	0,01	1,84	1,85	0,28
5	0,48	0,01	1,84	1,85	0,26
6	0,65	0,05	1,84	1,89	0,34
7	0,53	0,03	1,84	1,87	0,28
8	0,47	0,01	1,84	1,85	0,26
9	0,56	0,05	1,84	1,89	0,30
10	0,54	0,03	1,84	1,87	0,29
11	0,69	0,05	2,00	2,05	0,34
12	0,71	0,07	2,00	2,07	0,34
13	0,77	0,09	2,00	2,09	0,37
blanco	0,40	-	1,84	1,84 ¹	0,22

Nota: ¹ El material activo en el blanco solo corresponde a la masa nominal de MAG presente en el sólido esférico.

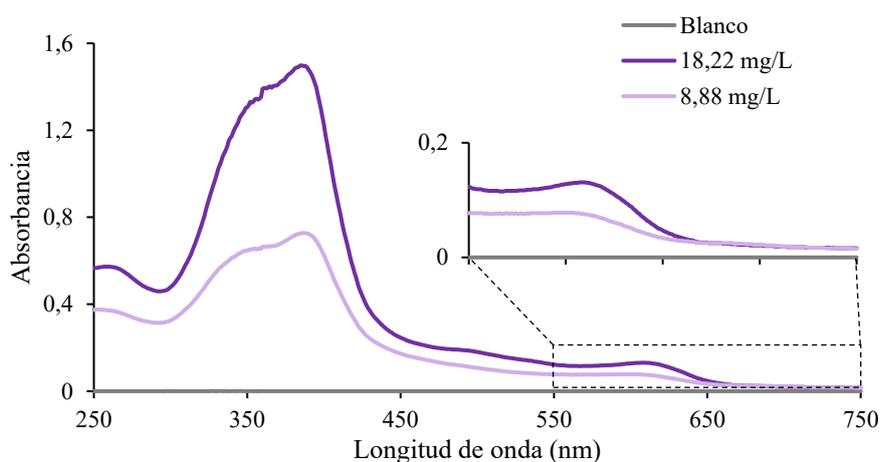


Figura 5.12 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones de HEM a pH 11 cuyas concentraciones fueron 18,22 y 8,88 mg L⁻¹.

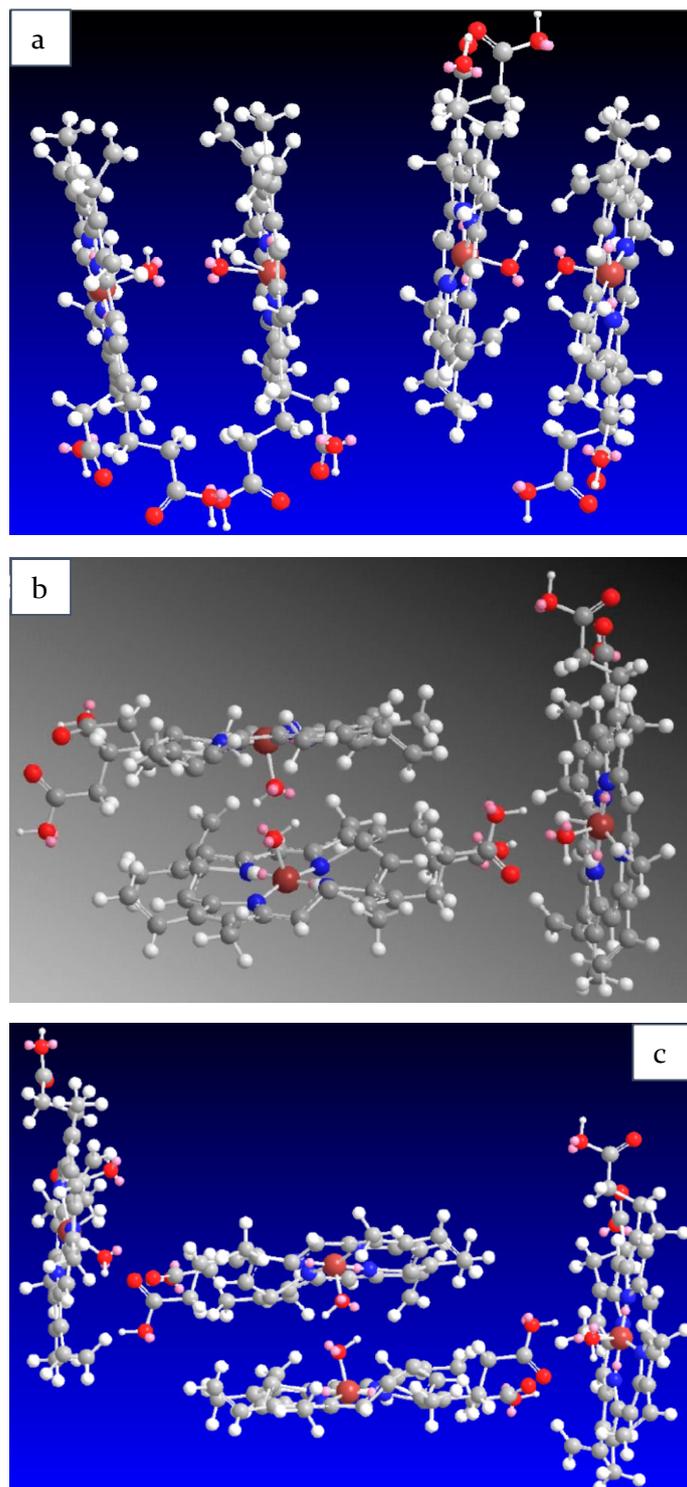


Figura 5.13 – Posibles agregados de HEM: (a) dímeros unidos por interacciones puente hidrógeno que involucran grupos carboxílicos (izquierda) e hidroxilos (derecha); (b) trímeros; (c) tetrámeros unidos por interacciones puente hidrógeno. Figuras tomadas de [18].

En estudios anteriores se evaluó la descomposición de H₂O₂ utilizando MAG pura; MAG-goma arábica; QUIT-MAG-GA; y Mn-MAG (Tabla 5.15). Estos ensayos se realizaron a pH 5 y 7, mientras que las experiencias realizadas en esta tesis se realizaron a pH 11. Teniendo presente esta consideración, aún es interesante la comparación en términos de mmol removido de H₂O₂ por mg de material activo. Puede observarse que, en el catalizador QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM evaluado en esta tesis, la masa de material activo es baja, pero eficiente. Se descomponen aproximadamente 0,3 mmol de H₂O₂ sin considerable disolución de Fe en solución, frente a aproximadamente 0,03 mmol por mg cuando se usa Mn-MAG ([H₂O₂] = 80 mM en ambos casos). Los demás sólidos evaluados fueron incluso menos eficientes en estos términos.

Tabla 5.15 – Descomposición de H₂O₂ reportada con sistemas que contienen MAG y QUIT [14].

Sólido	Condiciones de reacción	Conversión (%)	mmol H ₂ O ₂ removido por mg sólido activo
MAG pura	[sólido] = 5,4 mg mL ⁻¹ [H ₂ O ₂] = 100 mM; 8 mL pH 5 en agua destilada 200 rpm; 1 h; 30 °C	-	No fue posible determinar la conversión. Presencia de <i>leaching</i> .
MAG-goma arábica	[sólido] = 2,5 mg mL ⁻¹ 43,3% corresponde a MAG según referencia [20] [H ₂ O ₂] = 20 mM; 8 mL pH 5 en agua destilada 200 rpm; 1 h; 30 °C	38,1	0,007
	[sólido] = 2,5 mg mL ⁻¹ 43,3% corresponde a MAG según referencia [20] A- [H ₂ O ₂] = 10 mM B- [H ₂ O ₂] = 20 mM C- [H ₂ O ₂] = 30 mM 8 mL; pH 7 en buffer 200 rpm; 1 h; 30 °C	A- 6,9 B- 14,5 A- 8,1	A- 0,0006 B- 0,003 C- 0,002
QUIT-MAG-GA	[sólido] = 2,5 mg mL ⁻¹ [H ₂ O ₂] = 30 mM; 8 mL A- pH 5 en buffer B- pH 7 en buffer 200 rpm; 1 h; 30 °C	A- - B- -	No se evidenció conversión.
Mn-MAG	[sólido] = 2,5 mg mL ⁻¹ A- [H ₂ O ₂] = 20 mM	A- 75,8	A- 0,006
	B- [H ₂ O ₂] = 38,9 mM	B- 84,4	B- 0,013
	C- [H ₂ O ₂] = 60 mM	C- 89,3	C- 0,021
	D- [H ₂ O ₂] = 80 mM	D- 88,6	D- 0,028
	E- [H ₂ O ₂] = 100 mM 8 mL; pH 7 en buffer 200 rpm; 2 h; 30 °C	E- 78,2	E- 0,031

Utilizando esferas de QUIT-MAG-TPP, sin APTS ni HEM, se obtuvo una descomposición del 33,5% ($\pm 2,78$) bajo las mismas condiciones de reacción. Esto indica que el contenido de MAG presente en el soporte (1,84 mg nominales) presenta actividad catalasa, en concordancia con la caracterización cualitativa presentada en el Capítulo IV, Sección 4.3.2. La actividad mimética a la enzima catalasa de MAG ha sido reportada. Trabajos previos en el grupo de Catálisis han estudiado la descomposición de H_2O_2 utilizando MAG (20 mg) a pH 7, temperatura ambiente y agitación magnética sin barra magnética (utilizando la respuesta magnética del material) [14]. La remoción de H_2O_2 20 mM fue de 5,2% en 30 min para MAG, 24,2% en 1 h para MAG estabilizada con sodio dodecil sulfato, 31,9% para Co-ferritas en 2 h y 52,2% en 1 h para Mn-ferritas. Este último catalizador alcanzó 89,3 % de remoción en 2 h bajo las mismas condiciones de reacción, mientras que cuando la concentración del H_2O_2 fue de 80 mM, la remoción alcanzó el 88,6%. Adicionalmente, Maharjan et al. (2020) estudió la actividad catalítica de MAG [21]. Para concentraciones de H_2O_2 de 200 mg L^{-1} (5,9 mM) y 100 mg L^{-1} (2,9 mM) se obtuvieron conversiones de 99,32 y 98,22 %, respectivamente (condiciones de reacción: 90 min; 30 °C, pH 9; 1% p/p MAG en 100 mL).

No obstante, es relevante señalar que las actividades miméticas a la enzima catalasa de MAG y HEM presentes en el catalizador podrían no ser de naturaleza aditiva. Esto puede sugerirse considerando que: (I) parte de los sitios activos de MAG en el catalizador podrían estar interactuando con APTS, tal como se muestra en la Figura 5.14, y por lo tanto, no estarían disponibles para descomponer el H_2O_2 ; y (II) ambas especies podrían interactuar de manera no independiente, generando interferencias o competencias entre ellas para realizar el mismo proceso catalítico.

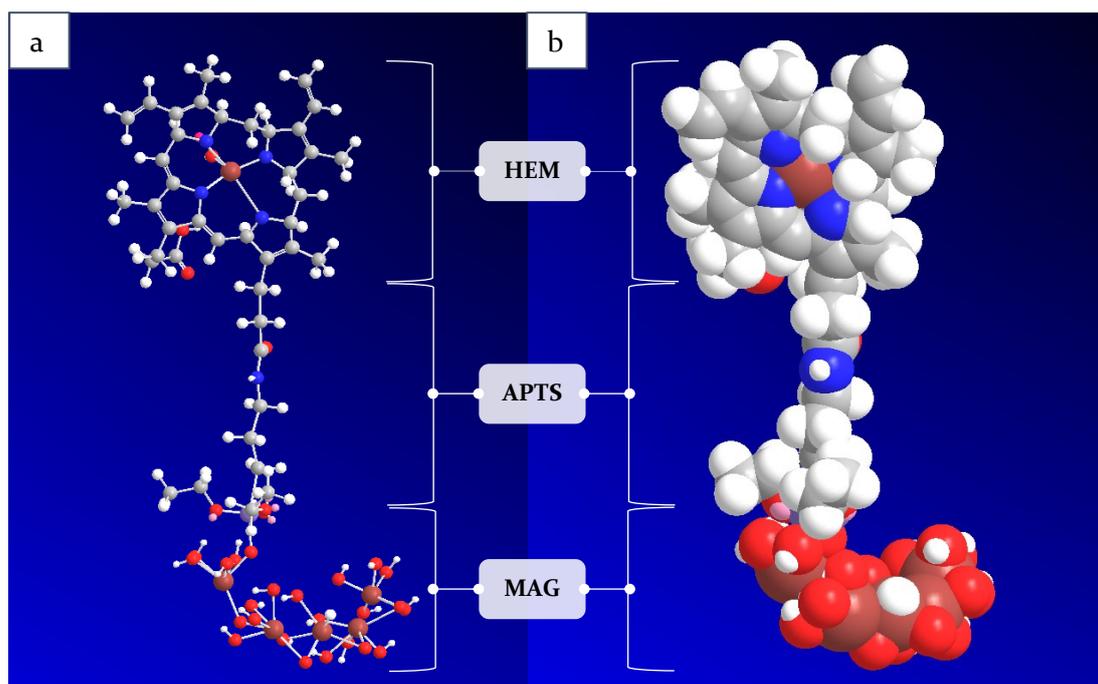


Figura 5.14 – Modelo HEM-APTS-MAG (a) *Ball and stick* y (b) *space fill*.

En la práctica, para utilizar un catalizador heterogéneo, es crucial evaluar su estabilidad. Particularmente, MAG tiene una tendencia a disolverse en el medio de reacción. Si bien ha demostrado ser activa en reacciones con H_2O_2 , ha presentado serios problemas de disolución parcial en la práctica, principalmente en soluciones con pH menor a 5, aunque con posibilidad de ocurrencia en valores mayores de pH debido a efectos mecánicos. En estudios previos se reporta que la incorporación de MAG en QUIT, en nanosistemas, implica el inconveniente del paso de iones del sólido a solución al utilizar barra magnética, coloreando el medio acuoso de amarillo a marrón rojizo [14]. También se ha evidenciado que las ferritas de Mn presentan actividad catalítica (catalítica y peroxidática) pero presentan como limitante la potencial disolución de Mn, que es tóxico, y por ende, no fueron exploradas en el presente trabajo. La pérdida de hierro en solución es una de las principales limitaciones para el uso de catalizadores basados en óxidos de hierro. En consecuencia, luego de la reacción de descomposición de H_2O_2 , se analizaron muestras de las soluciones resultantes (ensayos 6 y 8), mediante ICP-AES para determinar el contenido de hierro. Se encontró que la concentración de hierro en solución implicó una pérdida o “*leaching*” menor al 1% respecto al hierro presente en el sólido. Por lo que se logró un material robusto desde el punto de vista de la estabilidad en estos términos.

5.3.4. Optimización de las respuestas

Se realizó la optimización de la superficie de respuesta, maximizando las variables. Este procedimiento ayuda a determinar la combinación de niveles de los factores experimentales que simultáneamente optimiza ambas respuestas, mediante la maximización de la función deseabilidad. Los modelos establecidos para cada respuesta se combinan para maximizarlas. La Tabla 5.16 presenta la deseabilidad prevista y observada para cada corrida. En la Figura 5.15 se presenta la superficie de respuesta estimada para la función deseabilidad.

Se encontró que el sólido óptimo, en términos del contenido de HEM y de la actividad mimética a la enzima catalasa, fue el que se sintetizó utilizando 5% de HEM respecto a la masa nominal de MAG; relación molar APTS/MAG igual a 1; y tiempo de tratamiento con APTS de 135 min.

Tabla 5.16 - Deseabilidad evaluada en cada punto del diseño.

Run	Descomposición de H ₂ O ₂ (%)	HEM efectivamente inmovilizado por esfera (mg)	Deseabilidad	
			Prevista	Observada
1	54,0	0,00191	0,93039	0,935414
2	48,0	0,00217	0,700446	0,707107
3	42,0	0,000378	0,340037	0,353553
4	45,0	0,00038	0,550568	0,559017
5	41,0	0,000425	0,230489	0,25
6	56,0	0,00201	0,995301	1,0
7	46,0	0,00134	0,642262	0,612372
8	40,0	0,000417	0,0	0,0
9	48,0	0,00196	0,700446	0,707107
10	46,0	0,00123	0,642262	0,612372

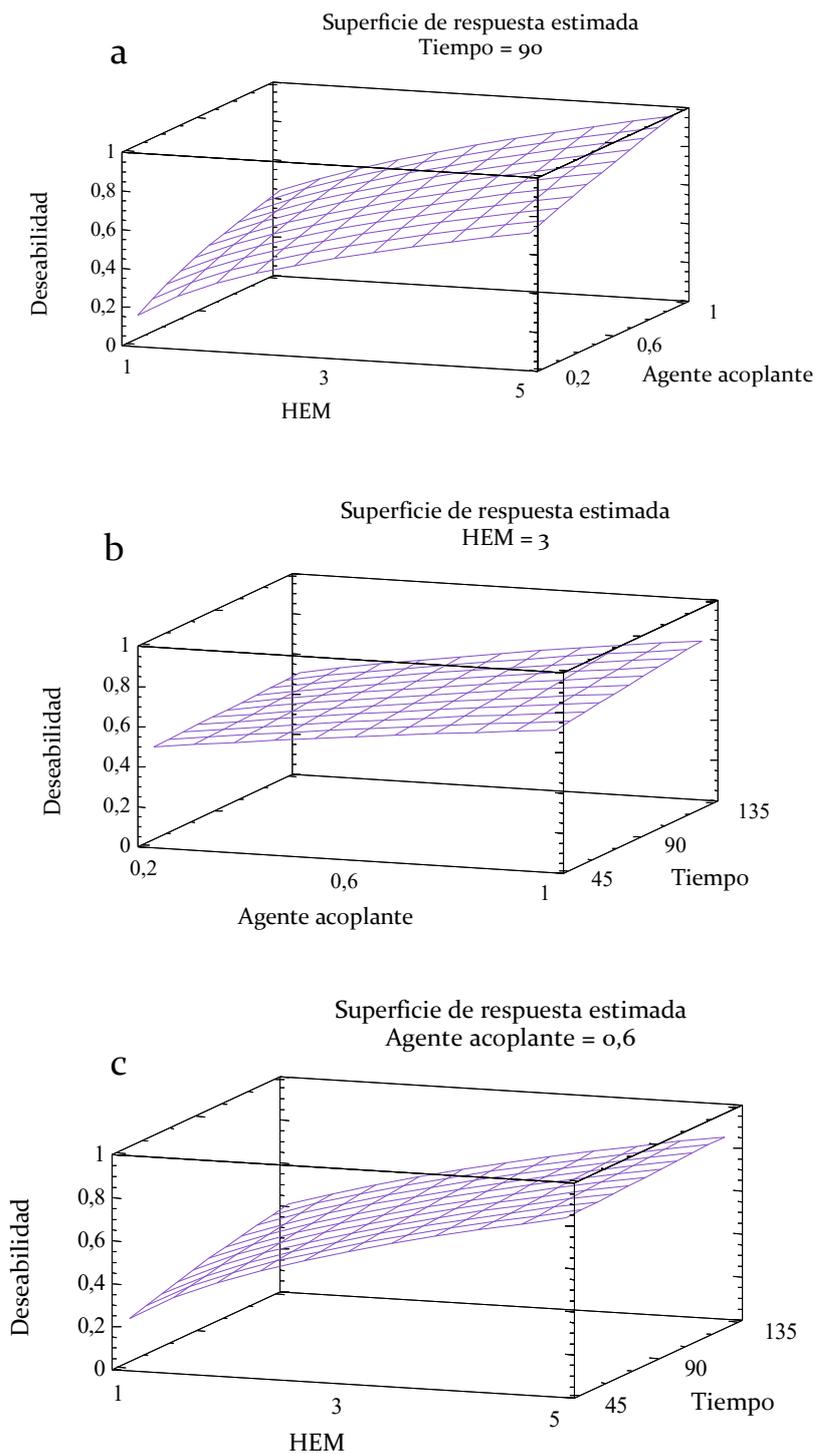


Figura 5.15 – Superficie de respuesta para la función deseabilidad para (a) un tiempo de tratamiento constante igual a 90 min; (b) un porcentaje de HEM respecto a masa nominal de MAG constante igual a 3; (c) una relación molar APTS/MAG nominal constante e igual a 0,6.

5.3.5. Caracterización

Las micrografías SEM-EDX, pre y post descomposición de H_2O_2 se presentan en Figura 5.16 y Figura 5.17, respectivamente. La superficie del sólido, la estructura interna y la distribución del hierro aparenta no presentar cambios. El análisis de la composición elemental en el corte transversal de una esfera de QUIT-MAG-TPP-APTS permitió corroborar la incorporación del agente acoplante debido a la presencia de Si (Figura 5.18).

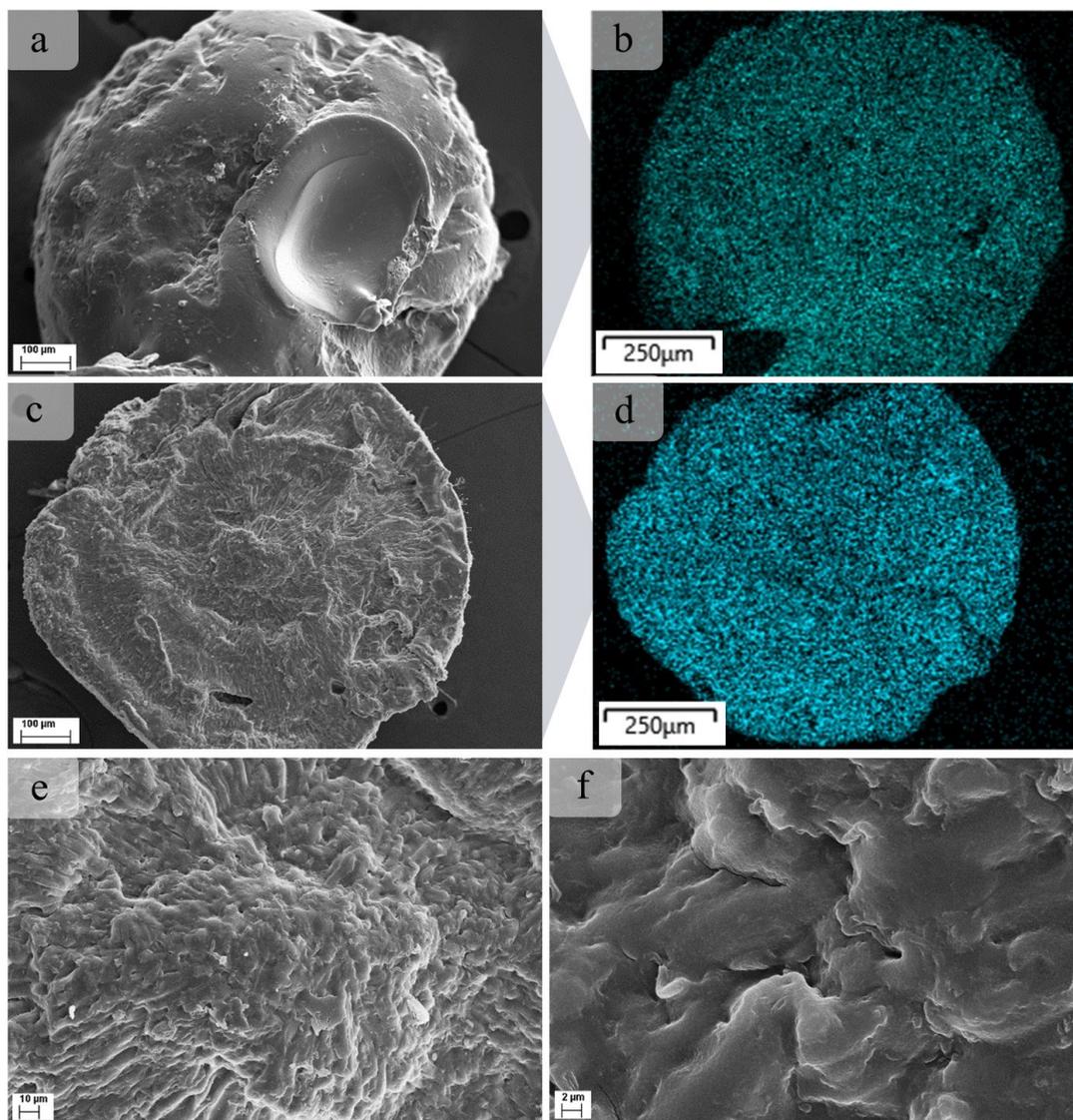


Figura 5.16 – Catalizador óptimo *previo a* la descomposición de H_2O_2 . Superficie del sólido esférico: (a) micrografía SEM 250 X; (b) análisis SEM-EDX para hierro. Corte transversal del sólido esférico: (c) SEM 250 X; (d) SEM-EDX para hierro; (e) SEM 1000 X; (f) SEM 5000 X.

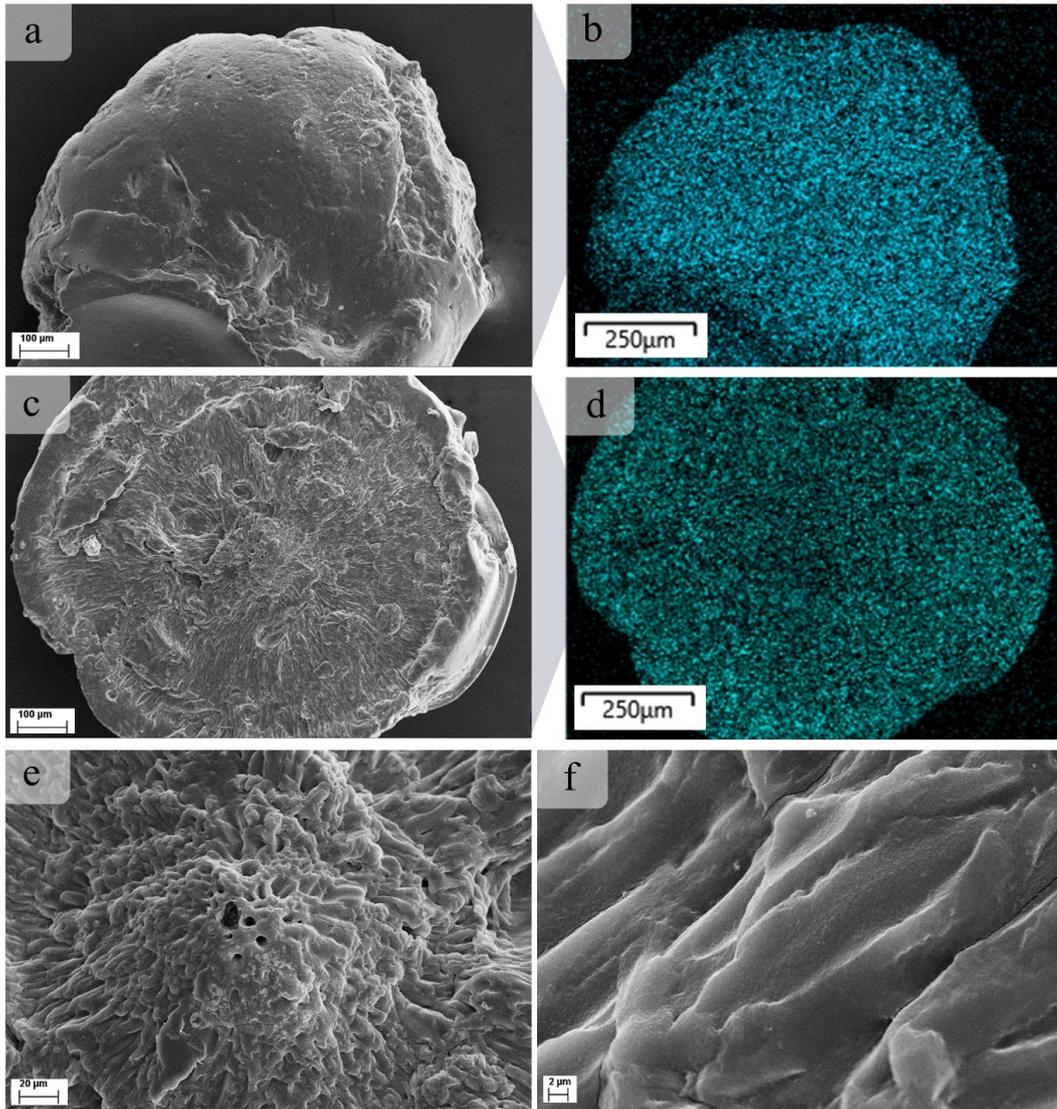


Figura 5.17 - Catalizador óptimo *luego de* la descomposición de H_2O_2 . Superficie del sólido esférico: (a) micrografía SEM 250 X; (b) análisis SEM-EDX para hierro. Corte transversal del sólido esférico: (c) SEM 250 X; (d) SEM-EDX para hierro; (e) SEM 1000 X; (f) SEM 5000 X.

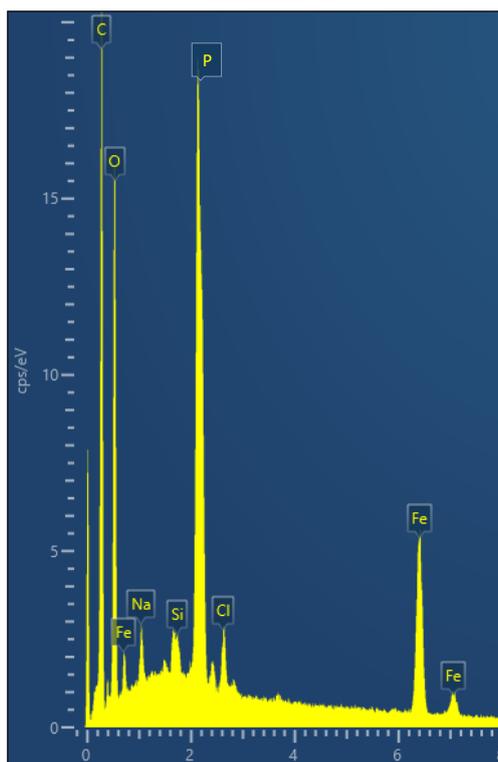


Figura 5.18 - Resultados del análisis SEM-EDX. Composición elemental para un sitio específico en el corte transversal de una esfera QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM.

En la Figura 5.19 se presentan los espectros FTIR-DRIFTS del sólido en cada etapa de síntesis. Se presentan cambios en el espectro de QUIT luego de la incorporación de MAG-TPP, APTS, y HEM. Las bandas presentes se asignaron a grupos funcionales según la literatura [22], [23], [24], [25]. Las bandas presentes en el rango entre 3455 y 3423 cm^{-1} podrían asociarse con vibraciones de estiramiento de los enlaces O-H y N-H. Esta banda es característica de alcoholes, aminas y amidas presentes en la estructura. El pico a $2900\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ es atribuido al estiramiento simétrico y asimétrico del enlace C-H, el cual fue débil en los espectros que corresponden a la incorporación de MAG/TPP, APTS y HEM. El pico a 1635 cm^{-1} se asignó a absorción característica del enlace N-H en NH_2 debido la deformación simétrica y antisimétrica, que se desplazó tras la adición de MAG-TPP, APTS y HEM. El pico a 1467 cm^{-1} podría atribuirse al estiramiento -C-O de los grupos alcohólicos primarios en el QUIT, el cual disminuyó tras la incorporación de MAG-TPP, APTS y HEM. Aparece un nuevo pico en el rango entre $1200\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ tras la incorporación de MAG-TPP, asignado a la vibración de estiramiento de los grupos fosfato (P=O) como consecuencia del entrecruzamiento. Los picos localizados aproximadamente a 900 cm^{-1} se asignan al estiramiento antisimétrico P-O-P.

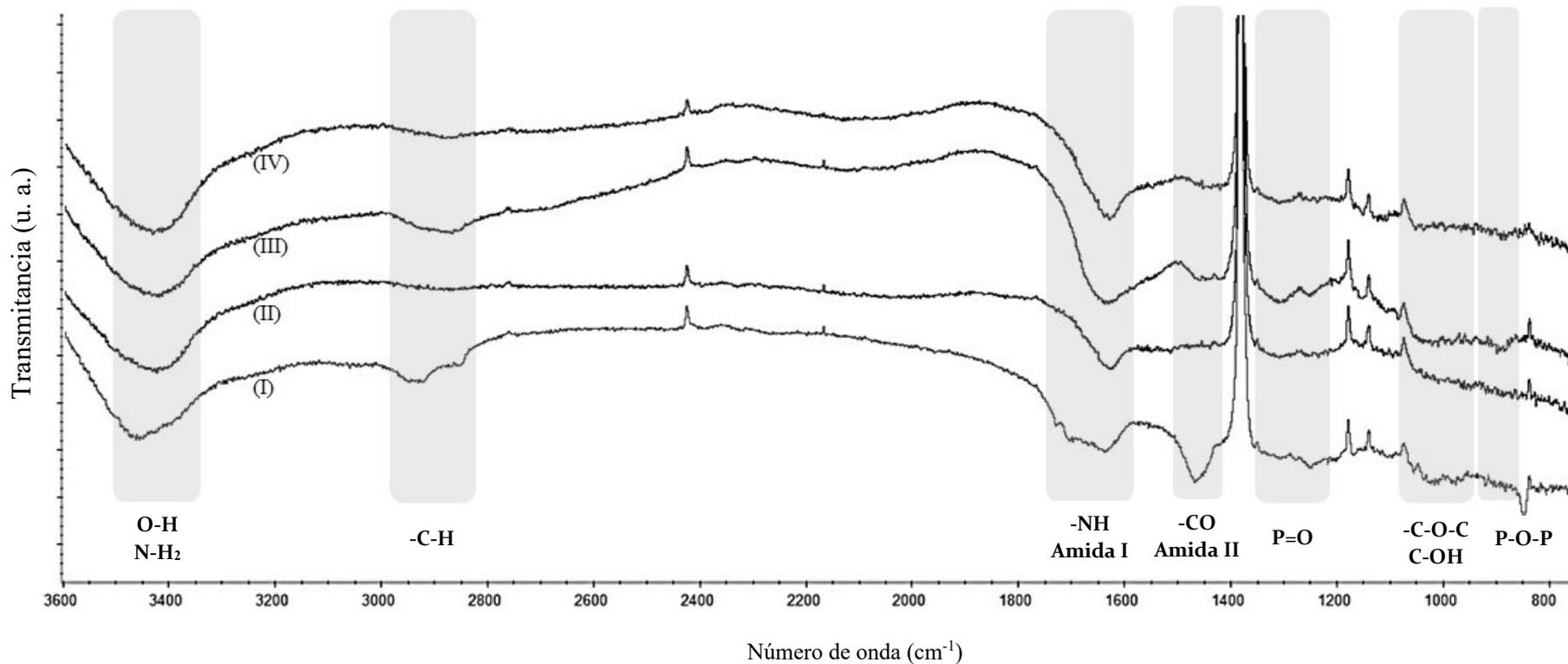


Figura 5.19 – Espectros FTIR-DRIFT correspondientes a esferas de (I) QUIT, (II) QUIT-MAG-TPP, (III) QUIT-MAG-TPP-APTS, (IV) QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM.

5.4. Conclusiones

Se logró obtener el protocolo definitivo de síntesis de un catalizador compuesto por HEM soportado en esferas de QUIT-MAG-TPP utilizando APTS como agente acoplante. Se exploró la incorporación de APTS estudiando el porcentaje de HEM respecto a masa nominal de MAG, relación molar APTS/MAG y tiempo de tratamiento con el acoplante.

La inmovilización del biomimético fue optimizada a través del tratamiento con el agente acoplante. La presencia de APTS en el sólido fue verificada por SEM-EDX. El porcentaje de HEM efectivamente inmovilizado aumentó desde 32% a un promedio de 52% cuando fue tratado con APTS. El contenido óptimo de HEM en la solución con la que se trató el sólido (QUIT-MAG-TPP-APTS) fue del 5% respecto a masa nominal de MAG, utilizando una relación molar APTS/MAG igual a 1 y un tiempo de tratamiento de 135 min. Al aumentar la masa del biomimético por encima de este óptimo, la eficiencia del procedimiento disminuyó considerablemente por lo que se descartó considerando que implica un aumento en el costo de la síntesis.

La actividad catalítica del sólido sintetizado fue caracterizada mediante el estudio de su comportamiento mimético a la enzima catalasa. A través de esta caracterización por descomposición de H_2O_2 se determinó que al utilizar soluciones concentradas de HEM al inmovilizarlo sobre las esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS, el biomimético soportado podría estar formando agregados (dímeros, trímeros o tetrámeros por puente hidrógeno) conduciendo a una menor actividad catalítica pese al mayor contenido de HEM.

Pudo corroborarse al comparar la actividad catalítica de QUIT-MAG-TPP con QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM, que tanto MAG como HEM, proporcionan sitios activos en el sólido sintetizado.

La concentración de hierro en la solución remanente luego de la descomposición de H_2O_2 con el catalizador fue menor al 1% del hierro presente en el sólido. Esto indica que el catalizador es estable bajo las condiciones de reacción estudiadas.

El catalizador obtenido presenta QUIT, con MAG en escala nanométrica y HEM soportado. Tanto MAG como HEM han sido utilizados para generar radicales en contacto con H_2O_2 , por lo que, en los capítulos siguientes se estudia la aplicación del catalizador obtenido en un sistema tipo Fenton heterogéneo para el tratamiento de soluciones acuosas que contienen los colorantes RAS y NII.

5.5. Referencias

- [1] V. V. C. Lima *et al.*, “Synthesis and characterization of biopolymers functionalized with APTES (3-aminopropyltriethoxysilane) for the adsorption of sunset yellow dye,” *J Environ Chem Eng*, vol. 7, no. 5, 2019, doi: 10.1016/j.jece.2019.103410.
- [2] A. Al-Abboodi, H. A. Mhouse Alsaady, S. R. Banoon, and M. Al-Saady, “Conjugation strategies on functionalized iron oxide nanoparticles as a malaria vaccine delivery system,” *Bionatura*, vol. 6, no. 3, pp. 2009–2016, 2021, doi: 10.21931/RB/2021.06.03.20.
- [3] A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Modified chitosan as an economical support for hematin: Application in the decolorization of anthraquinone and azo dyes,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 90, no. 9, pp. 1665–1676, 2014, doi: 10.1002/jctb.4475.
- [4] P. Sun *et al.*, “Efficient adsorption of Cu(II), Pb(II) and Ni(II) from waste water by PANI@APTS-magnetic attapulgite composites,” *Appl Clay Sci*, vol. 209, no. January, p. 106151, 2021, doi: 10.1016/j.clay.2021.106151.
- [5] A. H. Gemeay, B. E. Keshta, R. G. El-Sharkawy, and A. B. Zaki, “Chemical insight into the adsorption of reactive wool dyes onto amine-functionalized magnetite/silica core-shell from industrial wastewaters,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 26, pp. 32341–32358, 2020, doi: 10.1007/s11356-019-06530-y.
- [6] N. Yadav, A. Singh, and M. Kaushik, “Hydrothermal synthesis and characterization of magnetic Fe₃O₄ and APTS coated Fe₃O₄ nanoparticles: physicochemical investigations of interaction with DNA,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 31, no. 8, pp. 1–11, 2020, doi: 10.1007/s10856-020-06405-6.
- [7] S. Mohapatra, P. Pramanik, S. Mukherjee, S. K. Ghosh, and N. Pramanik, “A simple synthesis of amine-derivatised superparamagnetic iron oxide nanoparticles for bioapplications,” *J Mater Sci*, vol. 42, no. 17, pp. 7566–7574, 2007, doi: 10.1007/s10853-007-1597-7.
- [8] T. Tang, H. Fan, S. Ai, R. Han, and Y. Qiu, “Hemoglobin (Hb) immobilized on amino-modified magnetic nanoparticles for the catalytic removal of bisphenol A,”

- Chemosphere*, vol. 83, no. 3, pp. 255–264, 2011, doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.12.075.
- [9] F. K. Liew, S. Hamdan, M. R. Rahman, M. Rusop, and A. Khan, “Thermo-mechanical properties of jute/bamboo/polyethylene hybrid composites: The combined effects of silane coupling agent and copolymer,” *Polym Compos*, vol. 41, no. 11, pp. 4830–4841, 2020, doi: 10.1002/pc.25755.
- [10] O. Grebennikova, A. Sulman, V. Matveeva, and E. Sulman, “Physical – chemical analysis and kinetics of the magnetic,” *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, no. 0123456789, 2020, doi: 10.1007/s11144-020-01762-3.
- [11] V. Kumar, F. Jahan, S. Raghuwanshi, R. V. Mahajan, and R. K. Saxena, “Immobilization of *Rhizopus oryzae* lipase on magnetic Fe₃O₄-chitosan beads and its potential in phenolic acids ester synthesis,” *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 18, no. 4, pp. 787–795, 2013, doi: 10.1007/s12257-012-0793-8.
- [12] D. Ranmadugala, A. Ebrahiminezhad, M. Manley-harris, Y. Ghasemi, and A. Berenjian, “Impact of 3 – Aminopropyltriethoxysilane-Coated Iron Oxide Nanoparticles on Menaquinone-7 Production Using *B. subtilis*,” *Nanomaterials*, vol. 7, no. 350, 2017, doi: 10.3390/nano7110350.
- [13] “STATGRAPHICS ® Centurion XV,” 2005. [Online]. Available: www.statgraphics.com
- [14] P. Nicolás, G. S. López Pugini, F. Horst, V. Lasalle, and M. L. Ferreira, “Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes,” *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.
- [15] A. A. Issa and A. S. Luyt, “Kinetics of alkoxy silanes and organoalkoxy silanes polymerization: A review,” *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 3, Mar. 2019, doi: 10.3390/polym11030537.
- [16] M. Sypabekova, A. Hagemann, D. Rho, and S. Kim, “Review: 3-Aminopropyltriethoxysilane (APTES) Deposition Methods on Oxide Surfaces in Solution and Vapor Phases for Biosensing Applications,” Jan. 01, 2023, *MDPI*. doi: 10.3390/bios13010036.

- [17] F. S. De Oliveira Cruz, M. A. Nascimento, G. A. Puiatti, A. F. De Oliveira, A. H. Mounteer, and R. P. Lopes, "Textile effluent treatment using a fixed bed reactor using bimetallic Fe/Ni nanoparticles supported on chitosan spheres," *J Environ Chem Eng*, vol. 8, no. 5, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.jece.2020.104133.
- [18] A. Córdoba, "Catalizadores enzimáticos y biomiméticos soportados para la eliminación de colorantes modelo de soluciones acuosas," Universidad Nacional de Córdoba, 2015. Accessed: Mar. 19, 2025. [Online]. Available: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/4648>
- [19] S. Pirillo, "Eliminación de colorantes en efluentes de la industria textil," Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina, 2011.
- [20] M. F. Horst, D. F. Coral, M. B. Fernández van Raap, M. Alvarez, and V. Lassalle, "Hybrid nanomaterials based on gum Arabic and magnetite for hyperthermia treatments," *Materials Science and Engineering C*, vol. 74, pp. 443–450, May 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.12.035.
- [21] A. Maharjan, P. K. Dikshit, A. Gupta, and B. S. Kim, "Catalytic activity of magnetic iron oxide nanoparticles for hydrogen peroxide decomposition: optimization and characterization," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 95, no. 9, pp. 2495–2508, Sep. 2020, doi: 10.1002/jctb.6431.
- [22] K. S. Huang *et al.*, "Synthesis and characterization of oil-chitosan composite spheres," *Molecules*, vol. 18, no. 5, pp. 5749–5760, May 2013, doi: 10.3390/molecules18055749.
- [23] J. D. Giraldo, B. L. Rivas, E. Elgueta, and A. Mancisidor, "Metal ion sorption by chitosan–tripolyphosphate beads," *J Appl Polym Sci*, vol. 134, no. 46, Dec. 2017, doi: 10.1002/app.45511.
- [24] P. Mazancová, V. Némethová, D. Trel'ová, L. Kleščíková, I. Lacík, and F. Rázga, "Dissociation of chitosan/tripolyphosphate complexes into separate components upon pH elevation," *Carbohydr Polym*, vol. 192, pp. 104–110, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.03.030.
- [25] A. Moeini *et al.*, "Effect of pH and TPP concentration on chemico-physical properties, release kinetics and antifungal activity of Chitosan-TPP-Ungeremine microbeads," *Carbohydr Polym*, vol. 195, pp. 631–641, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.05.005.

PUBLICACIONES ASOCIADAS

Los resultados presentados en la Parte 1 de la tesis, que incluye los Capítulos III, IV y V, se condensaron en el siguiente artículo:



Polymer. “Synthesis and characterization of a novel catalyst based on magnetic chitosan beads for oxidoreductase enzyme biomimetic immobilization.” Autoras: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. 317 (2025) 127961. Doi: 10.1016/j.polymer.2024.127961

Adicionalmente, los resultados se presentaron en los siguientes trabajos a congresos:

- Exploratory synthesis of magnetic chitosan microspheres.

Autoras: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. Presentado en formato póster en el Congreso Internacional de Ingeniería Química (WCCE11, 11th World Congress of Chemical Engineering) realizado en Buenos aires del 4 al 8 de junio de 2023.

- Preliminary synthesis of hematin supported on magnetic chitosan microspheres.

Autoras: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. Presentado en formato póster en el Congreso Internacional de Ingeniería Química (WCCE11, 11th World Congress of Chemical Engineering) realizado en Buenos aires del 4 al 8 de junio de 2023.

- Sistemas multicatalíticos (bio)miméticos basados en hematin-nanomagnetita quitosano para aplicaciones en Procesos de Oxidación Avanzada.

Autoras: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. Presentado en formato póster en el XXII Encuentro de Superficies y Materiales Nanoestructurados (NANO 2023), llevado a cabo del 6 al 8 de septiembre de 2023 en Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

PARTE 2

APLICACIÓN DEL CATALIZADOR Y DEL ADSORBENTE

ETAPA I DEL TRATAMIENTO

PROCESO DE OXIDACIÓN AVANZADA

Capítulo VI

Decoloración de soluciones modelo de Rojo de Alizarina S y Naranja II

6.1. Introducción

La degradación de RAS y NII como representantes de los colorantes antraquinónicos y azoicos, respectivamente, ha sido estudiada en los últimos años en diferentes grupos de investigación. Se reportan POAs asociados a electro-Fenton [1], [2], foto-Fenton [3], [4], sistemas heterogéneos con formación de radicales sulfatos [5] y aquellos que utilizan H_2O_2 como agente oxidante [6].

Como antecedente, en el grupo de Catálisis se ha investigado la remoción de compuestos aromáticos mediante catálisis enzimática y mediante el uso de miméticos de enzima. Ferreira (2003) demostró, a través de estudios de caracterización utilizando luz UV-Vis, que complejos solubles no soportados de este tipo son capaces de activar H_2O_2 y generar radicales libres [7]. En Saidman et al. (2006) se reporta el estudio UV-Vis de la eliminación de anilina por polimerización utilizando peroxidasas de diferentes fuentes y HEM, libre y soportado [8]. Se identificó que los biocatalizadores soportados fueron menos activos que las enzimas libres.

Se estudió, también por espectroscopía UV-Vis, la eliminación de alizarina de soluciones acuosas por polimerización utilizando HRP o HEM como catalizadores, H_2O_2 como oxidante y HCl como coagulante [9]. La eliminación de alizarina con HRP/ H_2O_2 alcanzó el mayor nivel de eliminación (88%) cuando la concentración de colorante fue de 50 mg L^{-1} . A la misma concentración de colorante se obtuvo una degradación del 97% utilizando HEM como biocatalizador. Adicionalmente, se ha realizado un análisis comparativo entre HRP y HEM solubles como catalizadores en la eliminación de los colorantes eriocromo azul negro R y fluoresceína utilizando H_2O_2 como agente oxidante [10]. Ambos catalizadores fueron eficientes en la eliminación de eriocromo azul negro R

con mecanismos disímiles, mientras que la fluoresceína sólo fue oxidada por la HRP. Sin embargo, presentó una baja eficiencia a altas concentraciones de colorante.

En otro estudio, se inmovilizaron HRP y HEM sobre QUIT [11]. Los biocatalizadores soportados se aplicaron en la eliminación de alizarina y eriocromo azul negro R. El biocatalizador QUIT-GA-HRP mostró una baja capacidad de remoción de eriocromo azul negro R. Se reporta que a la actividad enzimática de HRP, debe sumarse la adsorción del colorante sobre el QUIT, aunque la adsorción sobre QUIT-GA disminuye cuando se soporta HRP. Al utilizar QUIT-GA-HEM, los factores más importantes son la concentración del colorante y la masa del catalizador, mientras que la temperatura no tuvo un efecto significativo en la degradación del colorante (concentración de H_2O_2 de 0,021 M). Este catalizador mantuvo la actividad prácticamente sin cambios hasta el noveno reuso cuando se aplicó en la remoción de alizarina.

Asimismo, Córdoba (2015) estudió la degradación de RAS utilizando HRP y HEM tanto en su forma soluble como inmovilizada [12]. HEM soluble degradó el 100% de RAS a 40 °C, pH 9,4, $[\text{H}_2\text{O}_2]$ 1,1 mM y $[\text{HEM}]$ 4,4 mg L^{-1} . Se obtuvo al menos 92% de conversión de NII (75 mg L^{-1}) tras 1 h de tratamiento con HEM/ H_2O_2 .

La remoción de RAS y NII también se estudió, a pH 5 y 7, utilizando nanosistemas basados en MAG, ferritas y QUIT [13]. El sistema más eficaz para la eliminación de H_2O_2 , entre los estudiados, fue la ferrita Mn-MAG. Otros sólidos evaluados presentaron serios problemas en la reacción de descomposición de H_2O_2 asociados a la disolución parcial de iones activos. Estas limitaciones lograron superarse en la síntesis del catalizador, abordado en el Capítulo V, aunque aún se presenta la fragilidad del sólido húmedo. Esto podría limitar su aplicación debido a la dificultad en la manipulación, almacenamiento y transporte.

En este contexto, en el presente capítulo se estudia la aplicación del catalizador en combinación con H_2O_2 para la degradación de RAS y NII como colorantes modelo. Este trabajo tiene su origen y fundamento en los estudios presentados en párrafos anteriores. El objetivo general fue realizar una caracterización inicial del sistema multicatalítico mediante la remoción de RAS y NII en soluciones individuales. Como propósitos específicos se buscó:

- Estudiar alternativas de acondicionamiento del catalizador para disminuir su fragilidad y garantizar su estabilidad en el medio de reacción.
- Establecer las concentraciones de los colorantes, del agente oxidante y del catalizador a evaluar y analizar sus efectos en la remoción de los colorantes en soluciones individuales.
- Evaluar el comportamiento del sólido multicatalítico de manera integral, considerando que los sistemas catalíticos asociados a MAG y a HEM podrían no ser aditivos, sino sinérgicos.

6.2. Materiales y métodos

6.2.1. Reactivos

RAS, NII y buffer pH 11 fueron comprados en Biopack (Buenos Aires, Argentina). Buffer Tris-HCl pH 9,4 fue preparado en laboratorio. El Tris buffer fue obtenido de Anedra (Buenos Aires, Argentina). Ácido clorhídrico 36,5-38% e hidróxido de sodio (NaOH) fueron provistos por Cicarelli (Santa Fe, Argentina). Todos los reactivos fueron usados sin purificación. El agua destilada utilizada fue preparada utilizando el destilador propio del laboratorio de Catálisis.

6.2.2. Reacciones de decoloración

Todas las reacciones de decoloración de soluciones de RAS y NII se realizaron en viales con tapa. El catalizador húmedo se colocó retenido en una malla de fibra de vidrio contenida en el vial (Figura 6.1a), mientras que el catalizador seco se colocó en una doble malla de fibra de vidrio en viales con tapa (Figura 6.1b). El objetivo fue evitar el contacto directo con la barra agitadora. En los apartados siguientes se detallan los protocolos de acondicionamiento del catalizador, que incluyen agitación en medio acuoso, secado y rehidratado.

Con el fin de verificar que no se adsorben los colorantes en la malla de fibra de vidrio, se pusieron en contacto soluciones de RAS y NII verificando la concentración con el paso del tiempo. Todas las determinaciones de concentración se realizaron por espectroscopía UV-Vis utilizando las curvas de calibrado reportadas en el Capítulo III.

Se realizó una búsqueda bibliográfica con el fin de establecer los parámetros de reacción correspondientes a temperatura, pH, concentración de colorantes y concentración de H₂O₂.

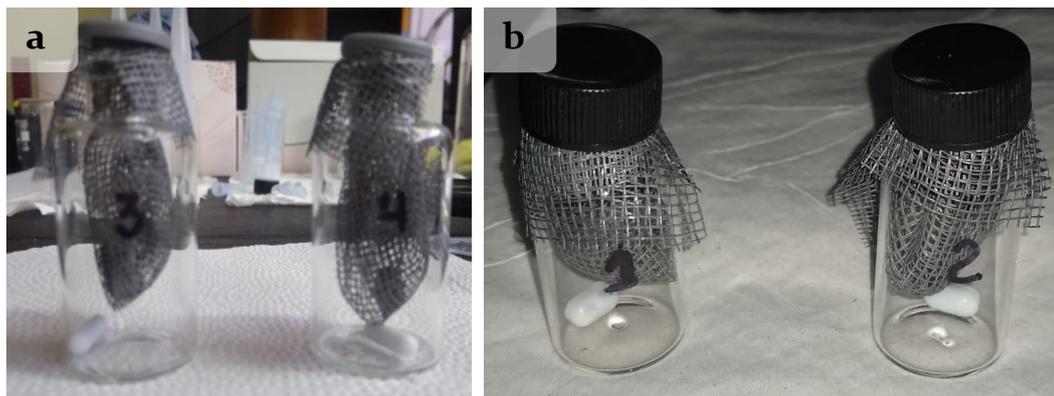


Figura 6.1 - Sistemas utilizados para contener (a) catalizador húmedo y (b) catalizador seco en reacciones de decoloración de colorantes.

6.2.3. Estudio de blancos de reacción sin catalizador

Inicialmente, soluciones de RAS y NII (100 mg L^{-1}) a pH 11 fueron puestas en contacto durante 150 min con H_2O_2 80, 40 y 20 mM, a 30°C y bajo agitación magnética 300-400 rpm. Se evaluó el cambio en la concentración de los colorantes en función del tiempo (15, 60, 105 y 150 min). Luego, soluciones de RAS (20 mg L^{-1}) en buffer Tris-HCl pH 9,4 se pusieron en contacto con H_2O_2 0,5 mM a 30°C y bajo agitación magnética 300-400 rpm.

6.2.4. Síntesis del catalizador

El protocolo de síntesis utilizado para la obtención del catalizador se reportó en el Capítulo V. Para las reacciones de decoloración de RAS, se replicó 4 veces la síntesis, mientras que el catalizador sintetizado en el quinto batch se utilizó para la decoloración de soluciones modelo de NII.

6.2.5. Aplicación del catalizador en decoloración de soluciones modelo de RAS

En primera instancia, se estudió la cinética de la reacción de degradación de RAS (100 mg L^{-1} en buffer Tris-HCl pH 9,4) utilizando H_2O_2 (0,5 y 10 mM) como agente oxidante y HEM soportado en esferas magnéticas de QUIT como catalizador (5 esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM mL^{-1}). Se utilizaron soluciones madre de H_2O_2 y del colorante con concentraciones de 80 mM y 200 mg L^{-1} , respectivamente. La concentración de la solución madre del agente oxidante fue verificada por permanganometría. Se prepararon 14 mL de solución de RAS que fueron agregados al vial con el catalizador, con concentración tal que al añadir 2 mL de H_2O_2 su concentración fuera de 100 mg L^{-1} . Los 2 mL correspondieron a soluciones 4 y 80 mM de H_2O_2 , para que las concentraciones finales en 16 mL fueran 0,5 y 10 mM. El agregado de H_2O_2 al vial dio inicio a la reacción. De la solución inicial, 1 mL se destinó al análisis por

espectroscopía UV-Vis. Adicionalmente, se tomaron alícuotas de 0,3 mL a diferentes tiempos de reacción (2, 4, 6, 8 y 24 h), se llevaron a 3 mL con el buffer, y se analizó por espectroscopía UV-Vis. El objetivo fue establecer el tiempo de equilibrio para el proceso de degradación del colorante bajo estudio.

Se realizaron ensayos para caracterizar la remoción de RAS utilizando diferentes masas del catalizador y evaluando estrategias de acondicionamiento con el fin de garantizar su estabilidad estructural en el medio de reacción (Tabla 6.1). Las mismas incluyeron:

- **A:** Agitación con barra magnética para facilitar el desprendimiento de fragmentos débilmente adheridos a la estructura del sólido, evitando de este modo que la fragmentación ocurra en el medio de reacción.
- **B:** Secado en placa calefactora a 50 °C hasta peso constante.
- **C:** Secado en placa calefactora a 50 °C hasta peso constante y rehidratado en agua destilada durante 24 h.
- **D:** Secado en estufa de vacío (12 pulgadas de Hg) a temperatura ambiente hasta peso constante, y rehidratado en agua destilada durante 24 h. La unidad pulgada de Hg refiere a la diferencia entre la presión atmosférica ambiental y el vacío que se ha creado, tomando como referencia que aproximadamente 30 pulgadas de Hg se considera el nivel máximo de vacío disponible que se puede alcanzar a nivel del mar.

Se cuantificó la pérdida de HEM en el agua destilada de agitación y de rehidratación a través de espectrofotometría UV-Vis.

Se utilizaron concentraciones de colorante en los extremos del rango a explorar (10 y 100 mg L⁻¹). Se calculó la disminución de la absorbancia en el pico característico de RAS, la eficiencia catalítica y la eficiencia catalítica intrínseca según Ecuación 6.1, Ecuación 6.2 y Ecuación 6.3, respectivamente. La eficiencia catalítica refiere a la cantidad de RAS removido (mg) por unidad de agente oxidante (mmol) y de catalizador (mg). La masa de catalizador utilizada en el cálculo corresponde a la masa total de sólido en reacción, y no solo de los componentes activos; mientras que la eficiencia catalítica intrínseca se calculó como la masa de RAS removida (mg) por mmol de H₂O₂ y masa de material activo (MAG y HEM) en el sólido utilizado.

Ecuación 6.1 – Cálculo de la disminución de absorbancia en el pico característico de RAS.

$$\text{Disminución de absorbancia (\%)} = \frac{\text{Abs}_0\text{RAS} - \text{Abs}_{6\text{ h}}\text{RAS}}{\text{Abs}_0\text{RAS}} * 100$$

Ecuación 6.2 - Cálculo de la eficiencia catalítica en la remoción de RAS.

$$\text{Eficiencia catalítica} = \frac{\text{RAS removido (mg)}}{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ (mmol)} * \text{catalizador (mg)}}$$

Ecuación 6.3 – Cálculo de la eficiencia catalítica intrínseca en la remoción de RAS.

$$\text{Eficiencia catalítica intrínseca} = \frac{\text{RAS removido (mg)}}{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ (mmol)} * (\text{MAG} + \text{HEM}) \text{ (mg)}}$$

Se estudió el efecto del agregado en dos etapas de:

- Catalizador (ensayo 11): la mitad de la masa del catalizador (25 esferas) se agregó al inicio, y la mitad restante (25 esferas) a las 3 h.
- Agente oxidante (ensayo 12): 18,8 μL de H_2O_2 80 mM al inicio, y 18,8 μL de H_2O_2 80 mM a las 3 h. El catalizador se agregó por completo (50 esferas) al inicio.
- Catalizador y agente oxidante (ensayo 13): 18,8 μL de H_2O_2 80 mM y 25 esferas al inicio, y 18,8 μL de H_2O_2 80 mM y 25 esferas a las 3 h.

Los ensayos correspondientes a la evaluación del efecto del agregado del catalizador y del agente oxidante en dos etapas se llevaron a cabo en 5 mL. Se prepararon 6 mL de solución inicial, de los cuales 1 mL se destinó al análisis por espectroscopía UV-Vis.

A fines comparativos, se realizó una reacción con HEM soluble como sistema homogéneo, utilizando 0,010 mg mL⁻¹ de HEM, 100 mg L⁻¹ de RAS y 0,05 mM de H_2O_2 (pH 9,4, 30 °C y 300-400 rpm).

Para todas las reacciones se registraron los espectros UV-Vis para longitudes de onda entre 190 y 700 nm.

Tabla 6.1 - Condiciones de reacción ($[H_2O_2] = 0,5 \text{ mM}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 9,4$ en buffer Tris-HCl; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h).

Ensayo	Estado del catalizador	Acondicionamiento	Esferas mL^{-1}	[RAS] (mg L^{-1})
1	Húmedo	-	5	100
2	Húmedo	A	10	100
3	Húmedo	A	10	10
4	Seco	A y B	10	10
5	Seco/rehidratado	A y C	10	10
6	Seco/rehidratado	A y C	10	100
7	Seco/rehidratado	A y C	25	100
8	Seco/rehidratado	A y C	40	100
9	Seco/rehidratado	A y C	55	100
10 ^a	-	-	-	100
11 ^b	Seco/rehidratado	C	10	100
12 ^c	Seco/rehidratado	C	10	100
13 ^d	Seco/rehidratado	C	10	100
14	Seco/rehidratado	D	10	100

Notas: ^a Ensayo con HEM soluble ($0,010 \text{ mg HEM mL}^{-1}$); ^b agregado del catalizador en dos etapas; ^c agregado de H_2O_2 en dos etapas; ^d agregado del catalizador y del H_2O_2 en dos etapas.

6.2.6. Aplicación del catalizador en decoloración de soluciones modelo de NII

Se realizó por duplicado la reacción sin catalizador, para una concentración de H_2O_2 y de NII correspondientes a $0,5 \text{ mM}$ y 100 mg L^{-1} ($\text{pH } 9,4$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h).

Los ensayos de caracterización del sistema utilizando el catalizador y H_2O_2 , mediante decoloración de soluciones modelo de NII, se realizaron con el sólido húmedo y seco/rehidratado por 24 h (Tabla 6.2). El secado hasta peso constante del catalizador aplicado en ensayos de remoción de NII se realizó en estufa de vacío (12 pulgadas de Hg) a temperatura ambiente. Se exploró el aumento de la concentración de H_2O_2 y de la masa del catalizador para concentraciones del colorante correspondientes a los extremos del rango a explorar (10 y 100 mg L^{-1}). Todas las reacciones se realizaron a 6 h.

Se cuantificó la pérdida de HEM en el agua destilada de rehidratación a través de espectroscopía UV-Vis. Se calculó la disminución de la absorbancia en el pico

característico de NII, la eficiencia catalítica y la eficiencia catalítica intrínseca en la remoción del colorante azoico según Ecuación 6.4, Ecuación 6.5 y Ecuación 6.6, respectivamente. Se registraron los espectros UV-Vis para longitudes de onda entre 190 y 600 nm.

Ecuación 6.4 – Cálculo de la disminución de absorbancia en el pico característico de NII.

$$\text{Disminución de absorbancia (\%)} = \frac{\text{Abs}_{0\text{NII}} - \text{Abs}_{6\text{hNII}}}{\text{Abs}_{0\text{NII}}} * 100$$

Ecuación 6.5 - Cálculo de eficiencia catalítica en la remoción de NII.

$$\text{Eficiencia catalítica} = \frac{\text{NII removido (mg)}}{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ (mmol)} * \text{catalizador (mg)}}$$

Ecuación 6.6 – Cálculo de la eficiencia catalítica intrínseca en la remoción de NII.

$$\text{Eficiencia catalítica intrínseca} = \frac{\text{NII removido (mg)}}{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ (mmol)} * (\text{MAG} + \text{HEM}) \text{ (mg)}}$$

Tabla 6.2 - Condiciones de reacción (30 °C; pH 9,4 en buffer Tris-HCl; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h).

Ensayo	Estado del catalizador	Esferas mL ⁻¹	[H ₂ O ₂] (mM)	[NII] (mg L ⁻¹)
1	Seco/rehidratado	10	0,5	100
2	Seco/rehidratado	10	2,5	100
3	Seco/rehidratado	10	5	100
4	Seco/rehidratado	20	5	100
5	Seco/rehidratado	40	5	100
6	Seco/rehidratado	10	5	10
7	Húmedo	10	5	10
8	Húmedo	10	5	100

6.2.7. Punto de carga cero (PZC) del catalizador

Se prepararon soluciones en agua destilada de distintos pH (3,40; 5,15; 7,10; 9,04 y 10,96) ajustando con HCl 0,1 M y NaOH 0,1 M, y controlando con pHmetro. Se colocó una masa de 10,7 ± 0,2 mg de catalizador seco. Se mantuvo a 200 rpm por 24 h utilizando barra magnética. Se midió el pH final de cada solución y se graficó el pH final en función del pH inicial. El PZC corresponde al punto donde la curva de pH inicial corta la diagonal.

6.3. Resultados

6.3.1. Análisis de blancos sin catalizador

En trabajos previos en el grupo se estudió la remoción de fenol utilizando HEM/H₂O₂ mediante el método 4-aminoantipirina (4AAP-AmNH₂) a pH 7 y 11, encontrando que la actividad de HEM fue favorecida en medio alcalino [14]. Resultados similares se encontraron para la remoción de RAS y NII utilizando HEM como biomimético, las conversiones fueron máximas para valores elevados de pH [12]. Adicionalmente, los efluentes coloreados se caracterizan por ser alcalinos (pH entre 9 y 11) [15], [16]. Se reporta que en promedio el pH de un efluente textil es de 10,6 [17]. En función de lo expuesto, se definió un medio de reacción alcalino.

En primera instancia, se exploraron las reacciones blanco (sin catalizador) para los colorantes a pH 11 con diferentes concentraciones de H₂O₂. El rango de concentración del agente oxidante se estableció tomando como referencia un estudio en el cual se aplicaron catalizadores basados en MAG y ferritas modificadas en escala nanométrica, con y sin HEM inmovilizado [13]. En Figura 6.2a y Figura 6.2b se presenta la variación de la concentración de RAS y NII, respectivamente, en función del tiempo para concentraciones de H₂O₂ de 80, 40 y 20 mM. Se determinó que, bajo las condiciones de reacción estudiadas, el agente oxidante tiene la capacidad de decolorar las soluciones de RAS y NII. En medios fuertemente alcalinos, se reporta una pronunciada reactividad en los colorantes atribuida a la desprotonación de los grupos OH [18].

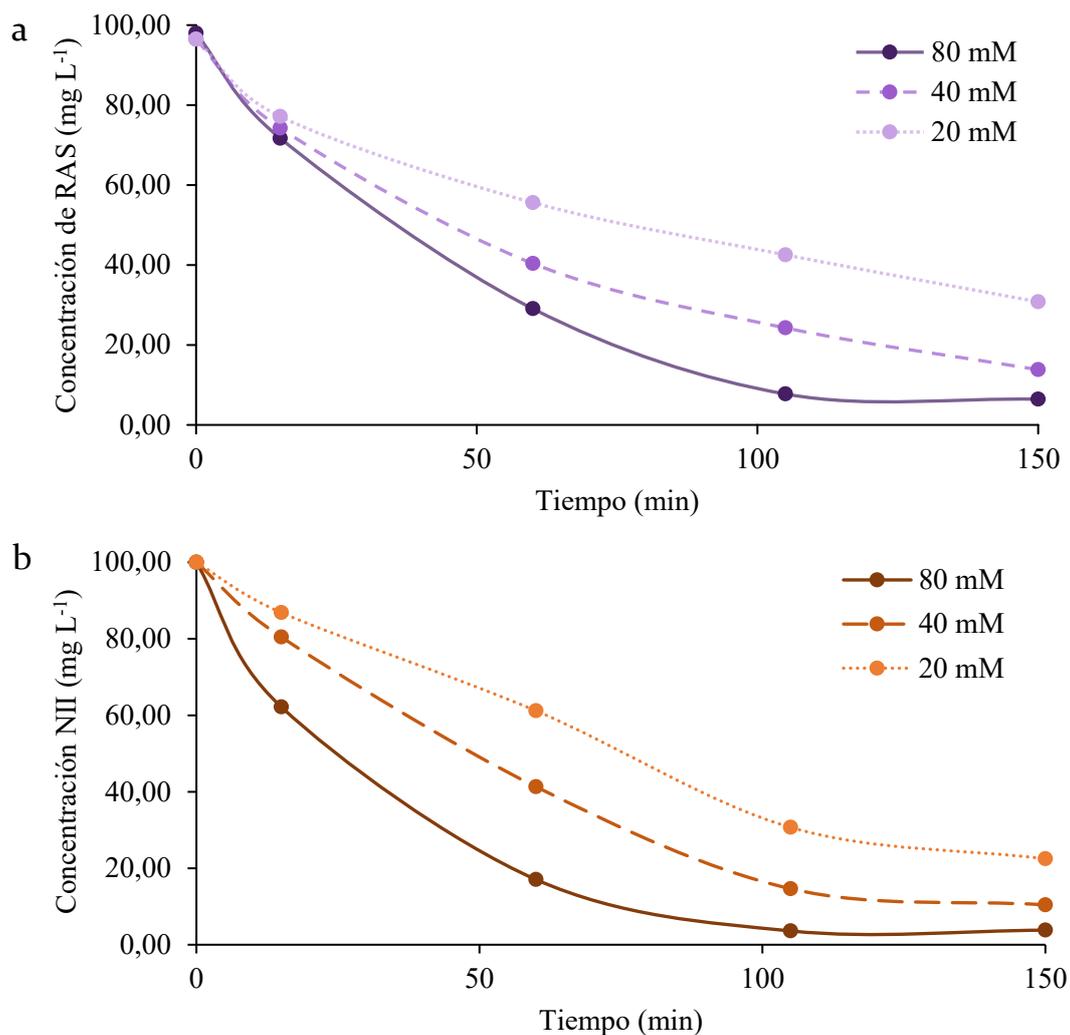


Figura 6.2 – Variación de la concentración de (a) RAS y (b) NII en función del tiempo bajo diferentes concentraciones de H₂O₂ (temperatura 30 °C, agitación magnética 300-400 rpm).

Al analizar los espectros UV-Vis de las soluciones de RAS se observaron corrimientos en el pico característico del colorante (Figura 6.3a-c). Este comportamiento se asoció a posibles desplazamientos del equilibrio ácido-base entre la forma dianiónica y trianiónica del colorante, como se detalló en el Capítulo III, considerando que presenta uno de sus valores de pK_a igual a 11 en proximidad al pH del medio. Ante este inconveniente, se optó por disminuir el pH de reacción a 9, utilizando buffer Tris-HCl. Se descartó el uso del buffer comercial disponible dado que uno de sus componentes, tetraborato, forma un complejo con RAS. Esto podría conducir a que la molécula del colorante no se encuentre disponible para su oxidación (ver Capítulo III, Sección 3.3.2).

Tanto los espectros UV-Vis de RAS como de NII (Figura 6.3a-c y Figura 6.4a-c, respectivamente) presentan un pico de absorción entre 220 y 250 nm que corresponde al

H₂O₂, siendo más acentuado conforme aumenta su concentración. Cabe aclarar que los espectros iniciales no contienen H₂O₂.

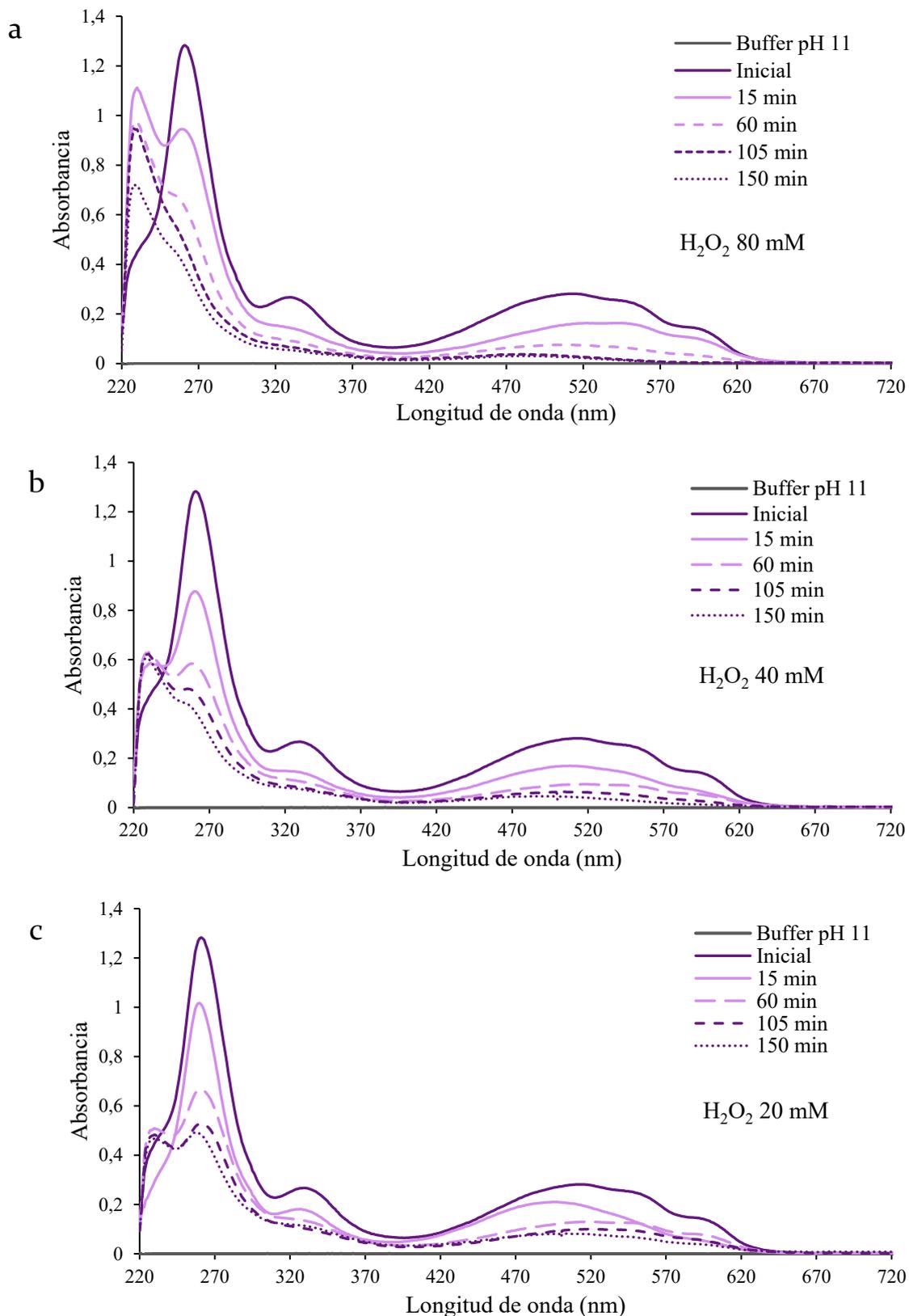


Figura 6.3 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones de RAS (pH 11) iniciales y a diferentes tiempos de reacción, en contacto con H₂O₂ (a) 80 mM, (b) 40 mM y (c) 20 mM.

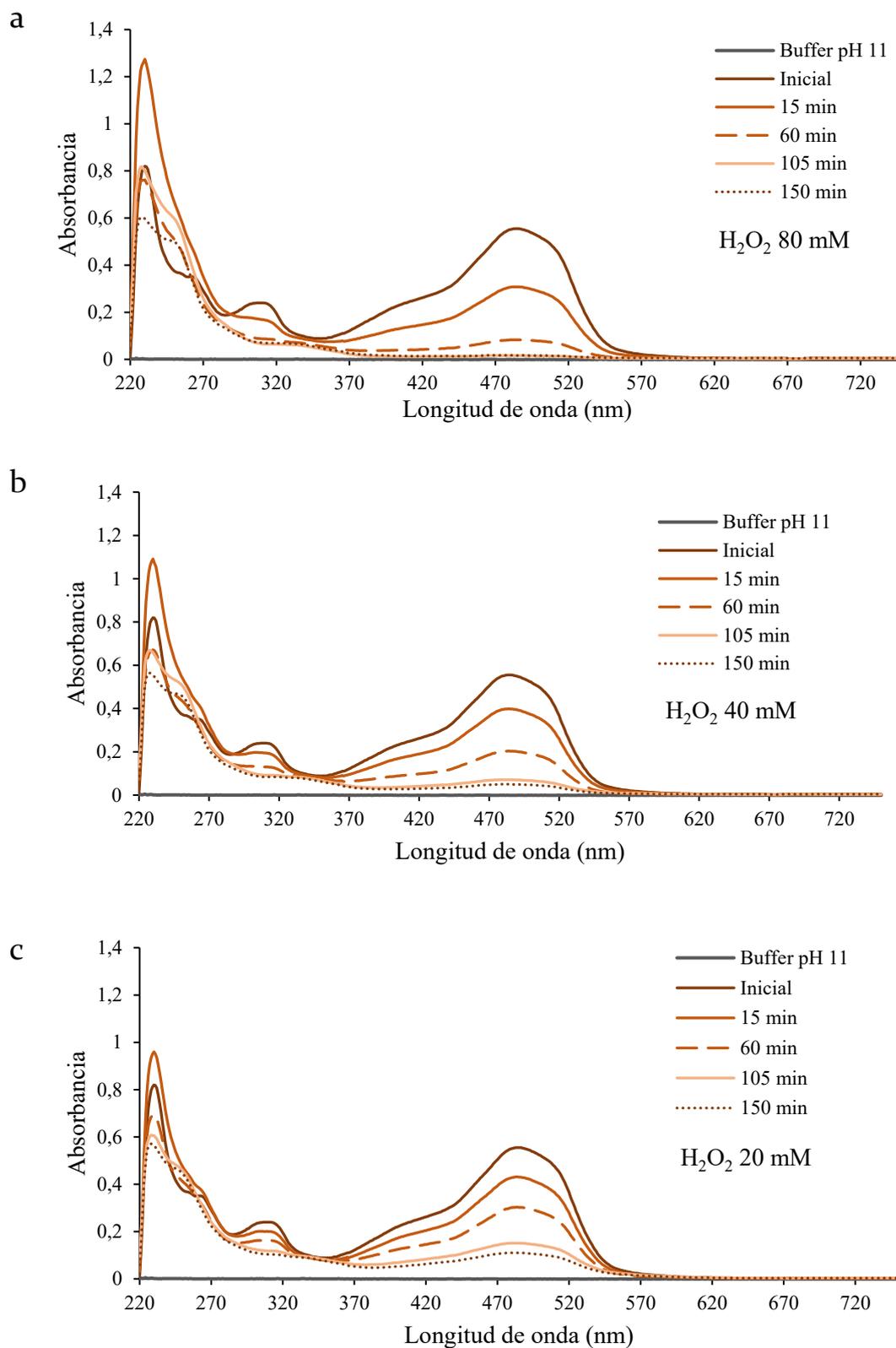


Figura 6.4 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones de NII (pH 11) iniciales y a diferentes tiempos de reacción, en contacto con H_2O_2 (a) 80 mM, (b) 40 mM y (c) 20 mM.

6.3.2. Condiciones de reacción para la decoloración de soluciones modelo de colorantes

La temperatura, el pH, la concentración de los colorantes y la concentración de H₂O₂ se establecieron en función de valores promedio de estos parámetros reportados para efluentes textiles reales y para soluciones utilizadas en trabajos científicos como efluentes simulados modelo. En el presente trabajo, el término *modelo* hace referencia a soluciones acuosas que solo contienen los contaminantes a tratar. Para el caso particular del pH y de la concentración del agente oxidante, se consideraron también los resultados obtenidos en el análisis de blancos.

La temperatura de las reacciones se fijó en 30 °C considerando que un efluente textil real presenta valores entre 26 y 45 °C [19]. En cuanto a la concentración de colorantes, los efluentes textiles típicamente presentan un contenido de colorante en el intervalo 10 a 200 mg L⁻¹. En la Tabla 6.3 se presentan los rangos de concentración de soluciones modelo de colorantes encontrados en la literatura. Para el presente trabajo resultó representativo explorar concentraciones entre 10 y 100 mg L⁻¹.

Tabla 6.3 - Rangos de concentración de colorantes antraquinónicos y azoicos en soluciones modelo reportados en literatura.

Tipo de colorante	Colorante	Rango de concentración (mg L ⁻¹)	Proceso	Referencia
Antraquinónicos	RAS	10-60	Adsorción y fotocátalisis con nanocompuesto de FeWO ₄ /polipirrol	[4]
	RAS	20	Nanopartículas de paladio sobre nanotubos de carbono de paredes múltiples	[20]
	RAS	100	Tipo Fenton heterogéneo con catalizadores de arena-Cu	[21]
	RAS	20-100	Foto-degradación mediante nanocompuestos basados en TiO ₂ /carbón activado	[22]
	Alizarina	25 - 150	HRP y HEM + H ₂ O ₂	[9]
	RAS	10 - 100	Adsorción sobre material magnético con núcleo de QUIT	[23]
	RAS	75	Tipo-Fenton con HEM y HRP solubles como catalizador	[24]
	RAS	25-150	Adsorción	[25]
	RAS	50-200	Adsorción	[26]
	RAS	20 - 80	Adsorción	[27]
Azoicos	Acid Black 210 Rojo Directo 23 (DR23) y Rojo directo 80 (DR80)	50 - 125	Adsorción	[28]
	Acid Red 73 (AR73)	25 - 200	Adsorción	[29]
	NII	75 (0,21 mM)	HEM y HRP solubles como catalizador	[30]
	NII y azul de metileno	25	Adsorción	[31]
	NII	30-90	Adsorción	[32]
	NII	3,0 x 10 ⁻⁵ M (10,51 mg L ⁻¹) a 1,5 x 10 ⁻⁴ M (52,55 mg L ⁻¹)	Fenton heterogéneo (Fe soportado en zeolita Y)	[33]
	NII	100	Fenton heterogéneo	[34]
	NII	35	Fenton heterogéneo	[35]
	NII	20	Montmorillonita KSF en un sistema Fenton heterogéneo	[36]
	Azoico - Antraquinónico	Azul negro de eriocromo R - Alizarina	25-150	HRP y HEM + H ₂ O ₂

El H₂O₂ es la principal fuente de radicales hidroxilos y desempeña un papel vital en el proceso de oxidación catalítica tipo Fenton. En la Tabla 6.4 se presentan las concentraciones de H₂O₂ y las condiciones de reacción utilizadas en la oxidación de diferentes contaminantes. Como se puede observar, la dosificación del agente oxidante varía en función de los tipos y propiedades de los contaminantes objetivo y del catalizador. Tomando en cuenta el análisis de los blancos, se exploraron concentraciones entre 0,5 y 10 mM.

Tabla 6.4 - Concentraciones de H₂O₂, utilizado como oxidante en procesos de remoción de contaminantes, reportadas en la literatura.

Contaminante	Catalizador heterogéneo (CAT)	Condiciones de reacción	[H ₂ O ₂] (mM)	Ref.
Bisfenol A (BPA)	Carbones hidrotermales - ferrihidrita	[CAT] = 1 g L ⁻¹ [BPA] = 30 mg L ⁻¹ pH = 3	10	[37]
Azul de metileno (MB)	(A) MAG octaédricas (B) MAG esféricas	[CAT A] = 0,5 g L ⁻¹ [CAT B] = 0,3 g L ⁻¹ [MB] _A = 30 mg L ⁻¹ [MB] _B = 40 mg L ⁻¹ pH = 3	1	[38]
RAS	5,10,15,20 – tetrakis (4-sulfonatofenil) porfina – Mn(III)	[CAT] = 10 mg [RAS] = 290 μM 25 mM buffer pH 7 T = 25 °C Volumen final = 1 mL	8,8	[39]
Sal diamónica del ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)	MFe ₂ O ₄ -dopamina (M= átomo metálico bivalente: Fe, Co, Cu, Mn, Ni)	[CAT] = 20 μg mL ⁻¹ [ABTS] = 3,65 mM, 30 μL pH = 4,6 T = 25 °C t = 10 min	100	[40]
Naranja de metilo (MO)	SiO ₂	[CAT] = 40 mg [MO] = 5,0x10 ⁻⁵ M t = 180 min	560	[41]
MB	Fe ₃ O ₄ NPs	[CAT] = 15,6 g L ⁻¹ [MB] = 10 mg L ⁻¹ pH = 4,85	50	[42]
p-nitrofenol (PNP) tetrabromobisfenol (TBBPA)	Fe _{3-x} M _x O ₄ NPs (M = Ti, Cr, Mn, Co, Ni)	[CAT] = 0,5 g L ⁻¹ [PNP] = 10 mg L ⁻¹ [TBBPA] = 20 mg L ⁻¹ pH = 4,85	10	[43]
NII	Carbono mesoporoso con nanopartículas Fe ⁰ -Fe ₂ O ₃ incrustadas	[CAT] = 0,5 g L ⁻¹ [NII] = 100 mg L ⁻¹ T = 30 °C pH = 7	109,6	[44]
Verde de malaquita (MG)	Fe ³⁺	[CAT] = 56 mg L ⁻¹ [MG] = 3,0 x 10 ⁻⁵ M T = RT pH = 3	50	[45]

MB	Fe ₃ O ₄ /usGO	[CAT] = 2,92 mg L ⁻¹ [MB] = 5 mg L ⁻¹ T = 60 °C pH = 3	10	[46]
Alizarina (A)	HRP y HEM solubles	[CAT] = 0,25 mg [A] = 50 mg L ⁻¹ volumen = 10 mL T = 25 °C pH = 7 t = 2 h	21 (88% y 97% de remoción para HRP y HEM)	[9]
Tetraciclinas (TC)	Microesferas magnéticas porosas de QUIT (3-4 mm)	14 esferas de Fe ₃ O ₄ - QUIT Volumen = 200 mL [TC] = 48,09 mg L ⁻¹ t = 2 h Agitación 200 rpm	10	[47]
Violeta cristal (CV)	Fe/arcilla	[CV] = 0,02 g L ⁻¹ [CAT] = 0,75 g L ⁻¹ pH = 7	100	[48]
Azul reactivo 19 (RB19) Antraquinónico	Lodos de hidróxido (HS) y Fe/HS calcinado a 300 °C	[CAT] = 0,5 g L ⁻¹ [RB19] = 50 mg L ⁻¹ T = 30 °C pH = 3	19,6	[49]
Efluente real	Lana de acero comercial	[CAT] = 0,247 g L ⁻¹ T = 15-21 °C t = 200 min	37	[19]

Notas: T = temperatura; t = tiempo; RT = temperatura ambiente (de las siglas en inglés, *room temperature*).

6.3.3. Síntesis del catalizador

Los ensayos de decoloración de soluciones de RAS se realizaron con un catalizador sintetizado en 4 etapas (batch 1, 2, 3 y 4). Se obtuvo en promedio una masa nominal de QUIT-MAG correspondiente a $0,67 \pm 0,02$ mg ($\pm 3,6\%$) por esfera. Sobre el sólido QUIT-MAG-TPP-APTS se logró soportar $1,52 \times 10^{-3} \pm 1,22 \times 10^{-4}$ ($\pm 8\%$) mg HEM/esfera.

Para la decoloración de soluciones de NII se utilizó el catalizador sintetizado en batch 5, con una masa promedio nominal de QUIT-MAG de $0,68 \pm 0,03$ (4,4%) mg por esfera. Se logró soportar $1,75 \times 10^{-3} \pm 1,17 \times 10^{-4}$ ($\pm 6,69\%$) mg HEM/esfera.

6.3.4. Punto de carga cero (PZC) del catalizador

El PZC obtenido para el sólido catalizador fue de 7,9 (Figura 6.5) indicando que, en soluciones con pH igual a ese valor, la superficie del material presenta una carga neta igual a cero. En soluciones con valores de pH menores que el PZC, la superficie del sólido presentará carga positiva debido a la protonación de la superficie; mientras que en soluciones con valores de pH superiores al PZC, la superficie estará cargada

negativamente debido a la desprotonación superficial. Este parámetro es importante para analizar el comportamiento del material como adsorbente.

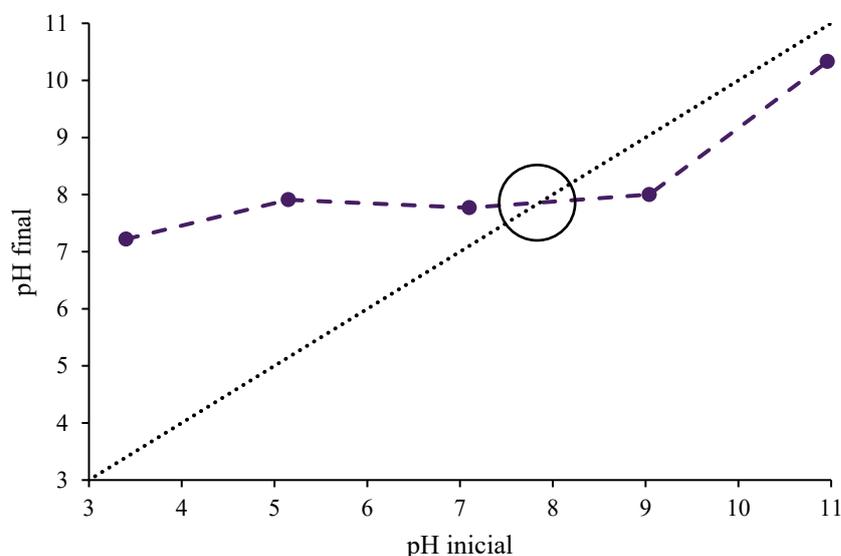


Figura 6.5 – PZC del catalizador.

6.3.5. Aplicación del catalizador en la decoloración de soluciones modelo de RAS

Inicialmente, se obtuvo que el H_2O_2 0,5 mM condujo a una remoción de RAS (20 mg L^{-1}) del 2,7% en ausencia de catalizador (pH 9,4; 30 °C, agitación magnética 300-400 rpm). Córdoba et al. (2012) reporta que al poner en contacto soluciones de RAS (75 mg L^{-1}) a pH 9 y pH 10,6 con H_2O_2 en una concentración inicial de 2,5 mM, se obtuvieron conversiones 2,3 y 3,4%, respectivamente [50]. Ensayos blancos, sin catalizador y sin H_2O_2 , permitieron determinar que la malla de fibra de vidrio no adsorbe el colorante bajo estudio.

La evolución en el tiempo de la reacción de RAS (100 mg L^{-1} , pH 9,4) utilizando 5 esferas húmedas mL^{-1} se presenta en la Figura 6.6. Estos resultados permiten inferir que, bajo las condiciones ensayadas, una concentración de 10 mM de H_2O_2 no incrementa la remoción de RAS respecto a 0,5 mM. Cuando la concentración del agente oxidante sobrepasa el óptimo para un sistema dado, puede ocurrir un fuerte consumo de OH^\bullet por parte de otras especies no objetivo, como el mismo H_2O_2 (proceso denominado *self-scavenging*), o pueden formarse radicales menos activos (HO_2^\bullet o $\text{O}_2^{\bullet-}$) [21], [51]. Estos radicales poseen potenciales más bajos y conducen a una utilización ineficiente del H_2O_2 . Desde el punto de vista de la aplicación práctica, un exceso de H_2O_2 es inconveniente dado que implica un incremento en el costo operativo del tratamiento.

Considerando los resultados, el tiempo de reacción para los ensayos posteriores se estableció en 6 h.

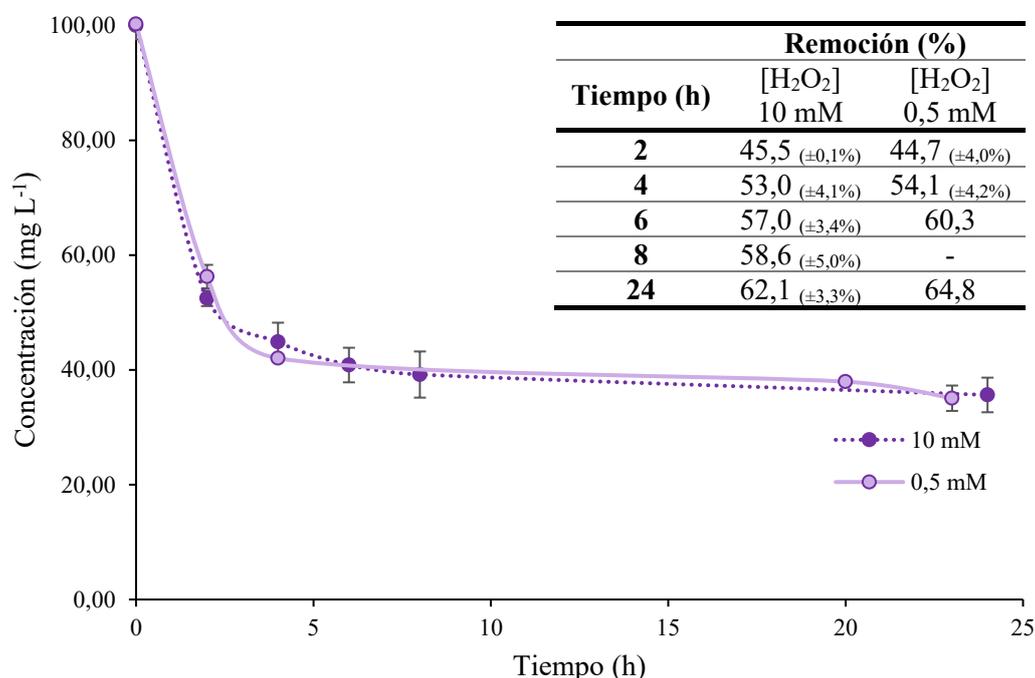


Figura 6.6 – Concentración de RAS (mg L^{-1}) en función del tiempo para $[\text{H}_2\text{O}_2]$ 10 y 0,5 mM (pH 9,4; 30 °C; agitación magnética 300-400 rpm).

El catalizador en estado húmedo presenta elevada fragilidad, lo que podría conducir a la pérdida de masa del mismo en el medio de reacción. Este es un severo inconveniente, dado que imposibilita la recuperación del catalizador para un posterior reúso, además de introducir nuevos componentes a la solución a tratar. Se implementó una instancia de agitación a velocidad mínima con barra magnética en agua destilada con el objetivo de favorecer el desprendimiento de fragmentos levemente adheridos al sólido y, de este modo, disminuir la pérdida del material en la reacción. Como consecuencia, se detectó pérdida del biomimético en el medio de agitación, obteniendo un sólido con un contenido menor de HEM ($1,03 \times 10^{-3}$ mg HEM/esfera respecto a $1,52 \times 10^{-3}$ mg HEM/esfera). No obstante, este catalizador se empleó para la remoción de RAS en los ensayos del 2 al 9.

En la Tabla 6.5 se presentan los resultados obtenidos en términos de disminución de absorbancia y eficiencia catalítica a 6 h.

Tabla 6.5 – Concentraciones de catalizador y colorante, disminución de absorbancia de RAS y eficiencia catalítica del sólido a 6 h ($[H_2O_2] = 0,5$ mM; temperatura 30 °C; pH 9,4; agitación magnética 300-400 rpm).

Ensayo	CATALIZADOR			COLORANTE	AGENTE OXIDANTE	VOLUMEN DE REACCIÓN (mL)	RESULTADOS	
	Esferas mL ⁻¹	[catalizador] experimental (mg mL ⁻¹)	HEM soportado (mg) por mL en reacción	[RAS] (mg L ⁻¹)	H ₂ O ₂ en reacción (mmol)		Disminución de abs (%)	Eficiencia catalítica (mg RAS removido / (mmol H ₂ O ₂ x mg catalizador))
1	5 ⁰	2,4	0,008	100 (±3,7)	0,008	15	60,3	3,3
2	10 ^A	5,3	0,010	100 (±3,9)	0,008	15	72,3	1,8
3	10 ^A	5,3	0,010	10 (±0,3)	0,003	5	79,2	0,6
4	10 ^{A y B}	5,3	0,010	10 (±0,3)	0,003	5	50,9	0,4
5	10 ^{A y C}	5,2	0,010	10 (±0,4)	0,003	5	55,3	0,4
6	10 ^{A y C}	5,2	0,010	100 (±3,6)	0,003	5	39,1	3,0
7	25 ^{A y C}	12,6	0,039	100 (±1,7)	0,002	4	56,9 (±1%)	2,3
8	40 ^{A y C}	20,2	0,062	100 (±1,7)	0,002	4	59,6	1,5
9	55 ^{A y C}	27,7	0,086	100 (±1,7)	0,002	4	58,7 (±3%)	1,0
11 ¹	10 ^C	5,2	0,010	100 (±3,0)	-	5	33,6	-
12 ²	10 ^C	5,2	0,010	100 (±5,4)	-	5	36,4	-
13 ³	10 ^C	5,2	0,010	100 (±2,0)	-	5	28,9 (±1%)	-
14	10 ^D	5,3	0,019	100(±0,9)	0,002	4	42,5 (±1%)	4,0

Notas: ⁰ Catalizador húmedo sin acondicionamiento; ^A Catalizador húmedo con tratamiento de agitación; ^{A y B} Catalizador con tratamiento de agitación y secado; ^{A y C} Catalizador con tratamiento de agitación, secado y rehidratado. ^C Catalizador secado en placa calefactora y rehidratado; ^D Secado en estufa de vacío y rehidratado. Agregados en dos etapas de: ¹ catalizador; ² H₂O₂; ³ catalizador y H₂O₂.

En la Figura 6.7 se presenta la disminución de la absorbancia en el pico característico de RAS para los ensayos en los que se utilizó el catalizador en su estado húmedo sin el tratamiento de agitación (ensayo 1) y con el tratamiento de agitación (ensayos 2 y 3). Un aumento de la cantidad de catalizador, de 5 a 10 esferas húmedas mL^{-1} , implicó un aumento en la remoción de RAS. Sin embargo, el catalizador aplicado en ensayo 2 presentó menor masa del biomimético soportado por esfera respecto al ensayo 1, siendo menor el aumento de la remoción con el paso del tiempo. Utilizando 10 esferas húmedas mL^{-1} , una disminución de la concentración inicial del colorante de 100 a 10 mg L^{-1} (ensayos 2 y 3, respectivamente) se asoció a un aumento del 6,9% en la remoción.

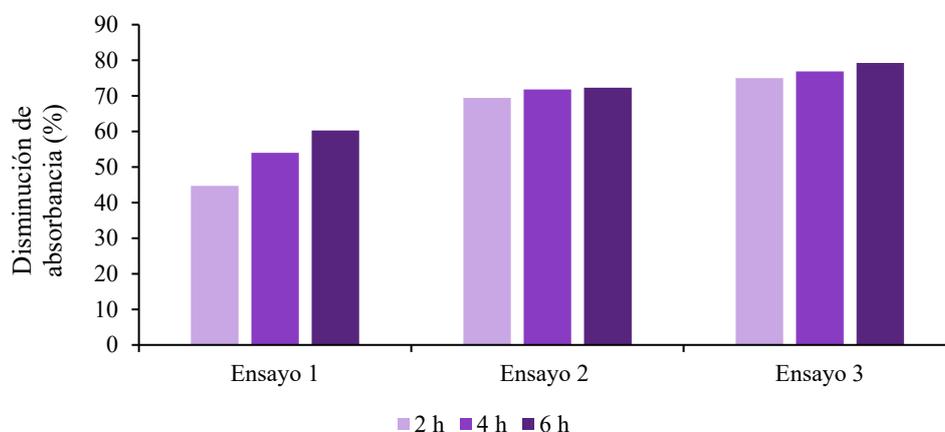


Figura 6.7 – Disminución de absorbancia (%) en soluciones de RAS en ensayos en los que se aplicó el catalizador húmedo (Ensayo 1: 5 esferas mL^{-1} y 100 mg L^{-1} RAS; Ensayo 2: 10 esferas mL^{-1} y 100 mg L^{-1} RAS; Ensayo 3: 10 esferas mL^{-1} y 10 mg L^{-1} RAS).

Es interesante que el catalizador húmedo presentó una performance semejante a la de HEM en un sistema homogéneo ($0,010 \text{ mg HEM mL}^{-1}$, masa equivalente a la de HEM soportado en el catalizador utilizado) bajo las mismas condiciones de reacción (Figura 6.8). El catalizador presenta como ventaja la posibilidad de recuperación del medio de reacción para posterior reúso. Debe considerarse en esta comparación, que en el catalizador no solo HEM es el material activo como mimético de peroxidasa, sino también MAG. En este sentido, la combinación de las actividades catalíticas de HEM y MAG en el catalizador logra solventar la pérdida de actividad que se reporta al inmovilizar el biomimético.

Dado que el catalizador presentó baja resistencia mecánica, fue necesario evitar el contacto directo con la barra magnética colocando una malla de fibra de vidrio como soporte de las esferas en el vial. Este sistema conduce a limitaciones de volumen, por lo que no se exploraron cantidades superiores de catalizador húmedo.

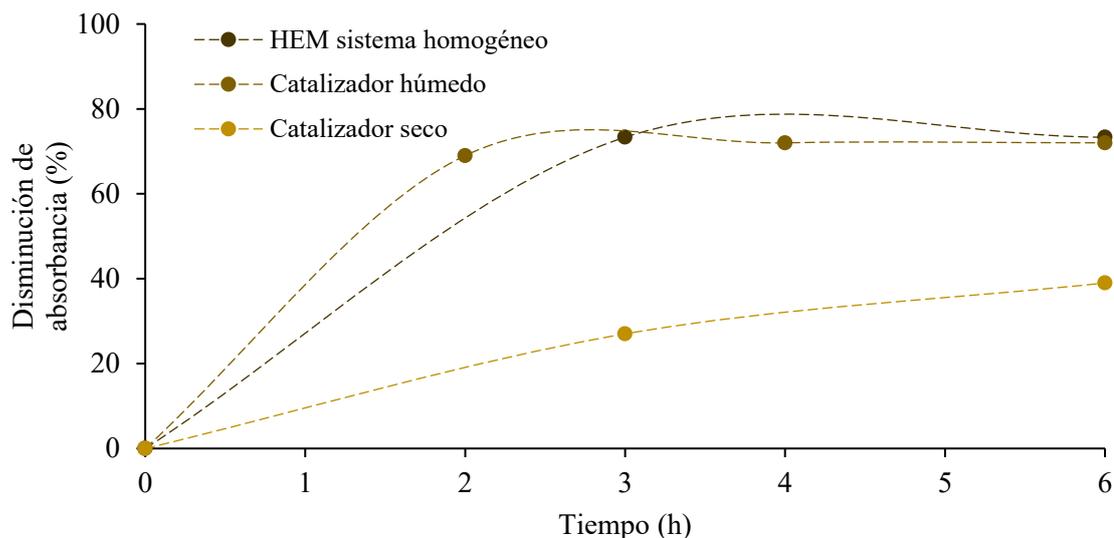


Figura 6.8 – Disminución de absorbancia en el pico característico de RAS (pH 9,4) en función del tiempo utilizando H_2O_2 0,5 mM y HEM soluble (ensayo 10); catalizador húmedo (ensayo 2); y catalizador seco (ensayo 6) ($[\text{RAS}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$; pH 9,4; 30 °C; agitación magnética 300-400 rpm).

Un catalizador aplicado en tratamiento de efluentes debe ser práctico de almacenar y transportar. El catalizador seco presentó mayor resistencia dado que al perder la humedad deja de tener consistencia gelatinosa. Sin embargo, su actividad catalítica disminuyó, pasando desde un 79,2% de remoción de RAS (10 mg L^{-1}) a un 50,9% (ver ensayos 3 y 4, respectivamente). Esto podría estar asociado a la pérdida de estructura ocasionada por el secado y, consecuentemente, a la no disponibilidad de parte del material activo del sólido presente en el centro de la esfera. El colapso de la estructura interna de la esfera con el secado fue observado en las micrografías SEM (Capítulo IV, Sección 4.3.2.). Al analizar la remoción de RAS 100 mg L^{-1} con el catalizador seco (Figura 6.8) es notoria la pérdida de actividad, logrando remover un 39,1% respecto a un 72,3% en estado húmedo.

La incorporación de una instancia de rehidratación en agua destilada implica un *hinchamiento* del QUIT contenido en el material. Sin embargo, el sólido no recuperó el contenido de humedad inicial (no recuperó el volumen previo al secado), y esto se ve reflejado en la remoción de RAS. El sólido rehidratado presentó un aumento en la capacidad de remoción de RAS desde 50,9 a 55,3% (ensayos 4 y 5, respectivamente). Además, no se detectó por UV-Vis presencia significativa del biomimético en el agua de rehidratación. Si bien se presenta una pérdida en la capacidad de remoción del colorante, resulta conveniente el secado y la rehidratación del mismo desde el punto de vista de la

aplicación, considerando que el sólido seco y rehidratado es robusto respecto a su estado húmedo.

Es importante mencionar que la rehidratación se realizó en agua destilada con un pH cercano a la neutralidad. Se reporta el estudio del grado de hinchamiento de equilibrio (α_{eq}) en esferas magnéticas de QUIT sin entrecruzar, entrecruzadas y recubiertas [52]. En dicho trabajo, se realizó la inmersión de esferas secas (registrando el peso en seco) en buffers con diferentes pH (4, 7 y 9) y con fuerza iónica constante. Luego, a distintos tiempos, se removieron las esferas quitando cuidadosamente el exceso de buffer y se volvieron a pesar. Se calculó α_{eq} como $[(W_{eq}-W_d)/W_d \times 100]$, donde W_{eq} y W_d son los pesos en el hinchamiento de equilibrio y en estado seco, respectivamente. Comprobaron que los valores α_{eq} de las perlas magnéticas de QUIT dependían de la cantidad de QUIT, de la forma de modificación de las esferas y del valor de pH del medio. Encontraron que el entrecruzamiento disminuye el valor de α_{eq} , mientras que cuanto más ácida fue la solución de rehidratación más alto fue su valor. El efecto del valor de pH sobre el grado de hinchamiento de las esferas se explicó con el grado de ionización del QUIT. Este biopolímero es una polibase débil con $pK_a = 6,5$. A pH 4, prácticamente todos (99,9%) los grupos amino están protonados, mientras que a pH 7 lo están el 24% y a pH 9 aproximadamente el 0,3%. Las perlas se hincharon en mayor medida en medio ácido, lo cual se relaciona con la repulsión de las cargas positivas en las macromoléculas de QUIT. Sin embargo, existe una relación de compromiso, dado que a pH demasiado ácido (4) las esferas se disolvieron. En función de lo expuesto, podría incluso favorecerse el hinchamiento de las esferas en soluciones más ácidas, pero con pH superior a 4.

El aumento de la masa del catalizador a 25, 40 y 55 esferas mL^{-1} condujo a remociones de RAS de 56,9, 59,6 y 58,7%, respectivamente. El aumento del catalizador no permite mejorar la remoción del colorante, y la eficiencia catalítica del sólido disminuye, pasando de 2,3 a 1,0 mg de RAS removidos por mmol de H_2O_2 y mg de catalizador al pasar de 25 a 55 esferas mL^{-1} (Tabla 6.5).

Del procedimiento de secado, se obtuvo que de la masa inicial del catalizador húmedo, un 93% corresponde a agua (Figura 6.9). Esto es coherente con la disminución considerable de volumen. Esferas magnéticas de QUIT secas, similares a las obtenidas en este trabajo, se reportan en la literatura [53], [54]. Adicionalmente, la masa experimental de un determinado número de esferas, corresponde al 75,9% de la masa nominal de

QUIT-MAG (componentes mayoritarios del catalizador) (Figura 6.10). La diferencia entre la masa QUIT-MAG nominal y la masa experimental se asocia a la manipulación durante la síntesis del sólido en estado húmedo. La síntesis, luego de la precipitación, consta del entrecruzamiento, tratamiento con APTS, e inmovilización de HEM, con los respectivos lavados. La fragilidad del sólido previo al secado implica la pérdida de material en cada instancia. En consecuencia, no fue posible detectar por balance de masa, la incorporación de TPP, APTS y HEM en el sólido.

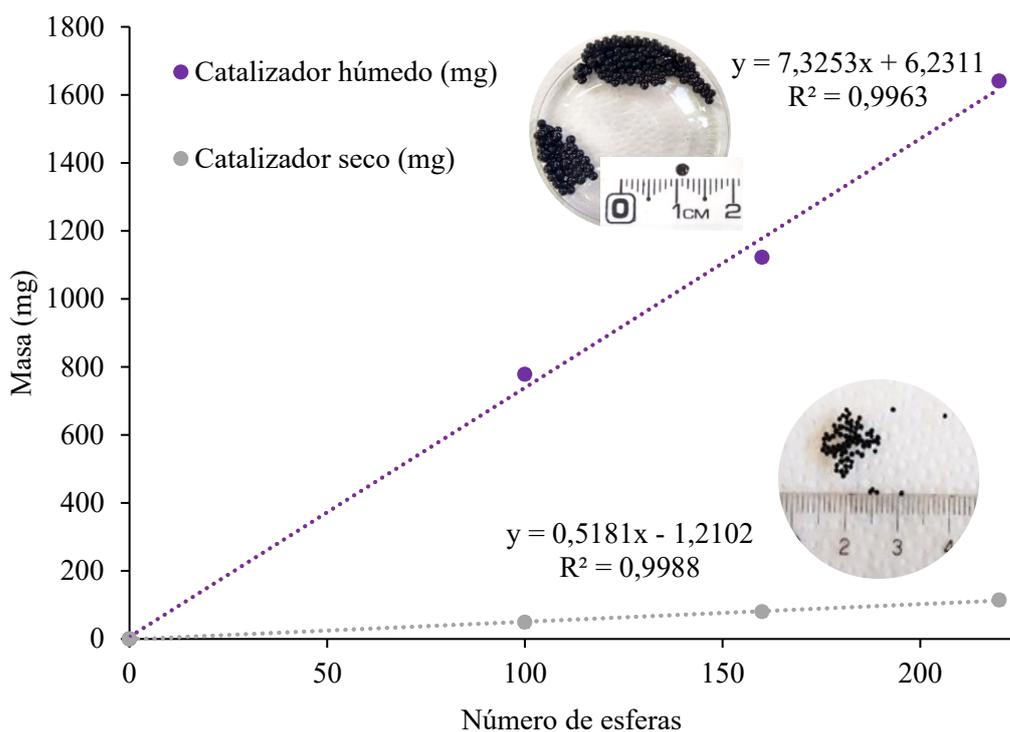


Figura 6.9 – Masa del catalizador húmedo (mg) y del catalizador seco (mg) en función del número de esferas.

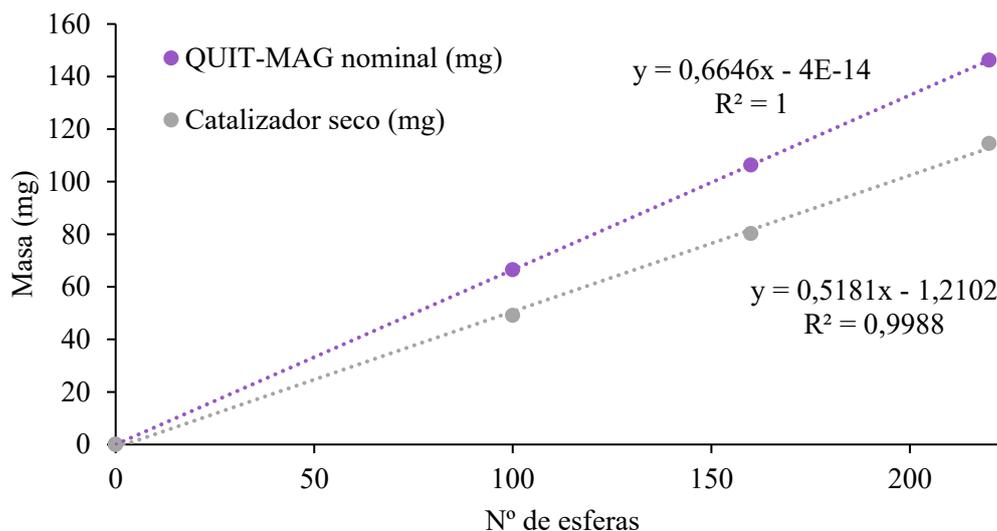


Figura 6.10 – Masa de QUIT-MAG nominal (mg) y masa experimental del catalizador seco (mg) en función del número de esferas.

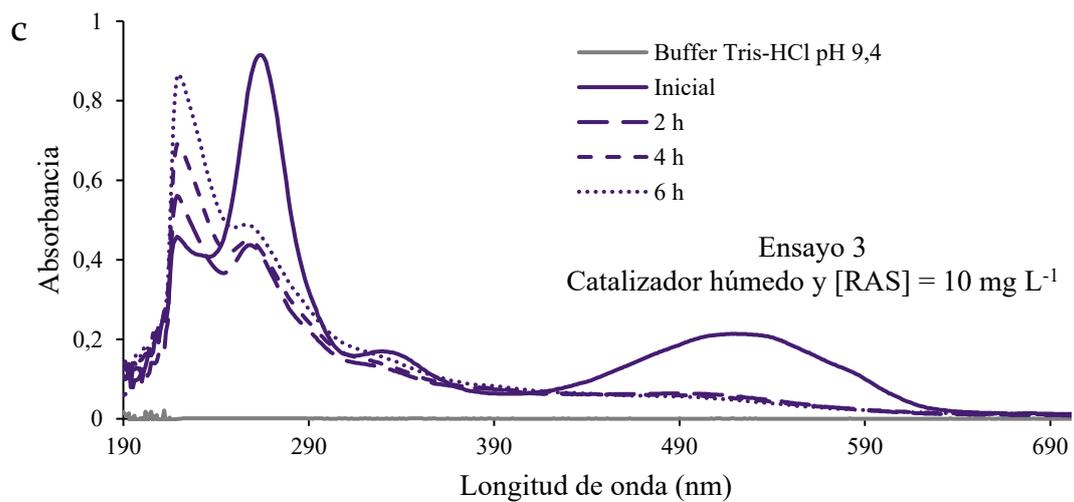
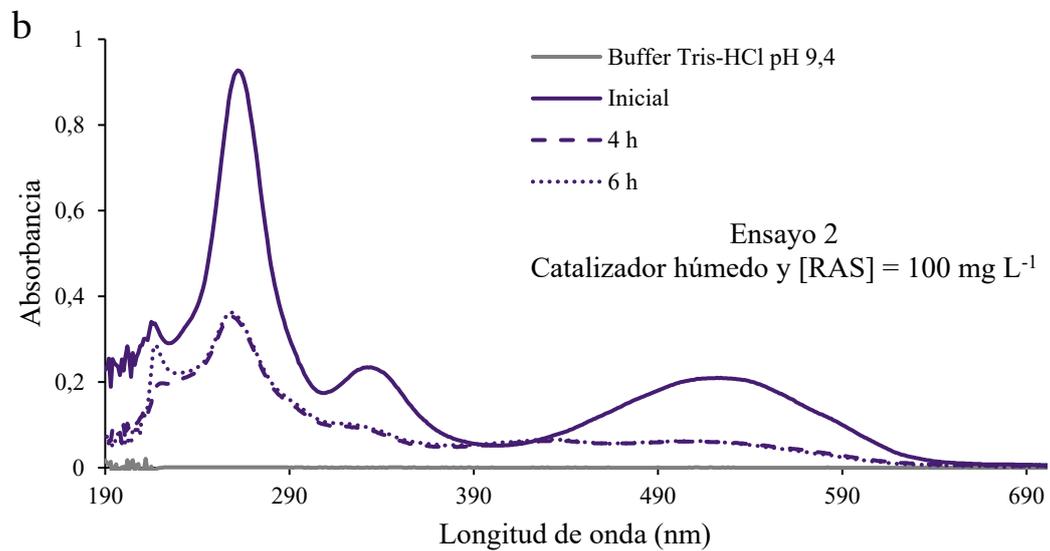
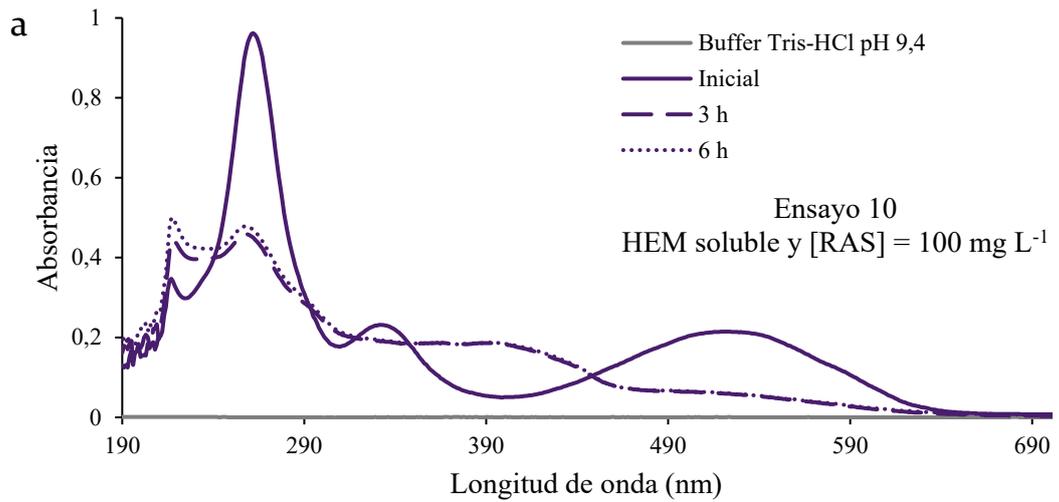
Se evaluó el agregado en etapas de H_2O_2 y de catalizador. No se observó una mejora en la remoción final de RAS. Bajo las condiciones estudiadas, se logra una mayor remoción del colorante cuando el catalizador (10 esferas secas e hidratadas) y el H_2O_2 (0,5 mM) son agregados por completo al inicio de la reacción.

El secado en estufa de vacío (12 pulgadas de Hg) a temperatura ambiente hasta peso constante, permitió un aumento de la remoción de RAS como así también en la eficiencia catalítica. El secado rápido y sin calor podría estar asociado a una disminución en la pérdida de la estructura interna de poros del sólido y esto permitiría un mejor desempeño en reacción (ensayo 14).

Los espectros UV-Vis de soluciones de RAS utilizando HEM en sistema homogéneo (ensayo 10) y el catalizador húmedo (ensayo 2) para 100 mg L^{-1} de RAS inicial se presentan en Figura 6.11a y Figura 6.11b, respectivamente. El aumento de la absorbancia cerca de 400 nm en ensayo 10 se corresponde con el pico máximo de absorción de HEM (388 nm), mientras que no se observa en ensayo 2. La absorbancia a 527 nm se asocia a la conjugación del enlace $-C=O$ de $OH-C-C=O$, por lo que su disminución puede relacionarse con la ruptura de la estructura antraquinónica de RAS. El ensayo 3 ($[RAS] = 10 \text{ mg L}^{-1}$) permite inferir la remoción catalítica, dado que el aumento de la absorbancia en longitudes de onda entre 200-250 nm (Figura 6.11c) podría asociarse a la formación de sustancias de menor peso molecular y alta absortividad molar producto de la degradación del colorante [2]. Los compuestos hidroxycumarina, benzoquinonas y

radicales benzoquinónicos presentan bandas de absorción entre 400 y 500 nm [3]. La Figura 6.12 presenta los intermediarios de degradación por HEM/H₂O₂ reportados para RAS. En la Figura 6.11d se presentan los espectros UV-Vis de RAS a 100 mg L⁻¹ en reacción con el catalizador seco/rehidratado, observándose disminuciones de las bandas características de RAS.

Para [RAS] = 100 mg L⁻¹ se presenta una mayor eficiencia catalítica (Tabla 6.5) que podría deberse a un incremento de radicales formados a partir del colorante que actúa como sustrato orgánico reductor. La ausencia de picos en longitudes de onda mayores indica que no se producen reacciones de acoplamiento de radicales. Córdoba (2015) en su tesis doctoral muestra los posibles productos de acoplamiento de radicales de RAS, los cuales debido a la presencia del grupo sulfónico, con gran volumen y carga neta negativa, se encuentran desfavorecidos por interferencias electrónicas y estéricas [12].



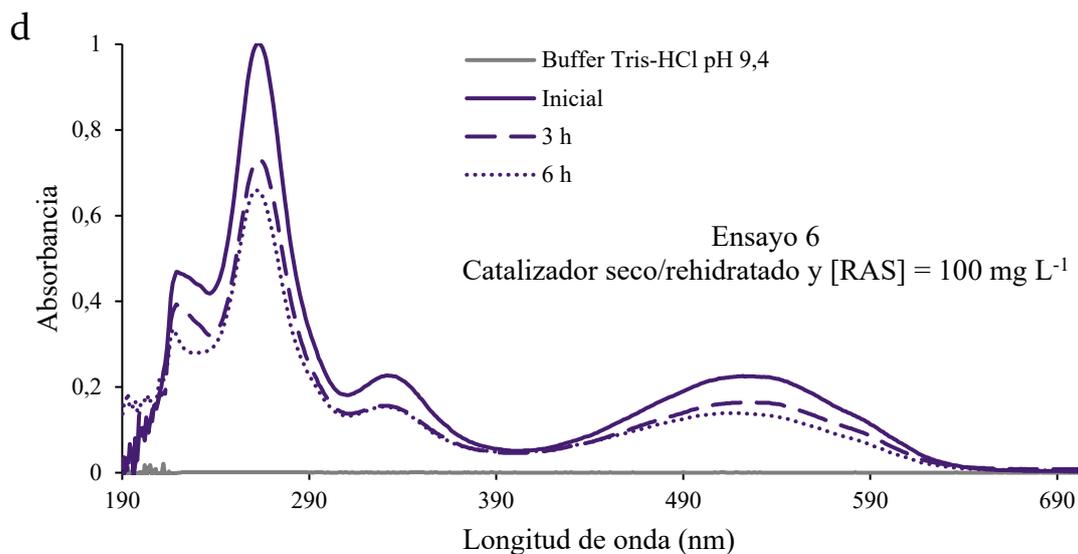


Figura 6.11 – Espectros UV-Vis de las soluciones de RAS correspondientes a los ensayos realizados con (a) HEM soluble (ensayo 10, dilución 1/10); (b) catalizador húmedo (ensayo 2, dilución 1/10); (c) catalizador húmedo (ensayo 3, sin dilución); y (d) catalizador seco (ensayo 6, dilución 1/10) (pH 9,4; 30 °C; agitación 300-400 rpm; 6 h).

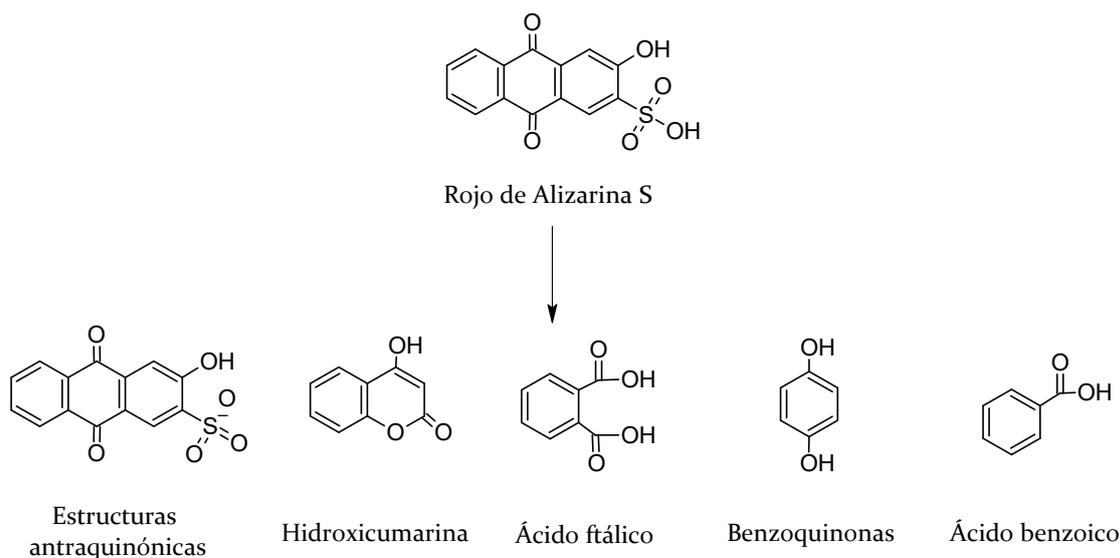


Figura 6.12 – Intermediarios de reacciones posibles para la degradación de Rojo de Alizarina S [55].

La eficiencia catalítica tal como se definió fue útil para hacer comparaciones entre los ensayos realizados con el mismo material. Sin embargo, expresar la eficiencia en términos del material activo (MAG + HEM), definida como eficiencia catalítica intrínseca, permitió hacer análisis comparativos con otros materiales. En la Tabla 6.6 se presentan los resultados obtenidos en términos de mmoles de RAS removidos por mg de material activo y mmol de H₂O₂. Se observa como HEM formando parte de un sistema

heterogéneo, incluso con el aporte catalítico de MAG, reduce drásticamente la remoción de RAS respecto a su uso soluble.

La Tabla 6.7 presenta resultados obtenidos en el trabajo realizado por Nicolás et al. (2021) [13]. Los sólidos allí reportados logran remover entre 0,01 y 0,90 mg de RAS por mg de sólido activo y mmol de H₂O₂, mientras que utilizando el sólido multicatalítico desarrollado en la presente tesis se obtuvieron remociones entre 3,77 y 41,32 mg de RAS por mg de material activo y mmol de H₂O₂. Aún considerando condiciones experimentales diferentes, principalmente el pH, las concentraciones iniciales de colorantes y el tiempo, en esta tesis se logró obtener un material que remueve eficientemente RAS con concentraciones bajas de agente oxidante y de material activo en el catalizador. La dispersión homogénea de MAG en el sólido y la estabilidad del material, podrían explicar estos resultados, considerando que se superan los problemas de aglomeración que reportan las nanopartículas y el *leaching* de hierro al medio de reacción.

En la Tabla 6.7 se presenta la reacción de remoción de RAS (62,5 mg L⁻¹) utilizando HEM soluble a pH 11. Utilizando una relación de HEM (20 mg L⁻¹)/H₂O₂ (20 mM) igual a 1, logran 34,61 mmoles de RAS removidos por mg de HEM y mmol de agente oxidante en 2 h (17,3 mmoles de RAS removidos por mg de HEM y mmol de agente oxidante en 1 h). En el ensayo realizado en esta tesis se utilizó una relación de HEM (10 mg L⁻¹) y H₂O₂ (0,5 mM) igual a 20, logrando 2933,3 mmoles de RAS removidos por mg de HEM y mmol de agente oxidante en 6 h (488,9 mmoles de RAS removidos por mg de HEM y mmol de agente oxidante en 1 h) (pH 9,4 y [RAS] = 100 mg L⁻¹). Es posible que la concentración elevada de H₂O₂ fue en detrimento de actividad catalítica de HEM, y que el biomimético utilice eficientemente el agente oxidante cuando éste se encuentra en concentraciones bajas.

Tabla 6.6 – Resultados obtenidos expresados en términos del material activo en el sólido ($[H_2O_2] = 0,5 \text{ mM}$; temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 9,4; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h).

E ¹	Esferas mL ⁻¹	RAS inicial (mg L ⁻¹)	RAS removido (mg L ⁻¹)	MAG (mg L ⁻¹)	HEM (mg L ⁻¹)	Material activo (MAG + HEM) (mg L ⁻¹)	Eficiencia catalítica intrínseca (mg RAS removido / (mg material activo x mmol H ₂ O ₂))
1	5 ⁰	100	60,3	239,5	7,6	247,1	32,5
2	10 ^A	100	72,3	529,9	10,2	540,0	17,8
3	10 ^A	10	7,9	529,9	10,2	540,0	5,9
4	10 ^{AyB}	10	5,1	529,9	10,2	540,0	3,8
5	10 ^{AyC}	10	5,5	520,2	10,3	530,5	4,2
6	10 ^{AyC}	100	39,1	520,2	10,3	530,5	29,5
7	25 ^{AyC}	100	56,9	1260,9	38,9	1299,8	21,9
8	40 ^{AyC}	100	59,6	2017,5	62,2	2079,7	14,3
9	55 ^{AyC}	100	58,7	2774,1	85,6	2859,6	10,3
10	-	100	73,3	-	10,0	10,0	2933,3
14	10 ^D	100	42,5	504,4	10,3	514,7	41,3

Nota: ⁰ Catalizador húmedo sin acondicionamiento; ^A Catalizador húmedo con tratamiento de agitación; ^{AyB} Catalizador con tratamiento de agitación y secado; ^{AyC} Catalizador con tratamiento de agitación, secado y rehidratado. ^C Catalizador sin tratamiento de agitación, secado y rehidratado; ^D Secado en estufa de vacío y rehidratado. ¹ E: ensayo.

Tabla 6.7 – Resultados de remoción de RAS utilizando sólidos basados en MAG, ferritas, HEM (10 mg CAT en 4 mL de reacción, excepto para HEM que corresponde a 20 mg L⁻¹; 2 h) reportados en [13].

CAT ¹	[H ₂ O ₂] (mM)	pH	RAS (mg L ⁻¹)	RAS removido (mg L ⁻¹)	CAT (mg L ⁻¹)	mg RAS removido / (mg material activo x mmol H ₂ O ₂)
Mn-MAG	80	7	62,5	11,3	2500	0,01
	80	7	125	40,8	2500	0,05
	80	7	250	62,8	2500	0,08
HEM-Mn- MAG	20	11	62,5	23,0	2500	0,12
	20	11	62,5	32,8	2500	0,16
CITMD5²	20	11	125	74,8	2500	0,37
	20	11	250	179,8	2500	0,90
	20	11	62,5	55,4	20	34,61

Nota: ¹ CAT: catalizador; ² CITMD5 corresponde a una dispersión de maghemita (γ -Fe₂O₃).

6.3.6. Aplicación del catalizador en la decoloración de soluciones modelo de NII

En la Tabla 6.8 se presentan los resultados de decoloración de soluciones modelo de NII. Las reacciones sin catalizador utilizando H₂O₂ 0,5 mM y una concentración de NII de 100 mg L⁻¹, condujeron a una remoción promedio del 3,0 ± 0,07 % (pH 9,4 en buffer Tris-HCl; 30 °C; agitación magnética 300-400 rpm).

Un aumento de la concentración de agente oxidante desde 0,5 mM (ensayo 1), a 2,5 mM (ensayo 2) y a 5 mM (ensayo 3) condujo aumentos en la remoción de NII (disminución de la absorbancia en el pico característico) del 7,0% y del 11,7%, respectivamente. Sin embargo, la eficiencia catalítica (mg NII removidos por mmol H₂O₂ y mg de catalizador) disminuye, indicando que ocurre un consumo menos eficiente del H₂O₂ cuando aumenta su concentración. Un aumento de la concentración del catalizador (ver ensayos del 3 al 5) permite mejorar la disminución de la absorbancia en el pico característico del colorante, pero implica una disminución aún más acentuada de la eficiencia catalítica.

Al igual que se observó en las reacciones de decoloración de RAS, el secado/rehidratado del catalizador conduce a una menor remoción del colorante respecto

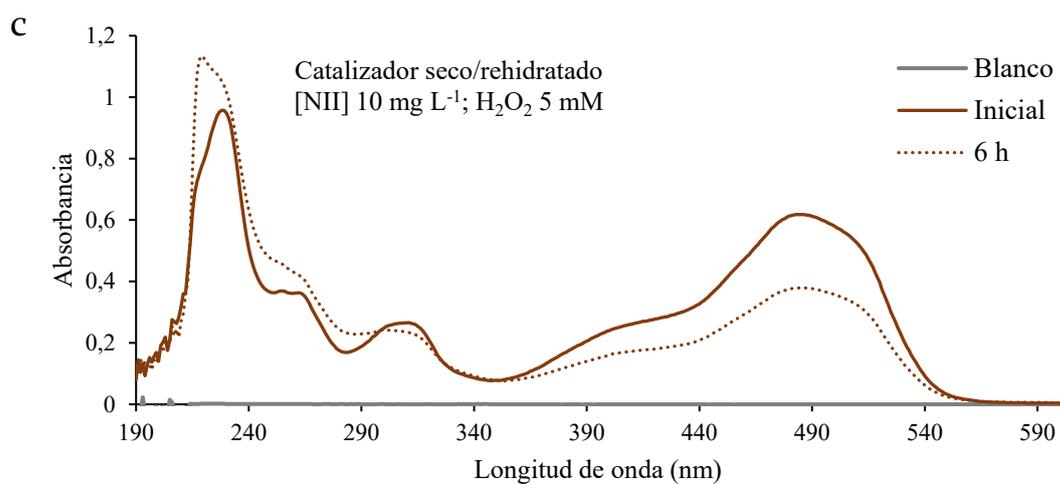
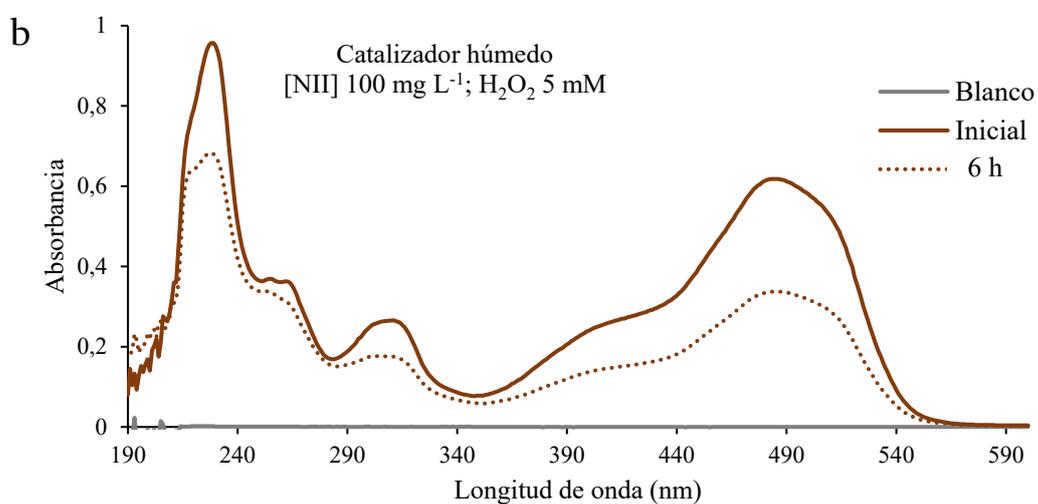
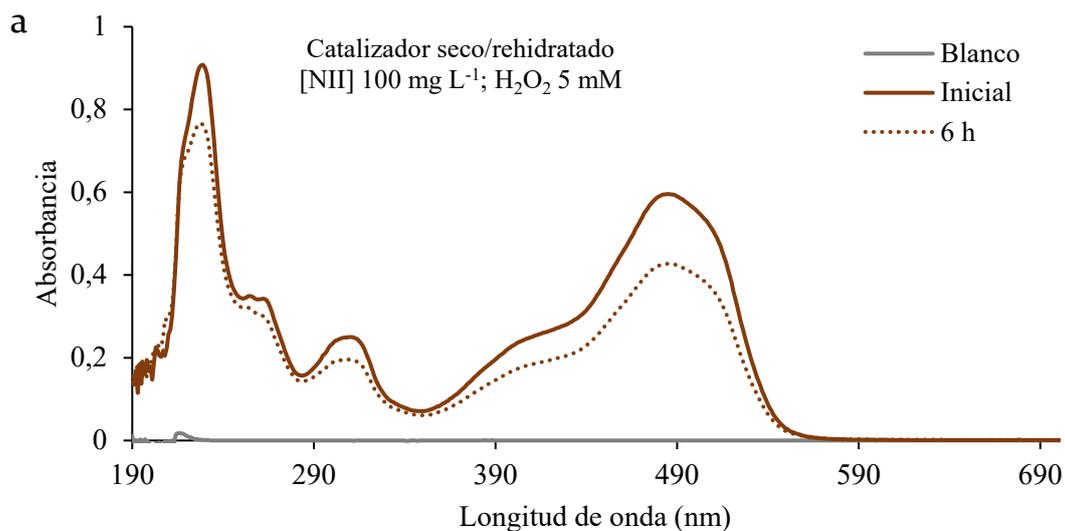
a su aplicación en estado húmedo (ver ensayo 3 respecto al 8, y 6 respecto al 7). Esto permite reafirmar que el secado, incluso en estufa de vacío a temperatura ambiente, implica un colapso en la estructura del sólido que disminuye su área disponible para interacción con los sustratos orgánicos empleados.

Tabla 6.8 - Concentraciones de catalizador, disminución de la absorbancia de NII y rendimiento catalítico de HEM a 6 h (4 mL; 30 °C; pH 9,4; agitación magnética 300-400 rpm).

E ³	CATALIZADOR			[H ₂ O ₂] (mM)	[NII] (mg/L)	RESULTADOS	
	Esferas mL ⁻¹	[catalizador] experimental en reacción (mg mL ⁻¹)	HEM soportado (mg) por mL en reacción			Disminución de abs (%)	Eficiencia catalítica mg NII removidos /(mmol H ₂ O ₂ x mg catalizador)
1	10 ²	5,6	0,017	0,5	100 ± 0,90	14,0 ± 0,4	1,23
2	10 ²	5,7	0,016	2,5	100 ± 0,90	21,0 ± 1,3	0,37
3	10 ²	5,6	0,016	5	100 ± 0,90	25,7 ± 0,4	0,22
4	20 ²	10,6	0,033	5	100 ± 0,90	30,3	0,14
5	40 ²	22,9	0,066	5	100 ± 0,90	51,1	0,11
6	10 ²	5,5	0,016	5	10 ± 0,05	36,8	0,03
7	10 ¹	5,5	0,018	5	10 ± 0,05	70,2	0,06
8	10 ¹	5,5	0,018	5	100 ± 0,90	44,0	0,40

Notas: ¹ Catalizador húmedo; ² Catalizador seco/rehidratado. ³ E: Ensayo.

En los espectros UV-Vis de las soluciones de NII (100 mg L⁻¹) tratadas con catalizador seco/rehidratado (Figura 6.13a) y húmedo (Figura 6.13b) ([H₂O₂] = 5 mM; pH 9,4; 30 °C; agitación magnética 300-400 rpm), se puede observar cómo las bandas características del colorante disminuyen su absorbancia. Esto es consistente con un mecanismo degradativo del colorante. La decoloración de NII se produce debido a la ruptura electrofílica del enlace del cromóforo -N=N-, siendo la ruptura de este enlace azoico el primer paso en el mecanismo de degradación. Sin embargo, cuando la concentración del colorante en solución inicial es de 10 mg L⁻¹ se observan aumentos de absorbancia en longitudes de onda baja, lo cual podría asociarse a la formación de productos de degradación del colorante (Figura 6.13c y Figura 6.13d). Se reporta que el aumento de la absorbancia en 228 nm, se asocia a la ruptura de la estructura azoica con la consecuente formación de fragmentos aromáticos como anillos bencénicos [1].



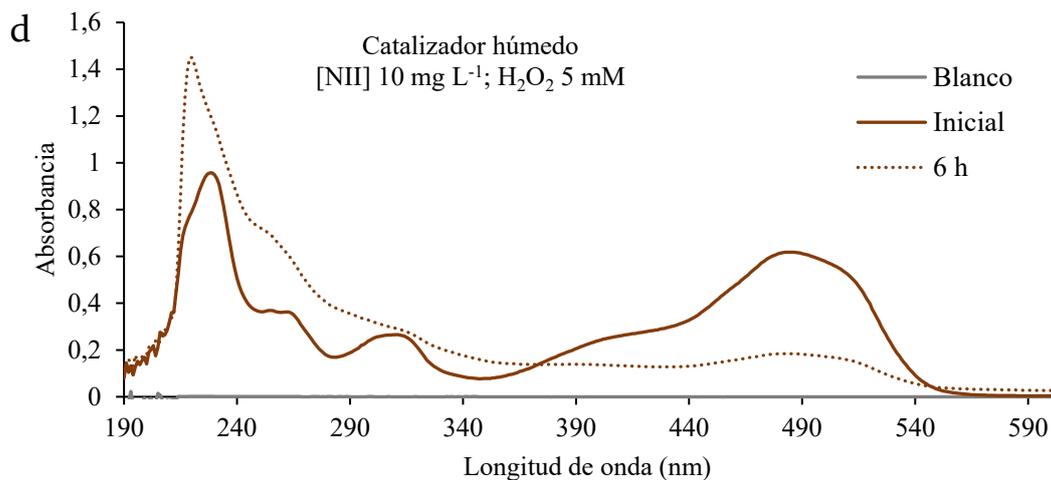


Figura 6.13 – Espectros UV-Vis de las soluciones de NII correspondientes a los ensayos realizados con (a) catalizador seco/rehidratado (ensayo 3, dilución 1/10); (b) catalizador húmedo (ensayo 8, dilución 1/10); (c) catalizador seco/rehidratado (ensayo 6, sin dilución); y catalizador húmedo (ensayo 7, sin dilución) ([H₂O₂] = 5 mM; pH 9,4; 30 °C; agitación 300-400 rpm; 6 h).

Se presentan los resultados en términos de mg de NII removidos por mg de material activo (MAG + HEM) y mmol H₂O₂ (Tabla 6.9). Adicionalmente, se presentan resultados previos del grupo utilizando catalizadores basados en ferritas, HEM y CITMD5 (Tabla 6.10). Aún considerando las diferencias en las condiciones y el tiempo de reacción, el sólido preparado en esta tesis presenta óptima remoción de NII (mg) por mg de material activo y mmol de H₂O₂, particularmente cuando la concentración inicial de NII es de 100 mg L⁻¹. Es claro que NII es recalcitrante respecto a RAS.

Tabla 6.9 - Resultados obtenidos de remoción de NII expresados en términos del material activo en el sólido (temperatura 30 °C; pH 9,4; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h).

E ³	Esferas mL ⁻¹	NII inicial (mg L ⁻¹)	NII removido (mg L ⁻¹)	MAG (mg L ⁻¹)	HEM (mg L ⁻¹)	(MAG + HEM) (mg L ⁻¹)	H ₂ O ₂ (mmol)	Eficiencia catalítica intrínseca mg NII removidos / (mg material activo x mmol H ₂ O ₂)
1	10 ²	100,1	14,0	560,6	16,64	577,26	0,00	12,0
2	10 ²	98,6	20,8	566,3	16,18	582,43	0,01	3,6
3	10 ²	96,7	24,9	561,3	16,17	577,42	0,02	2,2
4	20 ²	102,5	31,1	1055,0	32,60	1087,60	0,02	1,4
5	40 ²	102,5	52,4	2285,0	65,55	2350,55	0,02	1,1
6	10 ²	10,0	3,7	547,5	15,75	563,25	0,02	0,3
7	10 ¹	10,0	7,0	547,5	17,50	565,00	0,02	0,6
8	10 ¹	100,6	44,3	547,5	17,50	565,00	0,02	3,9

Notas: ¹ Catalizador húmedo; ² Catalizador seco/rehidratado. ³ E: Ensayo

Tabla 6.10 – Resultados de remoción de NII utilizando sólidos basados en ferritas, HEM y CITMD5 (volumen de reacción 4 mL; 2 h) reportados en [13].

CAT ¹	[H ₂ O ₂] (mM)	pH	NII (mg L ⁻¹)	NII removido (mg L ⁻¹)	CAT (mg L ⁻¹)	Eficiencia catalítica intrínseca mg NII removido / (mg material activo x mmol H ₂ O ₂)
Mn-MAG	80	7	250	5,0	2500	0,01
	80	9	62,5	0,0	2500	0,00
	80	9	250	5,3	2500	0,01
	20	3	62,5	0,0	2500	0,00
	80	3	62,5	0,0	2500	0,00
HEM-Mn-MAG	20	11	62,5	62,5	2500	0,31
	20	11	125	51,8	2500	0,26
	20	11	250	47,0	2500	0,24
CITMD5 ²	20	11	62,5	16,8	2500	0,08
	20	11	62,5	10,3	2500	0,05
	40	11	62,5	23,9	2500	0,06
	40	11	62,5	23,6	2500	0,06
HEM	20	11	62,5	59,5	20	37,19

Nota: ¹ CAT: catalizador; ² CITMD5 corresponde a una dispersión de maghemita (γ -Fe₂O₃).

6.3.7. Análisis comparativos con sistemas reportados en literatura

La Tabla 6.11 resume trabajos reportados en los que se aplican catalizadores que contienen MAG, ferritas o HEM en sus componentes para la remoción de RAS o NII utilizando H₂O₂. Puede observarse que estos sistemas suelen aplicarse con valores bajos de pH y concentraciones altas de agente oxidante a diferencia de las condiciones utilizadas en el presente trabajo de tesis. Al comparar los mg de colorantes removidos por mg de material activo y mmol de H₂O₂, se obtiene que el sistema QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM presenta mayor eficiencia catalítica intrínseca en la remoción de los colorantes.

Deng et al. (2016) reportan una mayor eficiencia en la remoción de NII cuando MAG se encuentra soportada sobre nanotubos de carbono respecto a cuando se aplican las nanopartículas sin soportar [56]. Asocian este resultado a que, al soportarse, MAG se encuentra uniformemente distribuida evitando problemas de aglomeración y la consecuente disminución de la actividad. Considerando la distribución homogénea del hierro en las esferas QUIT-MAG preparadas en este trabajo, se infiere que la dispersión homogénea de MAG mejora la eficiencia catalítica del sólido.

Tabla 6.11 – Eficiencia catalítica intrínseca asociada a la remoción de RAS y NII con catalizadores heterogéneos y H₂O₂ reportados en la literatura.

CATALIZADOR	[H ₂ O ₂] (mM)	Colorante	[Colorante] ₀ (mg L ⁻¹)	Colorante removido (mg L ⁻¹)	[material activo] (mg L ⁻¹)	Eficiencia catalítica intrínseca mg colorante removido / (mg material activo x mmol H ₂ O ₂)	Condiciones	Ref.
Fe _{3-x} Co _x O ₄ (x=0,4)	22	NII	35,0	10,9	200,0	0,012	pH = 3 150 rpm	[57]
Fe ₃ O ₄	22	NII	35,0	4,9	200,0	0,006	pH = 3 150 rpm	
Fe ₃ O ₄	15	NII	87,6	32,5	500,0	0,043	pH = 3,5 30 °C; 60 mL	[56]
Fe ₃ O ₄ – nanotubos de carbono	15	NII	87,6	82,3	97,5	0,183	pH = 3,5 30 °C; 60 mL	
Fe ₂ (MoO ₄) ₃	18	NII	100,0	96,0	1400,0	0,063	pH = 3 30 °C 60 min; 60 mL	[58]
Fe ₃ O ₄ – γ-Fe ₂ O ₃	10	NII	70,0	70,0	1000,0	0,020	pH = 3	[59]
Hierro cero valente sobre adsorbente poroso granular	50	NII	1000,0	910,0	83,9	2,170	pH = 3 30 °C; 100 mL	[60]
HEM soportado en QUIT-APTS-GA	24	NII	50,0	0,876	32,9	1,064	pH = 10,6 25 mL; 60 min	[12]
5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenil) porfina-Mn(III) inmovilizada en sílica gel modificada con imidazolilo (IPS) (40,8 mg material activo por g de IPS)	8,8	RAS	99,3	99,3	196,0	28,773	pH = 7 2 mL 25 °C; 30 min	[39]
HEM soportado en QUIT-APTS-GA	24	RAS	50,0	1,20	32,9	2,427	pH = 9,4 25 mL; 1 h	[12]
QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM	0,5	RAS	100,0	42,5	514,7	41,3	pH 9,4 30 °C; 6 h 300-400 rpm	Esta tesis
	0,5	NII	100,1	14,0	577,26	12,0		

6.4. Mecanismo catalítico del catalizador

El mecanismo y ciclo catalítico de HRP se ha descrito en detalle [61], [62], [63]. En la Figura 6.14 se presentan esquemáticamente las reacciones catalizadas por HRP en contacto con H_2O_2 y un sustrato orgánico reductor [7]. El mecanismo general de interacción de la enzima HRP con H_2O_2 y un sustrato fenólico puede representarse, de manera simplificada, en tres pasos (color verde en Figura 6.14). En primer lugar, HRP en contacto con el H_2O_2 pasa de su estado basal (E_0) a su estado activado I, por escisión heterolítica del enlace -O-O- del H_2O_2 , oxidándose el hierro del grupo hemo para formar la especie Porfirina^{•+}-Fe⁴⁺=O (E_1 , catión radical π , con un grupo oxiferril en el centro activo de la porfirina) y agua [64], [65]. Previamente, entre el E_0 y E_1 se pasa por un complejo precursor de H_2O_2 y la enzima, un hidroperóxido orgánico altamente inestable [65]. La estructura proteica (histidina protonada, His170) de la HRP facilita la unión del H_2O_2 a través de un enlace dativo entre uno de sus oxígenos con el Fe³⁺ de la enzima. Consecuentemente, un aminoácido nucleofílico (His42) acepta un H⁺ del H_2O_2 y, por ruptura heterolítica del enlace -O-O- de la molécula, se libera una molécula de agua dando lugar efectivamente a E_1 . Asimismo, el residuo Arg38 se encuentra involucrado en la secuencia de liberación de agua y formación del complejo E_1 . Subsecuentemente, la especie E_1 acepta un electrón y un protón de un sustrato dador de hidrógeno, por ruptura homolítica del enlace H-O para producir un radical libre ($\cdot\text{AH}$) y la especie Por-Fe⁴⁺-OH (E_2 , hemo oxiferrilo). Las especies E_1 y E_2 son altamente oxidantes [62]. La reacción de E_2 con una segunda molécula del sustrato conduce a la formación de un radical del sustrato y agua, y a la reducción monoelectrónica de E_2 , llevando a la regeneración de la enzima a su estado nativo o basal (E_0), cerrando el ciclo catalítico.

Además, podrían ocurrir reacciones laterales, la especie E_2 podría reaccionar con H_2O_2 para dar lugar a la especie Por-Fe³⁺-OOH[•] (E_3) y agua. Si bien existe la posibilidad de tener una especie de hierro con estado de oxidación 2+ (par redox Fe²⁺/Fe³⁺), se supone que la estructura es principalmente férrica debido a que hay mayor dificultad en la oxidación hacia la especie ferrosa [66]. Desde la especie E_3 se puede regenerar el estado basal de la enzima, produciendo un radical $\cdot\text{O}_2^-$, o hacia la especie E_1 a muy bajas velocidades [67]. Los radicales libres producidos por las reacciones catalizadas por peroxidasas pueden dismutar, o generar por acoplamiento dímeros o polímeros, u oxidar a otros sustratos secundarios en reacciones no enzimáticas [68].

Adicionalmente, la especie E_1 forma un complejo con H_2O_2 que puede derivar en: (1) la regeneración del estado basal mediante la formación de O_2 molecular y agua [67]; (2) la generación de un radical $\cdot O_2^-$ y una especie E_2 , que posteriormente a través de la especie E_3 como intermediaria, puede regenerar el estado basal de la enzima mediante un proceso ralentizado; (3) la formación irreversible de una especie inactivada de la enzima (P-670, peroxidasa-proteína verdohemo). Este mecanismo de inactivación ocurre en ausencia de sustrato o frente a una exposición a concentraciones altas de H_2O_2 [69]. Si bien no está completamente comprendido, se presume que se desprende un mol de CO por cada mol de P670 [70], [71]. Asimismo, la inactivación de la enzima puede darse desde la E_3 hacia P-670 al reaccionar con el H_2O_2 [65]. Por el contrario, a concentraciones bajas, menor a 1 mM, se da un proceso de inactivación considerado reversible, debido a la formación y acumulación de la especie E_3 .

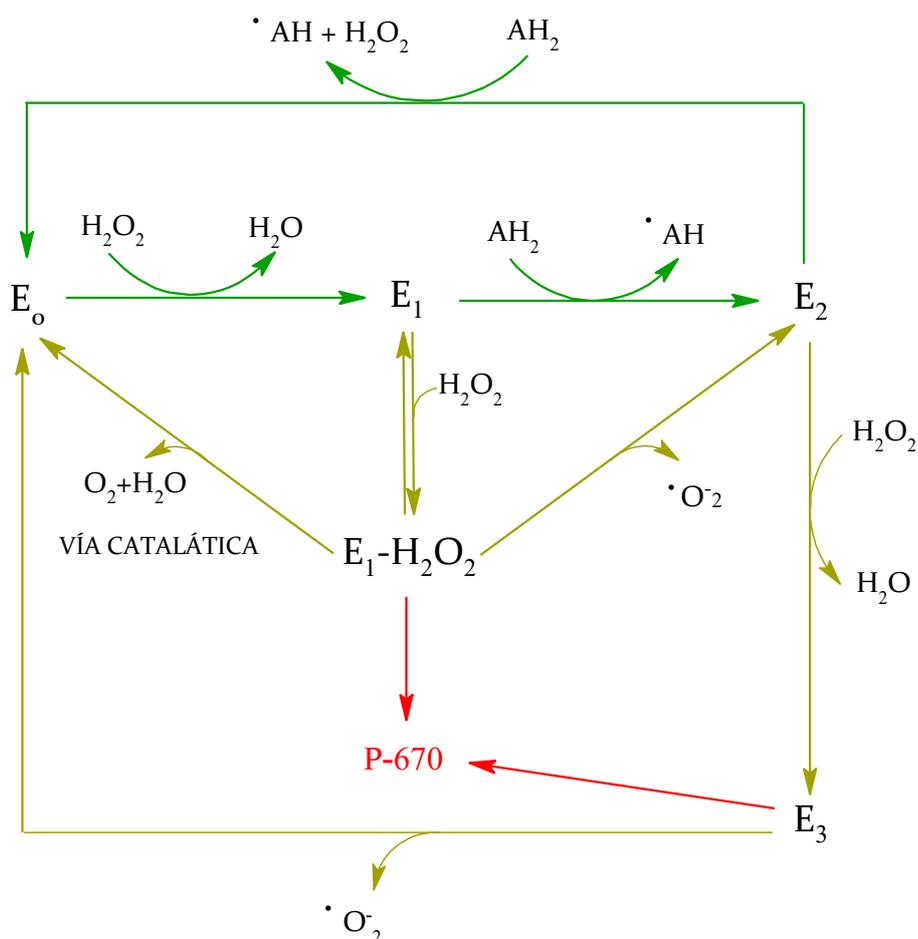


Figura 6.14 – Mecanismo y ciclo catalítico reportado para HRP.

Tanto el paso del complejo E_1 - H_2O_2 a E_2 como el paso de E_3 a E_0 implican la generación de radicales superóxido, que puede provocar la liberación de O_2 , por medio de lo que se conoce como vía pseudo-catalítica. Sin embargo, resultados de simulación computacional reportados indican que la principal vía de consumo de H_2O_2 en ausencia de sustratos reductores es la vía catalítica de reacción [67].

Por su parte, HEM, como mimético de la enzima peroxidasa, tiene un sustituyente pirrol como el que compone el sitio activo de las hemo-enzimas. Se diferencia de las mismas en la coordinación de la quinta posición, ya que en las enzimas ésta es ocupada por la estructura proteica. Además de la similitud estructural de HEM respecto a HRP, se reporta un mecanismo de acción análogo en la reacción con sustratos fenólicos, especialmente en los estados intermediarios [55], [72]. En la Figura 6.15 se presentan las especies que podrían estar involucradas en el mecanismo de acción de HEM. A diferencia de la enzima HRP, el mecanismo propuesto para el biomimético tiene asociado un mayor consumo de H_2O_2 y producción de O_2 en el comienzo de la reacción [50], [73]. El intermediario E_1 de HEM toma contacto con un donador de hidrógeno, en los ensayos llevados a cabo en el presente capítulo éstos serían RAS o NII, para generar el intermediario E_2 .

Ferreira (2003) analizó el mecanismo de descomposición de H_2O_2 catalizado por HEM. Este mecanismo propuesto incluye la presencia del grupo -OH durante todo el ciclo catalítico [7]. Esto implica la presencia de una sexta posición de coordinación del hierro de HEM ocupada por H_2O_2 previo a la formación de la especie E_1 . El estudio de modelado cinético de las reacciones catalizadas por HEM en presencia de H_2O_2 , para sistemas sin colorantes han permitido postular la existencia de una vía catalítica de producción de O_2 . Esto indica la existencia de vías de inactivación por H_2O_2 , consistente con reacciones de blanqueamiento del estado basal del catalizador. Existen en la literatura reportes de formación de radicales peroxilos (HOO^*) en sistemas de HEM/hidroxiperóxidos. Concentraciones altas de H_2O_2 pueden promover vías de descomposición de peróxido con producción de radical peroxilo. Estos radicales se encuentran en equilibrio con los radicales superóxidos ($HOO^* \leftrightarrow H^+ + O_2^*$). En exceso de peróxido, pero en presencia de los colorantes, el estado E_1 puede resultar en un compuesto inactivo, mientras que E_2 puede dar lugar a E_3 . Este compuesto regenera lentamente hacia E_0 [55].

En ausencia de sustrato fenólico la ruptura homolítica es factible debido a la presencia de OH en HEM por lo que la generación de radicales hidroxilo puede ocurrir. Sin embargo, en presencia de sustrato fenólico, la ruptura heterolítica podría verse favorecida. Córdoba (2015) evaluó el mecanismo catalítico de HEM en la reacción de oxidación de fenol con presencia de 4-aminoantipirina, con el fin de determinar la capacidad catalítica de HEM como biomimético de HRP [74]. Obtuvo formación de producto coloreado en los sistemas catalizados por el biomimético, pero la formación de quinonaimina fue de 10 a 15 veces más lenta que la correspondiente a HRP, encontrando un máximo a una concentración inicial de H_2O_2 igual a 17 mM. Luego de este valor máximo, podrían darse vías de inactivación por reacción con H_2O_2 , reduciendo la velocidad de formación de colorante. La disminución acentuada de la actividad de HEM podría asociarse a la ausencia de la estructura proteica en el biomimético.

Akkara et al. (2000) observaron un decrecimiento progresivo de la banda Soret al inicio de la reacción en sistemas homogéneos, asignable a la oxidación de la estructura de la porfirina por acción del H_2O_2 o de radicales inorgánicos formados durante el ciclo catalítico [73]. En los ensayos realizados por Córdoba (2015) este efecto está ausente, posiblemente por la acumulación en el medio de reacción de radicales fenoxi, cuyo pico de absorción se encuentra cercano al pico característico de HEM en 388 nm. HEM no fue capaz de catalizar la formación de polifenoles en las condiciones de reacción, lo cual podría asociarse a la presencia de radicales inorgánicos que provocan la ruptura de las estructuras aromáticas de los radicales fenoxi mediante un mecanismo degradativo.

En estudios de modelado cinético de la decoloración de NII, se describió matemáticamente la cinética de la reacción de degradación de una solución alcalina de NII catalizada por HEM utilizando H_2O_2 como agente oxidante. Se propone un mecanismo análogo al de la enzima HRP integrado a una vía de producción de oxígeno y generación de radicales superóxidos por la escisión heterolítica de H_2O_2 [75]. El modelo peroxidático-pseudo catalítico fue seleccionado como el más adecuado para un amplio rango de condiciones (25 - 400 mg L^{-1} de concentración de NII; 2,4 - 10 mM de concentración de H_2O_2 ; y 3 - 17 mg L^{-1} de concentración de HEM) a temperatura ambiente y pH alcalino (10,6). Este modelo implica dos rutas de inactivación reversibles: H_2O_2 y NII - formación de E-Fe y formación de E-NII (siendo E compuestos intermediarios de HEM). Esto demostró la existencia de una vía de inactivación por sustrato fenólico, la cual es consistente con la formación de un complejo improductivo

colorante-catalizador, que ralentiza la reacción. Asimismo, al formarse la especie intermediaria, E_1 , ésta debe interactuar con los colorantes por abstracción de un hidrógeno. NII en solución acuosa se presenta preferencialmente en forma hidrazona, por lo que debería ocurrir en el enlace -N-H. Esto resulta complicado debido a que se encuentra unido intramolecularmente por puente hidrógeno, volviéndolo recalcitrante, tal como se encontró en los resultados. Esto concuerda con Nicolás et al. (2021) donde reportan que los colorantes azoicos como el NII son más resistentes que los antraquinónicos (como el RAS) a la eliminación oxidativa [13].

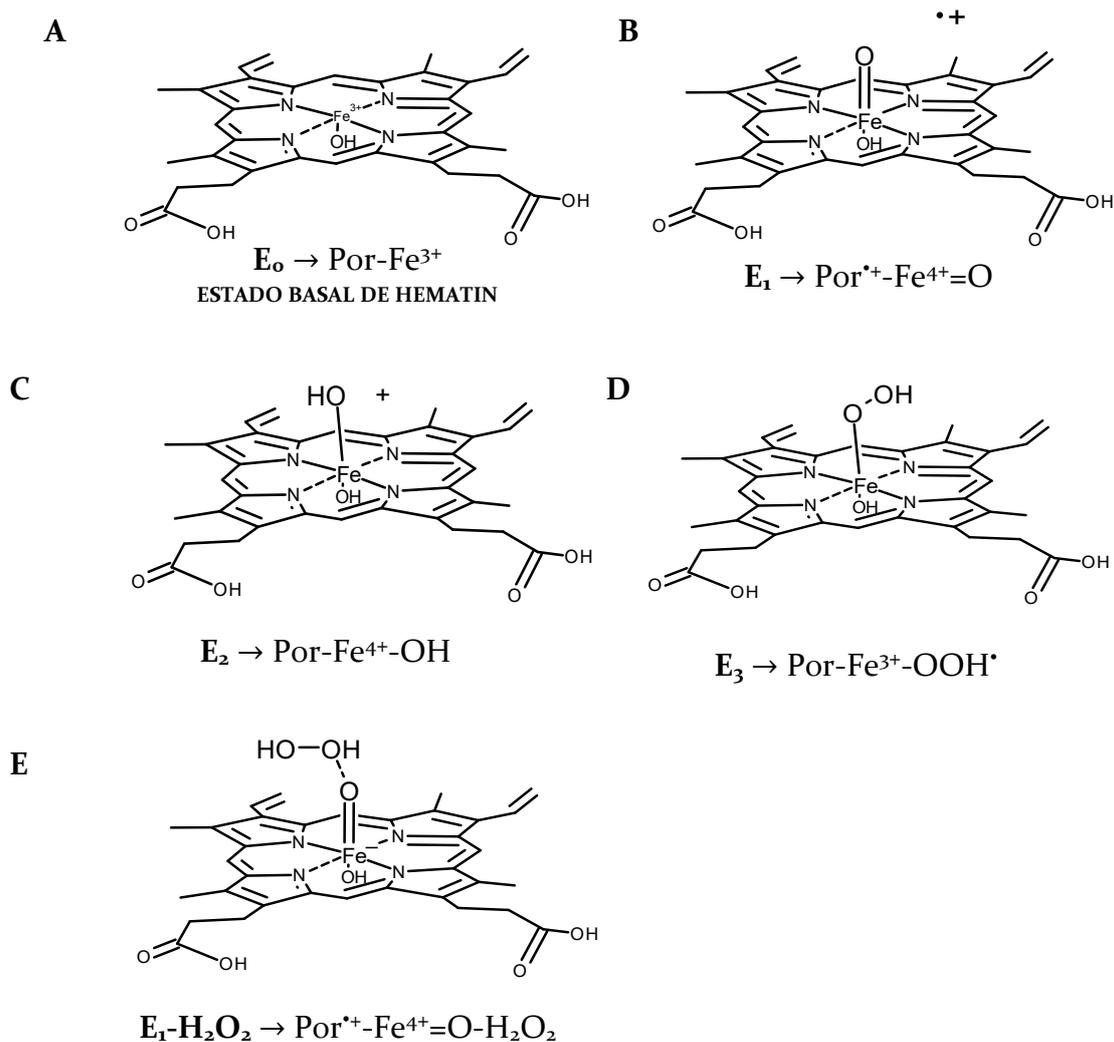


Figura 6.15 – Especies potencialmente involucradas en el mecanismo de acción de HEM.

Al aplicar el catalizador estudiado en el presente trabajo, en simultáneo a las reacciones miméticas de la enzima peroxidasa catalizadas por HEM, ocurren reacciones asociadas a MAG. Los iones $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ presentes en el óxido de hierro nanoparticulado, en presencia de H_2O_2 dan lugar a un mecanismo tipo Fenton heterogéneo [70], [71]. Es importante mencionar que Meyerstein (2022) realizó una interesante discusión acerca de los intermediarios oxidantes en las reacciones Fenton y tipo Fenton. El autor propone que la reacción $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ produce:

- (I) radicales $\cdot\text{OH}$ como agente oxidante activo en soluciones ácidas cuando $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}] > [\text{H}_2\text{O}_2]$
- (II) una mezcla de radicales $\cdot\text{OH}$ y $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}_{\text{aq}}$ en soluciones ácidas cuando $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}] < [\text{H}_2\text{O}_2]$;
- (III) $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}_{\text{aq}}$ en soluciones neutras; y
- (IV) $\text{CO}_3^{\bullet-}$ en soluciones que contienen incluso una baja concentración de HCO_3^- .

En la evaluación de la aplicación del catalizador en un sistema abierto, como podría ocurrir en una pileta de una planta de tratamiento de efluentes, es fundamental tener en cuenta la posible interacción con el CO₂ atmosférico, ya que este puede disolverse en el medio de reacción. Una vez en solución, el CO₂ puede reaccionar con el agua para formar ácido carbónico (H₂CO₃) en un equilibrio dinámico. A su vez, el ácido carbónico se disocia parcialmente, generando iones bicarbonato (HCO₃⁻) y carbonato (CO₃²⁻) en función del pH del sistema. Adicionalmente, la presencia de estos iones puede afectar significativamente el equilibrio ácido-base del entorno, alterando las propiedades superficiales del catalizador y, por ende, su actividad.

El PZC igual a 7,9 implica que, bajo las condiciones de reacción en un medio alcalino (pH 9,4) la adsorción de los colorantes (aniónicos) no estaría favorecida, lo cual puede sugerir que la remoción de los colorantes está predominantemente asociada a la degradación catalítica de los mismos. En caso de darse un proceso de adsorción, estaría ocurriendo en simultáneo la formación de radicales *in situ* que reaccionarían con las moléculas de los colorantes adsorbidos sobre la superficie. Estos radicales también podrían difundir hacia la solución, oxidando las moléculas de colorantes no adsorbidas.

La Figura 6.16 representa a HEM soportado en MAG presente en las esferas de QUIT, utilizando APTS como agente acoplante. Se puede visualizar como el APTS funciona como un bloque espaciador, favoreciendo la interacción entre las especies oxidantes generadas en los sitios activos (Fe³⁺ en HEM y Fe³⁺/Fe²⁺ en MAG) y los sustratos orgánicos a oxidar (los colorantes). Es importante considerar que parte de los sitios activos asociados a MAG interaccionan con APTS/HEM, no estando disponibles para interaccionar con el H₂O₂. En este sentido, es importante estudiar el catalizador considerando la complejidad inherente del sistema catalítico completo, asumiendo que las actividades asociadas a MAG y HEM podrían no ser aditivas, sino sinérgicas. Los mecanismos de acción de MAG y HEM no son exactamente iguales, y es posible que los radicales, en concentración y tipo, generados por ambos sistemas, interaccionen dando lugar a un mecanismo de acción propio del sistema estudiado.

Se puede inferir que en el sólido húmedo existe una estructura interna de poros en cavidades paralelas en la cual las moléculas de los colorantes y el H₂O₂ pueden ingresar e interactuar con los iones Fe³⁺/Fe²⁺ en MAG y con Fe³⁺ en HEM. Los agentes oxidantes generados (radicalarios y no radicalarios) oxidan a los colorantes. Sin embargo, cuando el sólido se seca, la estructura interna de poros colapsa y por ende: (I) hay una menor

cantidad de sitios activos para interactuar con el H_2O_2 ; o (II) si bien el H_2O_2 interactúa a con HEM y MAG presente en todo el volumen del sólido, las moléculas de los colorantes no están accesibles para ser oxidados. Como se observó, en la rehidratación del sólido no se recupera el volumen inicial de la esfera, no compensando esta pérdida de sitios activos, lo cual se ve reflejado en la menor capacidad de degradar los colorantes.

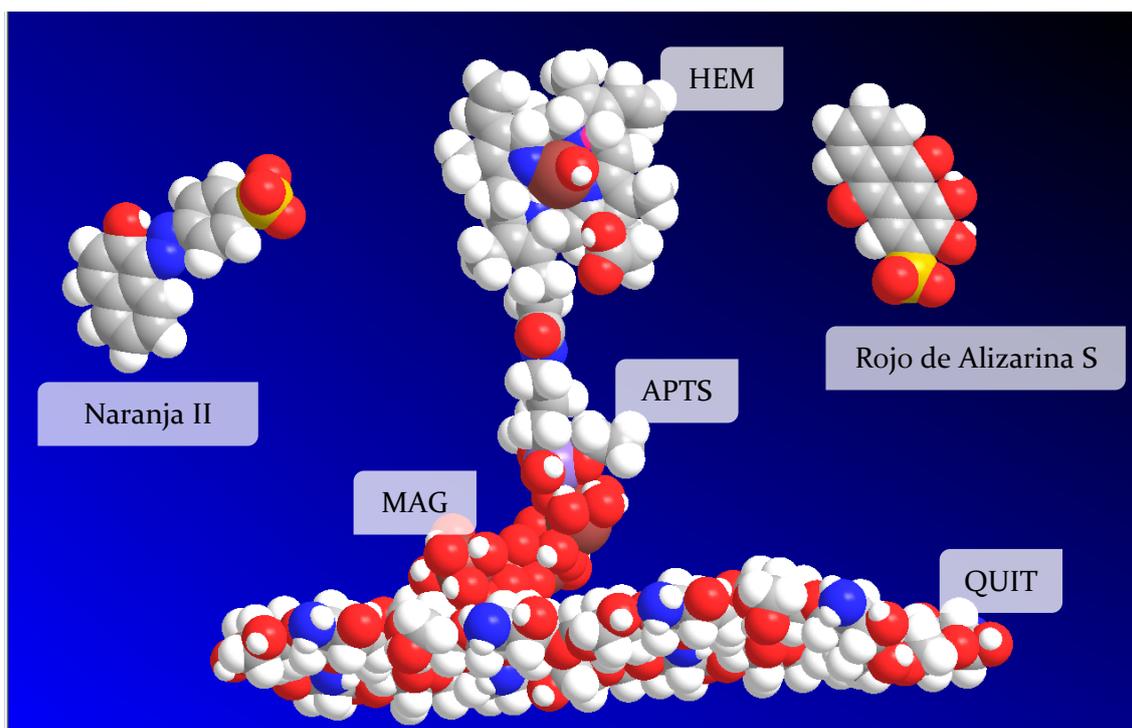


Figura 6.16 – Relación de tamaños entre QUIT-MAG-APTS-HEM y los colorantes RAS y NII. Realizada en ChemBioOffice 3D 2008.

6.5. Conclusiones

En el presente capítulo se logró establecer el rango apropiado de concentración de H_2O_2 para la decoloración de soluciones de NII y RAS en medio alcalino. Se encontró que el medio de reacción a pH 11, para el colorante RAS, introduce interferencias asociadas al movimiento de la banda principal de absorción en el espectro UV-Vis debido a desplazamientos del equilibrio ácido-base dado por la forma dianiónica y trianiónica del colorante en pH cercano a uno de sus pKa.

Se analizó la actividad catalítica del sólido en estado húmedo, seco y seco/rehidratado. Se encontró que, si bien una instancia de secado implica una pérdida de actividad, desde un punto de vista práctico es conveniente su aplicación en estado

seco/rehidratado, considerando que adquiere resistencia y estabilidad respecto al catalizador húmedo.

Asimismo, se definieron y analizaron los efectos de las concentraciones de los colorantes y el catalizador. Se pudo probar, en soluciones individuales de los colorantes, la naturaleza catalítica de las reacciones de decoloración habiéndose encontrado conversiones despreciables en ausencia del sólido. Asimismo, en el análisis de los espectros UV-Vis de las soluciones de reacción, para las concentraciones iniciales más bajas de los colorantes, se pudo identificar aumentos de absorbancia en longitudes de onda baja lo que podría asociarse con la presencia de productos de degradación.

El catalizador estudiado evita el uso de concentraciones altas de H_2O_2 , permitiendo remociones apreciables de los colorantes en concentraciones entre 0,5 y 5 mM, respecto a 80 mM requeridos sin el uso del catalizador. Esto es favorable, dado que reduce considerablemente la cantidad consumida del reactivo utilizado. Estos resultados resaltan la importancia de, en los estudios de remoción de colorantes, evaluar la oxidación de los mismos sin catalizador en presencia del H_2O_2 en las concentraciones a explorar.

En cuanto al mecanismo de acción del catalizador, éste incluye dos sistemas catalíticos actuando en simultáneo, asociados a Fe^{2+} en HEM y Fe^{2+}/Fe^{3+} en MAG, considerándose que estos podrían no ser simplemente aditivos, sino sinérgicos. En vistas de una aplicación real, surge como relevante la aplicación del sistema en un medio sin control de pH, con valores cercanos a neutralidad y en presencia de sustancias químicas comúnmente presentes en un efluente real, lo cual se explorará en el Capítulo VII.

6.6. Referencias

- [1] H. Lin, H. Zhang, X. Wang, L. Wang, and J. Wu, “Electro-fenton removal of Orange II in a divided cell: Reaction mechanism, degradation pathway and toxicity evolution,” *Sep Purif Technol*, vol. 122, pp. 533–540, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.seppur.2013.12.010.
- [2] A. M. Faouzi, B. Nasr, and G. Abdellatif, “Electrochemical degradation of anthraquinone dye Alizarin Red S by anodic oxidation on boron-doped diamond,” *Dyes and Pigments*, vol. 73, no. 1, pp. 86–89, 2007, doi: 10.1016/j.dyepig.2005.10.013.
- [3] T. Maezono, M. Tokumura, M. Sekine, and Y. Kawase, “Hydroxyl radical concentration profile in photo-Fenton oxidation process: Generation and consumption of hydroxyl radicals during the discoloration of azo-dye Orange II,” *Chemosphere*, vol. 82, no. 10, pp. 1422–1430, 2011, doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.11.052.
- [4] D. Hussain, M. F. Siddiqui, Z. Shirazi, and T. A. Khan, “Evaluation of adsorptive and photocatalytic degradation properties of FeWO₄/polypyrrole nanocomposite for rose bengal and alizarin red S from liquid phase: Modeling of adsorption isotherms and kinetics data,” *Environ Prog Sustain Energy*, vol. 41, no. 4, Jul. 2022, doi: 10.1002/ep.13822.
- [5] Y. Shi, D. Feng, S. Ahmad, L. Liu, and J. Tang, “Recent advances in metal–organic frameworks–derived carbon-based materials in sulfate radical-based advanced oxidation processes for organic pollutant removal,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 454, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.cej.2022.140244.
- [6] A. Asghar, A. A. A. Raman, and W. M. A. W. Daud, “Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: A review,” 2015, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.jclepro.2014.09.010.
- [7] M. L. Ferreira, “UV / Visible Study of the Reaction of Oxidoreductases and Model Compounds with H₂O₂,” *Macromol Biosci*, vol. 3, pp. 179–188, 2003, doi: 10.1002/mabi.200390026.

- [8] S. Saidman, E. H. Rueda, and M. L. Ferreira, “Activity of free peroxidases, hematin, magnetite-supported peroxidases and magnetite-supported hematin in the aniline elimination from water-UV-vis analysis,” *Biochem Eng J*, vol. 28, no. 2, pp. 177–186, 2006, doi: 10.1016/j.bej.2005.11.001.
- [9] S. Pirillo, F. S. García Einschlag, E. H. Rueda, and M. L. Ferreira, “Horseradish peroxidase and hematin as biocatalysts for alizarin degradation using hydrogen peroxide,” *Ind Eng Chem Res*, vol. 49, no. 15, pp. 6745–6752, 2010, doi: 10.1021/ie901528y.
- [10] S. Pirillo, F. S. G. Einschlag, M. L. Ferreira, and E. H. Rueda, “Eriochrome Blue Black R and Fluorescein degradation by hydrogen peroxide oxidation with horseradish peroxidase and hematin as biocatalysts,” *J Mol Catal B Enzym*, vol. 66, no. 1–2, pp. 63–71, 2010, doi: 10.1016/j.molcatb.2010.03.003.
- [11] S. Pirillo, E. H. Rueda, and M. L. Ferreira, “Supported biocatalysts for Alizarin and Eriochrome Blue Black R degradation using hydrogen peroxide,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 204–205, pp. 65–71, 2012, doi: 10.1016/j.cej.2012.07.057.
- [12] A. Córdoba, “Catalizadores enzimáticos y biomiméticos soportados para la eliminación de colorantes modelo de soluciones acuosas,” Universidad Nacional de Córdoba, 2015. Accessed: Mar. 19, 2025. [Online]. Available: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/4648>
- [13] P. Nicolás, G. S. López Pugini, F. Horst, V. Lasalle, and M. L. Ferreira, “Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes,” *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.
- [14] A. Ambrosio, E. H. Rueda, and M. L. Ferreira, “Magnetite-supported hematin as a biomimetic of Horseradish peroxidase in phenol removal by polymerization,” *Biocatal Biotransformation*, vol. 22, no. 1, pp. 35–44, 2004, doi: 10.1080/10242420410001661231.
- [15] B. Manu and S. Chaudhari, “Anaerobic decolorisation of simulated textile wastewater containing azo dyes,” vol. 82, pp. 225–231, 2002.
- [16] A. G. Vlyssides, D. Papaioannou, M. Loizidou, P. K. Karlis, and A. A. Zorpas, “Testing an electrochemical method for treatment of textile dye wastewater,”

- Waste Management*, vol. 20, no. 7, pp. 569–574, 2000, doi: 10.1016/S0956-053X(00)00028-3.
- [17] G. Hussain and S. Haydar, “Textile Effluent Treatment Using Natural Coagulant *Opuntia stricta* in Comparison with Alum,” *Clean (Weinh)*, vol. 49, no. 10, Oct. 2021, doi: 10.1002/clen.202000342.
- [18] G. R. Warner *et al.*, “Reactivity and Operational Stability of N-Tailed TAMLs through Kinetic Studies of the Catalyzed Oxidation of Orangea II by H₂O₂: Synthesis and X-ray Structure of an N-Phenyl TAML,” *Chemistry - A European Journal*, vol. 21, no. 16, pp. 6226–6233, 2015, doi: 10.1002/chem.201406061.
- [19] P. B. Ramos, “Tratamiento de efluente textil real aplicando tecnologías amigables con el medioambiente,” Universidad del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería, Olavarría, 2018.
- [20] H. Veisi, S. Tatli, M. Haghgoo, A. Amisama, S. Farahmand, and S. Hemmati, “Immobilization of palladium nanoparticles on thiol-functionalized multi-walled carbon nanotubes with enhanced photocatalytic activity for the degradation of alizarin red,” *Polyhedron*, vol. 165, pp. 9–16, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.poly.2019.03.002.
- [21] A. Omri and M. Benzina, “Degradation of Alizarin Red S by Heterogeneous Fenton-Like Oxidation Over Copper-Containing Sand Catalysts,” *Catalysis Surveys from Asia*, vol. 25, no. 1, pp. 76–92, Mar. 2021, doi: 10.1007/s10563-020-09321-5.
- [22] M. Baruah, A. Supong, P. C. Bhomick, R. Karmaker, C. Pongener, and D. Sinha, “Batch sorption–photodegradation of Alizarin Red S using synthesized TiO₂/activated carbon nanocomposite: an experimental study and computer modelling,” *Nanotechnology for Environmental Engineering*, vol. 5, no. 1, Apr. 2020, doi: 10.1007/s41204-020-00071-3.
- [23] K. Rathinam, X. Kou, R. Hobby, and S. Panglisch, “Sustainable Development of Magnetic Chitosan Core – Shell Network for the Removal of Organic Dyes from Aqueous Solutions,” *Materials*, vol. 14, no. 7701, 2021.
- [24] A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Experimental design and MM2-PM6 molecular modelling of hematin as a peroxidase-like catalyst in Alizarin Red S

- degradation,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 355, pp. 44–60, 2012, doi: 10.1016/j.molcata.2011.12.011.
- [25] A. I. Adeogun and R. B. Babu, “One-step synthesized calcium phosphate-based material for the removal of alizarin S dye from aqueous solutions: isothermal, kinetics, and thermodynamics studies,” *Applied Nanoscience (Switzerland)*, vol. 11, no. 7, pp. 2153–2165, 2021, doi: 10.1007/s13204-015-0484-9.
- [26] M. Ghaedi, A. Hassanzadeh, and S. N. Kokhdan, “By treating MWCNTs with ball milling,” *J Chem Eng Data*, vol. 56, no. 5, pp. 2511–2520, 2011.
- [27] S. Gao, W. Zhang, Z. An, S. Kong, and D. Chen, “Adsorption of anionic dye onto magnetic Fe₃O₄/CeO₂ nanocomposite: Equilibrium, kinetics, and thermodynamics,” *Adsorption Science and Technology*, vol. 37, no. 3–4, pp. 185–204, 2019, doi: 10.1177/0263617418819164.
- [28] M. Arami, N. Yousefi, and N. Mohammad, “Removal of dyes from colored textile wastewater by orange peel adsorbent : Equilibrium and kinetic studies,” vol. 288, pp. 371–376, 2005, doi: 10.1016/j.jcis.2005.03.020.
- [29] C. Shen, Y. Shen, Y. Wen, H. Wang, and W. Liu, “Fast and highly efficient removal of dyes under alkaline conditions using magnetic chitosan-Fe(III) hydrogel,” *Water Res*, vol. 45, no. 16, pp. 5200–5210, 2011, doi: 10.1016/j.watres.2011.07.018.
- [30] A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Evaluation of hematin-catalyzed Orange II degradation as a potential alternative to horseradish peroxidase,” *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 73, pp. 60–72, 2012, doi: 10.1016/j.ibiod.2012.05.020.
- [31] X. Jin, M. qin Jiang, X. quan Shan, Z. guo Pei, and Z. Chen, “Adsorption of methylene blue and orange II onto unmodified and surfactant-modified zeolite,” *J Colloid Interface Sci*, vol. 328, no. 2, pp. 243–247, 2008, doi: 10.1016/j.jcis.2008.08.066.
- [32] M. Kousha, E. Daneshvar, M. S. Sohrabi, M. Jokar, and A. Bhatnagar, “Adsorption of acid orange II dye by raw and chemically modified brown macroalga *Stoechospermum marginatum*,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 192, pp. 67–76, 2012, doi: 10.1016/j.cej.2012.03.057.

- [33] M. L. Rache, A. R. García, H. R. Zea, A. M. T. Silva, L. M. Madeira, and J. H. Ramírez, “Azo-dye orange II degradation by the heterogeneous Fenton-like process using a zeolite Y-Fe catalyst-Kinetics with a model based on the Fermi’s equation,” *Appl Catal B*, vol. 146, pp. 192–200, 2014, doi: 10.1016/j.apcatb.2013.04.028.
- [34] N. Inchaurredo, J. Font, C. P. Ramos, and P. Haure, “Natural diatomites: Efficient green catalyst for Fenton-like oxidation of Orange II,” *Appl Catal B*, vol. 181, pp. 481–494, 2016, doi: 10.1016/j.apcatb.2015.08.022.
- [35] J. Herney-Ramirez, M. Lampinen, M. A. Vicente, C. A. Costa, and L. M. Madeira, “Experimental design to optimize the oxidation of orange II dye solution using a clay-based fenton-like catalyst,” *Ind Eng Chem Res*, vol. 47, no. 2, pp. 284–294, 2008, doi: 10.1021/ie070990y.
- [36] L. Chen, C. Deng, F. Wu, and N. Deng, “Decolorization of the azo dye Orange II in a montmorillonite/H₂O₂ system,” *Desalination*, vol. 281, no. 1, pp. 306–311, 2011, doi: 10.1016/j.desal.2011.08.006.
- [37] Y. Zhu, Q. Xie, R. Zhu, Y. Lv, Y. Xi, and J. Zhu, “Chemosphere Hydrothermal carbons / ferrihydrite heterogeneous Fenton catalysts with low H₂O₂ consumption and the effect of graphitization degrees,” *Chemosphere*, vol. 287, no. P1, p. 131933, 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131933.
- [38] X. Wei, X. Xie, Y. Wang, and S. Yang, “Shape-Dependent Fenton-Like Catalytic Activity of Fe₃O₄ Nanoparticles,” *Journal of Environmental Engineering (United States)*, vol. 146, no. 3, pp. 2–11, 2020, doi: 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001648.
- [39] P. Zucca, C. Vinci, F. Sollai, A. Rescigno, and E. Sanjust, “Degradation of Alizarin Red S under mild experimental conditions by immobilized 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphine-Mn(III) as a biomimetic peroxidase-like catalyst,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 288, no. 1–2, pp. 97–102, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.molcata.2008.04.001.
- [40] S. Mumtaz *et al.*, “Facile method to synthesize dopamine-capped mixed ferrite nanoparticles and their peroxidase-like activity,” *J Phys D Appl Phys*, vol. 50, no. 11, 2017, doi: 10.1088/1361-6463/aa5bf6.

- [41] S. S. F. Carvalho and N. M. F. Carvalho, “Dye degradation by green heterogeneous Fenton catalysts prepared in presence of *Camellia sinensis*,” *J Environ Manage*, vol. 187, pp. 82–88, 2017, doi: 10.1016/j.jenvman.2016.11.032.
- [42] J. Jiang, J. Zou, L. Zhu, L. Huang, H. Jiang, and Y. Zhang, “Degradation of methylene blue with H₂O₂ activated by peroxidase-like Fe₃O₄ magnetic nanoparticles,” *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 11, no. 6, pp. 4793–4799, 2011, doi: 10.1166/jnn.2011.4192.
- [43] X. Liang *et al.*, “The distinct effects of Mn substitution on the reactivity of magnetite in heterogeneous Fenton reaction and Pb(II) adsorption,” *J Colloid Interface Sci*, vol. 426, pp. 181–189, 2014, doi: 10.1016/j.jcis.2014.03.065.
- [44] J. Wang *et al.*, “Enhanced heterogeneous Fenton-like systems based on highly dispersed Fe₀-Fe₂O₃ nanoparticles embedded ordered mesoporous carbon composite catalyst,” *Environmental Pollution*, vol. 243, pp. 1068–1077, 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2018.09.057.
- [45] S. Hashemian, “Fenton-like oxidation of malachite green solutions: Kinetic and thermodynamic study,” *J Chem*, vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/809318.
- [46] S. Song *et al.*, “Ultrasmall Graphene Oxide Modified with Fe₃O₄ Nanoparticles as a Fenton-Like Agent for Methylene Blue Degradation,” *ACS Appl Nano Mater*, vol. 2, no. 11, pp. 7074–7084, 2019, doi: 10.1021/acsanm.9b01608.
- [47] X. Li *et al.*, “Heterogeneous Fenton-like degradation of tetracyclines using porous magnetic chitosan microspheres as an efficient catalyst compared with two preparation methods,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 379, p. 122324, 2020, doi: 10.1016/j.cej.2019.122324.
- [48] M. Idrissi, Y. Miyah, Y. Benjelloun, and M. Chaouch, “Degradation of crystal violet by heterogeneous Fenton-like reaction using Fe/Clay catalyst with H₂O₂,” *Journal of Materials and Environmental Science*, vol. 7, no. 1, pp. 50–58, 2016.
- [49] S. Laib, H. R. Yazid, N. Guendouz, M. Belmedani, and Z. Sadaoui, “Heterogeneous Fenton catalyst derived from hydroxide sludge as an efficient and reusable catalyst for anthraquinone dye degradation,” *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, vol. 54, no. 8, pp. 1338–1352, 2019, doi: 10.1080/01496395.2018.1531892.

- [50] A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Experimental design and MM2-PM6 molecular modelling of hematin as a peroxidase-like catalyst in Alizarin Red S degradation,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 355, pp. 44–60, 2012, doi: 10.1016/j.molcata.2011.12.011.
- [51] Z. M. Abou-Gamra, “Kinetics of decolorization of Alizarin Red S in aqueous media by Fenton-like mechanism,” *Eur. Chem. Bull.*, vol. 3, no. 1, pp. 108–112, 2014.
- [52] D. Paneva, O. Stoilova, N. Manolova, and I. Rashkov, “Magnetic hydrogel beads based on chitosan,” 2004. [Online]. Available: <http://www.e-polymers.org>
- [53] J. Yang, P. Xu, L. Long, and S. Ding, “Production of lactobionic acid using an immobilized cellobiose dehydrogenase/laccase system on magnetic chitosan spheres,” *Process Biochemistry*, vol. 100, pp. 1–9, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.procbio.2020.09.024.
- [54] M. S. Jyothi, V. J. Angadi, T. V. Kanakalakshmi, M. Padaki, B. R. Geetha, and K. Soontarapa, “Magnetic Nanoparticles Impregnated, Cross-Linked, Porous Chitosan Microspheres for Efficient Adsorption of Methylene Blue from Pharmaceutical Waste Water,” *J Polym Environ*, vol. 27, no. 11, pp. 2408–2418, Nov. 2019, doi: 10.1007/s10924-019-01531-x.
- [55] A. Córdoba, E. Ottonello, M. Belén Andali, I. Magario, and M. Lujan Ferreira, “Soluble and supported hematin as a catalyst for decolourization of anthraquinone textile dyes: A kinetic modelling validation study,” *Chem Eng Sci*, vol. 276, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.ces.2023.118821.
- [56] J. Deng, X. Wen, and J. Li, “Fabrication highly dispersed Fe₃O₄ nanoparticles on carbon nanotubes and its application as a mimetic enzyme to degrade Orange II,” *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 37, no. 17, pp. 2214–2221, 2016, doi: 10.1080/09593330.2016.1146339.
- [57] R. Alrozi, N. Aida Zubir, M. Khairul Azam Selamat, A. Nurzalikha Zakarya, and N. Syaherra Paisan, “Effect of Cobalt Substitution on Catalytic Activity of Fe₃-XCoxO₄ Catalyst,” *Mater Today Proc*, vol. 5, no. 10, pp. 21874–21878, 2018, doi: 10.1016/j.matpr.2018.07.045.

- [58] S. H. Tian, Y. T. Tu, D. S. Chen, X. Chen, and Y. Xiong, “Degradation of Acid Orange II at neutral pH using $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ as a heterogeneous Fenton-like catalyst,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 169, no. 1–3, pp. 31–37, May 2011, doi: 10.1016/j.cej.2011.02.045.
- [59] H. Dai, S. Xu, J. Chen, X. Miao, and J. Zhu, “Oxalate enhanced degradation of Orange II in heterogeneous UV-Fenton system catalyzed by $\text{Fe}_3\text{O}_4@\Gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ composite,” *Chemosphere*, vol. 199, pp. 147–153, May 2018, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.016.
- [60] J. Liu, Y. Du, T. Ye, J. Cao, and C. Peng, “Removal of orange II using an adsorbent-supported zero-valent iron as a heterogeneous fenton-like catalyst,” *Desalination Water Treat*, vol. 175, pp. 273–281, Jan. 2020, doi: 10.5004/dwt.2020.24904.
- [61] J. N. Rodríguez-López, D. J. Lowe, J. Hernández-Ruiz, A. N. P. Hiner, F. García-Cánovas, and R. N. F. Thorneley, “Mechanism of reaction of hydrogen peroxide with horseradish peroxidase: Identification of intermediates in the catalytic cycle,” *J Am Chem Soc*, vol. 123, no. 48, pp. 11838–11847, 2001, doi: 10.1021/ja011853+.
- [62] N. C. Veitch, “Horseradish peroxidase: A modern view of a classic enzyme,” *Phytochemistry*, vol. 65, no. 3, pp. 249–259, 2004, doi: 10.1016/j.phytochem.2003.10.022.
- [63] H. B. Dunford, *Heme Peroxidases*, John Wiley. New York: John Wiley, 1999.
- [64] I. Fujita, L. K. Hanson, F. A. Walker, and J. Fajer, “Models for Compounds I of Peroxidases: Axial Ligand Effects,” *J Am Chem Soc*, vol. 105, no. 10, pp. 3296–3300, 1983, doi: 10.1021/ja00348a056.
- [65] M. Reihmann and H. Ritter, “Synthesis of phenol polymers using peroxidases,” *Advances in Polymer Science*, vol. 194, no. 1, pp. 1–49, 2006, doi: 10.1007/12_034.
- [66] I. Magario, F. S. García Einschlag, E. H. Rueda, J. Zygadlo, and M. L. Ferreira, “Mechanisms of radical generation in the removal of phenol derivatives and pigments using different Fe-based catalytic systems,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 352, pp. 1–20, 2012, doi: 10.1016/j.molcata.2011.10.006.

- [67] A. N. P. Hiner, J. Hernández-Ruiz, G. A. Williams, M. B. Arnao, F. García-Cánovas, and M. Acosta, “Catalase-like oxygen production by horseradish peroxidase must predominantly be an enzyme-catalyzed reaction,” *Arch Biochem Biophys*, vol. 392, no. 2, pp. 295–302, 2001, doi: 10.1006/abbi.2001.2460.
- [68] F. Pomar Barbeito, “Caracterización de la actividad peroxidasa implicada en los procesos de lignificación y su estudio en la interacción : *Capsicum annum* L. var *annuum*-*Verticillium dahliae* Kleb,” p. 287, 2000, [Online]. Available: <https://core.ac.uk/download/pdf/61910661.pdf>
- [69] N. Hidalgo Cuadrado, “Caracterización químico física de la peroxidasa de palma *Chamaerops excelsa*,” Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, 2011. [Online]. Available: https://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/110695/1/DQFI_Hidalgo_Cuadrado_N_Caracterizacion.pdf
- [70] W. G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, and K. R. Hargrave, “Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part II. - The ferric ion reaction,” *Transactions of the Faraday Society*, vol. 47, pp. 591–616, 1951, doi: 10.1039/TF9514700591.
- [71] W. G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, and K. R. Hargrave, “Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part I. - The ferrous ion reaction,” *Transactions of the Faraday Society*, vol. 47, pp. 462–500, 1951, doi: 10.1039/TF9514700462.
- [72] S. Sakai, K. Moriyama, K. Taguchi, and K. Kawakami, “Hematin is an alternative catalyst to horseradish peroxidase for in situ hydrogelation of polymers with phenolic hydroxyl groups in vivo,” *Biomacromolecules*, vol. 11, no. 8, pp. 2179–2183, Aug. 2010, doi: 10.1021/bm100623k.
- [73] J. A. Akkara, J. Wang, D. P. Yang, and K. E. Gonsalves, “Hematin-catalyzed polymerization of phenol compounds,” *Macromolecules*, vol. 33, no. 7, pp. 2377–2382, 2000, doi: 10.1021/ma9906534.
- [74] A. Córdoba, N. Alasino, M. Asteasuain, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Mechanistic evaluation of hematin action as a horseradish peroxidase biomimetic

- on the 4-aminoantipyrine/phenol oxidation reaction,” *Chem Eng Sci*, vol. 129, pp. 249–259, 2015, doi: 10.1016/j.ces.2015.02.031.
- [75] C. Cabrera, A. Cornaglia, A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Kinetic modelling of the hematin catalysed decolourization of Orange II solutions,” *Chem Eng Sci*, vol. 161, pp. 127–137, 2017, doi: 10.1016/j.ces.2016.11.049.

Capítulo VII

Decoloración de soluciones coloreadas en matriz de efluente simulado

7.1. Introducción

El tratamiento de los efluentes textiles es sumamente necesario para cumplir con las normas legales de vertido y permitir la reutilización de los efluentes tratados para riego o dentro de los procesos de la industria. Las eficiencias en la remoción de colorantes aplicando numerosos métodos de tratamiento se reportan generalmente sobre soluciones acuosas coloreadas *modelo* (colorantes disueltos en agua corriente, agua desionizada, agua destilada, entre otras). Si bien estos estudios son sumamente útiles a fines de caracterizar los sistemas de tratamiento, no permiten lograr un entendimiento completo del desempeño de los mismos en una matriz real, que contiene agentes reductores, productos químicos de acabado y otras sales auxiliares orgánicas e inorgánicas.

En este contexto, es relevante la evaluación de las tecnologías de remoción de colorantes sobre efluentes textiles artificiales o simulados. Uno de los motivos principales del uso de efluentes simulados en ensayos de investigación es la ausencia fuentes locales y permanentes de efluentes textiles reales. Otra razón, no menos importante, es la necesidad de mantener una composición constante del efluente no tratado con el fin de realizar comparaciones válidas entre sistemas de tratamiento o bajo diferentes condiciones de reacción [1], [2].

Los efluentes textiles sintéticos se preparan utilizando diferentes químicos, comúnmente presentes en los efluentes textiles reales, en concentraciones específicas. Un efluente residual textil típico de estampado, teñido y acabado, se caracteriza por presentar valores de pH alcalinos, sólidos en suspensión entre 200 y 400 mg L⁻¹, valores de DQO entre 1500 y 2500 mg L⁻¹, presencia de color y valores de conductividad que varían entre 2 y 5 mS cm⁻¹ [3]. Existen reportes en la literatura sobre la preparación de efluentes

textiles simulados, presentando una amplia variedad de composiciones y concentraciones correspondientes [2], [4], [5], [6], [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16].

Diversos autores han preparado efluentes textiles sintéticos, mezclando colorantes, diferentes químicos y nutrientes en solución acuosa. El objetivo principal es acercarse a las características de un efluente real, que contiene diversos químicos y auxiliares que se incorporan en los distintos pasos del proceso de manufactura textil. Yaseen y Scholz (2019) han realizado una interesante revisión bibliográfica acerca de la composición de los efluentes textiles sintéticos que han sido tratados ya sea por métodos físicos, químicos y biológicos [17].

Alaton (2002) estudió la eficiencia de ciertos POAs para el tratamiento de efluentes simulados. Estas soluciones estaban compuestas por una mezcla de 5 colorantes y diferentes auxiliares: ácido acético (neutralización), cloruro de sodio (electrolito para la agregación de colorantes sobre el tejido), carbonato de sodio (buffer), hidróxido de sodio (produce enlaces covalentes entre colorantes y el tejido), microdispersión de copolímeros a base de poliéter (agente antiarrugas), mezcla de fósforo y copolímero acrílico (agente secuestrante) y poliglicol éter de alquilfenol (detergente) en concentraciones similares a las de un efluente real de una fábrica de textiles de algodón [18].

En el Capítulo VI se presentó el estudio del sistema catalítico en remoción de RAS y NII en soluciones individuales modelo. En este capítulo se presenta la aplicación del sistema catalítico en la remoción de soluciones mezcla de RAS y NII en soluciones modelo y en un efluente simulado. En función de la literatura revisada se definió una composición para la preparación de un efluente textil sintético. Se estudió la eficiencia del sistema bajo estudio utilizando el sólido multicatalítico sintetizado y H_2O_2 como agente oxidante para el tratamiento del efluente artificial. Se analizaron efectos de las concentraciones del agente oxidante, de los colorantes y del catalizador. Asimismo, se evaluó el reuso del catalizador tanto en un sistema modelo como en la matriz de efluente simulado.

7.2. Materiales y métodos

7.2.1. Reactivos

Acetato de sodio (CH_3COONa), cloruro de magnesio hexahidratado ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), cloruro de calcio anhidro ($CaCl_2$), cloruro de zinc ($ZnCl_2$), sulfato de manganeso monohidratado ($MnSO_4 \cdot H_2O$), cloruro cúprico ($CuCl_2$) y sulfato ferroso heptahidratado

($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) fueron adquiridos en Cicarelli (Santa Fe, Buenos Aires). Cloruro de sodio (NaCl), potasio fosfato dibásico anhidro (K_2HPO_4) e ioduro de potasio (KI) fueron comprados en Anedra (Buenos Aires, Argentina). Sulfato de cobalto heptahidratado ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) fue provisto por Timper (Buenos Aires, Argentina). Ácido bórico (H_3BO_3) fue comprado a Mallinckrodt (Phillipsburg, Estados Unidos). Molibdato de sodio dihidratado 99,5% ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) se obtuvo de Alfa (Bogotá, Colombia). RAS y NII fueron provistos por Biopack (Buenos Aires, Argentina). Tris buffer fue obtenido de Anedra (Buenos Aires, Argentina). El ácido clorhídrico 36,5-38% fue provisto por Cicarelli (Santa Fe, Argentina). Todos los reactivos fueron usados sin purificación. El agua destilada utilizada fue preparada en destilador propio del laboratorio del grupo de Catálisis.

7.2.2. Composición de la matriz de efluente simulado

La composición y las concentraciones correspondientes de cada componente se presentan en la Tabla 7.1. Se tomó como base la propuesta presentada en el artículo de revisión publicado por Yaseen y Scholz (2019), en el cual se recopilan características de efluentes reales y los constituyentes reportados por diversos autores [17], y se adaptó tanto la composición como las concentraciones.

Diferentes compuestos como almidón [7], [9], glucosa [2], [4], [6], [7], [9], [10], [12], [13], [14], [16], sacarosa [19], dextrina [19], ácido acético [7], [17], [19] y carboximetilcelulosa [7] son agregados en los efluentes simulados como fuente de carbono y simulan agentes de encolado. Para los tratamientos biológicos, estas sustancias, junto con medios de cultivo (que incluyen peptona, extracto de carne, levadura, agar, cloruro de sodio) se incorporan para favorecer el crecimiento microbiano [2], [4], [5], [7], [16]. La composición propuesta por Yaseen y Scholz (2019) incluye nitrato de amonio como fuente de nutrientes dado que se busca que el efluente sintético cumpla con los requisitos para ser aplicado en sistemas de tratamiento biológico [17].

El benzoato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COONa}$), otro de los componentes propuestos, se utiliza generalmente para simular contaminantes aromáticos presentes en los efluentes textiles. En el presente trabajo se prescindirá del mismo, dado que se utilizarán los colorantes (RAS y NII) como compuestos aromáticos y fuentes de carbono.

Las sales, como cloruro de sodio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y fosfato de sodio, cumplen la función principal de mejorar la fijación entre los colorantes y el

tejido. El cloruro de sodio es ampliamente reportado como componente de un efluente textil simulado, presentándose en el 72% de la bibliografía revisada. Los cloruros generan la principal contribución a los valores de conductividad de las aguas residuales. Algunos valores de conductividad (en mS cm^{-1}) reportados en efluentes textiles artificiales son: 1 [8], $5,844 \pm 0,194$ [13], 5 [2], 3 [16]. El valor de concentración de NaCl en la matriz de efluente propuesto es bajo respecto a otros valores reportados en la literatura, dado que la composición establecida contiene otros cloruros que aportan a la conductividad.

El carbonato de sodio y bicarbonato de sodio son compuestos también reportados en la preparación de aguas residuales textiles simuladas. Son utilizados como agentes de fijación [18] y como reguladores de pH. El hidróxido de sodio también se utiliza como agente de hidrólisis para controlar pH [7], [8], [19]. Considerando que se utilizará un buffer y como agente de fijación se seleccionó el acetato de sodio, se prescindirá de estos componentes.

Sales inorgánicas como cloruros y sulfatos de calcio y magnesio, se utilizan como fuentes de iones calcio y magnesio en efluentes artificiales para simular valores determinados de dureza. En este trabajo se utilizará cloruro de calcio dihidratado [6], [9], [14], [20], [21] y cloruro de magnesio hexahidratado [6], [15], [16], [17]. El ácido bórico se ha reportado como agente blanqueador [10] y ha sido utilizado como componente de efluente textil simulado [4], [9], [14], [15], [16].

Como fuente de elementos traza, se incorporan sustancias como cloruro ferroso, cloruro de zinc, cloruro de manganeso, cloruro de cobre, molibdato de sodio, cloruro de cobalto e ioduro de potasio [17]. Estos serán añadidos al efluente simulado en el presente trabajo. También se reportan sulfato de zinc [2], [4], [5], [6], [9], [13], sulfato de magnesio [4], [5], [9], [10], [12], [20], [21], sulfato de cobre [2], [6], [9], [13], cloruro de manganeso [9] y cloruro de calcio [4], [5], [12], [15], [16].

Se explorará el agregado de sulfato ferroso, considerando que podrían generarse radicales sulfato ($\text{SO}_4^{\bullet-}$). Los mismos tienen un valor alto de potencial de oxidación y pueden reaccionar efectivamente con compuestos orgánicos en un amplio rango de pH (2-9) con alta selectividad hacia grupos donadores de electrones y elevado tiempo de vida media [22]. Algunos otros componentes, que no se seleccionaron, son el ácido sulfúrico, utilizado como agente neutralizante [7] y urea, utilizada principalmente en los procesos de estampado de colorantes reactivos [20], [21].

Tabla 7.1 – Composición y concentraciones de una matriz de efluente simulado.

Sustancia	Fórmula química	Concentración definida (mg L ⁻¹)	Función	Concentraciones reportadas (mg L ⁻¹)
Acetato de sodio	CH ₃ COONa	204,9	Fuente de carbono y agente de encolado. Mejora la fijación de los colorantes	204,9 [17]
Cloruro de sodio	NaCl	7	Agente de fijación entre colorantes y tejidos, utilizado principalmente en procesos de teñido y estampado. También se utiliza como agente de desencolado.	7 [17]; 100 [4]; 500 [7]; 300-1500 [8]; 7 [20]; 7 [21]; 100 [23]; 1000 [9]; 250 [11]; 500 [13]; 500 [2]; 500 [15]; 400-500 [16];
Cloruro de magnesio hexahidratado	MgCl ₂ 6H ₂ O	3,4	Fuente de ion magnesio	3,4 [17] ;3,4 [6]; 50 [15]; 50 [16];
Cloruro de calcio anhidro	CaCl ₂	3,0	Fuente de ion calcio	4 [17]; 4 [6]; 4 [20]; 4 [21]; 30 [9]; 22 [14]. Corresponden a CaCl ₂ 2H ₂ O.
Potasio fosfato dibásico anhidro	K ₂ HPO ₄	37	-	37 (K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O) [17]; 1600 [4]; 37 [6]; 28 [20]; 28 [21]; 250 [9]; 37 [13]; 37 [2]; 37 [14]; 56,2 [15]; 56,2 [16]
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,15	Agente blanqueador	150 [17]; 2000 [4]; 1 [9]; 0,35 [14]; 0,5 [15]; 0,5 [16];
Cloruro de zinc	ZnCl ₂	0,12	Fuente de elementos traza	120 [17]; 0,1 [12]; 0,05 [14]; 5 [15]; 5 [16];
Sulfato de manganeso monohidratado	MnSO ₄ H ₂ O	0,10	Fuente de elementos traza	120 (MnCl ₂ ·4H ₂ O) [17]; 0,5 (MnCl ₂ ·4H ₂ O) [14]; 5 (MnCl ₂ ·4H ₂ O) [15]; 5 (MnCl ₂ ·4H ₂ O) [16]; 0,0005 (MnCl ₂) [9]
Cloruro cúprico	CuCl ₂	0,02	Fuente de elementos traza	30 [17]; 0,038 [14]; 5 [15]; 5 [16]. Corresponden a CuCl ₂ ·2H ₂ O.
Sulfato de cobalto heptahidratado	CoSO ₄ 7H ₂ O	1,8	Fuente de elementos traza	150 (CoCl ₂ ·6H ₂ O) [17]; 1 [2]; 1 (CoCl ₂ ·6H ₂ O) [14]; 5 (CoCl ₂ ·6H ₂ O) [15]; 5 [16]; 0,5457 (CoCl ₂) [6]; 0,1 (CoCl ₂) [12]
Molibdato de sodio dihidratado	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,07	Fuente de elementos traza	60 (Na ₂ MoO ₄) [17]; 250 [4]; 2 [15]; 2 (Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O) [16]
Ioduro de potasio	KI	0,03	Agente de acabado	30 [17]
Sulfato ferroso heptahidratado	FeSO ₄ 7H ₂ O	5,92	Fuente de elementos traza	5,92 [6]; 50 [9]; 5,92 [13]; 5,92 [2]
Colorantes	RAS NII	5 a 50 mg L ⁻¹ de cada colorante	Utilizados en etapa de teñido/estampado	

En primer lugar se prepararon soluciones madre de ácido bórico ($156,00 \text{ mg L}^{-1}$), cloruro de zinc ($376,00 \text{ mg L}^{-1}$), sulfato de manganeso monohidratado ($114,00 \text{ mg L}^{-1}$), cloruro cúprico ($25,00 \text{ mg L}^{-1}$), molibdato de sodio dihidratado ($76,42 \text{ mg L}^{-1}$) e ioduro de potasio ($30,80 \text{ mg L}^{-1}$). En 100 mL de agua destilada se agregó el volumen correspondiente de cada solución madre y las masas correspondientes del resto de los componentes del efluente simulado propuesto. Se mantuvo bajo agitación magnética hasta disolución total. Luego se llevó a 250 mL. Se obtuvieron concentraciones tales que, al agregar 1,25 mL de la solución matriz de efluente simulado en el volumen de reacción (4 mL), se alcancen las concentraciones reportadas en Tabla 7.1.

7.2.3. Caracterización de soluciones mezcla de colorantes en matriz de efluente simulado

Se caracterizaron, mediante espectroscopía UV-Vis, las soluciones mezcla de colorantes en buffer Tris-HCl pH 9,4. Las proporciones de colorantes estudiadas se presentan en la Tabla 7.2. Se analizaron además, soluciones iniciales y finales (6 h) de las mezclas de colorantes para todas las proporciones en la matriz del efluente simulado (pH 9,4 en buffer Tris-HCl; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; agitación magnética 200 rpm).

Tabla 7.2 – Concentraciones y proporciones de colorantes a explorar en solución.

Solución	[RAS] (mg L^{-1})	[NII] (mg L^{-1})	Proporción RAS:NII
A	5	5	50:50
B	5	27,5	15:85
C	27,5	5	85:15
D	27,5	50	35:65
E	50	27,5	65:35
F	5	50	9:91
G	50	5	91:9

7.2.4. Diseño experimental Box Behnken

Las técnicas de análisis multivariado son frecuentemente aplicadas en la optimización de métodos analíticos considerando sus ventajas tales como reducción en el número de experimentos requeridos, menor consumo de reactivos y considerablemente menor trabajo de laboratorio. Particularmente, los diseños Box-Behnken suelen tener menos puntos de diseño que los diseños compuestos centrales, por lo que son menos

costosos de ejecutar con la misma cantidad de factores experimentales. Fueron creados por George E. P. Box y Donald Behnken en 1960. Los diseños Box-Behnken siempre tienen 3 niveles por factor, a diferencia de los diseños compuestos centrales que pueden tener hasta 5. Además, a diferencia de los diseños compuestos centrales, los diseños Box-Behnken nunca incluyen corridas donde todos los factores están en su configuración extrema, ni en todos los niveles bajos.

Se utilizó el software Design Expert 10 para la creación y análisis del diseño experimental Box-Behnken. Los factores experimentales seleccionados se detallan en la Tabla 7.3. Todas las corridas del diseño experimental se encuentran en la Tabla 7.4.

Tabla 7.3 - Factores experimentales y niveles para cada uno de ellos.

Factor experimental	Unidad	Niveles		
		-	0	+
[H ₂ O ₂]	mM	0,5	2,75	5
Catalizador ¹	mg	42,0	102,1	162,2
[RAS]	mg L ⁻¹	5	27,5	50
[NII]	mg L ⁻¹	5	27,5	50

Nota: ¹ El volumen de reacción fue de 4 mL, por lo que las concentraciones del catalizador (en peso seco) exploradas corresponden a 10,5, 25,5 y 40,6 g L⁻¹.

Tabla 7.4 – Corridas del diseño experimental Box Behnken (volumen 4 mL; 30 °C; pH 9,4 en buffer Tris-HCl; 200 rpm; 6 h).

Corridas	H₂O₂ (mM)	Catalizador (mg)	RAS (mg L⁻¹)	NII (mg L⁻¹)
1	2,75	102,1	27,5	27,5
2	0,5	102,1	27,5	50
3	2,75	102,1	27,5	27,5
4	2,75	102,1	27,5	27,5
5	2,75	102,1	50	5
6	0,5	102,1	50	27,5
7	5	162,2	27,5	27,5
8	0,5	162,2	27,5	27,5
9	5	102,1	27,5	50
10	2,75	162,2	27,5	50
11	2,75	102,1	5	5
12	0,5	102,1	5	27,5
13	2,75	102,1	5	50
14	2,75	42,0	50	27,5
15	2,75	162,2	50	27,5
16	5	102,1	5	27,5
17	2,75	102,1	27,5	27,5
18	2,75	42,0	27,5	50
19	2,75	42,0	5	27,5
20	2,75	102,1	50	50
21	5	102,1	27,5	5
22	0,5	102,1	27,5	5
23	5	42,0	27,5	27,5
24	2,75	42,0	27,5	5
25	2,75	162,2	27,5	5
26	5	102,1	50	27,5
27	0,5	42,0	27,5	27,5
28	2,75	162,2	5	27,5

Las reacciones se llevaron a cabo en viales de vidrio tapados, con una malla de fibra de vidrio que evitó el contacto del catalizador con la barra magnética. Se colocó la masa correspondiente de catalizador y se agregó la solución inicial de reacción inmediatamente luego de prepararla. La misma (4 mL) estuvo compuesta de los colorantes, la matriz de efluente simulado y H₂O₂ en buffer Tris-HCl pH 9,4. Las concentraciones de los componentes que simulan un efluente textil se mantuvieron constantes en todas las reacciones, mientras que las concentraciones de catalizador, de los colorantes y del agente oxidante variaron en función del diseño experimental. La reacción inició al colocar la solución inicial en el vial que contenía el catalizador. La concentración de la solución madre utilizada de H₂O₂ se verificó mediante permanganometría.

Las variables de respuesta utilizadas se clasificaron en dos grupos de acuerdo al método de cálculo.

- Directas. Calculadas a partir de valores de absorbancia en picos específicos de los espectros de absorción UV-Vis correspondientes a las soluciones iniciales y a 6 h de reacción.
 - Variación de absorbancia en pico principal (localizado entre 486 y 509 nm en función de la concentración y proporción inicial de los colorantes) calculada según Ecuación 7.1.

Ecuación 7.1 – Cálculo de la variación de absorbancia en el pico principal (entre 486-509 nm).

$$\Delta Abs_{\text{pico principal}} = Abs_{0 \text{ en pico principal}} - Abs_{6 \text{ h en pico principal}}$$

- Variación de absorbancia del pico a 262 nm (cuyo principal aporte corresponde a la estructura antraquinónica del RAS) calculada según Ecuación 7.2.

Ecuación 7.2 – Cálculo de la variación de absorbancia en el pico localizado a 262 nm.

$$\Delta Abs_{a \text{ 262 nm}} = Abs_{0 \text{ a 262 nm}} - Abs_{6 \text{ h a 262 nm}}$$

Las variaciones de absorbancia deben entenderse como una disminución de las mismas, considerando que en todas las reacciones realizadas las absorbancias tanto en el pico principal como en el pico a 262 nm disminuyen.

- Indirectas. Calculadas a partir de la absorbancia inicial de cada colorante en la solución de reacción (determinada a partir de la concentración inicial conocida de cada colorante y sus curvas de calibrado a pH 9,4 reportadas en el Capítulo III) y

la absorbancia final obtenida mediante la deconvolución de los espectros de absorción UV-Vis a 6 h de reacción.

- Remoción de RAS (mg L^{-1}) calculada según Ecuación 7.3.

Ecuación 7.3 – Cálculo de la remoción de RAS (mg L^{-1}).

$$\text{Remoción RAS (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{Abs}_{0 \text{ RAS}} - \text{Abs}_{6 \text{ h RAS}})}{\text{Abs}_{0 \text{ RAS}}} * [\text{RAS}]_0$$

- Remoción de NII (mg L^{-1}) calculada según Ecuación 7.4.

Ecuación 7.4 – Cálculo de la remoción de NII (mg L^{-1}).

$$\text{Remoción de NII (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{Abs}_{0 \text{ NII}} - \text{Abs}_{6 \text{ h NII}})}{\text{Abs}_{0 \text{ NII}}} * [\text{NII}]_0$$

Las deconvoluciones se realizaron utilizando el software Origin Pro 2018. Se tuvieron las siguientes consideraciones:

- (a) Las longitudes de onda características de absorción de cada colorante fueron conocidas mediante caracterización UV-Vis de los colorantes en solución (Capítulo III).
- (b) Se utilizó línea de base constante para realizar todas las deconvoluciones.
- (c) Se identificó, en el Capítulo VI, que el sistema bajo estudio tiene mayor capacidad de remoción de RAS que de NII.

Se obtuvieron estadísticamente los modelos que ajustan a los datos experimentales a través del test ANOVA. El objetivo fue verificar que los datos experimentales expliquen las respuestas, para luego encontrar los valores de los factores experimentales que maximicen la remoción de los colorantes en términos de las variables de respuestas definidas. Se identificaron los parámetros óptimos de reacción maximizando las 4 variables de respuesta. Bajo estos valores de los factores experimentales, se realizó una reacción de validación experimental de las variables de respuesta directas arrojados por el modelo. Se utilizó catalizador del mismo batch empleado para el diseño experimental y un batch de síntesis diferente.

7.2.5. Efectos del pH, temperatura y agitación

Los ensayos adicionales para evaluar el efecto del pH, la temperatura y el método de agitación se presentan en la Tabla 7.5. Se realizaron las reacciones de remoción de RAS y NII en la matriz del efluente simulado con el catalizador y H_2O_2 como agente oxidante

en agua destilada (sin control de pH). Se realizaron a 30 °C a fin de comparar con los resultados obtenidos previamente. Se estudió además el efecto del aumento de la temperatura (a 40 y 50 °C) en la reacción realizada en agua destilada.

Con el fin de evaluar el efecto de la matriz de efluente simulado, se realizaron reacciones de remoción de RAS, NII y RAS/NII en soluciones modelo (sin matriz de efluente simulado).

Tabla 7.5 – Reacciones realizadas para evaluar el efecto de la agitación ($[H_2O_2] = 2,75$ mM; volumen de reacción = 4 mL; Matriz de efluente simulado (MEF) = 1,25 en 4 mL de reacción; 6 h). La composición de la matriz de efluente simulado se presentó anteriormente.

	[catalizador] (g/L)	[RAS] (mg/L)	[NII] (mg/L)	Medio	pH	T (°C)	Agitación (rpm)
1	25,6	50	50	MEF	9,4	30	200 ^a
2	40,6	50	50	MEF	9,4	30	200 ^a
3	40,6	50	50	MEF	7,6	30	200 ^a
4	40,6	50	50	MEF	7,6	40	200 ^a
5	40,6	50	50	MEF	7,6	50	200 ^a
6	40,6	50	50	MEF	9,4	30	200 ^b
7	40,6	50	-	MOD	9,4	30	200 ^b
8	40,6	-	50	MOD	9,4	30	200 ^b
9	40,6	50	50	MOD	9,4	30	200 ^b
10	-	50	50	MEF	9,4	30	200 ^b

Nota: ^a agitación con barra y placa magnética y control de temperatura con baño termostatzado.
^b agitación y control de la temperatura en shaker.

7.2.6. Reúso

El catalizador utilizado en la decoloración de soluciones mezcla de RAS y NII, en matriz de efluente simulado y en sistema modelo, se aplicó en varios ciclos de reúso. Las condiciones de reacción fueron $[RAS] = 50$ mg L⁻¹; $[NII] = 50$ mg L⁻¹; $[H_2O_2] = 2,75$ mM; $[catalizador] = 40,6$ g L⁻¹ (la masa corresponde a peso seco); pH 9,4 en buffer Tris-HCl; volumen de reacción = 8 mL; agitación 200 rpm en shaker.

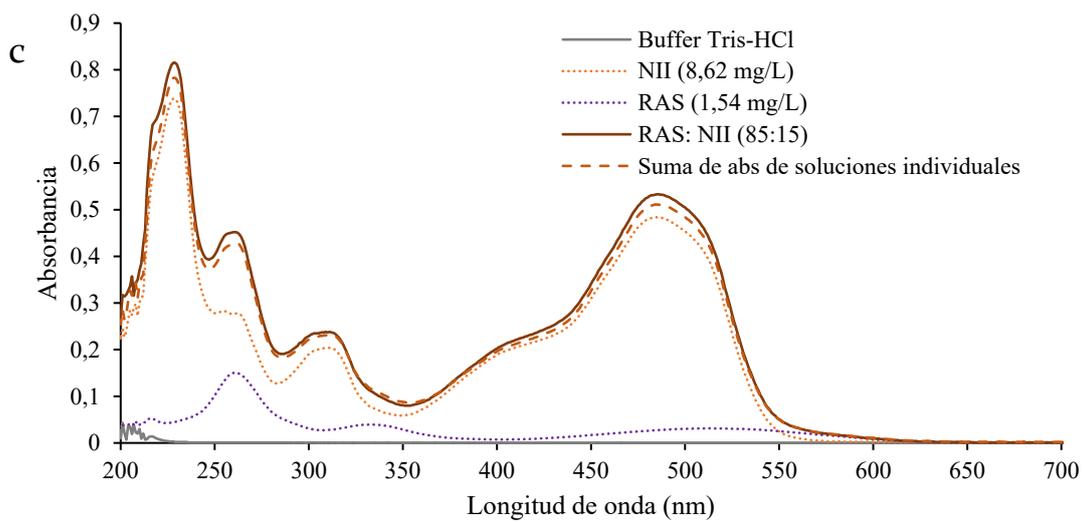
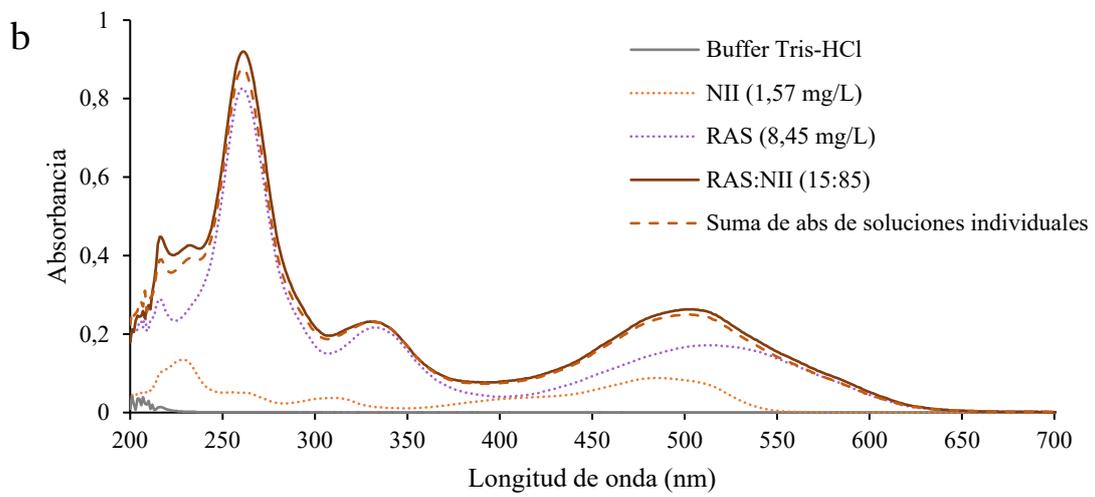
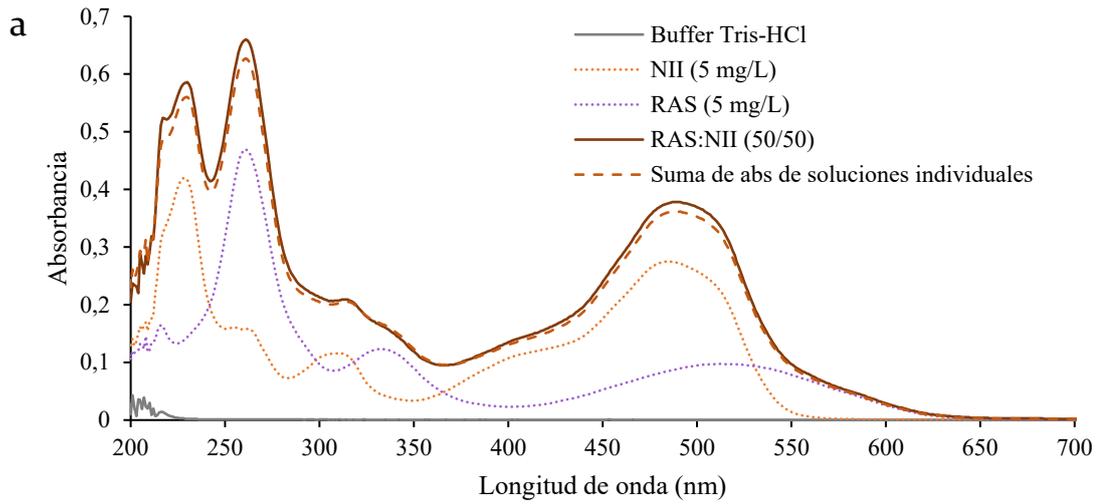
Se realizaron 5 y 4 ciclos de reúso para el catalizador aplicado en sistema simulado y modelo, respectivamente. Luego de cada reacción, las esferas se retiraron, se lavaron con 30 mL de agua destilada y se almacenaron en 5 mL de agua destilada por 12 h hasta el ciclo posterior.

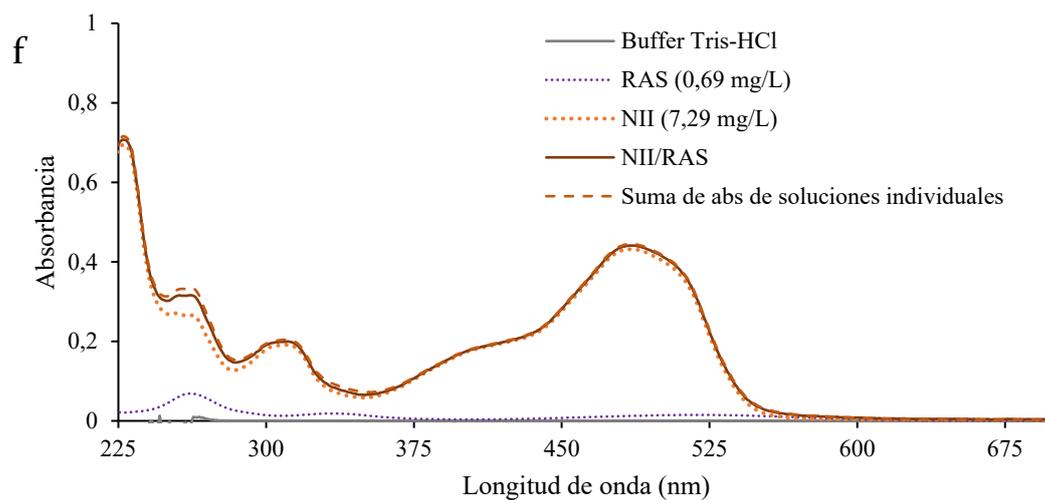
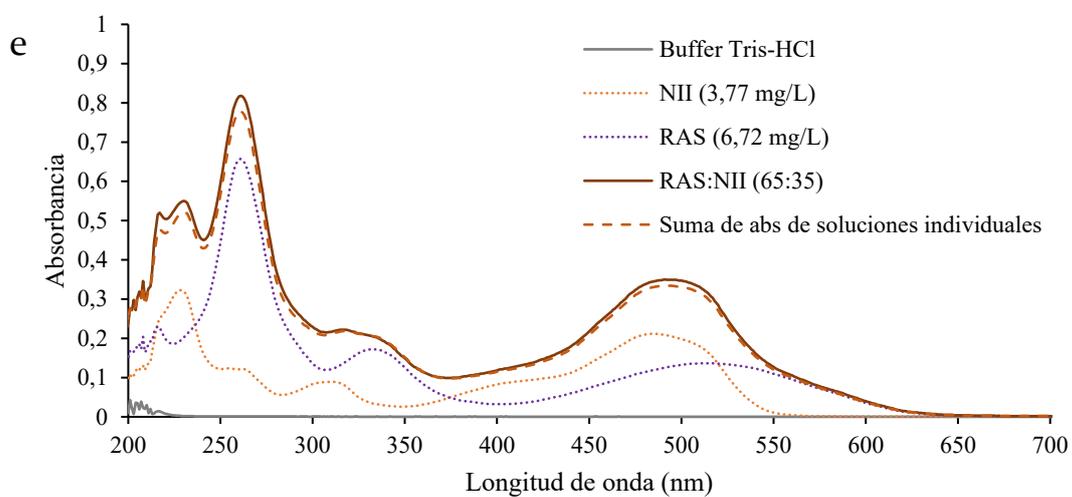
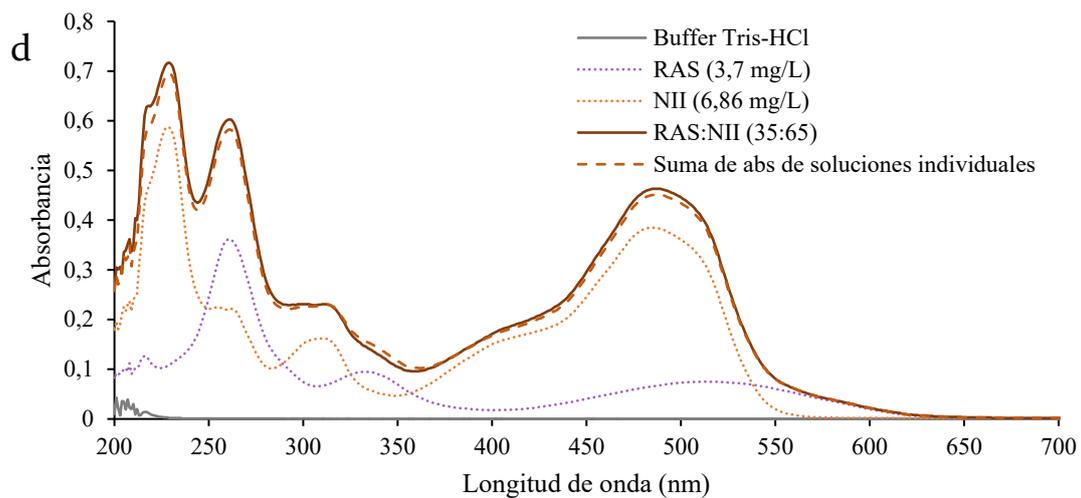
7.3. Resultados

7.3.1. Soluciones mezcla de colorantes

Se estudiaron los espectros de absorción UV-Vis de soluciones mezcla de colorantes (RAS y NII) en las proporciones definidas (Figura 7.1 a-g). Se verificó que el espectro de las soluciones mezcla de los colorantes representan la suma de las absorbancias de las soluciones individuales (la máxima diferencia encontrada fue del 5%).

En función de los espectros de las soluciones mezcla de colorantes se definieron dos bandas características: a 262 nm (con principal aporte de RAS) y la banda principal presente entre 486 y 509 nm. La longitud de onda de absorbancia máxima de la banda principal varió en función de las proporciones de cada colorante. Se encontró más cerca de 486 nm cuando NII era el colorante predominante y más cerca de 509 nm cuando RAS estaba en mayor proporción. En el material suplementario del artículo de Nicolás et al. (2021) se reportan como máximos de absorbancia en 260 nm y 490 nm para soluciones mezcla de RAS y NII (62,5 mg L⁻¹ de cada colorante, proporción 50:50) ([24]).





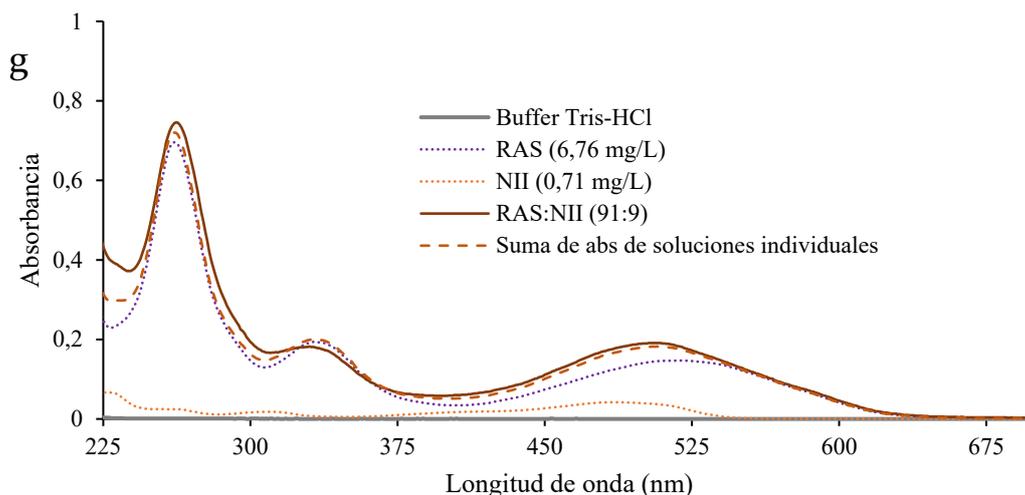


Figura 7.1 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones mezcla de RAS:NII en proporciones: (a) 50:50 (sin dilución); (b) 85:15; (c) 15:85; (d) 35:65; (e) 65:35; (f) 9:91; (g) 91:9.

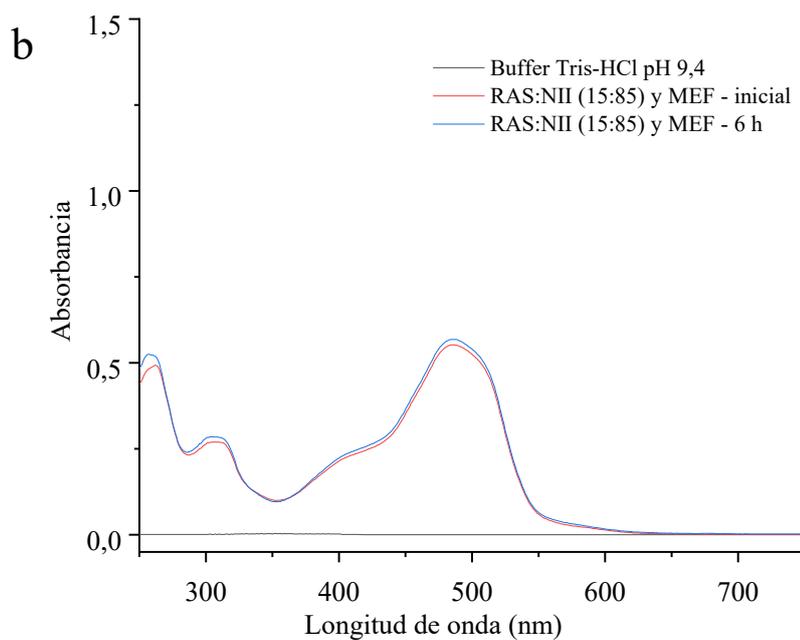
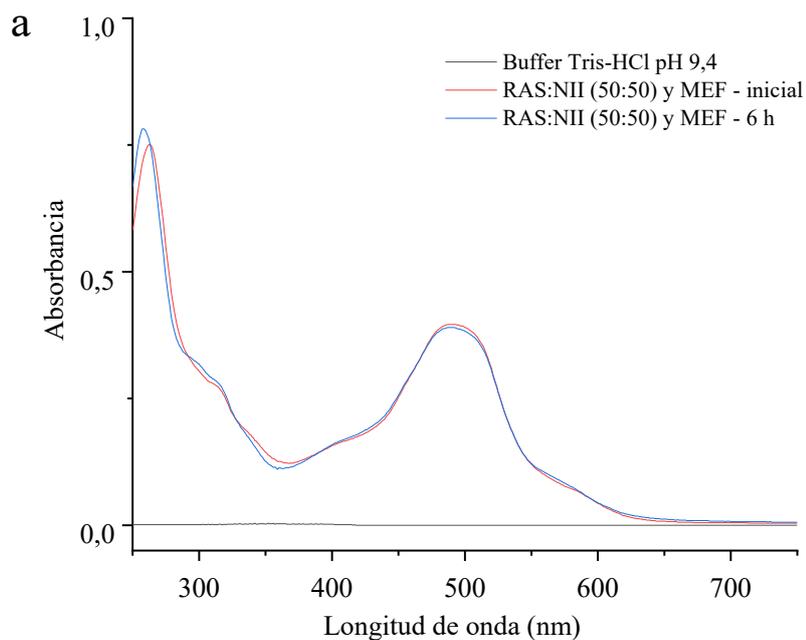
Las concentraciones experimentales de la matriz de efluente simulado se presentan en la Tabla 7.6.

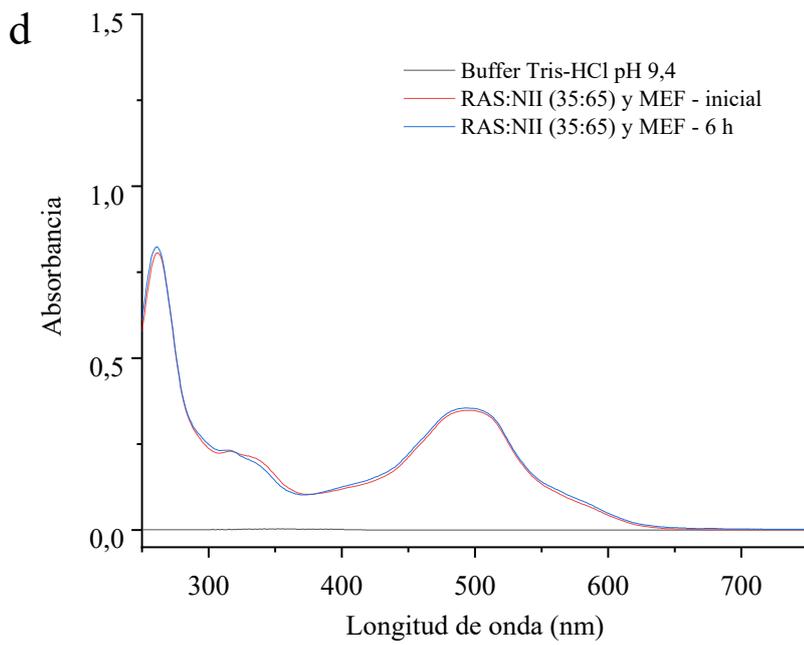
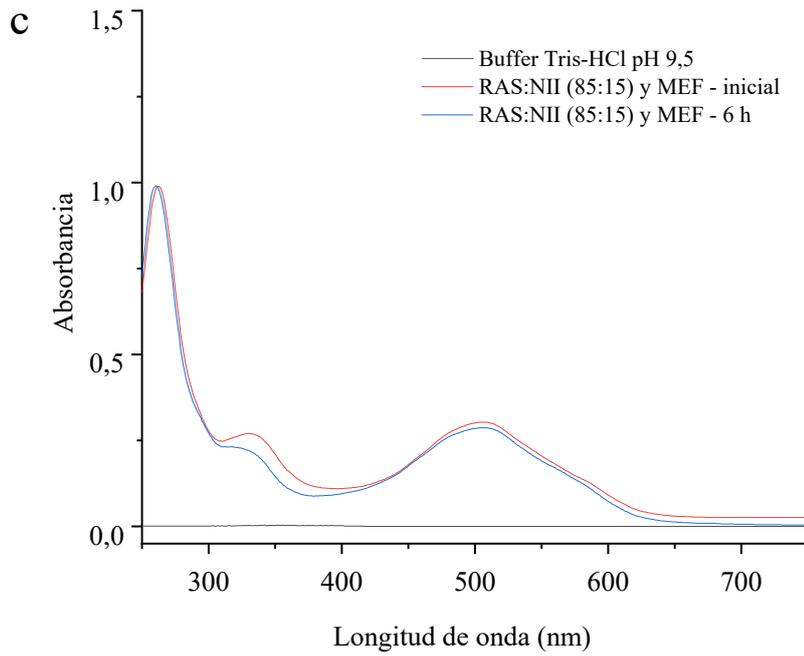
Tabla 7.6 - Concentraciones experimentales obtenidas en la matriz de efluente simulado.

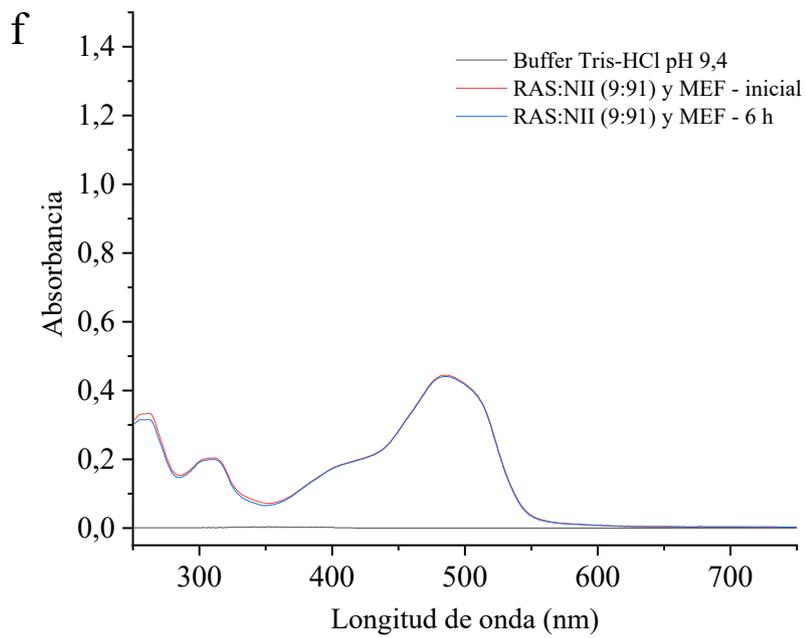
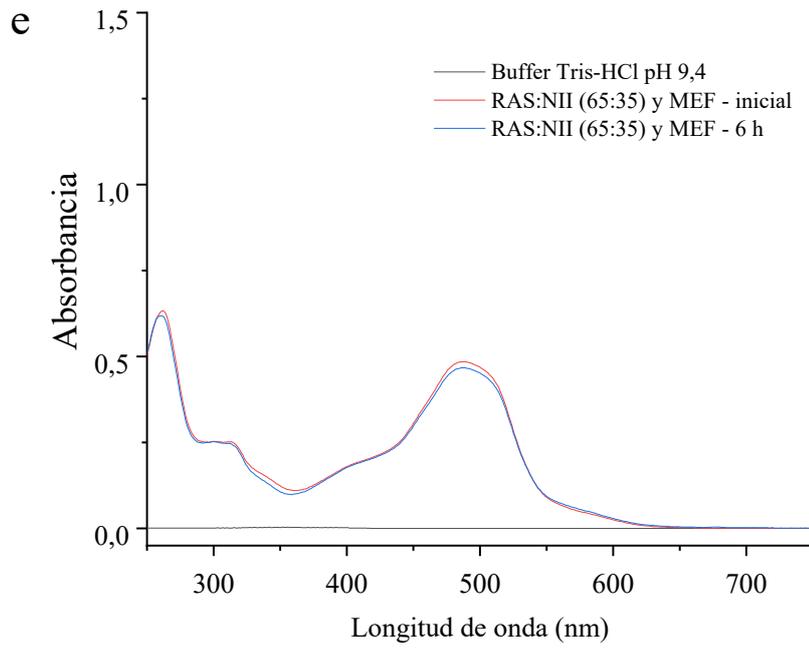
Sustancia	Concentración en solución madre de la matriz de efluente simulado (mg L ⁻¹)	Concentración en reacción al tomar 1,25 mL de solución madre y llevar a 5 mL ¹ (mg L ⁻¹)	Error experimental respecto a concentración esperada (%)
Acetato de sodio	819,72	204,93	0,01
Cloruro de sodio	28,32	7,08	1,14
Cloruro de magnesio hexahidrato	14,28	3,57	5,00
Cloruro de calcio anhidro	12,52	3,13	3,64
Potasio fosfato dibásico anhidro	149,04	37,26	0,70
Ácido bórico	0,59	0,15	1,20
Cloruro de zinc	0,48	0,12	0,27
Sulfato de manganeso monohidrato	0,41	0,10	0,12
Cloruro cúprico	0,10	0,02	0,38
Sulfato de cobalto heptahidrato	7,08	1,77	0,13
Molibdato de sodio dihidrato	0,28	0,07	2,44
Ioduro de potasio	0,12	0,03	2,47
Sulfato ferroso heptahidrato	24,12	6,03	1,86

Nota: ¹ Se prepararon 5 mL, de los cuales 1 mL se utilizó para análisis por espectroscopía UV-Vis y los 4 mL restantes corresponden al volumen de reacción.

Los espectros de absorción UV-Vis, iniciales y a 6 h, de las soluciones mezcla de colorantes en las proporciones RAS:NII estudiadas y la matriz de efluente simulado con las concentraciones en reacción, permiten establecer que no hay interferencias entre los componentes seleccionados para simular un efluente textil y los colorantes, en ausencia de H₂O₂ y el catalizador (Figura 7.2).







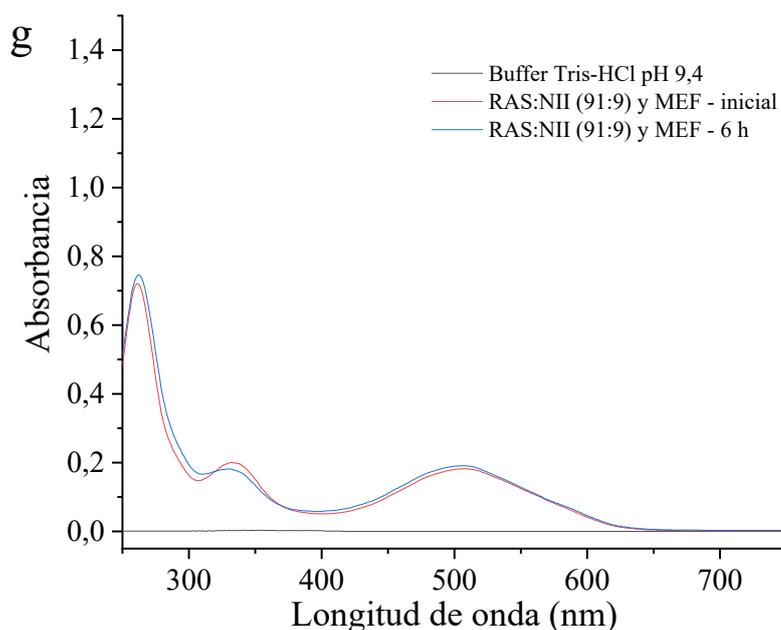


Figura 7.2 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones con mezcla de colorantes y matriz de efluente simulado a tiempo inicial y a 6 h para las proporciones de RAS:NII iguales a: (a) 50:50; (b) 15:85; (c) 85:15; (d) 35:65; (e) 65:35; (f) 9:91; (g) 91:9 (pH 9,4; 30 °C; agitación 200 rpm).

7.3.2. Decoloración de soluciones RAS:NII en matriz de efluente simulado

La Tabla 7.7 muestra la matriz del diseño experimental junto con los valores obtenidos para las respuestas seleccionadas: (I) variación de la absorbancia a 262 nm; (II) variación de la absorbancia en el pico principal (localizado entre 486 y 509 nm, en función de la concentración y proporción de los colorantes en solución); (III) remoción de RAS (mg L^{-1}); y (IV) remoción de NII (mg L^{-1}).

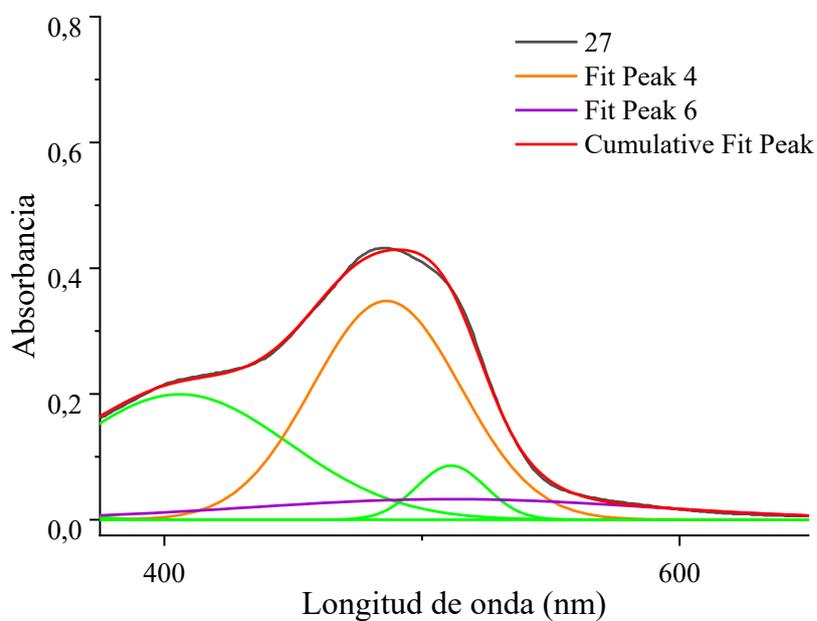
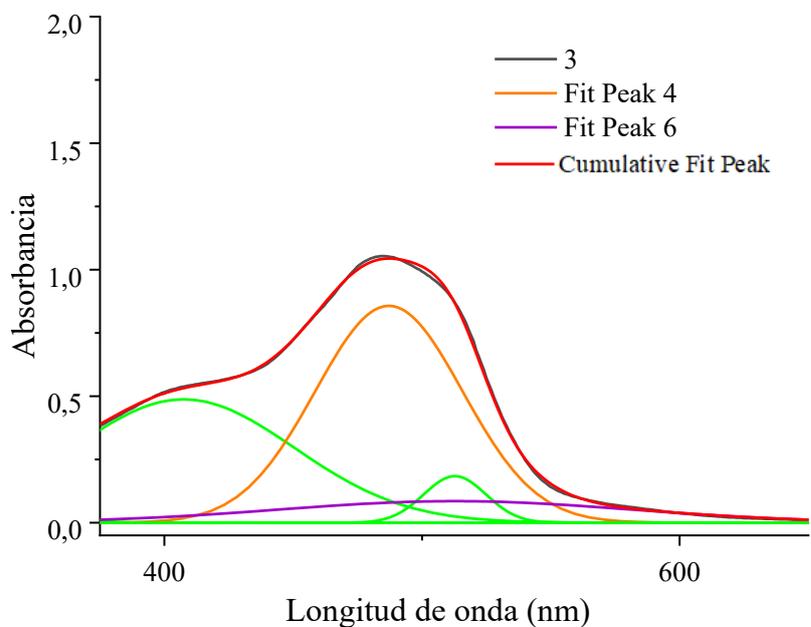
Tabla 7.7 – Resultados obtenidos para las variables de respuestas correspondientes a cada corrida del diseño experimental Box Behnken (pH 9,4; 30 °C; agitación magnética 200 rpm; 6 h).

Corrida	H ₂ O ₂ (mM)	Catalizador (mg)	RAS (mg L ⁻¹)	NII (mg L ⁻¹)	(I) ΔAbs a 262 nm	(II) ΔAbs en pico ppal.	(III) RAS removido (mg L ⁻¹)	(IV) NII removido (mg L ⁻¹)
1	2,75	102,1	27,5	27,5	0,305	0,154	23,51	13,10
2	0,5	102,1	27,5	50	0,216	0,169	20,46	16,69
3	2,75	102,1	27,5	27,5	0,287	0,151	22,54	13,48
4	2,75	102,1	27,5	27,5	0,285	0,143	22,65	13,44
5	2,75	102,1	50	5	0,469	0,126	32,66	3,43
6	0,5	102,1	50	27,5	0,459	0,168	38,79	9,45
7	5	162,2	27,5	27,5	0,307	0,186	26,11	15,53
8	0,5	162,2	27,5	27,5	0,348	0,176	24,50	14,44
9	5	102,1	27,5	50	0,319	0,226	22,89	23,89
10	2,75	162,2	27,5	50	0,313	0,254	22,65	26,37
11	2,75	102,1	5	5	0,032	0,033	4,91	3,03
12	0,5	102,1	5	27,5	0,049	0,083	2,76	15,12
13	2,75	102,1	5	50	0,091	0,181	3,45	26,12
14	2,75	42,0	50	27,5	0,423	0,131	34,36	9,67
15	2,75	162,2	50	27,5	0,523	0,222	41,94	14,40
16	5	102,1	5	27,5	0,058	0,118	3,79	14,92
17	2,75	102,1	27,5	27,5	0,313	0,161	23,69	12,93
18	2,75	42,0	27,5	50	0,272	0,151	23,12	14,85
19	2,75	42,0	5	27,5	0,063	0,079	4,17	9,79
20	2,75	102,1	50	50	0,5	0,226	40,66	20,68
21	5	102,1	27,5	5	0,263	0,083	25,11	2,13
22	0,5	102,1	27,5	5	0,26	0,08	20,84	2,56
23	5	42,0	27,5	27,5	0,24	0,124	18,96	7,42
24	2,75	42,0	27,5	5	0,222	0,067	21,83	2,30
25	2,75	162,2	27,5	5	0,282	0,095	25,01	3,79
26	5	102,1	50	27,5	0,491	0,197	39,49	12,76
27	0,5	42,0	27,5	27,5	0,188	0,076	14,93	7,37
28	2,75	162,2	5	27,5	0,073	0,128	4,33	15,75

Nota: Desvío porcentual calculado con las cuatro réplicas para cada variable de respuesta: (I) 4,6%; (II) 4,9%; (III) 2,5%; (IV) 2,0%.

En la Figura 7.3 se presentan los resultados de cuatro deconvoluciones realizadas, a modo de ejemplo. Las bandas asignadas a NII y RAS se presentan en color naranja y violeta, respectivamente. Se asignaron las bandas a cada colorante, considerando las longitudes de onda de absorción característica de cada uno de ellos y conociendo que, para el sistema analizado, el colorante NII es recalcitrante respecto a RAS.

Las deconvoluciones de las reacciones 3 y 27 corresponden a réplicas. Las diferencias en los valores de absorbancia se deben a que la solución de la reacción 3 se analizó por espectroscopía UV-Vis sin dilución, mientras que la solución de la reacción 27 se analizó con una dilución 0,7 mL en 5 mL.



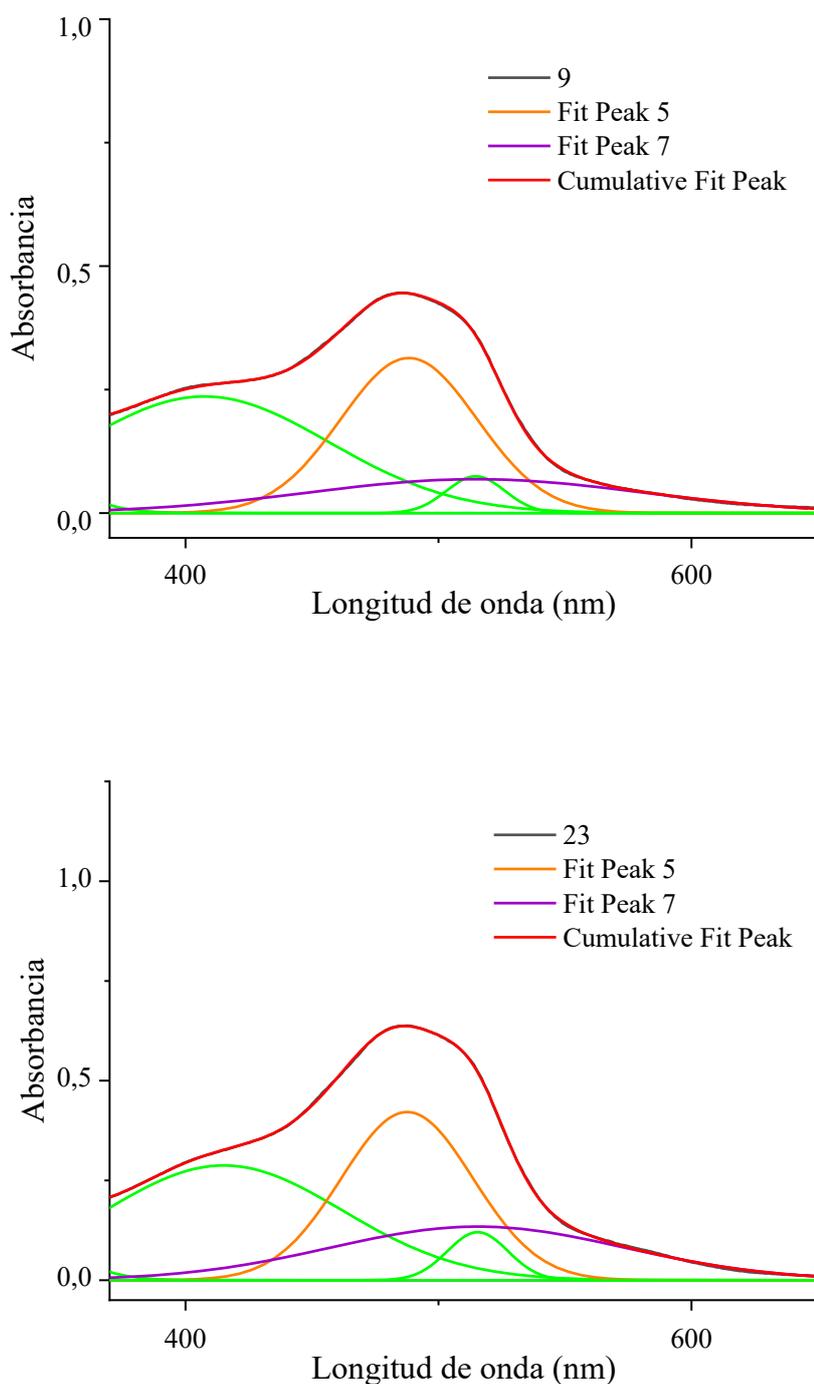


Figura 7.3 – Deconvoluciones realizadas para reacciones 3, 27, 9 y 23 del diseño experimental.

Se presenta a continuación el análisis de cada variable de respuesta. El objetivo del análisis estadístico de los datos fue encontrar un modelo que ajuste a los datos experimentales obtenidos y confirmar el valor arrojado por el modelo bajo valores optimizados de los factores experimentales mediante ensayos. Luego, con la información

obtenida, se realizaron ensayos adicionales utilizando los valores óptimos de los factores experimentales.

7.3.2.1. Variable de respuesta directa I: Variación de la absorbancia a 262 nm

El ajuste de los datos a varios modelos y su posterior ANOVA indicaron que el proceso multicatalítico estudiado se describe adecuadamente con un modelo cuadrático reducido. El análisis ANOVA para el modelo se muestra en la Tabla 7.8 . Mediante una prueba F se evaluó la falta de ajuste (variación de los datos en torno al modelo ajustado). El modelo no mostró falta de ajuste a un nivel de significación del 95%. El valor F del modelo (120,92) con un valor p inferior a 0,0001 implicó que el modelo es estadísticamente significativo al nivel de confianza del 95%. Un coeficiente de determinación elevado ($R^2 = 0,9898$) también demostró la idoneidad del modelo para representar la relación real entre los parámetros. El valor de "Pred R^2 " de 0,9525 coincide razonablemente con la "Adj R^2 " de 0,9816, con una diferencia inferior a 0,2. Adicionalmente, el parámetro "Adeq Precision" mide la relación señal/ruido. Una relación superior a 4 es deseable, por lo que el valor obtenido de 37,099 indica una señal adecuada.

La significación de cada término del modelo se determinó mediante el test de la hipótesis nula. En este caso, A, B, C, D, AB, AD, BC y A^2 fueron términos significativos. El modelo desarrollado fue entonces usado para analizar el efecto de los parámetros de reacción seleccionados como factores experimentales en la disminución de la absorbancia en el pico localizado a 262 nm, cuyo aporte principal se debe al colorante antraquinónico (RAS).

Tabla 7.8 - ANOVA para el modelo cuadrático reducido de superficie de respuesta - Tabla de análisis de varianza [Suma parcial de cuadrados - Tipo III].

Fuente	Suma de cuadrados	d.f. ¹	Cuadrado medio	F Value	p-value Prob > F	
Modelo	0,55	12	0,046	120,92	< 0.0001	Significativo
A-[H₂O₂]	2,080E-003	1	2,080E-003	5,48	0,0335	
B-Catalizador	0,016	1	0,016	42,10	< 0.0001	
C-[RAS]	0,52	1	0,52	1370,36	< 0.0001	
D-[NII]	2,791E-003	1	2,791E-003	7,35	0,0161	
AB	2,162E-003	1	2,162E-003	5,69	0,0306	
AC	1,323E-004	1	1,323E-004	0,35	0,5639	
AD	2,500E-003	1	2,500E-003	6,58	0,0215	
BC	2,025E-003	1	2,025E-003	5,33	0,0356	
A²	1,989E-003	1	1,989E-003	5,24	0,0370	
B ²	7,538E-004	1	7,538E-004	1,98	0,1793	
C ²	1,190E-003	1	1,190E-003	3,13	0,0970	
D ²	1,027E-003	1	1,027E-003	2,70	0,1209	
Residual	5,696E-003	15	3,798E-004			
Falta de ajuste	5,133E-003	12	4,278E-004	2,28	0,2705	No significativo
Error puro	5,630E-004	3	1,877E-004			
Cor Total	0,56	27				

Notas: Los términos del modelo resaltados en negrita fueron significativos. ¹ d.f.: grados de libertad, corresponde a sus siglas en inglés por *degrees of freedom*.

En la Figura 7.4 se presentan las herramientas estadísticas de diagnóstico.

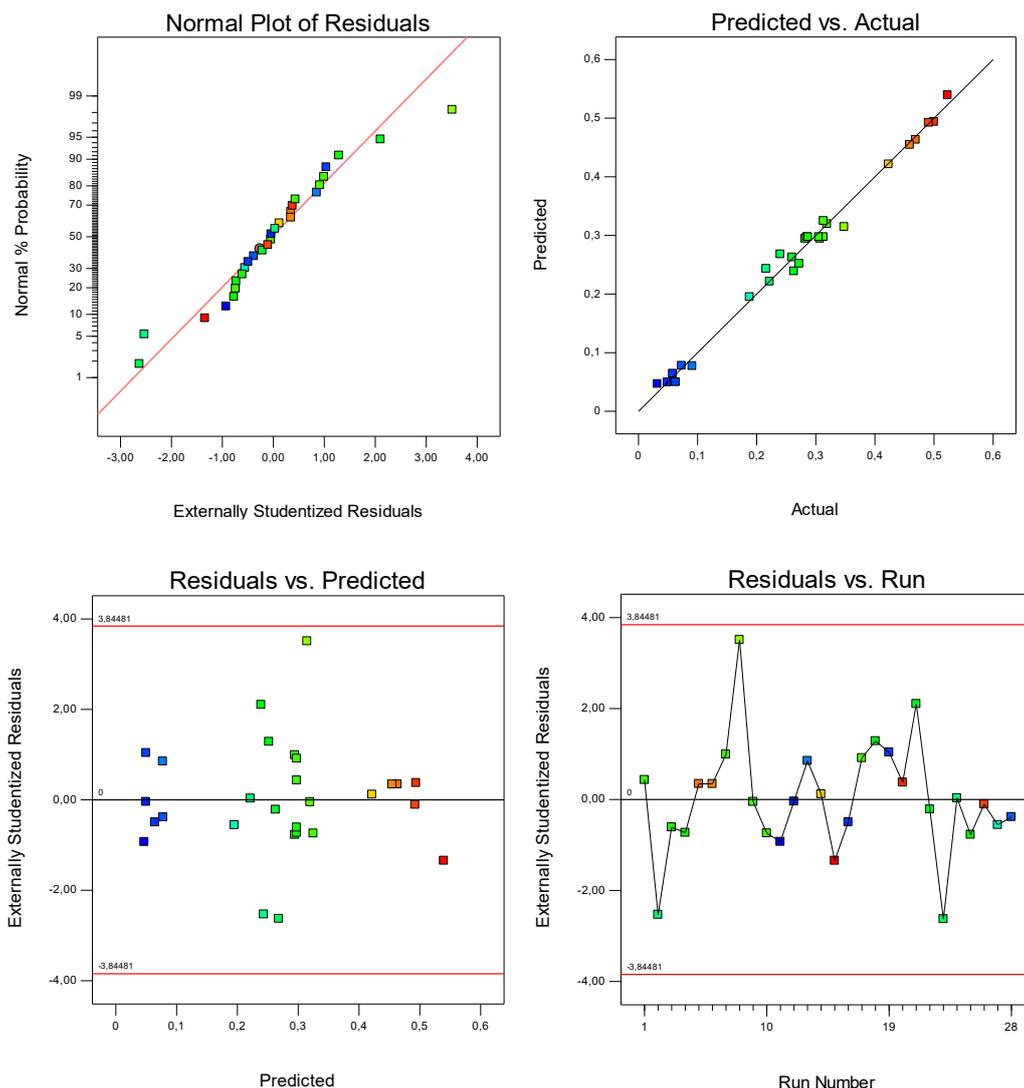


Figura 7.4 - Herramientas estadísticas de diagnóstico obtenidas para variable de respuesta variación de la absorbancia a 262 nm.

La Figura 7.5 muestra los efectos de cada factor experimental sobre la variación de la absorbancia a 262 nm respecto al punto central (referencia). Los puntos de referencia son: (A) $[H_2O_2] = 2,75 \text{ mM}$; (B) masa de catalizador = 102,1 mg; (C) $[RAS] = 27,5 \text{ mg L}^{-1}$; y (D) $[NII] = 27,5 \text{ mg L}^{-1}$. Los factores experimentales tienen un efecto positivo sobre la disminución de la absorbancia a 262 nm con diferentes pendientes. Un aumento de la $[H_2O_2]$, la $[NII]$ y la masa del catalizador conducen a un aumento de la variación de la absorbancia luego del punto de referencia con un ligero gradiente, mientras que un aumento en la $[RAS]$ tiene un efecto acentuado dado que implica un aumento en variación de la absorbancia con una pendiente pronunciada.

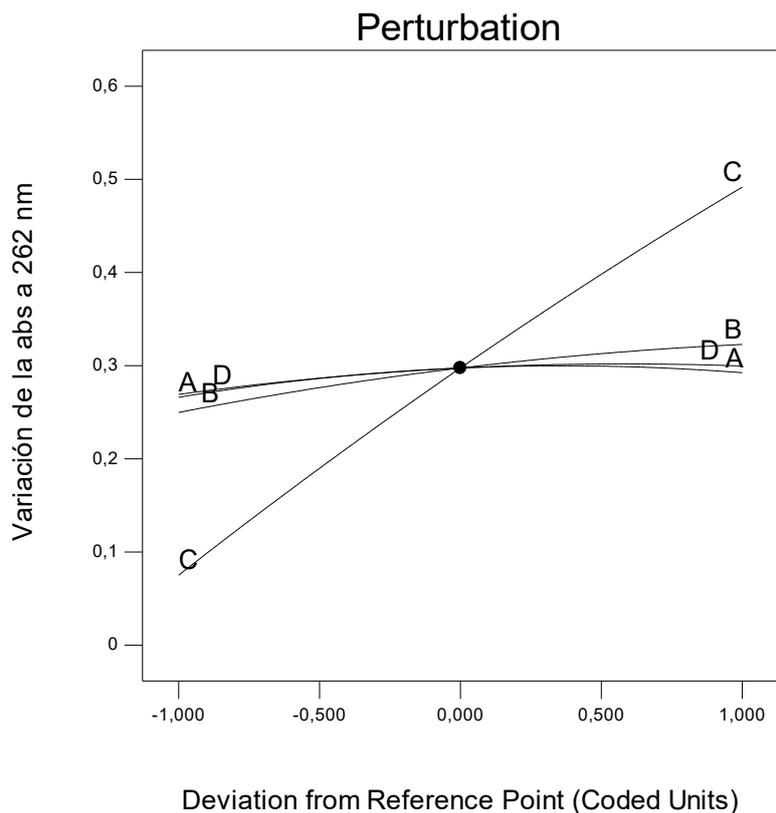
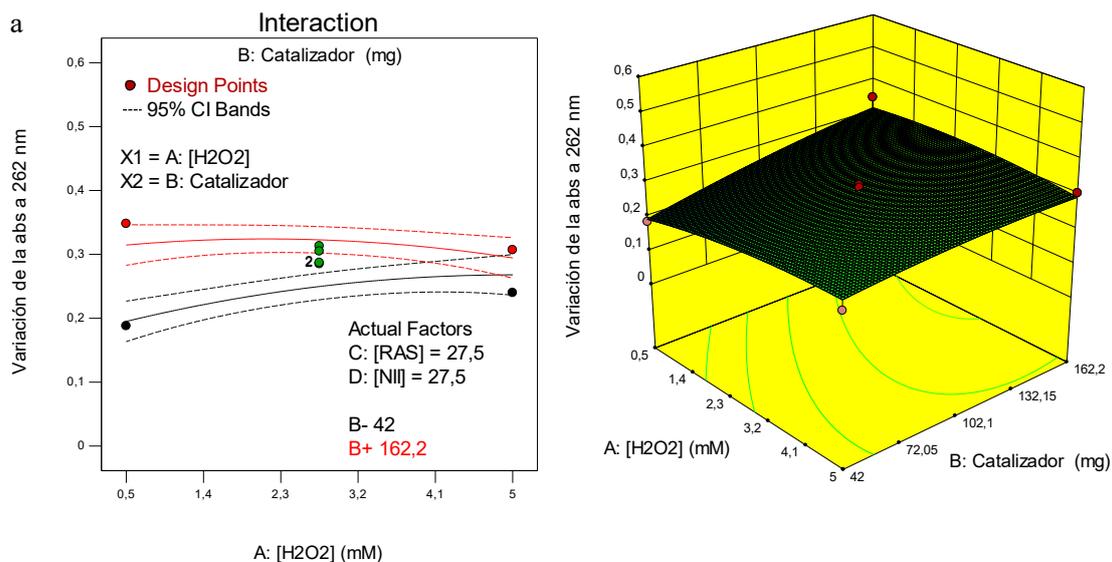


Figura 7.5 - Desviación del punto de referencia. A: [H₂O₂]; B: Masa de catalizador; C: [RAS]; D: [NII] para variación de la absorbancia a 262 nm.

Los efectos de las interacciones entre los factores experimentales sobre la variación de la absorbancia a 262 nm se presentan en la Figura 7.6.



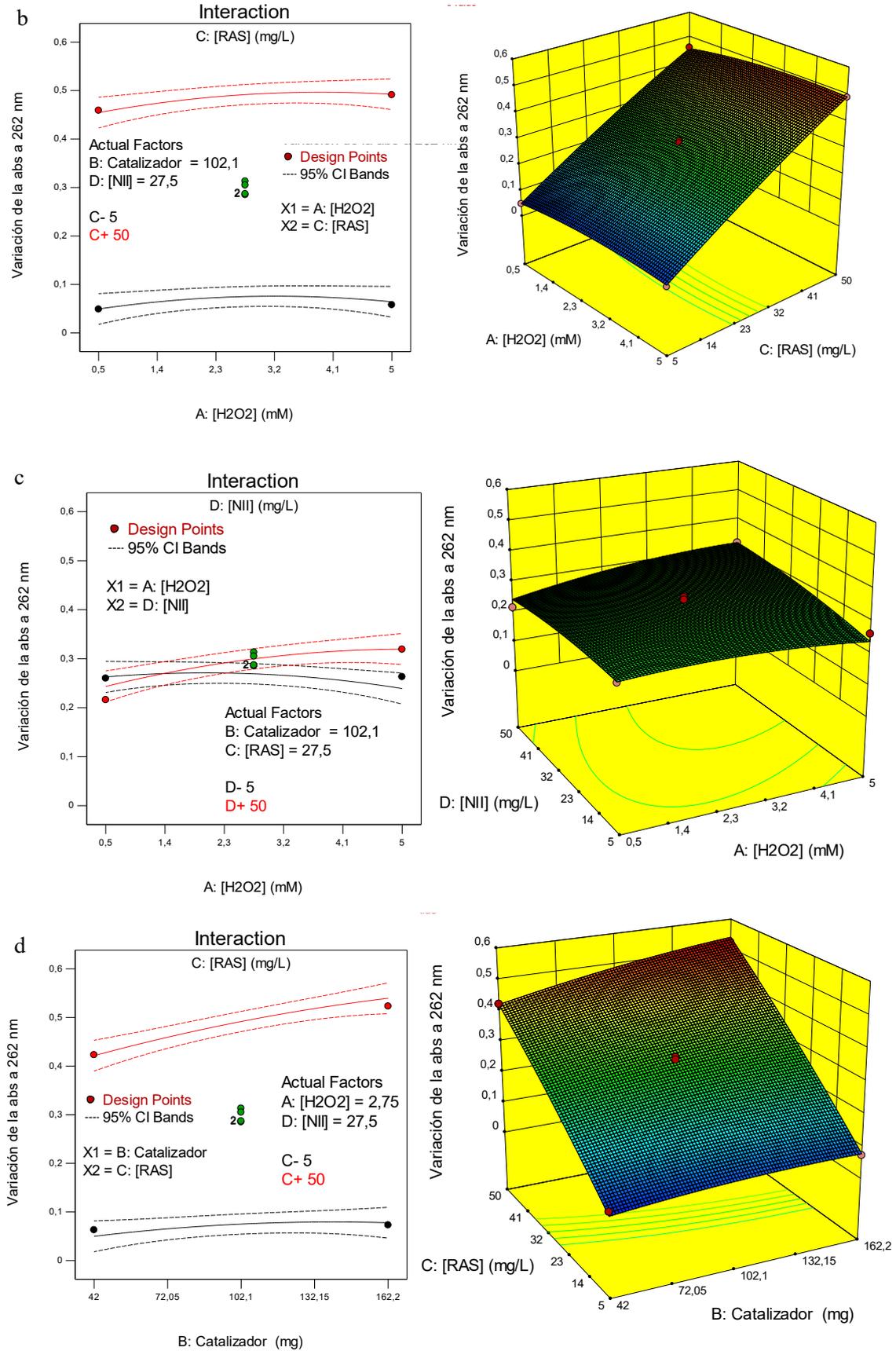


Figura 7.6 – Efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la variable de respuesta directa I: variación de la absorbancia a 262 nm.

7.3.2.2. Variable de respuesta directa II: Variación de la absorbancia en pico principal

La segunda variable de respuesta directa corresponde a la variación de la absorbancia en la banda principal del espectro (entre 486 y 509 nm). El ajuste de los datos a varios modelos y su posterior ANOVA indicaron que el proceso multicatalítico estudiado se describe adecuadamente con un modelo cuadrático. El análisis ANOVA para el modelo se muestra en la Tabla 7.9. Mediante una prueba F se evaluó la falta de ajuste (variación de los datos en torno al modelo ajustado). El modelo no mostró falta de ajuste a un nivel de significación del 95%. El valor F del modelo (176,28) con un valor p inferior a 0,0001 implicó que el modelo es estadísticamente significativo al nivel de confianza del 95%. Un coeficiente de determinación elevado ($R^2 = 0,9948$) también demostró que el modelo es adecuado para representar la relación real entre los parámetros. El valor de "Pred R^2 " de 0,9778 coincide razonablemente con la "Adj R^2 " de 0,9891, con una diferencia inferior a 0,2. Adicionalmente, el parámetro "Adeq Precision" mide la relación señal/ruido. Una relación superior a 4 es deseable, por lo que el valor obtenido de 52,955 indica una señal adecuada. Este modelo puede utilizarse para navegar por el espacio de diseño.

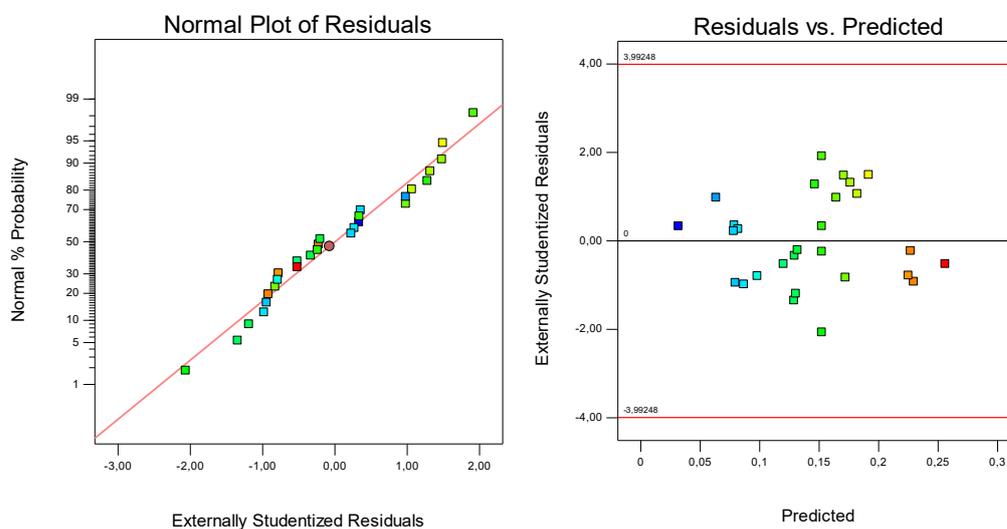
La significación de cada término del modelo se determinó mediante el test de la hipótesis nula. En este caso, A, B, C, D, AB, AD, BC, BD, CD, A^2 , B^2 , C^2 y D^2 fueron los términos significativos del modelo. El modelo desarrollado fue entonces usado para estudiar el efecto de los parámetros de reacción seleccionados como factores experimentales en la disminución de la absorbancia en el pico principal en los espectros, que contiene tanto el aporte de NII en 484 nm como de RAS en 527 nm.

Tabla 7.9 - ANOVA para el modelo cuadrático de superficie de respuesta - Tabla de análisis de varianza [Suma parcial de cuadrados - Tipo III].

Fuente	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado medio	F Value	p-value Prob > F	
Modelo	0,083	14	5,903E-003	176,28	< 0.0001	Significativo
A-[H₂O₂]	2,760E-003	1	2,760E-003	82,43	< 0.0001	
B-Catalizador	0,016	1	0,016	466,57	< 0.0001	
C-[RAS]	0,017	1	0,017	499,45	< 0.0001	
D-[NII]	0,044	1	0,044	1300,82	< 0.0001	
AB	3,610E-004	1	3,610E-004	10,78	0,0059	
AC	9,000E-006	1	9,000E-006	0,27	0,6129	
AD	7,290E-004	1	7,290E-004	21,77	0,0004	
BC	4,410E-004	1	4,410E-004	13,17	0,0031	
BD	1,406E-003	1	1,406E-003	41,99	< 0.0001	
CD	5,760E-004	1	5,760E-004	17,20	0,0011	
A²	2,282E-004	1	2,282E-004	6,81	0,0216	
B²	2,013E-004	1	2,013E-004	6,01	0,0291	
C²	1,760E-004	1	1,760E-004	5,26	0,0392	
D²	1,843E-004	1	1,843E-004	5,50	0,0355	
Residual	4,353E-004	13	3,349E-005			
Falta de ajuste	2,686E-004	10	2,686E-005	0,48	0,8320	No significativo
Error puro	1,668E-004	3	5,558E-005			
Cor Total	0,083	27				

Notas: Los términos del modelo resaltados en negrita fueron significativos.

En la Figura 7.7 siguiente se presentan las herramientas de diagnóstico.



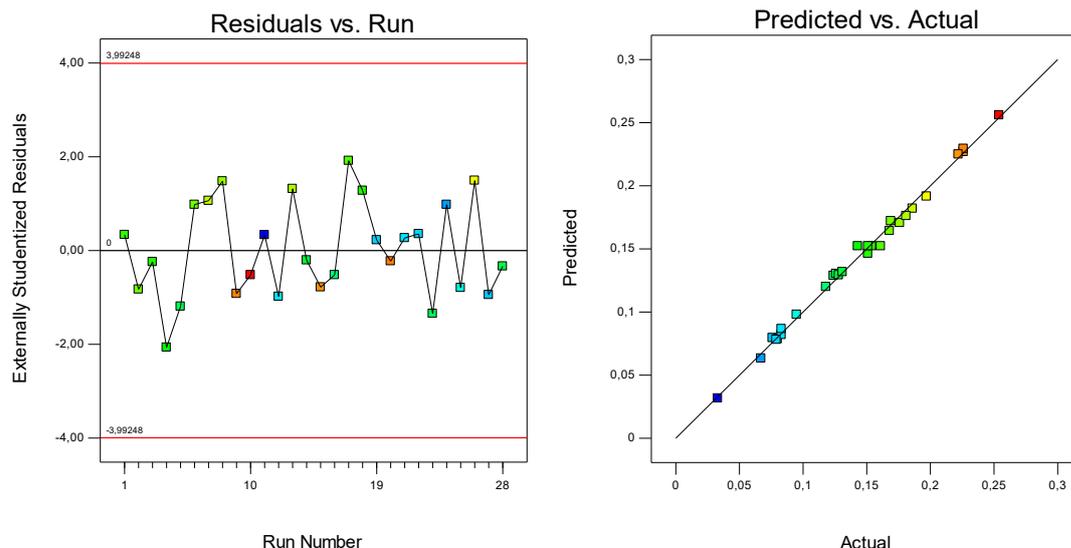


Figura 7.7 - Herramientas estadísticas de diagnóstico obtenidas para variable de respuesta variación de la absorbancia en pico principal.

La Figura 7.8 muestra los efectos de cada factor experimental sobre la variación de la absorbancia en el pico principal respecto al punto central (referencia). Los puntos de referencia son: (A) $[H_2O_2] = 2,75 \text{ mM}$; (B) masa de catalizador = 102,1 mg; (C) $[RAS] = 27,5 \text{ mg L}^{-1}$; y (D) $[NII] = 27,5 \text{ mg L}^{-1}$. Los factores experimentales tienen un efecto positivo sobre la disminución de la absorbancia en el pico principal con diferentes pendientes. La $[H_2O_2]$ conduce a un aumento de la variación de la absorbancia luego del punto de referencia con un ligero gradiente, un aumento en la $[RAS]$ y en la masa del catalizador tienen una pendiente superior, mientras que la $[NII]$ presenta una pendiente pronunciada.

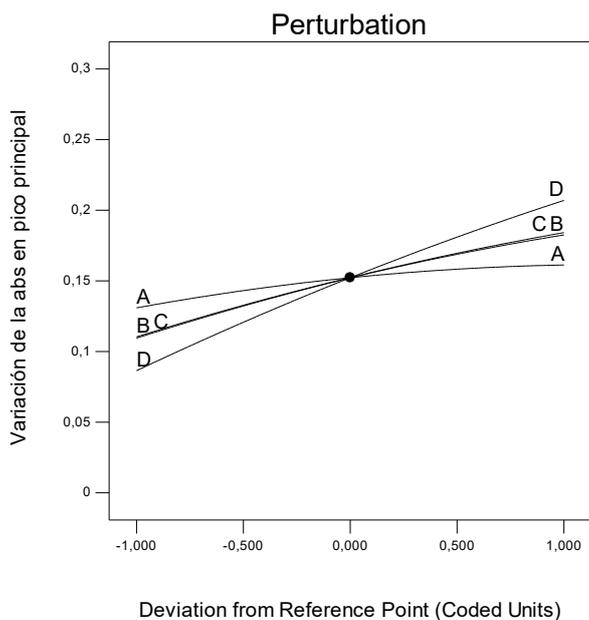
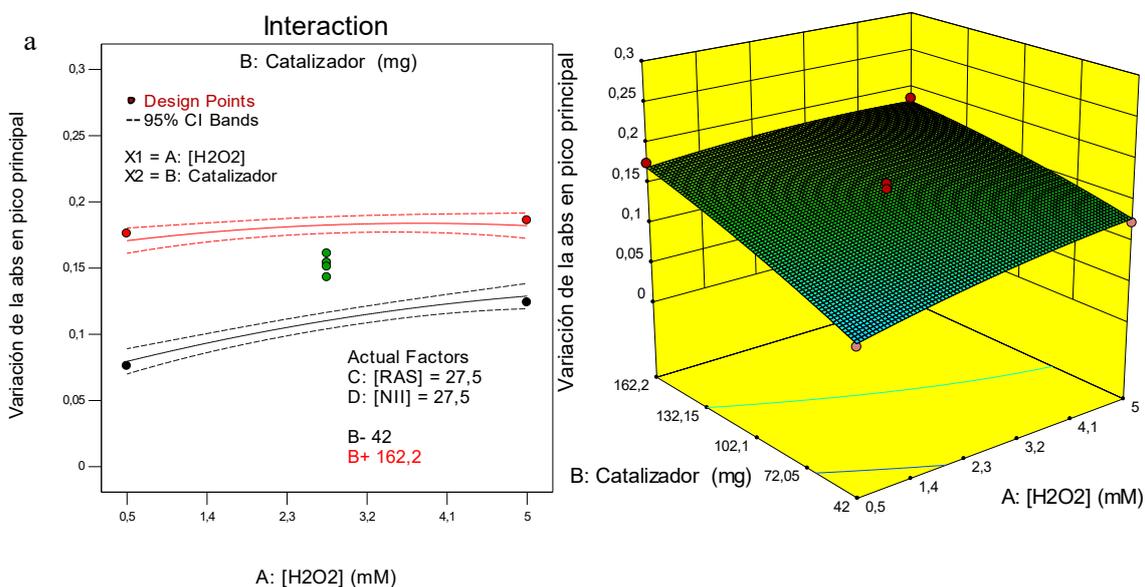
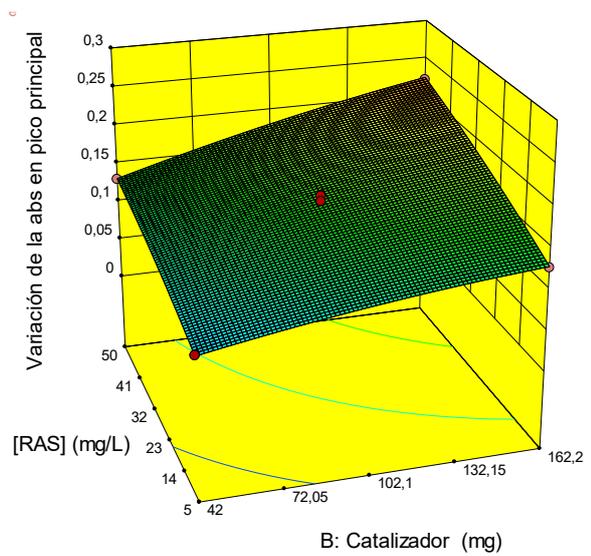
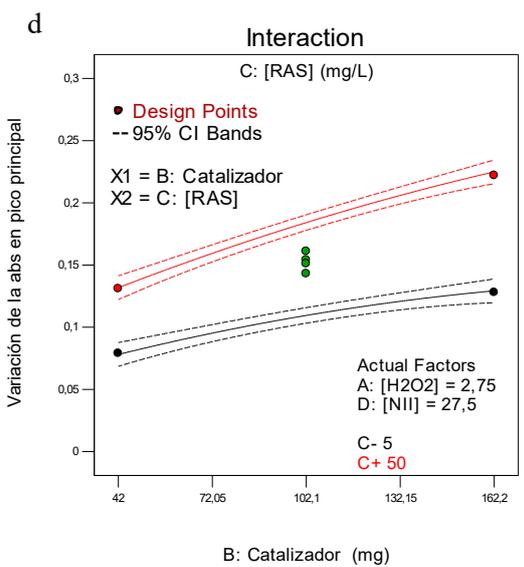
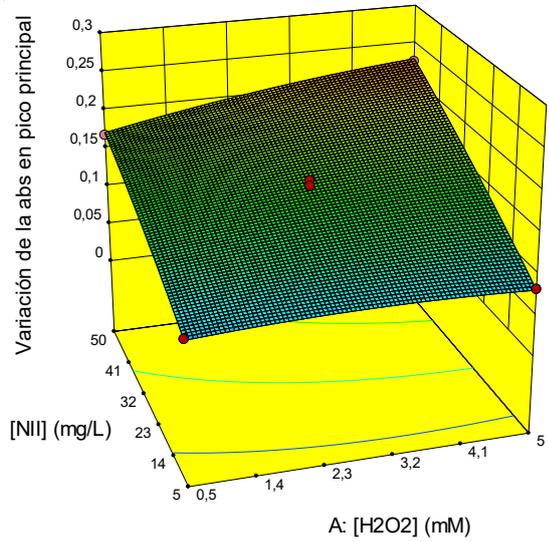
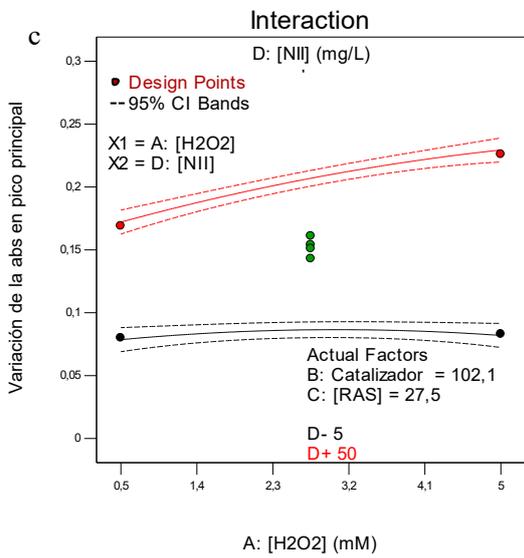
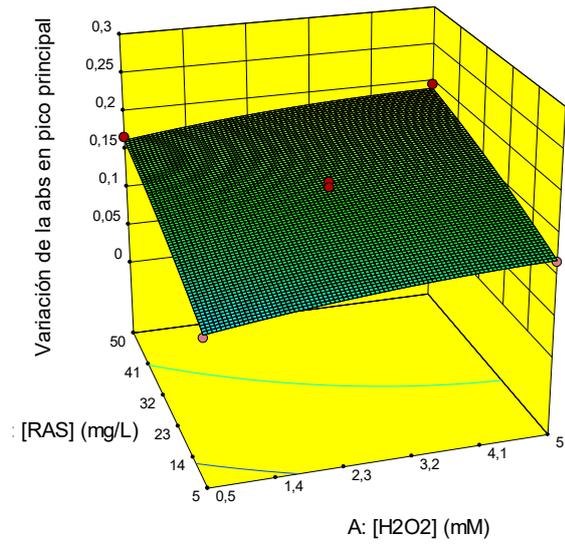
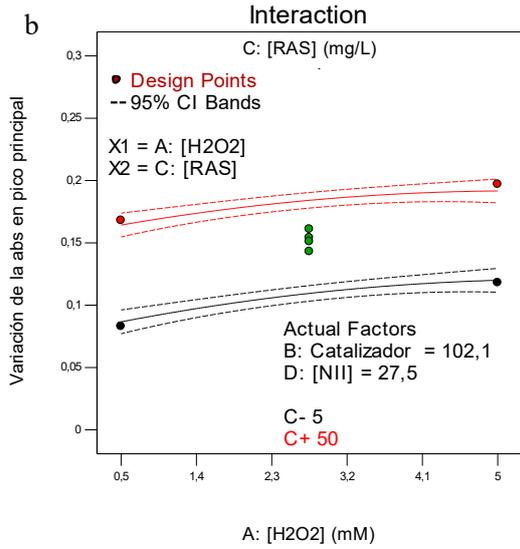


Figura 7.8 - Desviación del punto de referencia. A: $[H_2O_2]$; B: Masa de catalizador; C: [RAS]; D: [NII] para variación de la absorbancia en pico principal.

Los efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la variación de la absorbancia en el pico principal se presentan en la Figura 7.9.





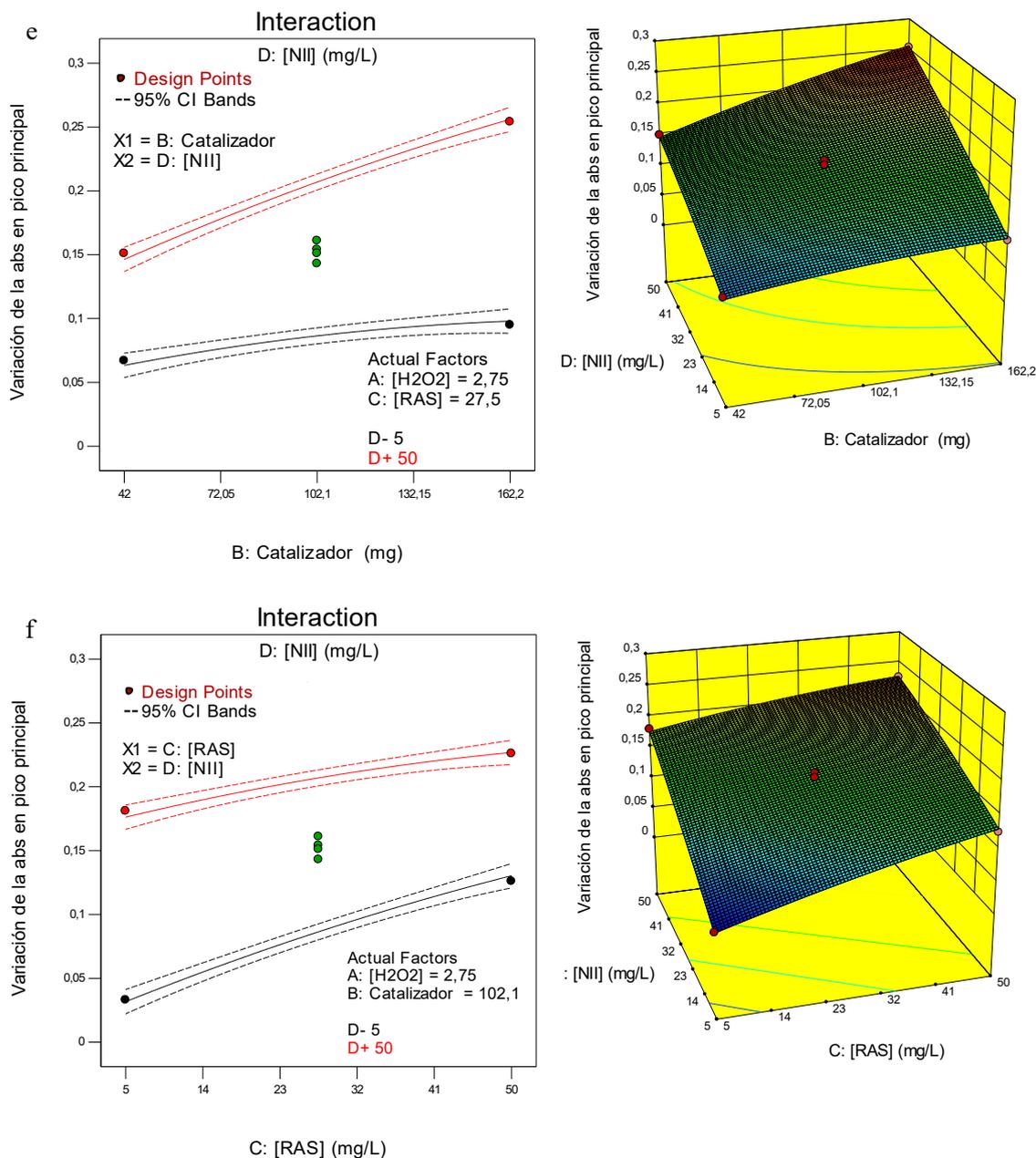


Figura 7.9 - Efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la variable de respuesta directa II: variación de la absorbancia en pico principal.

7.3.2.3. Variable de respuesta indirecta I: Remoción de RAS

Los datos experimentales obtenidos para la remoción de RAS se ajustan adecuadamente a un modelo cuadrático. El análisis ANOVA para el modelo se muestra en la Tabla 7.10. Mediante una prueba F se evaluó la falta de ajuste (variación de los datos en torno al modelo ajustado). El modelo mostró falta de ajuste a un nivel de significación del 95%. Esto se asoció a que los resultados de deconvolución presentan errores muy

bajos en las réplicas, por lo que el software detecta una variabilidad inusualmente baja. Aunque el modelo predicho se ajusta bien a los puntos del modelo (proporcionando un ajuste significativo), las diferencias entre los puntos de datos reales son sustancialmente mayores que las diferencias entre los puntos centrales. Considerando que las deconvoluciones fueron realizadas aportando datos al software sobre la longitud de onda de absorción de los colorantes y las remociones aproximadas que podrían encontrarse, tiene sentido que las réplicas tengan escasa diferencia, por lo que el modelo fue utilizado pese a que presentó una falta de ajuste significativa. El valor F del modelo (90,81) con un valor p inferior a 0,0001 implicó que el modelo es estadísticamente significativo al nivel de confianza del 95%. Un coeficiente de determinación elevado ($R^2 = 0,9899$) también demostró que el modelo es adecuado para representar la relación real entre los parámetros. El valor de "Pred R^2 " de 0,9425 coincide razonablemente con la "Adj R^2 " de 0,9790, con una diferencia inferior a 0,2. Adicionalmente, el parámetro "Adeq Precision" mide la relación señal/ruido. Una relación superior a 4 es deseable, por lo que el valor obtenido de 31,277 indica una señal adecuada.

El test de la hipótesis nula arrojó que los términos A, B, C, CD y C^2 fueron significativos para el modelo. Éste fue utilizado para estudiar el efecto de los parámetros de reacción seleccionados como factores experimentales en la remoción (mg L^{-1}) del colorante antraquinónico RAS.

Tabla 7.10 - ANOVA para el modelo cuadrático de superficie de respuesta - Tabla de análisis de varianza [Suma parcial de cuadrados - Tipo III].

Fuente	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado medio	F Value	p-value Prob > F	
Modelo	57,08	14	4,08	90,81	< 0.0001	significativo
A-[H₂O₂]	0,24	1	0,24	5,35	0,0377	
B-Catalizador	0,64	1	0,64	14,30	0,0023	
C-[RAS]	52,64	1	52,64	1172,59	< 0.0001	
D-[NII]	4,144E-004	1	4,144E-004	9,231E-003	0,9249	
AB	0,027	1	0,027	0,61	0,4491	
AC	0,013	1	0,013	0,29	0,5981	
AD	8,581E-003	1	8,581E-003	0,19	0,6692	
BC	0,083	1	0,083	1,86	0,1959	
BD	0,036	1	0,036	0,79	0,3889	
CD	0,26	1	0,26	5,78	0,0318	
A ²	0,092	1	0,092	2,05	0,1759	
B ²	8,101E-003	1	8,101E-003	0,18	0,6779	
C²	2,86	1	2,86	63,74	< 0.0001	
D ²	2,259E-005	1	2,259E-005	5,031E-004	0,9824	
Residual	0,58	13	0,045			
Falta de ajuste	0,57	10	0,057	15,32	0,0229	significativo
Error puro	0,011	3	3,736E-003			
Cor Total	57,66	27				

Notas: Los términos del modelo resaltados en negrita fueron significativos.

En la Figura 7.10 se presentan las herramientas estadísticas de diagnóstico.

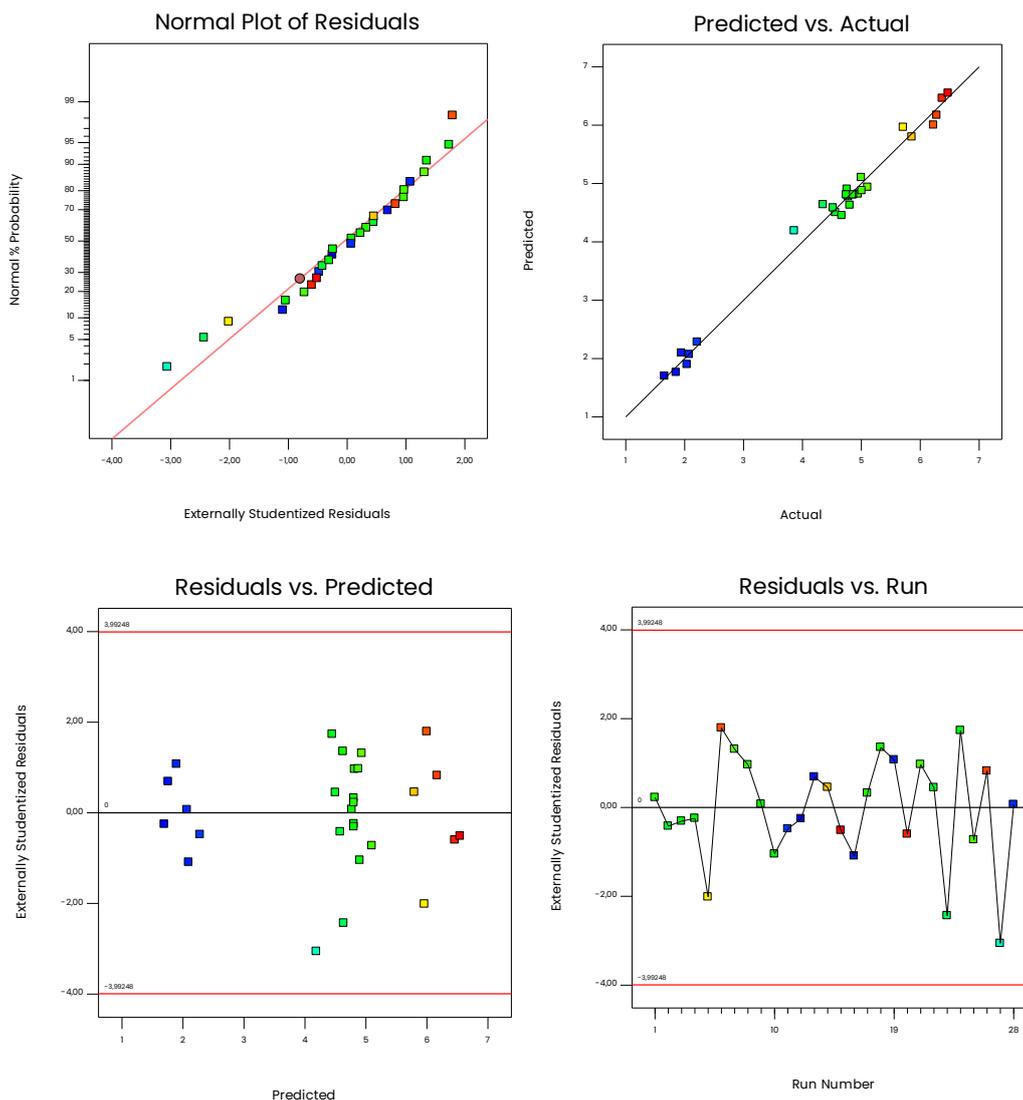


Figura 7.10 - Herramientas estadísticas de diagnóstico obtenidas para variable de respuesta remoción de RAS (mg L⁻¹).

La Figura 7.11 muestra los efectos de cada factor experimental sobre la remoción de RAS (mg L⁻¹) respecto al punto central (referencia). Los puntos de referencia son: (A) [H₂O₂] = 2,75 mM; (B) masa de catalizador = 102,1 mg; (C) [RAS] = 27,5 mg L⁻¹; y (D) [NII] = 27,5 mg L⁻¹. Como era de esperar, la concentración de RAS tiene un efecto positivo pronunciado sobre su remoción. Un aumento de la [H₂O₂] y de la masa del catalizador conducen a un aumento en la remoción de RAS con un ligero gradiente, mientras que la [NII] no tiene un impacto notorio en la remoción del colorante antraquinónico.

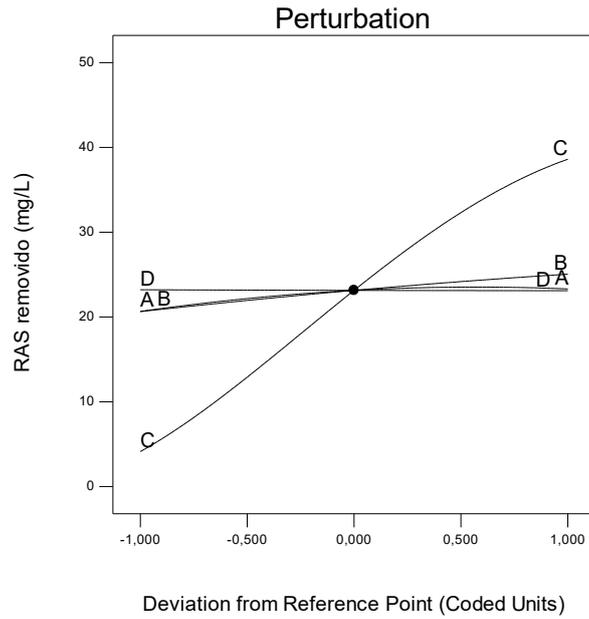
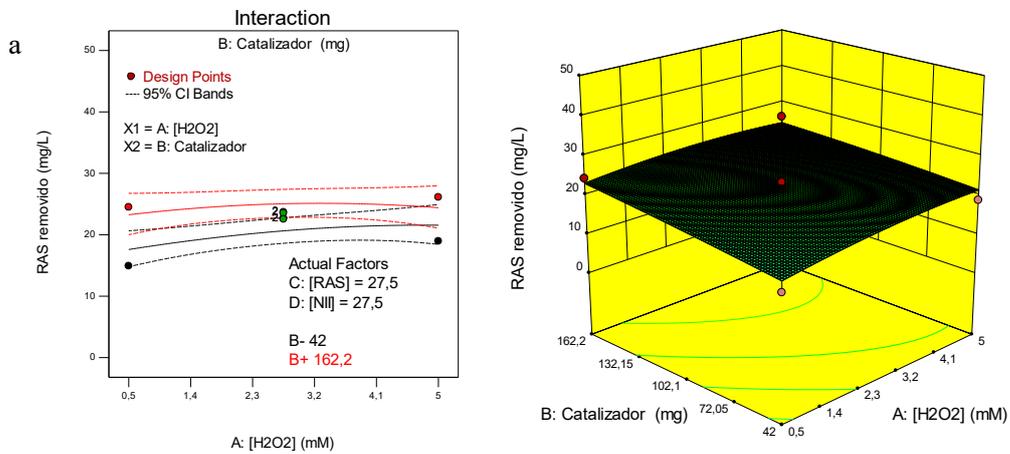
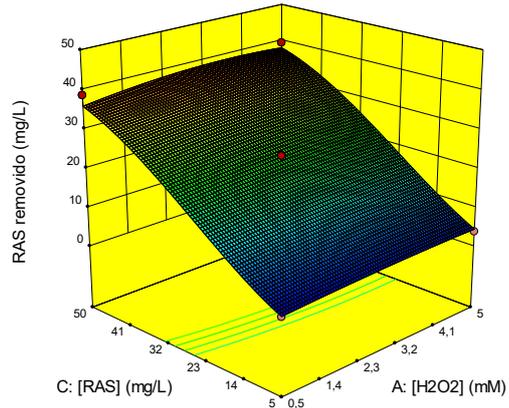
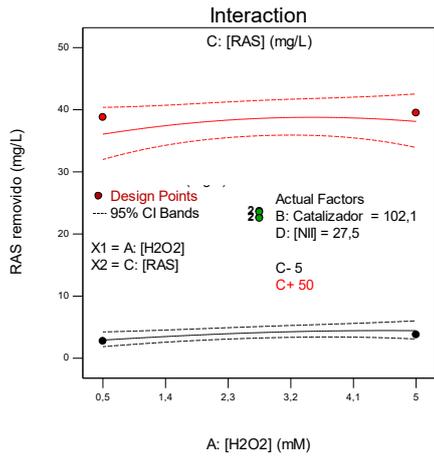


Figura 7.11 - Desviación del punto de referencia. A: [H₂O₂]; B: Masa de catalizador; C: [RAS]; D: [Ni] para variación de la absorbancia a 262 nm.

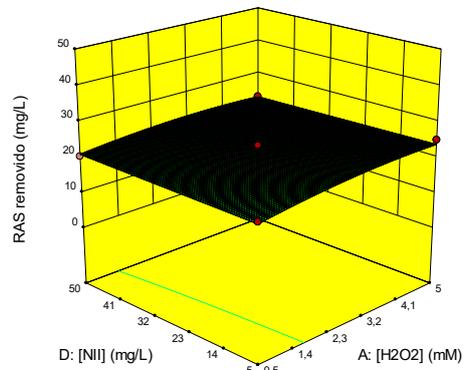
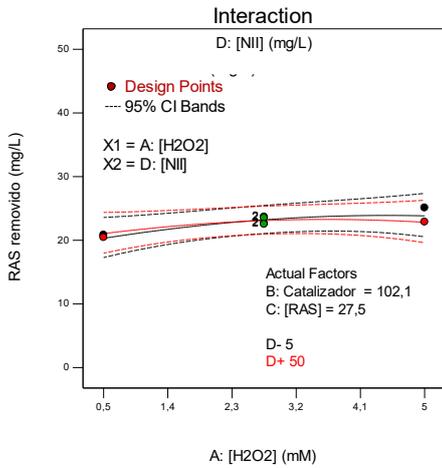
Los efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la remoción de RAS se presentan en la Figura 7.12.



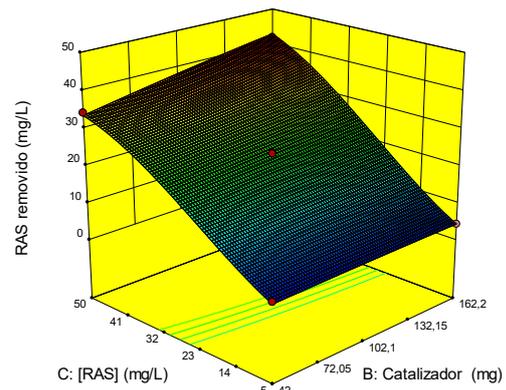
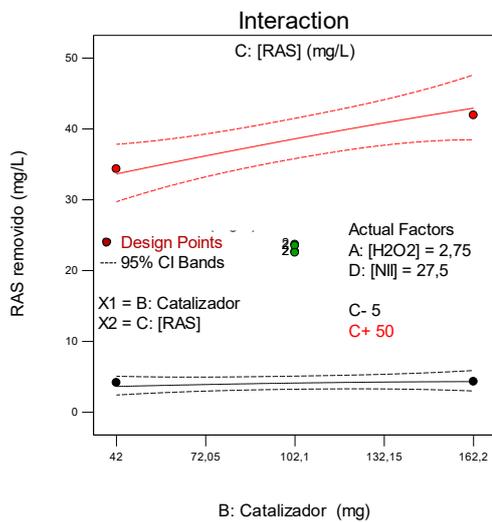
b



c



d



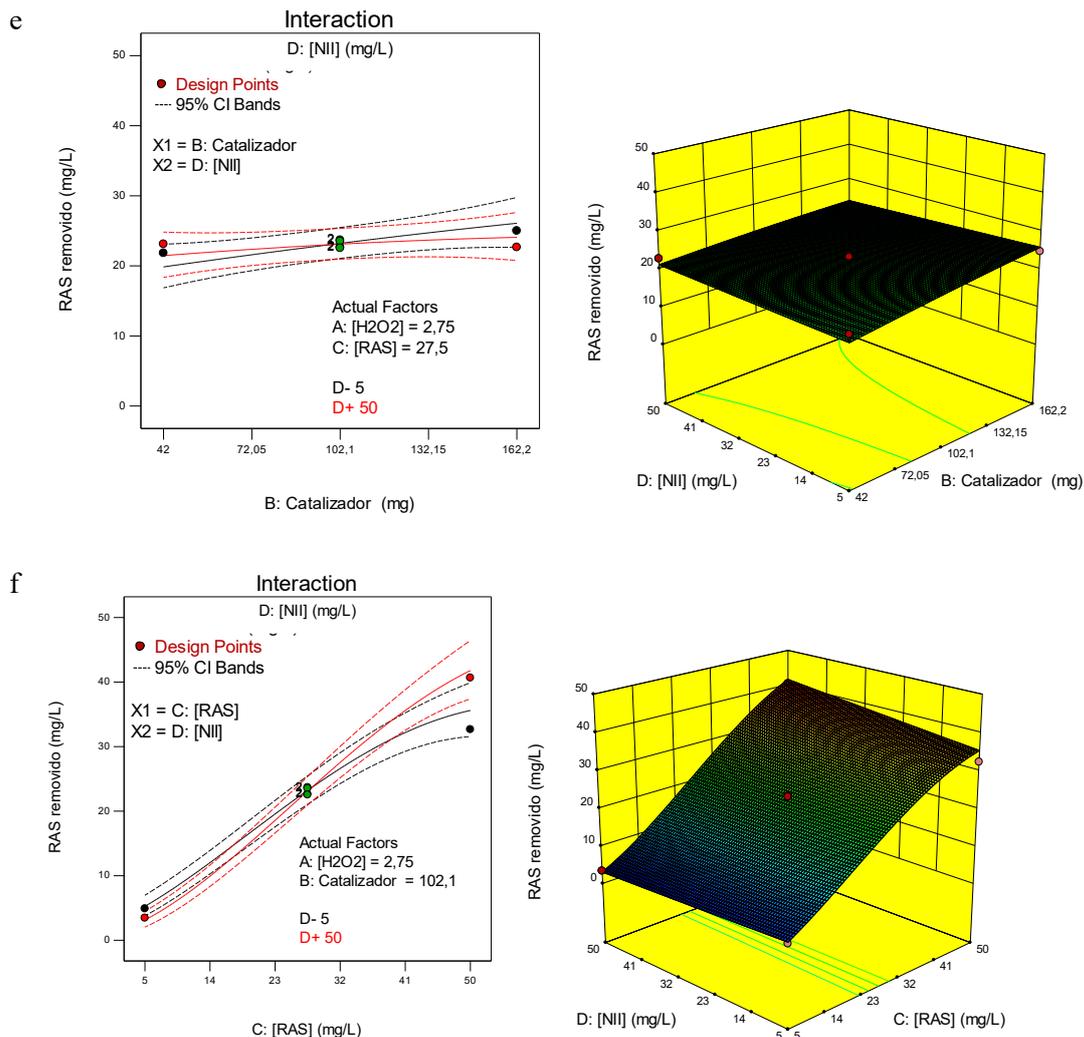


Figura 7.12 – Efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la variable de respuesta indirecta remoción de RAS (mg L^{-1}).

7.3.2.4. Variable de respuesta indirecta II: Remoción de NII

El análisis ANOVA indicó que la remoción de NII mediante el proceso multicatalítico estudiado se describe adecuadamente con un modelo cuadrático. El análisis ANOVA para el modelo se muestra en la Tabla 7.11. Mediante una prueba F se evaluó la falta de ajuste (variación de los datos en relación al modelo ajustado). El modelo mostró falta de ajuste a un nivel de significación del 95%. Como se mencionó al analizar la variable de respuesta “remoción de RAS”, la falta de ajuste se relacionó con que los resultados de deconvolución presentan errores bajos en las réplicas, por lo que el software detecta una variabilidad inusualmente baja. Aunque el modelo predicho se ajusta bien a los puntos del modelo (proporcionando un ajuste significativo), las diferencias entre los

puntos de datos reales son sustancialmente mayores que las diferencias entre los puntos centrales. El valor F del modelo (67,61) con un valor p inferior a 0,0001 implicó que el modelo es estadísticamente significativo al nivel de confianza del 95%. Un coeficiente de determinación elevado ($R^2 = 0,9865$) también demostró la idoneidad del modelo para representar la relación real entre los parámetros. El valor de "Pred R^2 " de 0,9226 coincide razonablemente con la "Adj R^2 " de 0,9719, con una diferencia inferior a 0,2. Adicionalmente, el parámetro "Adeq Precision" mide la relación señal/ruido. Una relación superior a 4 es deseable, por lo que el valor obtenido de 29,901 indica una señal adecuada. Se consideró que el modelo puede utilizarse para navegar por el espacio de diseño.

La significación de cada término del modelo se determinó mediante el test de la hipótesis nula. En este caso, A, B, C, D, AD, BD, CD, A^2 y B^2 fueron los términos significativos del modelo.

El modelo desarrollado fue entonces usado para estudiar el efecto de los parámetros de reacción seleccionados como factores experimentales en la remoción (mg L^{-1}) del colorante azoico NII.

Tabla 7.11 - ANOVA para el modelo cuadrático de superficie de respuesta - Tabla de análisis de varianza [Suma parcial de cuadrados - Tipo III].

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F Value	p-value Prob > F
Modelo	1256,87	14	89,78	67,61	< 0.0001 significativo
A-[H₂O₂]	10,09	1	10,09	7,60	0,0163
B-Catalizador	125,88	1	125,88	94,80	< 0.0001
C-[RAS]	17,17	1	17,17	12,93	0,0033
D-[NII]	1033,57	1	1033,57	778,36	< 0.0001
AB	0,27	1	0,27	0,20	0,6586
AC	3,11	1	3,11	2,34	0,1501
AD	14,53	1	14,53	10,94	0,0057
BC	0,38	1	0,38	0,28	0,6036
BD	25,13	1	25,13	18,92	0,0008
CD	8,52	1	8,52	6,41	0,0250
A²	6,23	1	6,23	4,69	0,0495
B²	7,20	1	7,20	5,42	0,0367
C ²	2,06	1	2,06	1,55	0,2353
D ²	1,97	1	1,97	1,49	0,2444
Residual	17,26	13	1,33		
Falta de ajuste	17,05	10	1,71	24,48	0,0117 significativo
Error puro	0,21	3	0,070		
Cor Total	1274,13	27			

Nota: Los términos del modelo resaltados en negrita son significativos.

En la Figura 7.13 se presentan las herramientas estadísticas de diagnóstico.

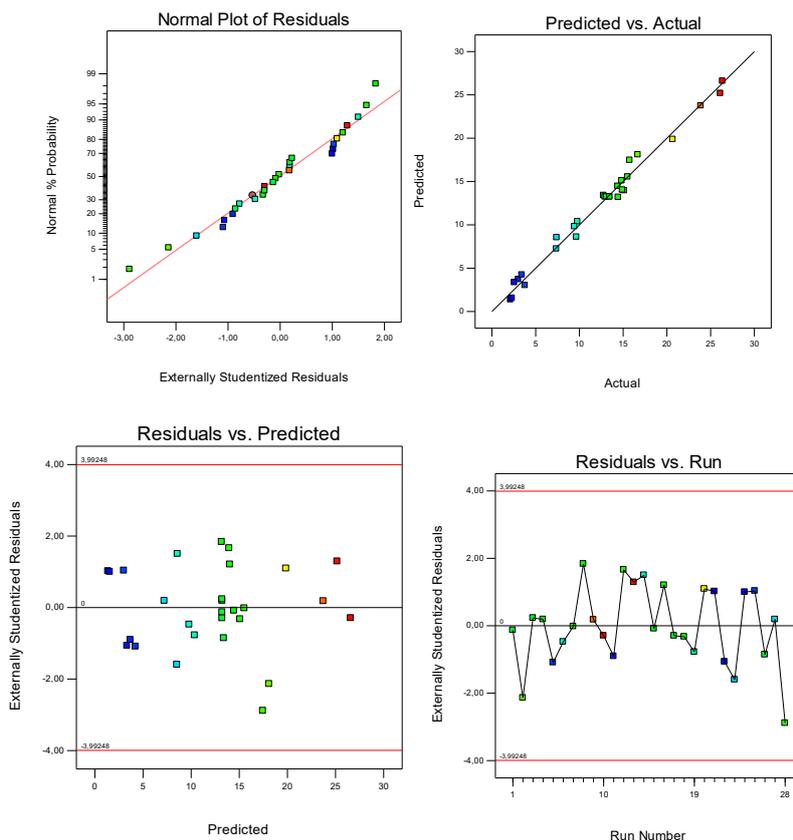


Figura 7.13 - Herramientas estadísticas de diagnóstico obtenidas para variable de respuesta remoción de NII (mg L^{-1}).

La Figura 7.14 muestra los efectos de cada factor experimental sobre la remoción de NII (mg L^{-1}) considerando la desviación de las variables desde el punto central (referencia). Los puntos de referencia son: (A) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,75 \text{ mM}$; (B) masa de catalizador = 102,1 mg; (C) $[\text{RAS}] = 27,5 \text{ mg L}^{-1}$; y (D) $[\text{NII}] = 27,5 \text{ mg L}^{-1}$. Al evaluar la remoción de NII, la concentración de este colorante tiene un efecto positivo pronunciado. La concentración del agente oxidante en un nivel medio maximiza la remoción de NII. Un aumento en la masa del catalizador desde el nivel más bajo implica un aumento en la remoción del colorante azoico, mientras que un aumento en la concentración de RAS, implica una disminución en la remoción de NII. Esto último podría deberse a que, como se describió en el Capítulo VI: (I) NII es más recalcitrante que RAS para el sistema estudiado, por lo que RAS podría ser el sustrato preferente a ser oxidado cuando se encuentran en soluciones mezcla; (II) NII en su forma hidrazona (ausencia de grupo azo y presencia de grupo -N-H), tautómero frecuentemente encontrado en solución acuosa, presenta puentes hidrógeno intramoleculares, lo cual dificulta la abstracción del hidrógeno para dar lugar

a la oxidación; y (III) NII forma con el intermediario E₁ de HEM un complejo no productivo, que ralentiza la reacción.

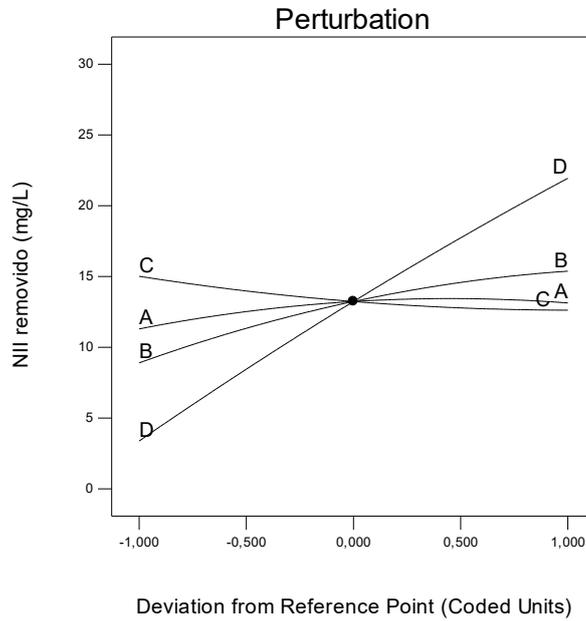
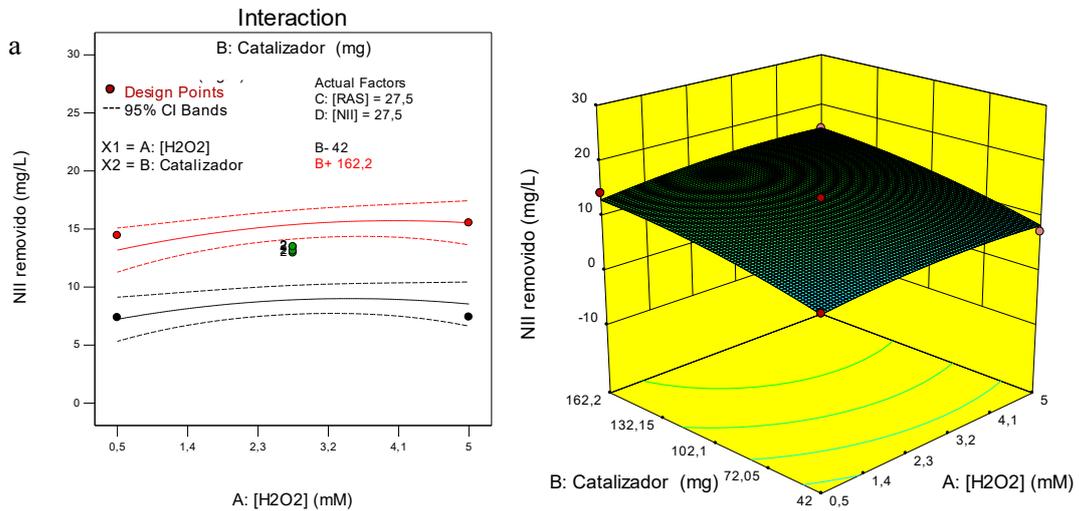
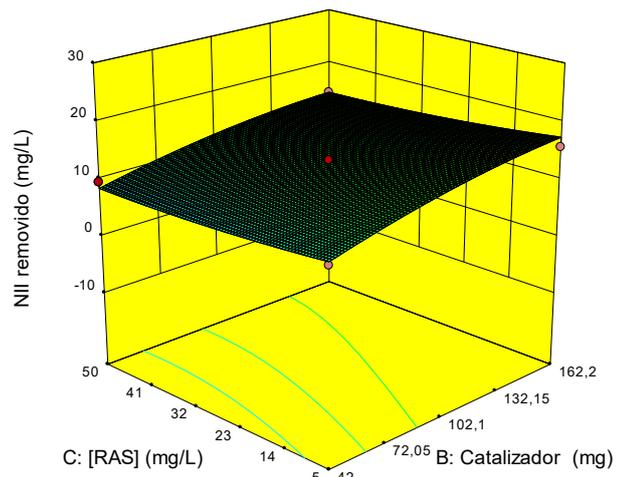
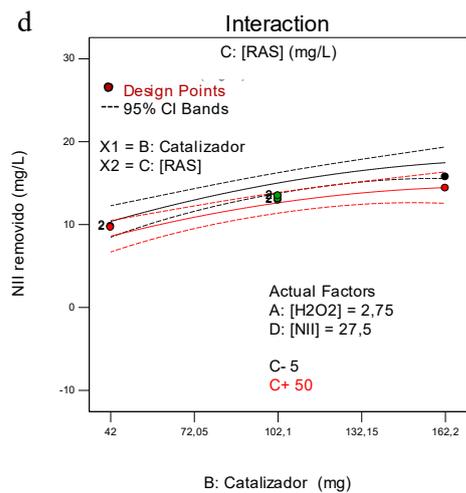
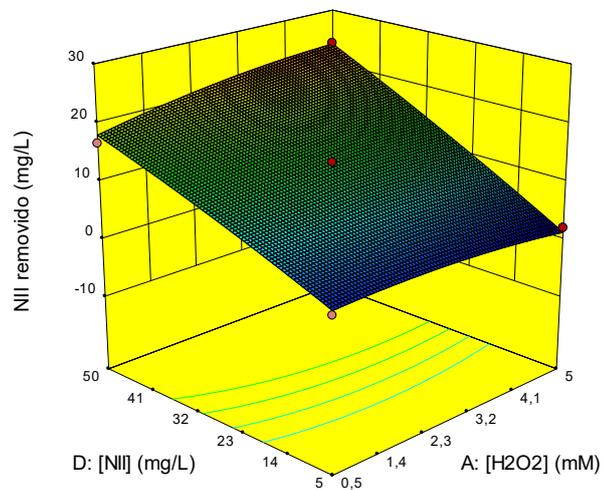
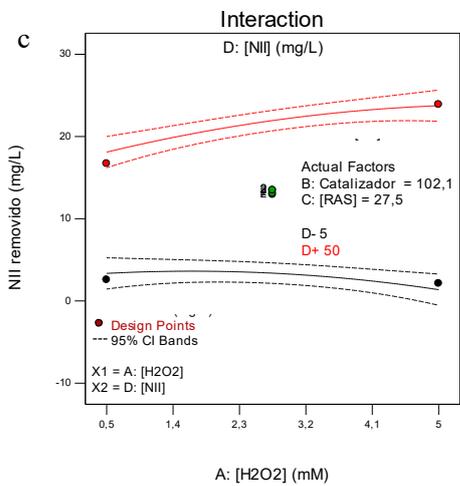
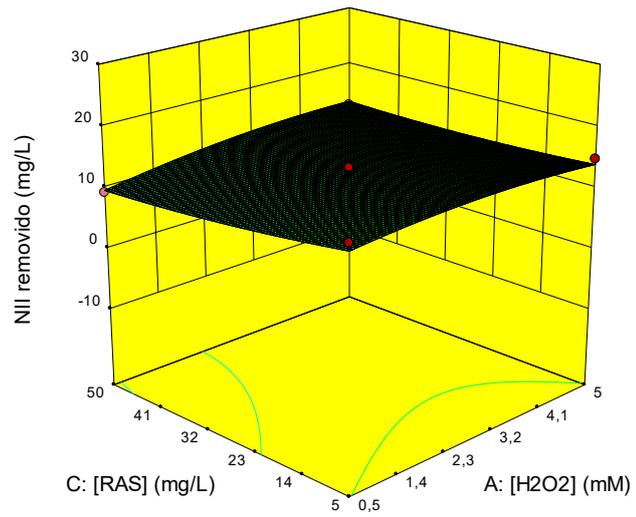
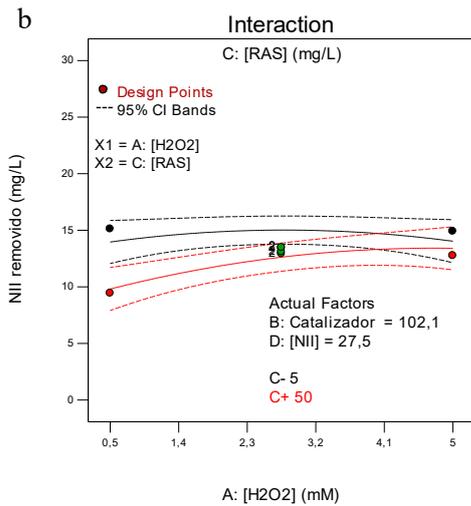


Figura 7.14 - Desviación del punto de referencia. A: [H₂O₂]; B: Masa de catalizador; C: [RAS]; D: [NII] para variación de la absorbancia a 262 nm.

Los efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la remoción de NII se presentan en la Figura 7.15.





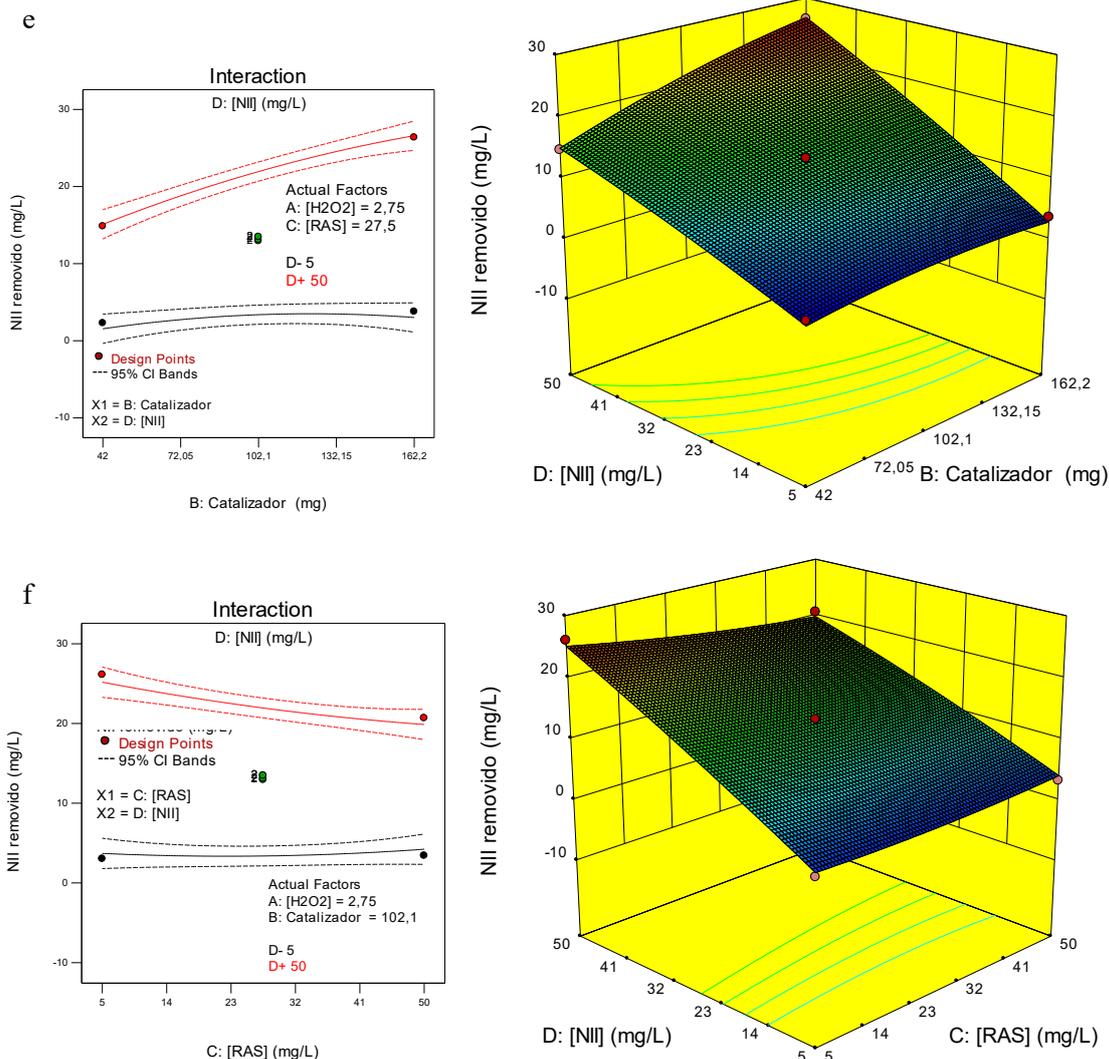


Figura 7.15 – Efectos de las interacciones entre factores experimentales sobre la variable de respuesta indirecta remoción de NII (mg L^{-1}).

7.3.2.5. Análisis de resultados obtenidos para las variables de respuesta

La concentración de RAS tuvo un efecto notorio sobre la variable de respuesta correspondiente a la variación de la absorbancia a 262 nm para niveles medio de la masa de catalizador (102,1 mg) y [NII] ($27,5 \text{ mg L}^{-1}$) (Figura 7.6b). Sin embargo, manteniendo niveles medios de masa de catalizador (102,1 mg) y [RAS] ($27,5 \text{ mg L}^{-1}$), la concentración de NII no tiene un efecto significativo sobre esta variable de respuesta (Figura 7.6c). Esto se asocia a que la principal contribución al pico de 262 nm corresponde al colorante antraquinónico (RAS), por lo que la disminución de la absorbancia en esta longitud de onda se relaciona principalmente con la disminución de la concentración de RAS.

Cuando se analiza la variable de respuesta correspondiente a la variación de la absorbancia en el pico principal, se observa que la concentración del colorante NII adquiere relevancia, cuando se mantienen los niveles medios de masa de catalizador (102,1 mg) y [RAS] (27,5 mg L⁻¹) (Figura 7.9c). A diferencia del pico a 262 nm, en la banda principal del espectro, la contribución es de ambos colorantes.

Evaluando la variable de respuesta asociada a la remoción de RAS, puede observarse que bajo la concentración más alta de este colorante (50 mg L⁻¹) se presenta un leve máximo en la remoción de este colorante cuando la concentración del agente oxidante se encuentra en su nivel medio (Figura 7.12b). Para niveles medios de masa de catalizador (102,1 mg) y [RAS] (27,5 mg L⁻¹), la concentración de NII y del agente oxidante no tienen efectos apreciables sobre esta variable de respuesta (Figura 7.12c). Si se mantienen las concentraciones del agente oxidante y de NII en niveles medios, en la [RAS] más alta se produce un aumento en su remoción con el aumento de la concentración de la masa del catalizador, mientras que en concentraciones bajas del colorante no ocurre lo mismo (Figura 7.12d). Esto podría asociarse a una mayor generación de radicales orgánicos derivados del colorante cuando su concentración es alta. Cuando la concentración del agente oxidante y de RAS se encuentran en niveles medios, la variación en la [NII] y del catalizador no presentan efectos notorios sobre la remoción de RAS (Figura 7.12e).

En cuanto a la remoción de NII, se observa que, manteniendo la concentración de los colorantes en los niveles medios del diseño experimental (27,5 mg L⁻¹ de cada uno), la concentración más alta del catalizador y una concentración en un nivel cercano al medio del agente oxidante maximizan la remoción de NII (Figura 7.15a). Concentraciones bajas de RAS maximizan la remoción de NII (Figura 7.15b y Figura 7.15d), lo cual sugiere una competencia entre los sustratos orgánicos, siendo RAS más susceptible a ser degradado ante este sistema catalítico.

En términos generales, un aumento de la masa del catalizador (de 10,5 g L⁻¹ a 40,6 g L⁻¹) y nivel medio del agente oxidante conducen a una mayor remoción de los colorantes, en términos de las variables de respuesta consideradas.

7.3.3. Optimización de la decoloración de RAS/NII en matriz de efluente simulado

Se optimizaron todas las variables de respuesta, maximizándolas, utilizando la función deseabilidad. Esta es una herramienta estadística utilizada en optimización para evaluar el grado de cumplimiento de los criterios objetivos para cada variable de

respuesta. Su objetivo es combinar múltiples respuestas en un solo índice de rendimiento que varía entre 0 y 1. Cuanto más próximo a 1 sea el valor de la deseabilidad, más se acerca al óptimo de las respuestas.

Se obtuvo que, las variables se maximizan para concentraciones máximas evaluadas de los colorantes, nivel medio del agente oxidante y concentración máxima del catalizador (Figura 7.16). Se selecciona el óptimo considerando el mínimo de H_2O_2 posible, considerando que, no solo el agregado del mismo implica un aumento en el costo del tratamiento, sino que el excedente en el medio de reacción implica interferencias en la caracterización posterior de las soluciones.

Se realizaron ensayos experimentales de validación de las variables de respuesta directas bajo los valores de los factores experimentales óptimos, obteniendo que el modelo se ajusta a los valores experimentales correctamente (Tabla 7.12). Sin embargo, cuando se realizó el ensayo utilizando un catalizador sintetizado en un batch de síntesis diferente, el error incrementó hasta el 10%. Esto se relaciona a la variabilidad intrínseca del método de síntesis por goteo manual de las esferas magnéticas de QUIT, que podría ser solventado automatizando el procedimiento con una bomba jeringa.

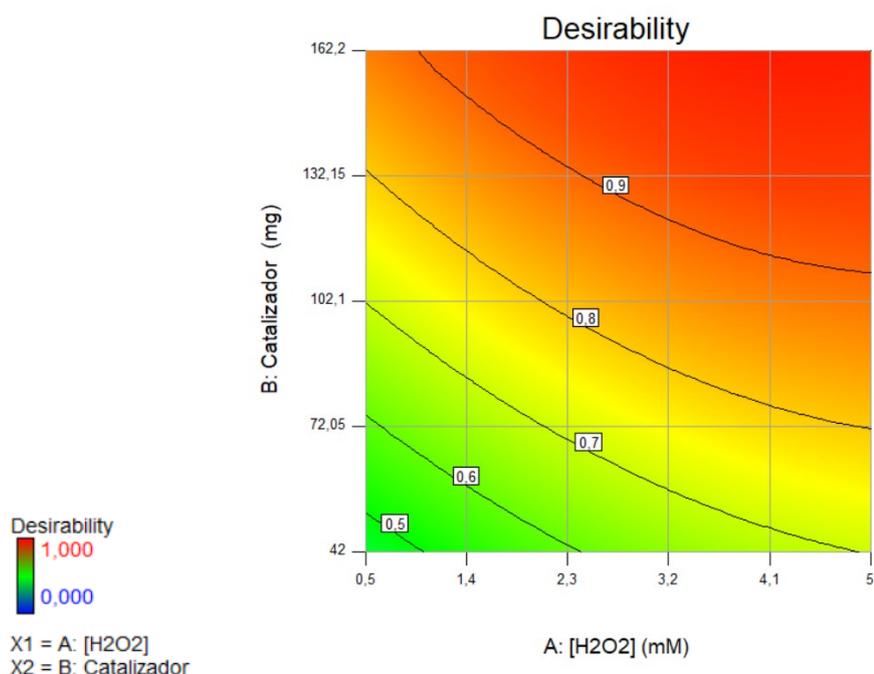


Figura 7.16 – Optimización de las variables de respuesta.

Tabla 7.12 – Confirmación de las variables de respuestas directas predichas por el modelo mediante ensayos experimentales (pH 9,4 en buffer Tris-HCl; T = 30 °C; agitación magnética 200 rpm).

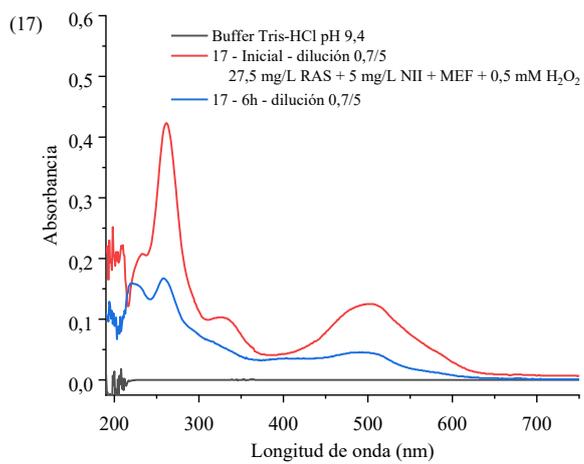
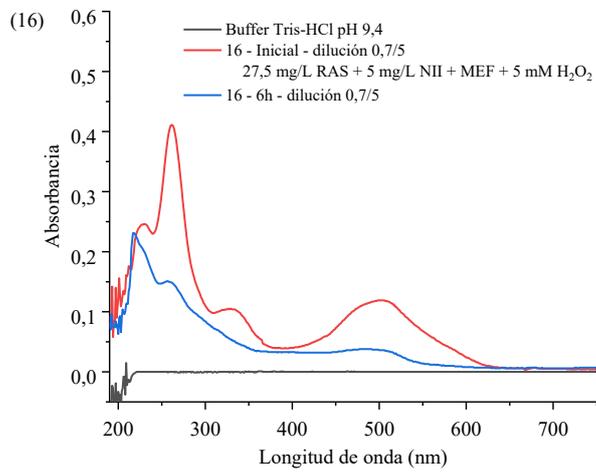
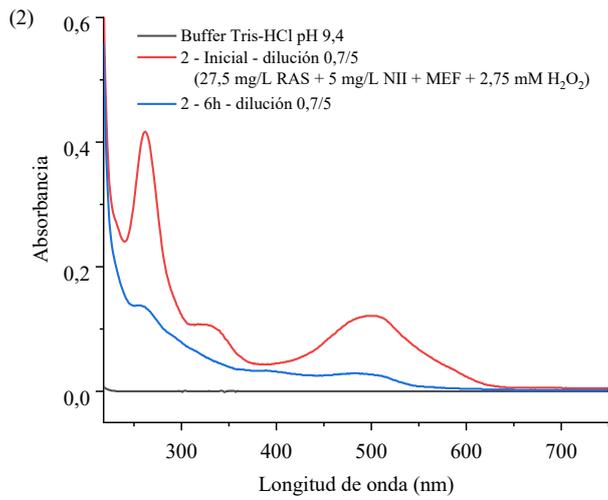
Niveles de factores experimentales	Respuesta	Predicho por el modelo	Valor obtenido ^A / error respecto al modelo	Valor obtenido ^B / error respecto al modelo
[RAS] = 50 mg L ⁻¹	Variación de la Abs a 262 nm	0,542	0,563 / 3,87	0,628 / 13,6
[NII] = 50 mg L ⁻¹	Variación de la Abs en pico principal	0,286	0,297 / 3,84	0,321 / 10,9
[H ₂ O ₂] = 2,75 mM				
[catalizador] = 40,6 g L ⁻¹				

Nota: Reacciones realizadas con ^A catalizador sintetizado en el mismo batch de síntesis que el utilizado en las reacciones del diseño experimental; ^B catalizador sintetizado en un batch diferente.

7.3.4. Análisis de los espectros de absorción UV-Vis

En los espectros de absorción UV-Vis de las reacciones que poseen mayor proporción de RAS que de NII (27,5 mg L⁻¹ RAS y 5 mg L⁻¹ NII) (Figura 7.17, reacciones 2, 16, 17 y 21), los picos en 262 nm y en 509 nm disminuyen sugiriendo pérdida de la estructura antraquinónica de RAS, mientras que alrededor de los 400 nm comienza a evidenciarse un aumento en la absorbancia. Esto podría ser indicio de la presencia de productos de degradación de RAS de menor peso molecular, particularmente las benzoquinonas. Estos compuestos absorben entre 400 y 500 nm de acuerdo a los grupos de sustitución debido a las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ [25]. Zucca et al. (2008) reporta cambios espectrales similares asociados a la degradación oxidativa de RAS utilizando H₂O₂ 8,8 mM y 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenil) porfina – Mn(III) inmovilizada en esferas de sílica a pH 7 [26].

Los espectros de absorción UV-Vis de soluciones correspondientes a reacciones donde la concentración de NII fue mayor que la de RAS muestran que la absorbancia disminuye a lo largo de todo el espectro, siendo el espectro final análogo al del colorante NII. Se obtienen nuevamente resultados que indican que el colorante azoico es recalcitrante respecto al RAS para el sistema bajo estudio.



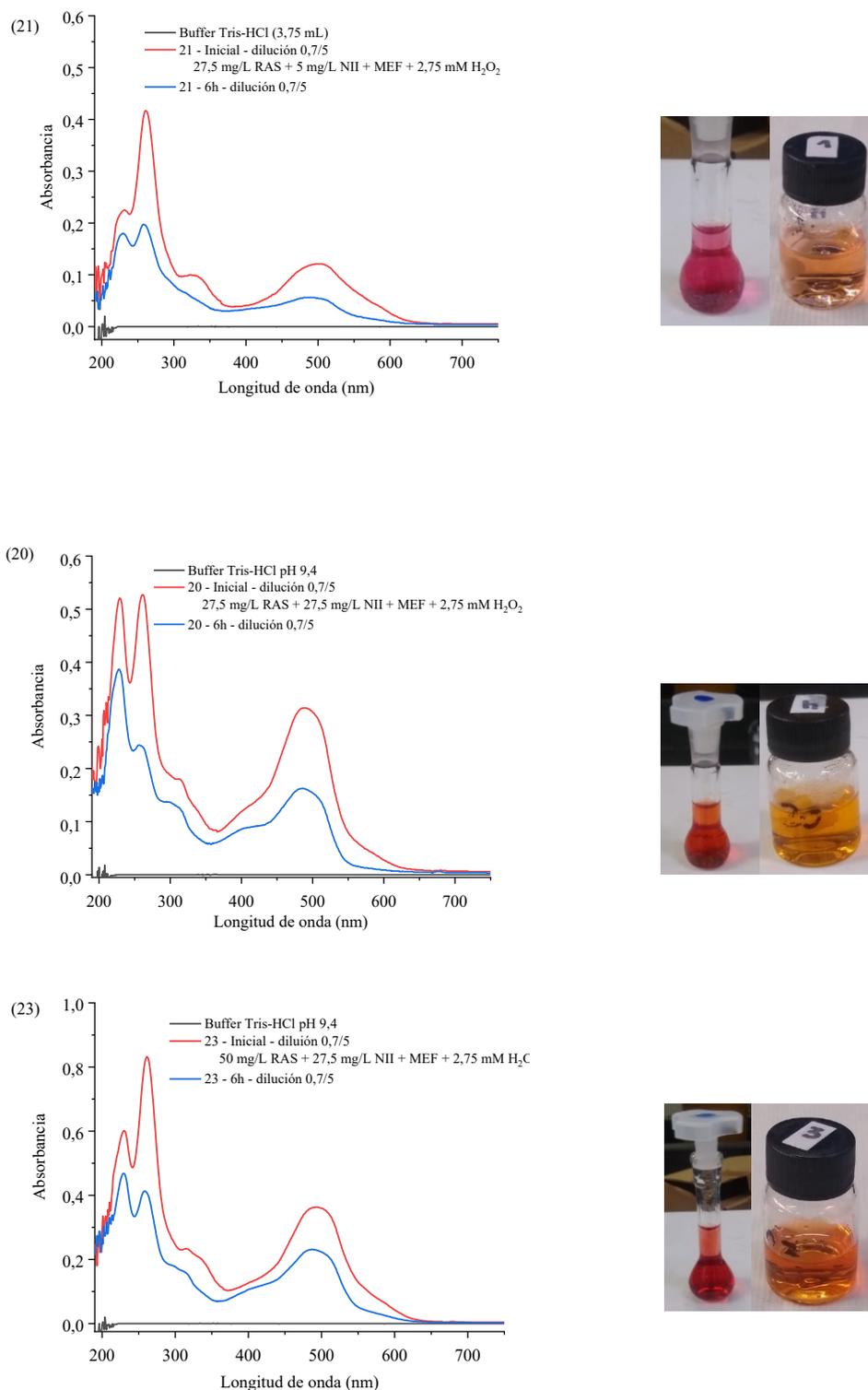


Figura 7.17 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones iniciales y a 6 h de reacción con [RAS] 27,5 mg L⁻¹ y [NII] 5 mg L⁻¹ correspondientes a reacciones del diseño experimental: (2) 162, 2 mg de catalizador y 2,75 mM H₂O₂; (16) 102,1 mg de catalizador y 5 mM H₂O₂; (17) 102,1 mg de catalizador y 0,5 mM H₂O₂; (21) 42,0 mg de catalizador y 2,75 mM H₂O₂; (20) 102,1 mg de catalizador y 2,75 mM H₂O₂; (23) 42,0 mg de catalizador y 2,75 mM H₂O₂. Las fotografías muestran las soluciones iniciales a la izquierda y a 6 h de reacción a la derecha.

7.3.5. Efectos del pH, temperatura y agitación

Se realizaron ensayos adicionales para evaluar el efecto del pH, la temperatura y el método de agitación (Tabla 7.13).

Si bien los efluentes textiles presentan valores alcalinos de pH, esto varía dependiendo de los procesos de la fábrica e incluso, en función del tiempo. Una empresa textil, ubicada en el centro sur de la provincia de Buenos Aires, dedicada principalmente al acabado y terminación de prendas de jeans (tipo Denim) y al teñido de prendas textiles como camisas y bermudas, genera 244 m³ de efluentes al día, cuyas características incluyen: DQO entre 900 y 1900 mg O₂ L⁻¹, bajo contenido en materias en suspensión, conductividad moderada, temperatura de vertido entre 26 y 45 °C y pH neutro [27]. Asimismo, se reporta pH 7,06 para un efluente real proveniente de un tanque de homogeneización (que almacena efluentes resultantes de los procesos de lavado, desengomado y tinturado) de una empresa textil dedicada a la fabricación de pantalones localizada en Medellín, Colombia [28]. Por ende, resultó relevante explorar el desempeño del sistema en agua destilada sin control de pH.

Se encontró que la reacción en agua destilada, a pH inicial de 7,6 tiene un efecto negativo en la reacción (ver ensayos 2 y 3). Esto concuerda con estudios previos que indican que HEM posee mejor desempeño catalítico en la remoción de RAS y NII en pH alcalino. Adicionalmente, un aumento de la temperatura no logró compensar la pérdida de actividad en agua destilada (comparar ensayos 3 al 5). En trabajos anteriores, utilizando HEM como catalizador, se encontró que bajo iguales condiciones de reacción, un aumento de la temperatura desde 45 a 65 °C mantuvo las remociones prácticamente constantes [29].

Se realizaron ensayos en shaker, con el fin de comparar el método de agitación y control de temperatura con placa magnética y baño termostático, encontrando que no hay un impacto significativo en la disminución de la absorbancia (ensayos 5 y 6). Fue propicio continuar con el resto de los ensayos en shaker dado que al no existir el contacto mecánico con la barra magnética, se prescinde del uso de malla de fibra de vidrio, por lo que el procedimiento posee mayor simplicidad desde el punto de vista práctico.

Se realizaron las reacciones en sistemas modelo, resultando interesante que las remociones alcanzadas en soluciones de mezcla de colorantes fueron similares a las

obtenidas en ausencia de los componentes que simulan un efluente textil, resultando prometedora la aplicación del catalizador en un efluente real. Bajo las condiciones de reacción optimizadas, en soluciones individuales de RAS y NII en sistemas modelo, se alcanzaron remociones de 92,5 y 63,9%, respectivamente.

Tabla 7.13 – Ensayos adicionales para evaluar efectos del pH, la temperatura y el método de agitación ($[H_2O_2] = 2,75 \text{ mM}$; 6 h).

	[catalizador] (g L ⁻¹)	[RAS] (mg L ⁻¹)	[NII] (mg L ⁻¹)	Medio	pH	T (°C)	Agitación (rpm)	Δ abs pico ppal (488 nm)	Remoción (%)
1	25,6	50	50	MEF	9,4	30	200 ^a	0,226	42,7
2	40,6	50	50	MEF	9,4	30	200 ^a	0,321	58,6
3	40,6	50	50	MEF	7,6	30	200 ^a	0,294	53,9
4	40,6	50	50	MEF	7,6	40	200 ^a	0,271±0,002	50,5±0,3
5	40,6	50	50	MEF	7,6	50	200 ^a	0,255	46,7
6	40,6	50	50	MEF	9,4	30	200 ^b	0,333	60,5
7	40,6	50	-	MOD	9,4	30	200 ^b	0,148	92,5
8	40,6	-	50	MOD	9,4	30	200 ^b	0,278	63,9
9	40,6	50	50	MOD	9,4	30	200 ^b	0,356	62,7

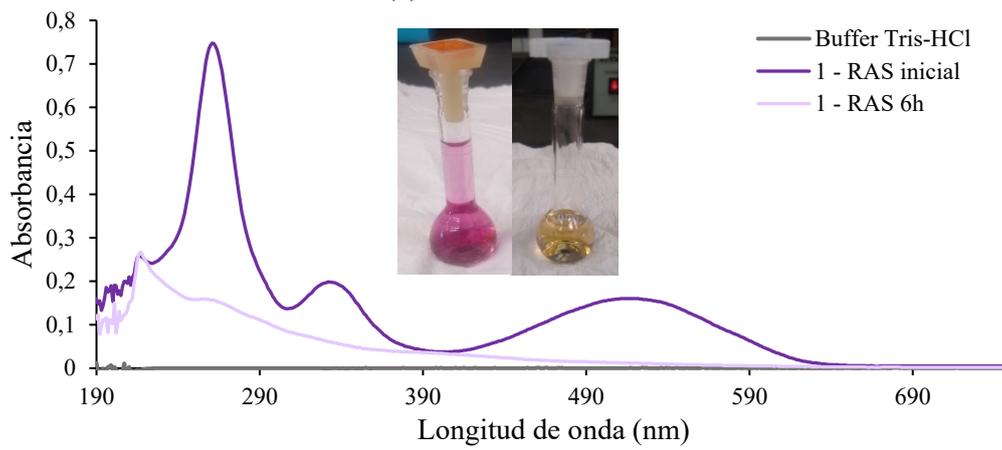
Nota: ^a agitación con barra y placa magnética y control de temperatura con baño termostatzado.

^b agitación y control de la temperatura en shaker.

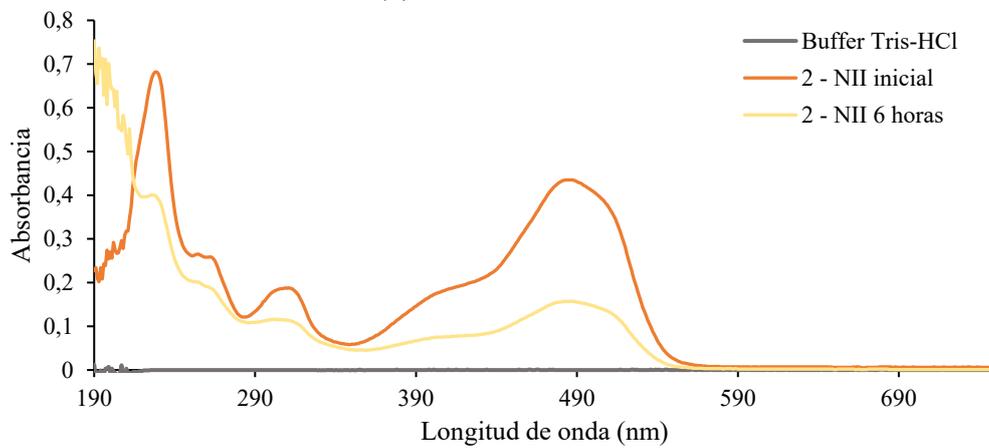
En la Figura 7.18 se presentan los espectros de absorción UV-Vis correspondientes a las reacciones de remoción de RAS (Figura 7.18a) y NII (Figura 7.18b) en sistemas modelo, correspondientes a remociones del 92,5 y 63,9 %. En el espectro de absorción UV-Vis de RAS se observa que el pico característico del colorante desaparece casi por completo, aumentando la absorbancia en longitudes de onda bajas indicando la degradación de la estructura molecular del colorante. En el caso del colorante azoico, se observa una reducción de la absorbancia en todas las bandas.

Respecto a las reacciones de remoción de RAS y NII en soluciones mezcla, tanto en sistema modelo como en matriz de efluente simulado, se observa que el espectro final es similar al del colorante NII, indicando que se remueve predominantemente RAS (Figura 7.18c y Figura 7.18d).

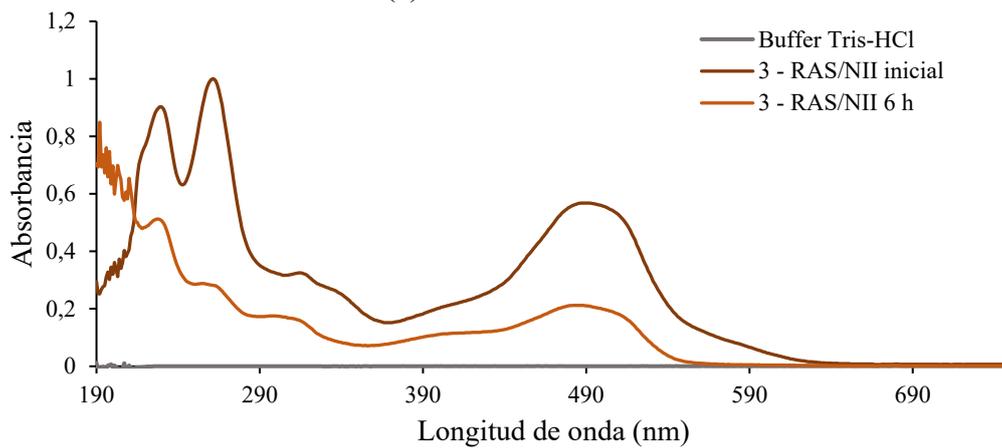
(a) Sistema modelo



(b) Sistema modelo



(c) Sistema modelo



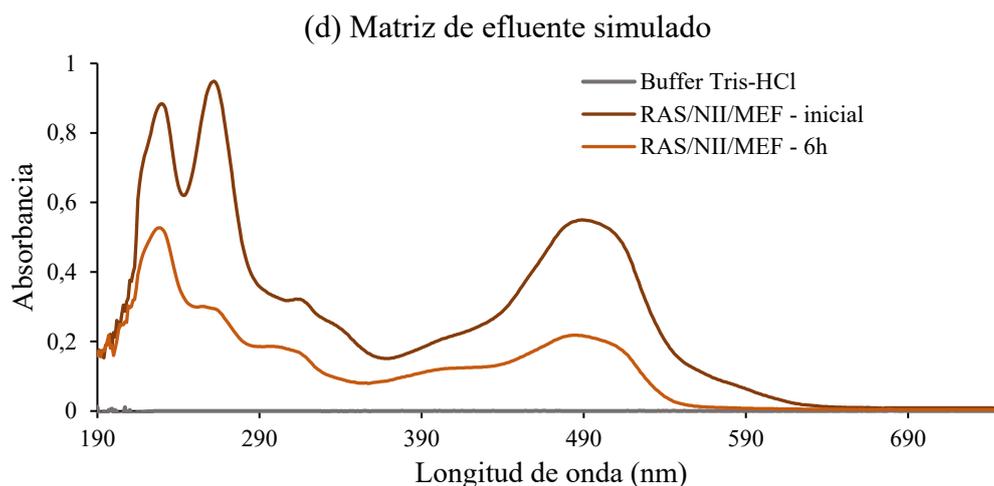


Figura 7.18 – Espectros de absorción UV-Vis de soluciones iniciales y a 6 h de reacción de (a) RAS en sistema modelo; (b) NII en sistema modelo; (c) RAS/NII en sistema modelo; (d) RAS/NII en matriz de efluente simulado.

7.3.6. Reúso

Se realizaron 4 ciclos de reúso para el sistema en matriz de efluente simulado manteniendo un 65% de la remoción inicial al quinto uso (Figura 7.19a). Resultados similares se obtuvieron para las remociones de RAS y NII en soluciones mezcla en sistema modelo (Figura 7.19b).

Para racionalizar la sostenibilidad de la actividad de MAG, en Dong et al. (2022) estudiaron los cambios atómicos internos utilizando espectroscopía de fotoelectrones de rayos X y estructura fina de absorción de rayos X cerca del borde [30]. Después de la oxidación de los iones Fe^{2+} a Fe^{3+} para formar radicales OH^\bullet , los iones ferrosos se regeneran por migración de electrones desde el Fe^{2+} interno hacia la superficie a través de las cadenas $-\text{Fe}^{2+}-\text{O}-\text{Fe}^{3+}-$ (Figura 7.20). Para mantener la electroneutralidad, el exceso de Fe^{3+} en la red migra hacia la superficie, dejando cationes vacantes. Después de una catálisis suficientemente prolongada, MAG se convierte paulatinamente en $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghemita) sin más actividad tipo peroxidasa. Asimismo, en Zandieh et al. (2021) se reporta el mecanismo por el cual ocurre la oxidación gradual de MAG hacia maghemita [31]. Esta transformación explica la caída en la actividad catalítica, asociada a la remoción de los colorantes, con los sucesivos reúsos encontrados para el sistema QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM.

Si bien los resultados de reúso son prometedores en cuanto a la aplicación real del catalizador bajo estudio, es importante destacar que se realizaron con el objetivo de poner en evidencia la posibilidad de volver a usar el catalizador. Sin embargo, es necesario un

estudio exhaustivo para optimizarlo. Ciertas variables como el lavado (si se hace o no), el pH de la solución de lavado (que condiciona el hinchamiento del QUIT), el tiempo y la temperatura en el almacenamiento previo al reuso, podrían condicionar los resultados.

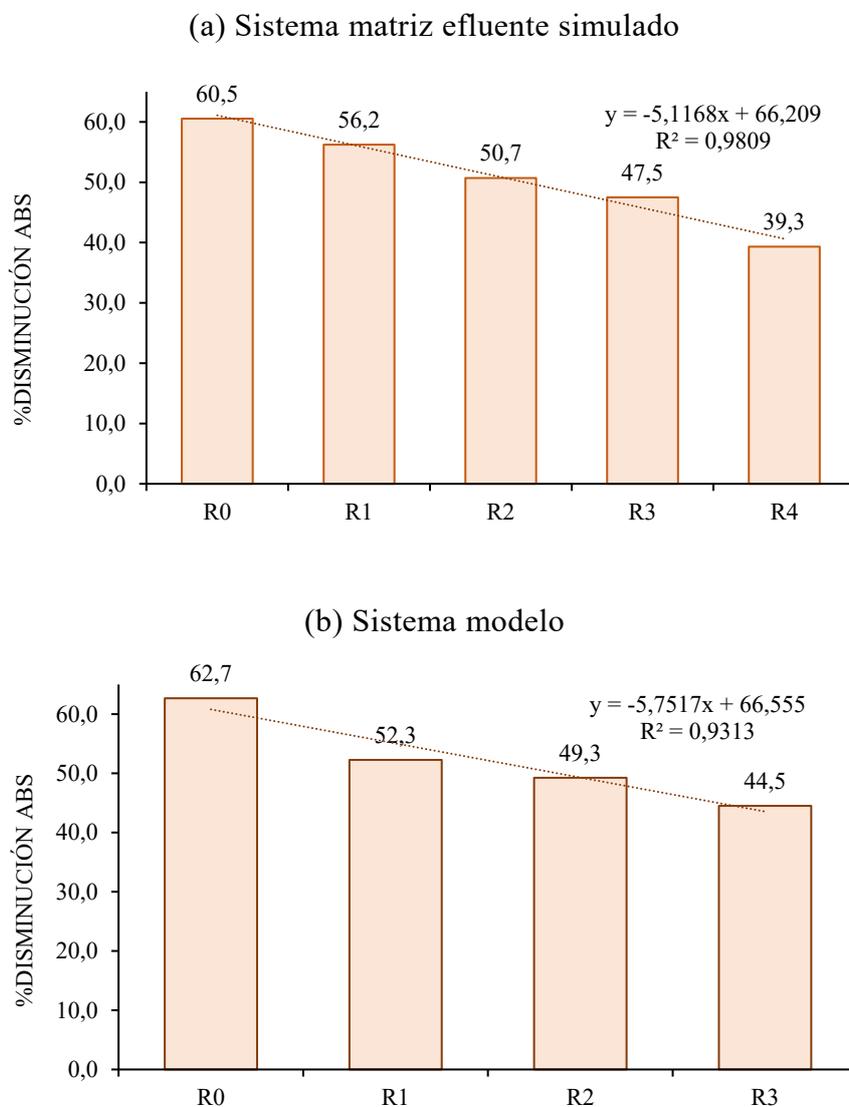


Figura 7.19 - Resultados de los ciclos de reuso del catalizador en la remoción de RAS/NII en soluciones mezcla en (a) matriz de efluente simulado y (b) sistema modelo.

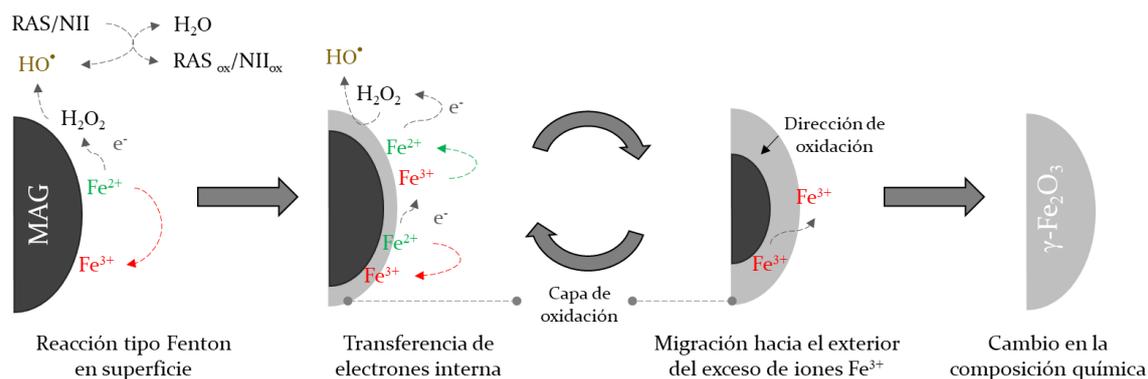


Figura 7.20 – Esquema del mecanismo catalítico de la actividad tipo peroxidasa en MAG. Adaptado de [30].

7.4. Discusión sobre mecanismos de reacción en el sistema multicatalítico

Uno de los principales objetivos de la presente tesis fue combinar la actividad de MAG y de HEM como mimético y biomimético, respectivamente, de peroxidasa maximizando la degradación de los colorantes frente a la adsorción en el sistema catalítico.

La investigación de metaloporfirinas inmovilizadas en la eliminación de colorantes no ha recibido aún el nivel de interés científico que su potencial amerita. Por ejemplo, una búsqueda en ScienceDirect con las palabras clave “*immobilized hematin dyes*” arrojó únicamente 247 artículos. Al incorporar los términos “*hydrogen peroxide*” se obtienen un total de 151 artículos, que incluyen trabajos previamente publicados por el grupo. Una búsqueda más amplia con las palabras claves “*Immobilized metalloporphyrin dyes*” genera 1190 artículos, mientras que la adición de “*hydrogen peroxide*” reduce los resultados a 591. Desde 2010, no se registran más de 352 publicaciones específicas sobre el tema y la mayoría de ellas se centran en aplicaciones fotocatalíticas, sensores, usos médicos y nanocatalizadores. En este contexto, el desarrollo de un sistema multicatalítico estable que combine MAG y HEM, como el propuesto en esta tesis, representa una aproximación novedosa con un significativo potencial para aplicaciones catalíticas avanzadas.

En cuanto a los mecanismos de acción, se abordan a continuación brevemente los dos mecanismos paralelos previamente descritos en capítulos anteriores, destacando las interacciones específicas que podrían ocurrir en el sistema multicatalítico y su contribución al desempeño observado.

A) Mecanismo simplificado de reacción involucrando MAG

Como se detalló en el Capítulo I, Haber y Weiss propusieron el radical OH^\bullet como agente oxidante activo; y luego, Barb y colaboradores, ampliaron la perspectiva, postulando el mecanismo Fenton clásico.

Sin embargo, existen reportes acerca de la posible formación de FeO^{2+} como intermediario clave en la reacción Fenton, particularmente a pH cercano a la neutralidad [32]. Hasta aproximadamente pH 5, la reacción Fenton produce OH^\bullet . Con valores superiores de pH, se propone la formación de FeO^{2+} . La propuesta para la formación de FeO^{2+} a partir de Fe^{2+} y H_2O_2 cerca del pH neutro se basa en dos observaciones y una suposición. Las observaciones son que, por encima de pH 5, la concentración de OH^- puede influir en la cinética de la reacción debido a la ionización del H_2O_2 y se forman productos no radicalarios. Esto implica que se produce un cambio en el mecanismo de la reacción, pasando de ser homolítico (generando radicales libres como OH^\bullet) a heterolítico (no generando radicales libres). Este cambio está, entonces, asociado con la ionización del H_2O_2 y con las propiedades ácido-base de los complejos metálicos implicados. Como resultado se forman productos no radicalarios. El complejo $\text{Fe}^{2+}\text{-H}_2\text{O}_2$ tiene un pKa de 5. La suposición es que este complejo se desintegra a FeO^{2+} de forma termoneutral o con un cambio de energía de Gibbs negativo. En muchos estudios Fenton, o simulaciones de los mismos, realizados a pH neutro o cerca de él, se cree que el producto reactivo es OH^\bullet . En cambio, es probable que sea FeO^{2+} .

Este mecanismo no radicalario (Figura 7.21) ha sido presentado por Kremer (2019) luego de un arduo trabajo realizado por décadas [33]. Se propone que la reacción inicia con la formación de un complejo precursor $\{\text{Fe}^{2+} \cdot \text{H}_2\text{O}_2\}$ (paso 1 y 2), el cual sufre un reordenamiento interno, produciendo el intermediario activo FeO^{2+} (paso 3). Este intermediario podría participar en tres procesos principales:

- (I) evolución de O_2 , a través de dos rutas posibles: (a) reacción directa entre FeO^{2+} y H_2O_2 (paso 4) y (b) intervención de iones Fe^{3+} (paso 6, 7, 8). Las curvas de concentración de O_2 en función del tiempo, indican una fase de evolución rápida inicial seguida de una fase lenta y lineal.
- (II) oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} (paso 5);
- (III) oxidación de sustratos presentes.

El autor señala que los resultados del modelo no radicalario son más consistentes que los del modelo radicalario original, aunque persisten ciertas incertidumbres experimentales, como la identificación precisa del punto de transición entre las fases de reacción y la interpretación de los valores obtenidos por extrapolación.

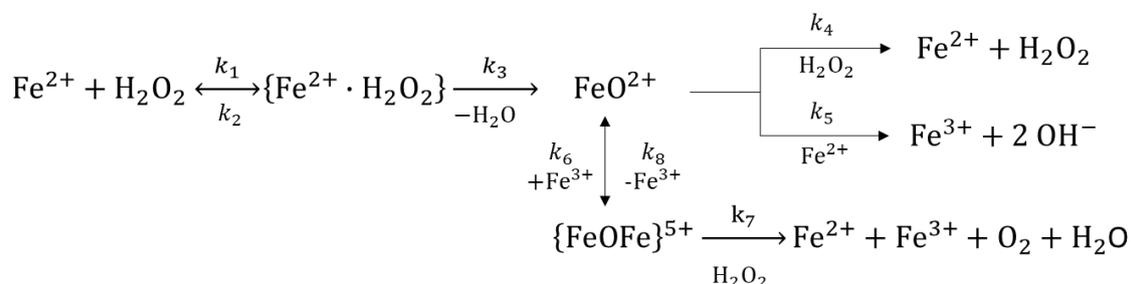


Figura 7.21 – Mecanismo basado en la formación de FeO^{2+} propuesto por Kremer (2019) [33].

Aunque actualmente se acepta que, a valores de pH neutros y alcalinos, el mecanismo Fenton opera predominantemente a través de intermediarios no radicalarios, este enfoque ha sido objeto de un largo debate y cuestionamientos en la literatura científica. En el trabajo de revisión publicado por Magario et al. (2012) se reconoce la existencia de rutas no radicalarias con un papel importante en ciertas condiciones [34]. Se propone la existencia de (I) intermediarios activos, tales como Fe(IV)=O o Fe(V)=O , que podrían actuar directamente como agentes oxidantes sin generar radicales libres; y (II) transferencias electrónicas directas entre el contaminante y las especies activadas del hierro. Se expone que los mecanismos no radicalarios podrían competir con los radicalarios, dependiendo de las condiciones experimentales como el pH, la concentración de H_2O_2 y la naturaleza del catalizador.

En Zandieh et al. (2021) se presenta de manera comparativa los mecanismos que tienen lugar en MAG y HRP (Figura 7.22). Se reporta que las reacciones superficiales sobre MAG se dividen en reacciones de generación de radicales OH^\bullet , generación de radicales hidropoxilo HO_2^\bullet , oxidación de especies cromogénicas y regeneración de especies superficiales (Figura 7.22a) [35]. La etapa limitante es la reducción de H_2O_2 a especies OH^\bullet por los sitios superficiales metálicos. Los OH^\bullet oxidan a los sustratos cromogénicos como el tetrametilbencidina (TMB) y oxidan H_2O_2 a HO_2^\bullet . Estos regeneran los sitios activos superficiales por reducción de M^{n+1} a M^{n+} . MAG genera radicales OH^\bullet mientras que la enzima HRP retiene a especies radicalarias en el anillo porfirínico (Figura 7.22b). Los autores plantean que nanopartículas del orden de ~ 86 nm de MAG son más

activas que las más pequeñas, de unos ~20 nm, y atribuyen esto a la policristalinidad de las partículas más grandes que permiten una mayor relación Fe^{2+}/Fe^{3+} .

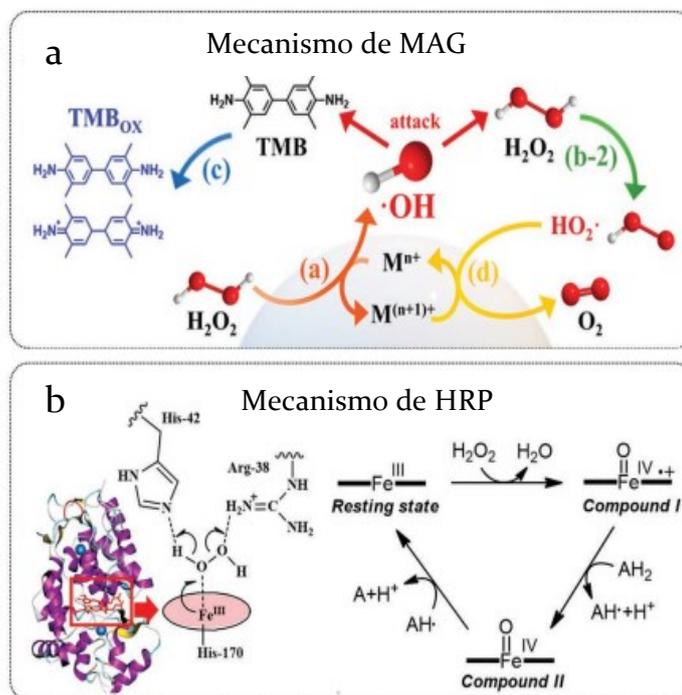


Figura 7.22 – (a) Mecanismo de MAG y (b) mecanismo de HRP. Figura tomada de Zandieh et al. (2021) [31].

B) Mecanismo simplificado de reacción involucrando HEM

En Córdoba et al. (2023) se proponen mecanismos de degradación de colorantes fenólicos utilizando HEM y H_2O_2 [36]. La Figura 7.23 muestra el modelo del mecanismo para HEM con RAS en sistema homogéneo. Es interesante dado que resume en forma simplificada los sistemas presentes en el sólido multicatalítico bajo estudio, sistema compuesto por HEM-MAG-QUIT, en presencia de agua oxigenada: (I) generación de radicales $OH\cdot$ e hidroperoxilo $HO_2\cdot$ por parte de MAG y circuito de regeneración de sitios activos superficiales con transformación a maghemita y (II) generación de radicales $AH\cdot$ (derivados de los colorantes) y H_2O por parte de HEM como biomimético de peroxidasa. Estudios del grupo de Catálisis llevados a cabo en el marco de la tesis de la Dra. Córdoba demuestran que los datos cinéticos de eliminación de RAS pueden ajustarse mediante un mecanismo que toma en cuenta los tres estados de HEM: estado fundamental, E_0 ; compuesto 1, E_1 ; compuesto 2, E_2 ; y un compuesto 3, E_3 , que se forma desde E_2 . Esto es una vía de descomposición de H_2O_2 y la regeneración de E_0 desde E_3 . En concentraciones altas de H_2O_2 puede darse una degradación irreversible de HEM por formación del

compuesto Verdohemo que es inactivo catalíticamente. Bajo las concentraciones de H_2O_2 utilizadas en el presente trabajo, esta ruta no ocurriría.

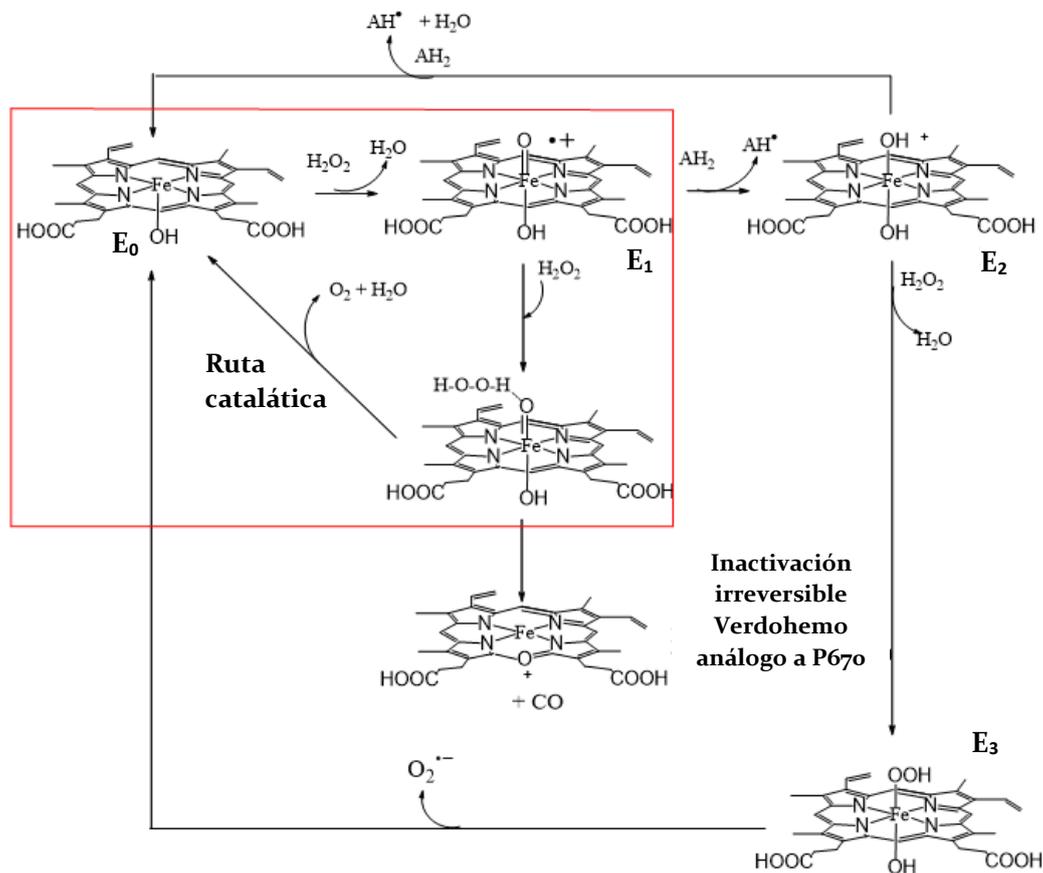


Figura 7.23 – Mecanismo de degradación de colorantes fenólicos utilizando HEM y H_2O_2 . Figura obtenida de [36].

El modelo para la remoción de NII con HEM en un sistema homogéneo debió considerar la coordinación improductiva del colorante al estado nativo de HEM antes de la activación del H_2O_2 , una etapa que no era necesario considerar con RAS. Este hallazgo cinético se correlaciona con la explicación presentada de una coordinación lenta de NII para la reacción símil peroxidasa con el E_1 de HEM. El modelo peroxidático acoplado al mecanismo pseudocatalítico arrojó predicciones más cercanas a los hallazgos experimentales en un amplio rango de concentraciones de NII (Figura 7.24).

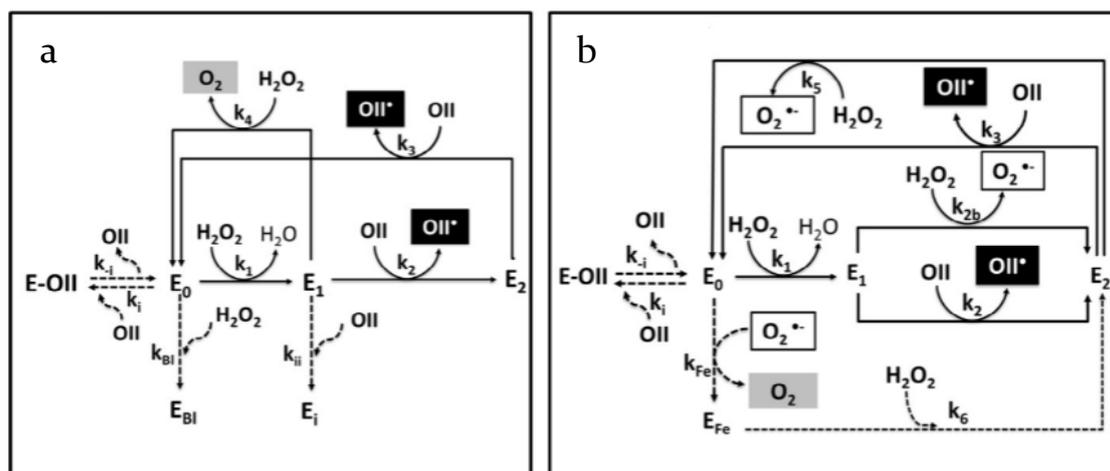


Figura 7.24 – (a) Mecanismo peroxidático acoplado a una ruta catalítica. (b) Mecanismo peroxidático acoplado a una ruta pseudocatalítica. Figura obtenida de [37]. **Nota:** O₂^{•-}, radical superóxido.

7.5. Conclusiones

En el presente capítulo se abordó el estudio de la decoloración de RAS y NII en soluciones mezcla en una matriz de efluente simulado. El diseño experimental seleccionado arrojó modelos matemáticos que describen satisfactoriamente la variabilidad en la degradación de los colorantes. El objetivo fue hallar los valores óptimos de los factores experimentales con el fin de explorar la aplicación de este sistema como paso previo a una instancia de adsorción.

Fue interesante que la remoción de NII se maximiza ante concentraciones bajas de RAS, cuando la concentración de H₂O₂ es media (2,75 mM), lo cual se asoció a una competencia entre los sustratos orgánicos, siendo RAS más susceptible a ser degradado ante este sistema catalítico. Esto puede explicarse considerando los resultados obtenidos en el Capítulo VI y los trabajos previos realizados en el grupo.

Los valores de los factores experimentales fueron optimizados ([RAS] = 50 mg L⁻¹; [NII] = 50 mg L⁻¹; [H₂O₂] = 2,75 mM; [catalizador] = 40,6 g L⁻¹) maximizando las variables de respuesta. Se encontró que, a pH 9,4 en buffer Tris-HCl, el sistema catalítico conduce a disminuciones de absorbancia en el pico principal de soluciones RAS/NII (50 mg L⁻¹ cada uno) correspondientes a 62,7% en soluciones modelo y 60,5% en presencia de la matriz de efluente simulado. Esto implica que no se producen efectos inhibitorios

de la actividad catalítica cuando se encuentran presentes diferentes sustancias químicas comúnmente presente en los efluentes textiles.

Los ciclos de reúso permitieron identificar que, en una matriz de efluente simulado el catalizador mantiene hasta un 65% de su capacidad de remoción de RAS/NII (evaluada como variación de la absorbancia en el pico principal de las soluciones mezcla). Si bien existe una pérdida de la actividad catalítica, asociada a la oxidación de MAG hacia maghemita, los resultados son alentadores en vistas de una aplicación real.

7.6. Referencias

- [1] C. O’neill, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, N. D. Lourenço, H. M. Pinheiro, and W. Delée, “Colour in textile effluents-sources, measurement, discharge consents and simulation: a review,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 74, pp. 1009–18, 1999, doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4660\(199911\)74:11<1009::AID-JCTB153>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(199911)74:11<1009::AID-JCTB153>3.0.CO;2-N).
- [2] A. Yurtsever, E. Basaran, D. Ucar, and E. Sahinkaya, “Self-forming dynamic membrane bioreactor for textile industry wastewater treatment,” *Science of the Total Environment*, vol. 751, Jan. 2021, doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.141572](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141572).
- [3] A. Bes-Pifi, J. A. Mendoza-Roca, M. I. Alcaina-Miranda, A. Iborra-Clar, and M. I. Iborra-Clar, “Combination of physico-chemical treatment and nanofiltration to reuse wastewater of a printing, dyeing and finishing textile industry,” *Desalination*, vol. 157, pp. 73–80, 2003, [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/desal
- [4] A. Chaturvedi, B. N. Rai, R. S. Singh, and R. P. Jaiswal, “Comparative toxicity assessment using plant and luminescent bacterial assays after anaerobic treatments of dyeing wastewater in a recirculating fixed bed bioreactor,” *J Environ Chem Eng*, vol. 9, no. 4, Aug. 2021, doi: [10.1016/j.jece.2021.105466](https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105466).
- [5] J. Nath, S. Bag, D. Bera, and L. Ray, “Biotreatment of malachite green from aqueous solution and simulated textile effluent by growing cells (batch mode) and activated sludge system,” *Groundw Sustain Dev*, vol. 8, pp. 172–178, Apr. 2019, doi: [10.1016/j.gsd.2018.11.002](https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.11.002).
- [6] H. Sari Erkan, A. Çağlak, A. Soysaloglu, B. Takatas, and G. Onkal Engin, “Performance evaluation of conventional membrane bioreactor and moving bed membrane bioreactor for synthetic textile wastewater treatment,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 38, Dec. 2020, doi: [10.1016/j.jwpe.2020.101631](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101631).
- [7] M. Işık and D. T. Sponza, “Anaerobic/aerobic treatment of a simulated textile wastewater,” *Sep Purif Technol*, vol. 60, no. 1, pp. 64–72, Apr. 2008, doi: [10.1016/j.seppur.2007.07.043](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.07.043).

- [8] S. A. Avlonitis, I. Poullos, D. Sotiriou, M. Pappas, and K. Moutesidis, “Simulated cotton dye effluents treatment and reuse by nanofiltration,” *Desalination*, vol. 221, no. 1–3, pp. 259–267, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.desal.2007.01.082.
- [9] K. Balapure, N. Bhatt, and D. Madamwar, “Mineralization of reactive azo dyes present in simulated textile waste water using down flow microaerophilic fixed film bioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 175, pp. 1–7, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2014.10.040.
- [10] Z. Zafar, R. Fatima, and J. O. Kim, “Experimental studies on water matrix and influence of textile effluents on photocatalytic degradation of organic wastewater using Fe–TiO₂ nanotubes: Towards commercial application,” *Environ Res*, vol. 197, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.envres.2021.111120.
- [11] B. L. Alderete *et al.*, “Evaluation of toxicity and mutagenicity of a synthetic effluent containing azo dye after Advanced Oxidation Process treatment,” *Chemosphere*, vol. 263, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128291.
- [12] R. Shoukat, S. J. Khan, and Y. Jamal, “Hybrid anaerobic-aerobic biological treatment for real textile wastewater,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 29, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.jwpe.2019.100804.
- [13] S. Jallouli *et al.*, “Living membrane bioreactor for highly effective and eco-friendly treatment of textile wastewater,” *Science of the Total Environment*, vol. 871, May 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.161963.
- [14] Ö. Çinar, S. Yaşar, M. Kertmen, K. Demiröz, N. Ö. Yigit, and M. Kitis, “Effect of cycle time on biodegradation of azo dye in sequencing batch reactor,” *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 86, no. 6, pp. 455–460, Nov. 2008, doi: 10.1016/j.psep.2008.03.001.
- [15] D. Pandey, A. Daverey, K. Dutta, and K. Arunachalam, “Dye removal from simulated and real textile effluent using laccase immobilized on pine needle biochar,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 53, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.jwpe.2023.103710.
- [16] A. Spagni, S. Grilli, S. Casu, and D. Mattioli, “Treatment of a simulated textile wastewater containing the azo-dye reactive orange 16 in an anaerobic-biofilm

- anoxic-aerobic membrane bioreactor,” *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 64, no. 7, pp. 676–681, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.ibiod.2010.08.004.
- [17] D. A. Yaseen and M. Scholz, “Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review,” *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, no. 2, pp. 1193–1226, 2019, doi: 10.1007/s13762-018-2130-z.
- [18] I. A. Alaton, I. Akmehmet Balcioglu, and D. W. Bahnemann, “Advanced oxidation of a reactive dyebath effluent: comparison of O_3 , $H_2O_2/UV-C$ and $TiO_2/UV-A$ processes,” *Water Res*, vol. 36, pp. 1143–1154, 2002.
- [19] B. K. Körbahti and A. Tanyolaç, “Electrochemical treatment of simulated textile wastewater with industrial components and Levafix Blue CA reactive dye: Optimization through response surface methodology,” *J Hazard Mater*, vol. 151, no. 2–3, pp. 422–431, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.06.010.
- [20] B. Chen, F. Long, S. Chen, Y. Cao, and X. Pan, “Magnetic chitosan biopolymer as a versatile adsorbent for simultaneous and synergistic removal of different sorts of dyestuffs from simulated wastewater,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 385, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.cej.2019.123926.
- [21] J. Hou *et al.*, “Mesoporous silicon extracted from rice husk for remediation of different sorts of dyestuffs from simulated textile effluent: kinetic, isotherm, and mechanism study,” *Biomass Convers Biorefin*, vol. 13, no. 18, pp. 17003–17016, Dec. 2023, doi: 10.1007/s13399-022-02302-w.
- [22] Y. Shi, D. Feng, S. Ahmad, L. Liu, and J. Tang, “Recent advances in metal–organic frameworks–derived carbon-based materials in sulfate radical-based advanced oxidation processes for organic pollutant removal,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 454, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.cej.2022.140244.
- [23] B. S. Marques, T. S. Frantz, T. R. Sant’Anna Cadaval Junior, L. A. de Almeida Pinto, and G. L. Dotto, “Adsorption of a textile dye onto piaçava fibers: kinetic, equilibrium, thermodynamics, and application in simulated effluents,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, no. 28, pp. 28584–28592, Oct. 2019, doi: 10.1007/s11356-018-3587-5.

- [24] P. Nicolás, G. S. López Pagni, F. Horst, V. Lasalle, and M. L. Ferreira, “Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes,” *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.
- [25] R. M. Cory and D. M. McKnight, “Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter,” *Environ Sci Technol*, vol. 39, no. 21, pp. 8142–8149, Nov. 2005, doi: 10.1021/es0506962.
- [26] P. Zucca, C. Vinci, F. Sollai, A. Rescigno, and E. Sanjust, “Degradation of Alizarin Red S under mild experimental conditions by immobilized 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphine-Mn(III) as a biomimetic peroxidase-like catalyst,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 288, no. 1–2, pp. 97–102, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.molcata.2008.04.001.
- [27] P. B. Ramos, “Tratamiento de efluente textil real aplicando tecnologías amigables con el medioambiente,” Universidad del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería. Repositorio Institucional de Acceso Abierto, Olavarría, 2018. Accessed: May 25, 2025. [Online]. Available: <https://ridaa.unicen.edu.ar:8443/server/api/core/bitstreams/940cc42a-59fb-4ab8-9233-c7770cbfe85b/content>
- [28] E. Gilpavas, P. E. Arbeláez-Castaño, J. D. Medina-Arroyave, and C. M. Gómez-Atehortua, “Tratamiento de aguas residuales de la industria textil mediante coagulación química acoplada a procesos Fenton intensificados con ultrasonido de baja frecuencia,” *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, vol. 34, pp. 157–161, 2018, doi: 10.20937/RICA.2018.34.01.14.
- [29] S. Pirillo, F. S. García Einschlag, E. H. Rueda, and M. L. Ferreira, “Horseradish peroxidase and hematin as biocatalysts for alizarin degradation using hydrogen peroxide,” *Ind Eng Chem Res*, vol. 49, no. 15, pp. 6745–6752, 2010, doi: 10.1021/ie901528y.
- [30] H. Dong *et al.*, “Depletable peroxidase-like activity of Fe₃O₄ nanozymes accompanied with separate migration of electrons and iron ions,” *Nat Commun*, vol. 13, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/s41467-022-33098-y.
- [31] M. Zandieh and J. Liu, “Nanozyme Catalytic Turnover and Self-Limited Reactions,” *ACS Nano*, vol. 15, no. 10, pp. 15645–15655, 2021.

- [32] W. H. Koppenol, “Ferry1 for real. The Fenton reaction near neutral pH,” *Dalton Transactions*, vol. 51, no. 45, pp. 17496–17502, Oct. 2022, doi: 10.1039/d2dt03168j.
- [33] M. L. Kremer, “New kinetic analysis of the Fenton reaction: Critical examination of the free radical – chain reaction concept,” *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism*, vol. 44, no. 4, pp. 289–299, 2019, doi: 10.1177/1468678319860991.
- [34] I. Magario, F. S. García Einschlag, E. H. Rueda, J. Zygadlo, and M. L. Ferreira, “Mechanisms of radical generation in the removal of phenol derivatives and pigments using different Fe-based catalytic systems,” *J Mol Catal A Chem*, vol. 352, pp. 1–20, 2012, doi: 10.1016/j.molcata.2011.10.006.
- [35] B. Yuan, H.-L. Chou, and Y.-K. Peng, “Disclosing the Origin of Transition Metal Oxides as Peroxidase (and Catalase) Mimetics,” *Get e-Alerts ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 14, no. 20, pp. 22728–22736, 2022.
- [36] A. Córdoba, E. Ottonello, M. Belén Andali, I. Magario, and M. Lujan Ferreira, “Soluble and supported hematin as a catalyst for decolourization of anthraquinone textile dyes: A kinetic modelling validation study,” *Chem Eng Sci*, vol. 276, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.ces.2023.118821.
- [37] C. Cabrera, A. Cornaglia, A. Córdoba, I. Magario, and M. L. Ferreira, “Kinetic modelling of the hematin catalysed decolourization of Orange II solutions,” *Chem Eng Sci*, vol. 161, pp. 127–137, 2017, doi: 10.1016/j.ces.2016.11.049.

ETAPA II DEL TRATAMIENTO

ADSORCIÓN

Capítulo VIII

Adsorción de colorantes sobre quitosano/biomasa de *Araujia sericifera*

8.1. Introducción

La adsorción es una de las técnicas más aplicadas en el campo de la ciencia de la separación, particularmente utilizada para eliminar contaminantes no biodegradables de las aguas residuales [1], [2]. El proceso de adsorción se destaca por su alta eficiencia, su simplicidad en la aplicación y el control, y el menor costo en comparación con otros procesos, especialmente desde el punto de vista económico y ambiental [3]. Sin embargo, una desventaja crítica de los adsorbentes es que solo logran trasladar el contaminante de una fase (generalmente líquida) a otra (sólida), sin llevar a cabo una transformación o degradación del mismo. El adsorbente con el contaminante retenido requiere instancias de regeneración o la disposición final del material, lo cual añade costos y posibles riesgos ambientales al proceso.

No obstante, varios materiales sólidos se han utilizado como adsorbentes para eliminar una amplia gama de contaminantes. Aunque el carbón activado es el adsorbente comúnmente aplicado, su uso está asociado a un elevado costo y a la pérdida de hasta un 15 % en la eficiencia de adsorción en la regeneración [1], [4]. Además, este proceso requiere un alto consumo de energía, así como productos químicos y equipos con costos prohibitivos [5].

Actualmente, existe una tendencia hacia el estudio de materiales adsorbentes biocompatibles, accesibles, eficientes y de bajo costo [6]. En investigaciones recientes se reporta el uso de biopolímeros naturales y materiales de desecho como alternativa para el tratamiento de efluentes [5], [7]. Los materiales naturales, residuos o subproductos de industrias que pueden ser utilizados luego de un tratamiento simple, o sin tratamiento, se denominan adsorbentes de bajo costo [8].

En los últimos años se ha prestado una gran atención al desarrollo de biosorbentes a partir de materiales naturales como alternativa al carbón activado. Por ejemplo, Anastopoulos y Pashalidis (2020) publicaron una revisión sobre el uso de adsorbentes basados en *Luffa cylindrica* para eliminar metales tóxicos, colorantes y otros contaminantes emergentes de soluciones acuosas [9]. Los biosorbentes basados en polímeros naturales poseen varias ventajas entre las cuales se pueden mencionar: nula toxicidad, biodegradabilidad, alta capacidad de adsorción, elevada disponibilidad y minimización de lodos químicos o biológicos [10]. La biosorción implica un proceso fisicoquímico mediante el cual los materiales derivados de la biomasa (matriz biológica) pueden adsorber sorbatos (moléculas de colorantes o metales pesados) en su superficie. Estos adsorbentes están compuestos principalmente por lignina, hemicelulosa y celulosa que son estructuras ricas en grupos reactivos [11]. Algunos grupos funcionales que pueden contener estos compuestos químicos son carboxilo, hidroxilo, éter, amino y fosfato.

Los mecanismos de adsorción comúnmente propuestos para la eliminación de compuestos tanto inorgánicos como orgánicos incluyen la interacción electrostática, el intercambio de iones y la complejación [12]. En ocasiones, los bioadsorbentes son más selectivos en su acción que las resinas de intercambio iónico tradicionales y pueden limitar la concentración de los colorantes incluso a concentraciones del orden de los ppb [13].

Los adsorbentes derivados de materiales naturales como la celulosa y la quitina, que son los polímeros naturales más abundantes, han sido ampliamente estudiados [14]. Asimismo, las fibras naturales han recibido gran atención debido a características que las vuelven atractivas para su uso: son económicas, sustentables, no tóxicas, y se encuentran disponibles en abundancia [15]. Estas están constituidas principalmente por hemicelulosa, celulosa y lignina [16]. La celulosa, que es la fracción principal de las fibras, es un polisacárido semicristalino formado por enlaces D-glucosídicos. La presencia de grupos hidroxilos en la celulosa (tres en cada unidad de repetición) da propiedades hidrofílicas a las fibras naturales. La hemicelulosa está fuertemente enlazada a las fibras de celulosa, presumiblemente por enlaces puente de hidrógeno. La hemicelulosa es totalmente amorfa y tiene una masa molar significativamente menor que la celulosa. Debido a su estructura abierta, que contiene muchos grupos hidroxilo y

acetilo, la hemicelulosa es en parte soluble en agua e higroscópica. La lignina es amorfa, altamente compleja [17].

Banerjee y Chattopadhyaya (2013) utilizaron aserrín no modificado como adsorbente de tartrazina (colorante azoico) a partir de soluciones acuosas [18]. La composición del material incluye celulosa y lignina, ambas estructuras aportan sitios activos para la adsorción de moléculas de colorante. Se encontró una eficiencia máxima del 97% de remoción de 1 mg L⁻¹ de tartrazina (pH = 3 y 70 min) con una capacidad de adsorción de Langmuir de 4,71 mg g⁻¹ a 318 K. Sin embargo, para mejorar la eficiencia de la celulosa para la remoción de colorantes, suele requerirse de un tratamiento adecuado para introducir sitios reactivos y activar la capacidad de adsorción [19]. Es así que se ha explorado la incorporación de biomasa tratada (celulosa relativamente pura) en perlas de alginato cálcico utilizando GA para crear enlaces entre las cadenas de biomasa tratada [10]. Los adsorbentes preparados se aplicaron con éxito para eliminar plomo de soluciones acuosas. Además, en Meng et al. (2020) utilizaron un adsorbente basado en lignina aminada para eliminar azul de metileno y azul directo 1 [20]. La lignina aminada, que tiene una naturaleza aromática/fenólica y una cadena lateral catiónica, ha demostrado ser un adsorbente eficaz para los colorantes azoicos, que suelen tener una carga aniónica en las aguas residuales.

Existen antecedentes en el grupo de Catálisis respecto a procesos de adsorción de colorantes. Se evaluó la capacidad de goethita, goethita Co-sustituida y MAG para adsorber colorantes con grupo azo (eriocromo azul negro R), antraquinónico (alizarina) y arilmetano (fluoresceína) [21]. La evaluación se realizó mediante isothermas de adsorción y análisis cinéticos. Los resultados mostraron que todos los óxidos de hierro eran adsorbentes eficaces para eliminar colorantes en solución. Alizarina mostró la mayor afinidad con los adsorbentes evaluados, y la fluoresceína la menor (Co-goethita > goethita > MAG). Además, se evaluó el efecto del pH en el proceso de adsorción [22]. Estos estudios permitieron inferir que los óxidos de hierro podrían ser adsorbentes prometedores de colorantes y que las propiedades magnéticas de MAG podrían facilitar su recuperación a partir de efluentes tratados. En un estudio posterior, se compararon las capacidades de adsorción de MAG y goethita ($\alpha\text{-Fe}^{3+}\text{O(OH)}$) con QUIT utilizando alizarina, eriocromo azul negro R y fluoresceína como colorantes modelo [23]. Se comprobó que el QUIT tenía una mayor capacidad de adsorción para alizarina y

eriocromo azul negro R que los óxidos de hierro, mientras que la goethita mostraba una mayor adsorción para la fluoresceína a pH 5 y 9. Esto se asoció con que la capacidad de adsorción del QUIT está relacionada con la disponibilidad de grupos amino en su estructura, que a su vez depende del pH.

En función de lo expuesto, en el presente capítulo se propone explorar la incorporación de biomasa derivada del fruto de *Araujia sericifera* Brot. en esferas de QUIT, con el fin de aplicar este sólido en la remoción de colorantes (RAS y NII) en soluciones acuosas modelo. *Araujia sericifera* es una planta que se encuentra en abundancia en plantaciones silvestres en provincias argentinas tales como Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos, Misiones y Santa Fe. Debido a su elevada disponibilidad, constituye una potencial fuente de fibras lignocelulósicas para su utilización en el desarrollo de adsorbentes. El aprovechamiento de su fruto se encuentra reportado, por ejemplo, en la obtención de peroxidasas derivadas de las semillas [24] y las lipasas derivadas del látex (fracción insoluble del fruto) [25], [26]. Sin embargo, a conocimiento de esta tesista, no se encuentra reportado en la literatura el uso de dicha biomasa como parte de un adsorbente.

8.2. Materiales y métodos

8.2.1. Reactivos

RAS, NII, buffer pH 5 y buffer pH 7 fueron comprados en Biopack (Buenos Aires, Argentina). Buffer Tris-HCl pH 9,4 fue preparado en laboratorio. El Tris buffer fue obtenido de Anedra (Buenos Aires, Argentina). Ácido clorhídrico 36,5-38% y el NaOH fueron provistos por Cicarelli (Santa Fe, Argentina). El KBr fue obtenido de J. T. Baker (Filadelfia, Estados Unidos). α -celulosa y APTS fueron obtenidos de Sigma Aldrich (San Luis, Estados Unidos). Todos los reactivos fueron usados sin purificación. El agua destilada utilizada fue preparada en el destilador del laboratorio de Catálisis.

8.2.2. Obtención de la biomasa derivada de *Araujia sericifera* Brot

Los frutos inmaduros de *Araujia sericifera* fueron recolectados en plantaciones silvestres en la zona rural de Salliqueló, provincia de Buenos Aires, Argentina (36° 45' 00" S, 62° 55' 59" W). Se les retiró la cáscara y las semillas, y la pulpa fue molida y almacenada a -20 °C hasta su posterior tratamiento. Se descongeló a temperatura ambiente previo al acondicionamiento.

8.2.3. Acondicionamiento de la biomasa

La pulpa molida fue lavada con agua destilada hasta que se obtuvo un valor de pH constante en el agua de lavado. Posteriormente, la pulpa se procesó con un mixer para reducir el tamaño de partícula, se filtró y se secó en estufa a 50 °C hasta peso constante. La biomasa seca fue finamente dividida empleando un mortero y luego tamizada (malla A.S.T.M 200, apertura 74 μm). Los sólidos con tamaño de partícula < 74 μm y > 74 μm se denominaron B2m y B2M, respectivamente.

Se caracterizó la biomasa obtenida mediante FTIR-DRIFTS en comparación con α -celulosa. Se hizo una dilución al 1% de cada muestra en KBr previamente secado en estufa.

8.2.4. Tratamiento químico de la biomasa

Se modificó químicamente la biomasa (B2m y B2M) mediante un tratamiento básico/ácido con NaOH y HCl. Las biomásas tratadas con las soluciones básicas/ácidas se denominaron B2m-ba y B2M-ba. Se utilizó la metodología propuesta por Franceschini et al. (2023) [27]. La relación biomasa (g) y solución básica/ácida (mL) se estableció en 1:30 en función de lo reportado por Fonseca Santos et al. (2019) y Dos Santos et al. (2024) [28], [29].

Se trató B2m y B2M con NaOH 0,1 M durante 24 h (200 rpm y temperatura ambiente). Se realizó en vaso de precipitado tapado con film. Luego, se dividió el volumen total de B2m/NaOH y B2M/NaOH en dos tubos falcon (Figura 8.1a y Figura 8.1b, respectivamente). Las muestras de B2m y B2M se lavaron con agua destilada, llevando a 50 y 15 mL, respectivamente (Figura 8.2a y Figura 8.2b). Se centrifugó entre cada lavado, y el sobrenadante se retiró por volcado.

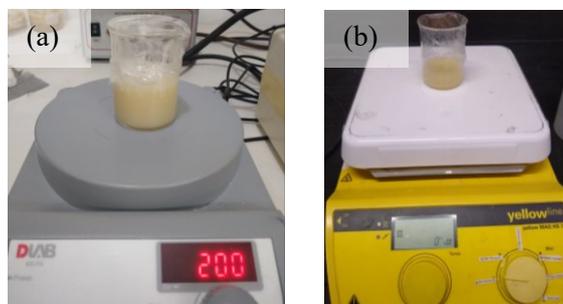


Figura 8.1 – Tratamiento básico de (a) B2m y (b) B2M.

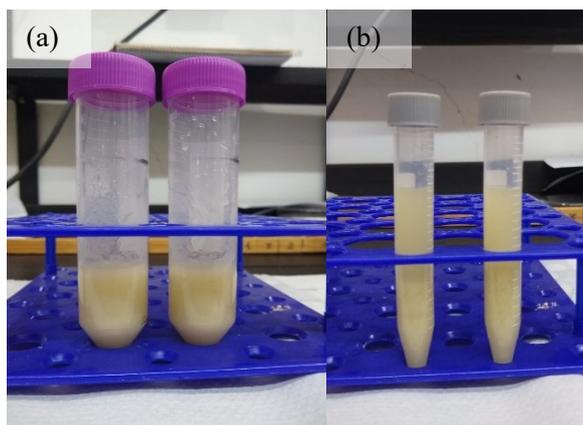


Figura 8.2 – (a) B2m y (b) B2M tratadas durante 24 h con NaOH 0,1M (biomasa : solución alcalina 1:30 m/v).

Se trató B2m y B2M, previamente tratada con NaOH 0,1M, con HCl 0,1 M por 3 h (agitación magnética 200 rpm y temperatura ambiente) con el fin de remover trazas de NaOH. Para ello, se retiró el sobrenadante del último lavado. Se agregó un volumen parcial de la solución ácida, y se trasvasó la biomasa a vaso de precipitado. La relación 1:30 (g biomasa : mL HCl 0,1 M) corresponde a la masa nominal de B2m y B2M (masa pesada previo al tratamiento alcalino). Se lavó con agua destilada hasta la neutralidad. Finalmente, se secó en placas de Petri a 50 °C hasta peso constante y se mortereó para tener un polvo nuevamente.

Se evaluó la capacidad de adsorción de RAS utilizando B2m-ba y B2M-ba. Los ensayos se realizaron con una concentración del colorante de 20 mg L⁻¹ a pH 9; concentración de adsorbente 0,5 g L⁻¹ (5 mg en 10 mL); 30 °C y 200 rpm en shaker; durante 1 h. Se evaluó el efecto del pH, realizando las reacciones en buffer pH 5, buffer pH 7 y en agua destilada (pH 6/7), bajo las mismas condiciones mencionadas con anterioridad y a un tiempo igual a 2 h. Se testearon las biomasas B2m y B2M sin tratar y α -celulosa bajo las mismas condiciones de reacción.

Adicionalmente, se realizaron ensayos de adsorción de NII con una concentración del colorante de 20 mg L⁻¹ a pH 9 en buffer Tris-HCl, concentración de adsorbente 0,5 g L⁻¹ (5 mg en 10 mL); 30 °C y 200 rpm en shaker; durante 2 h. Los adsorbentes a testear fueron B2m-ba y B2M-ba.

8.2.5. Tratamiento de biomasa con APTS

Se exploró el tratamiento de B2m con APTS. Se adaptó el tratamiento reportado en An et al. (2020) [30]. Se tomó del artículo mencionado la relación APTS/biomasa (m/m)

= 2/1; la relación biomasa/volumen (mg/mL) = 1000/ 60 y el tiempo de tratamiento (h) = 24. Las condiciones restantes del tratamiento se presentan en la Tabla 8.1.

Tabla 8.1 – Condiciones experimentales para el tratamiento de la biomasa con APTS.

Tipo de biomasa	B2m (granulometría menor a 74 μm)
Masa B2m (mg)	100
Solvente	Etanol
Volumen de solvente (mL)	6
APTS 99% (mg)	20 (0,214 mL)
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	50

Luego del tratamiento, la biomasa se centrifugó 10 min (8000 rpm). Se lavaron dos veces con 6 mL de etanol, centrifugando cada vez. Se secó hasta peso constante.

La biomasa tratada se utilizó en adsorción de RAS y NII. Las condiciones de reacción fueron: [colorantes] = 20 mg L⁻¹; 30 $^{\circ}\text{C}$; 200 rpm en shaker; [adsorbente] = 1 g/L (5 mg adsorbente en 5 mL); pH 9,4; 1 h.

8.2.6. Incorporación de biomasa en esferas de QUIT

Se prepararon esferas de QUIT puro y con biomasa (B2m). Para las esferas de QUIT puro, el biopolímero se disolvió en una solución ácida con una proporción 35 : 1 de QUIT (mg) : ácido acético 5% v/v (mL). El sólido preparado con B2m, se preparó en proporciones QUIT/B2m = 80/20 y 60/40, manteniendo la masa total de sólido fija. Por otro lado, se prepararon esferas de QUIT/B2m, manteniendo la concentración de QUIT en 35 mg mL⁻¹ y agregando B2m (25% m/m). Se mantuvieron en agitación por 24 h. La solución ácida con el QUIT puro o QUIT/B2m se precipitó por goteo manual con jeringa sobre 3,75 M NaOH y etanol 20%. Las macropartículas obtenidas se mantuvieron en la solución alcalina por 3 h. Luego, se lavaron hasta la neutralidad con agua destilada.

Las esferas de QUIT puro y QUIT/biomasa (B2m 25% m/m) se entrecruzaron en una etapa post precipitación. Se utilizó una relación TPP/sólido = 0,3 (30% m/m) en un volumen de 2 mL de buffer pH 7 durante 1 h, a temperatura ambiente bajo agitación (200 rpm) en shaker. Para conocer la masa de sólido por esfera húmeda, se secaron 5 esferas húmedas hasta peso constante, registrando su peso final. Finalizado el tiempo de entrecruzamiento, el sólido se lavó con agua destilada hasta no detectar el entrecruzante

por espectroscopía UV-Vis. Los sólidos húmedos entrecruzados se secaron hasta peso constante y se aplicaron como adsorbentes en la remoción de RAS.

Los ensayos de adsorción se realizaron bajo las siguientes condiciones: [RAS] 20 mg L⁻¹; pH 9,4; 30 °C y 200 rpm en shaker; [adsorbente] 2 g L⁻¹; tiempo 1 h.

8.2.7. Evaluación del efecto del entrecruzamiento de las esferas de QUIT puro

Se preparó una solución de QUIT (50 mL; 35 a 1 la relación mg QUIT/ mL ácido acético 5%v/v). La solución se precipitó sobre NaOH 3,75 M con etanol 20% para obtener (I) QUIT puro húmedo. Se lavaron con agua destilada hasta la neutralidad y se secaron a 50 °C hasta peso constante para obtener (II) QUIT puro seco. Una porción de las esferas de QUIT húmedas se entrecruzó con TPP en una instancia post precipitación para obtener (III) QUIT-TPP (post precipitación) húmedo. Las esferas entrecruzadas con TPP se lavaron hasta que el entrecruzante no fue detectado por espectroscopía UV-Vis. Se secaron a 50 °C en estufa hasta peso constante logrando (IV) QUIT-TPP (post precipitación) seco.

Se exploró el entrecruzamiento con TPP en solución ácida. La incorporación del TPP se realizó incorporando la masa de TPP disuelta en 0,5 mL de agua destilada. Se precipitaron en NaOH 3,75 M y etanol 20%. Las partículas precipitadas, (V) QUIT-TPP (solución ácida) en estado húmedo, se lavaron con agua destilada hasta la neutralidad. Se secaron en estufa a 50 °C hasta peso constante, obteniendo (VI) QUIT-TPP (solución ácida) en estado seco.

La masa de TPP en todos los casos correspondió a una concentración de 30% m/m (Tabla 8.2). Se mantuvo bajo agitación durante 1 h.

Tabla 8.2 – Masa de TPP 85% utilizado para el entrecruzamiento en solución ácida.

TPP/QUIT	Agente entrecruzante (TPP)		
	QUIT/B2m (mg)	TPP (mg)	TPP 85% (mg)
0,3	175	52,5	61,76

Los sólidos obtenidos se caracterizaron mediante remoción de RAS ([adsorbente] = 10 mg en 5 mL; [colorante] = 20 mg L⁻¹; pH 9,4; 30 °C; 200 rpm en shaker; 1 y 3 h).

8.2.8. Efecto de la variación del contenido de biomasa en esferas de QUIT

Se preparó una solución de QUIT puro (175 mg en 5 mL 5% v/v), y se agregó B2m con las siguientes relaciones de B2m (mg)/QUIT (mg): 0,20; 0,30; 0,40. Se precipitaron las soluciones en NaOH 3,75 M y etanol 20%.

La capacidad de adsorción de los sólidos obtenidos fue evaluada en 20 mg L⁻¹ RAS (5 mL a pH 9,4); 30 °C y 200 rpm en shaker; 1 y 3 h.

8.2.9. Efecto de la concentración de adsorbente y de los colorantes en la adsorción de RAS y NII sobre esferas de quitosano y biomasa

El adsorbente sintetizado (B2m/QUIT = 0,3) se aplicó en la adsorción de RAS y NII bajo las siguientes condiciones: [colorante] 20 mg L⁻¹ en buffer pH 7 para RAS y agua destilada para NII; 30 °C y 200 rpm en shaker. El volumen de adsorción fue de 3 mL. Se tomaron muestras a tiempos 0,5, 1, 2 y 3 h. El volumen usado para el análisis por espectroscopía UV-Vis, fue devuelto a la reacción luego de cada medición. Las concentraciones de adsorbente a explorar fueron 2, 8, 14 y 20 g L⁻¹.

La capacidad de adsorción está definida en base a las isothermas de adsorción en solución. La isoterma de adsorción es la relación de dependencia, a una temperatura constante, de la cantidad de adsorbato adsorbido por peso unitario de adsorbente, con respecto a la concentración del adsorbato en equilibrio. Se analizó el ajuste de los resultados de adsorción variando concentración de adsorbente y de los colorantes a diferentes modelos de adsorción con el fin de caracterizar el sistema. Se define C_0 como la concentración inicial de los colorantes en solución, y C_e como la concentración en el equilibrio (definida a 3 h de adsorción para RAS y NII). La capacidad de intercambio en el equilibrio, q_e , refiere a la masa del colorante adsorbido (mg) por unidad de masa del adsorbente (mg).

Se han desarrollado ecuaciones o modelos matemáticos que se ajustan a las distintas isothermas experimentales. Las ecuaciones que se usan frecuentemente son las propuestas por Langmuir, Freundlich y Bunauer-Emmer y Teller [31], [32].

Langmuir

Es una de las ecuaciones más conocidas y mejor fundamentadas. Según este modelo, la adsorción tiene lugar en sitios homogéneos específicos dentro del adsorbente y, una vez que una molécula de colorante ocupa uno, no puede adsorberse otra en ese sitio. El modelo de la isoterma de Langmuir no lineal se presenta en la Ecuación 8.1.

Ecuación 8.1 – Isotherma de Langmuir.

$$q_e = \frac{q_{m\acute{a}x} K_L C_e}{1 + K_L C_e}$$

Donde:

- q_e : cantidad de colorante adsorbido por unidad de masa del adsorbente (mg g^{-1}) en el equilibrio
- C_e : concentración en el equilibrio del colorante en solución (mg L^{-1})
- K_L : constante de equilibrio de la isoterma de adsorción de Langmuir (L mg^{-1})
- q_{max} : máxima capacidad de adsorción (mg g^{-1})

Esta ecuación puede linealizarse a través de la consideración de la inversa de la expresión no lineal. R_L , o factor de separación, se calcula como $R_L=1/(1+ K_L \times C_0)$. Si el valor de R_L está entre 0 y 1, es considerado un proceso favorable. Si es mayor que 1 se considera no favorable. Si es igual a 1 se considera lineal, y es irreversible si el valor es 0.

Freundlich

La isoterma de Freundlich da la relación entre las capacidades de equilibrio de las fases líquida y sólida, suponiendo que la adsorción multicapa se produce en una superficie heterogénea. Esta isoterma se derivó del supuesto de que los sitios de adsorción se distribuyen exponencialmente con respecto al calor de adsorción. El modelo de la isoterma de Freundlich, en su forma no lineal y lineal, se presenta en la Ecuación 8.2 y Ecuación 8.3, respectivamente.

Ecuación 8.2 - Isotherma de Freundlich no lineal.

$$q_e = K_F C_e^{1/n}$$

Ecuación 8.3 - Isoterma de Freundlich lineal.

$$\ln q_e = \ln a_F + b_F \ln C_e$$

Donde:

- K_F : constante de Freundlich, relacionada con la capacidad de adsorción, [(mg g⁻¹) (L/g)^{1/n}]
- n: factor de heterogeneidad.

8.2.10. Estudio computacional simple de la adsorción de NII y RAS sobre QUIT

La química computacional abarca una variedad de métodos matemáticos que caen en dos grandes categorías: la mecánica molecular y la mecánica cuántica. La mecánica molecular aplica las leyes de la física clásica a los núcleos moleculares sin la consideración explícita de los electrones. Por su parte, la mecánica cuántica se basa en la ecuación de Schrödinger para describir una molécula con la consideración explícita de la estructura electrónica. Estos métodos se subdividen en dos clases: los *ab-initio* y los semiempíricos.

Los métodos computacionales calculan las superficies de energía potencial de las moléculas. Realizan cálculos de energía de punto único (es decir, el valor de la energía potencial de una dada combinación de coordenadas atómicas), optimizaciones de geometrías y cálculos de propiedades (entre ellas el calor o entalpía de formación). Estos métodos pueden realizar búsquedas conformacionales y simulaciones de dinámica molecular.

El método de mecánica molecular disponible en Chem3Dbio - Office Ultra permite la consideración de miles de átomos, contiene parámetros para moléculas orgánicas (incluyendo polisacáridos) y hace cálculos considerando fase gas. Dentro de las facilidades se encuentra la minimización de energía estérica para localizar conformaciones estables, cálculo de punto único para comparar conformaciones de una misma molécula, cálculo del impacto de la variación de ángulos diedros en moléculas pertinentes y el estudio del movimiento molecular a través de la dinámica molecular.

La mecánica molecular trata a los átomos como esferas de radios característicos definidos y a los enlaces como resortes. La matemática de la deformación de resortes (Ley de Hooke) se utiliza para describir la habilidad de los enlaces para estrecharse, doblarse y torsionarse. Los átomos no enlazados y a distancias mayores de 2 enlaces interactúan a

través de atracciones de Fuerzas de van der Waals, repulsión estérica y atracción o repulsión electrostática. La energía potencial, E , de una molécula se define como la suma de la energía de estrechamiento, la de flexión, la de torsión y la energía de interacción de no enlace. De este modo, la mecánica molecular describe la energía de una molécula en términos de un set de funciones de energía potencial derivadas de la física clásica. Las funciones de energía potencial y los parámetros utilizados para su evaluación son conocidos como “Campo de Fuerza”. Chem 3D utiliza una versión del campo de fuerza del Dr. Allinger (MM2). Las energías de la mecánica molecular no tienen sentido como cantidades absolutas. Sólo pueden usarse para comparar energías estéricas relativas entre dos o más conformaciones de la misma molécula o del mismo conjunto de moléculas (sin cambios en el número de átomos o en el número de enlaces).

Los métodos semiempíricos se basan en aproximaciones al operador hamiltoniano de la ecuación de Schrödinger. La primera aproximación es la de Born-Oppenheimer, que permite el tratamiento separado de las energías de los electrones y la nuclear. Debido a las diferencias de masa, el núcleo se mueve mucho más lento que los electrones. Esta aproximación considera fijo al núcleo mientras que los electrones se mueven. Otra aproximación asume que los electrones actúan independientes unos de otros de tal forma que están influenciados por un campo promedio creado por todos los electrones y el núcleo. Cuando hay 2 o más centros y muchos electrones se necesita una nueva aproximación que se denomina el operador de Fock. Este operador está compuesto por Hamiltonianos de 1 electrón que describen interacciones 1 electrón - 1 centro y es suplementado por términos que describen la interacción entre 2 electrones. Estos términos incluyen una matriz de densidad e integrales de Coulomb y de intercambio. Los métodos *ab-initio* utilizan la forma completa del operador de Fock para construir la ecuación de onda, mientras que los métodos semiempíricos utilizan operadores de Fock simplificados en los cuales una matriz de elementos de 1 electrón y algunos de los términos integrales de 2 electrones están reemplazados por parámetros determinados empíricamente (experimentales).

Los métodos semiempíricos disponibles se pueden aplicar hasta sistemas con 300 átomos totales y 120 átomos pesados. Están parametrizados para compuestos orgánicos, organometálicos y oligómeros (péptidos, nucleótidos y sacáridos), considera fase gas o distintos solventes como entornos y permite el cálculo de estados fundamentales, de transición y estados excitados. El método semiempírico, PM3 o modelo parametrizado

versión 3, puede aplicarse a elementos de los grupos 14, 15, 16 y 17, y períodos del 2 al 5, además del H. Permite la asignación de cargas negativas en elementos electronegativos.

El procedimiento elegido implicó realizar primero un modelo de QUIT para el cálculo PM3 y luego un modelo ampliado de QUIT para el cálculo de mecánica molecular utilizando el método MM2. Las moléculas de RAS y NII se simularon completas, con el grupo sulfónico aniónico. Se minimizó la energía de cada molécula en 5 conformaciones diferentes en ambos modelos: el modelo ampliado de QUIT y el modelo local de PM3. El cálculo se realizó en el método MM2 hasta que la diferencia entre dos simulaciones sucesivas fue menor que un gradiente seleccionado (0,1 Kcal/mol). Se obtuvo la energía estérica correspondiente a las distintas conformaciones. El método semiempírico PM3 se utilizó para calcular la entalpía de formación del modelo colorante-QUIT reducido, una vez minimizada su energía estérica por un cálculo MM2.

El estudio del modelado molecular respecto a la adsorción de RAS y NII fue realizado por la Dra. Ferreira. Se utilizó el programa ChemBio3D Ultra para evaluar en forma comparativa las conformaciones de los colorantes adsorbidos sobre QUIT. Se exploraron dos tipos de cálculos:

- (a) Utilizando mecánica molecular tipo MM2. Se compararon en términos de energía estérica distintas conformaciones de los colorantes sobre el QUIT.
- (b) Utilizando el método PM3. Se compararon las entalpías correspondientes a los mínimos conformacionales de los colorantes sobre la superficie del QUIT.

Para los colorantes NII y RAS, se compararon las siguientes formas de adsorción:

- **Forma 1** - Perpendicular con el grupo sulfónico cerca de la superficie del QUIT.
- **Forma 2** - Perpendicular con el grupo sulfónico alejado de la superficie del QUIT.
- **Forma 3** - Paralelo a la superficie del QUIT.
- **Forma 4** - Lateral, con el grupo sulfónico y grupos OH cercanos a la superficie del QUIT.
- **Forma 5** - Lateral, con los grupos OH alejados de la superficie del QUIT.

8.3. Resultados

8.3.1. Biomasa derivada de *Araujia sericifera*

Los frutos de *Araujia sericifera* (Figura 8.3a) se pelaron y se les retiraron las semillas. La pulpa del fruto triturada (Figura 8.3b) constituye la biomasa cruda, previo al inicio del acondicionamiento.



Figura 8.3 – (a) Fruto de *Araujia sericifera*. (b) Biomasa triturada pre acondicionamiento.

8.3.2. Acondicionamiento de la biomasa

La biomasa lavada (Figura 8.4a), procesada y filtrada (Figura 8.4b), secada (Figura 8.4c) pudo llevarse a una granulometría menor a $74\ \mu\text{m}$ (Figura 8.4d) utilizando un mortero. Esta biomasa se denominó B2m. Además, se obtuvo un remanente de biomasa con una granulometría mayor a $74\ \mu\text{m}$, denominándose B2M (Figura 8.4e y Figura 8.4f).



Figura 8.4 – Biomasa (a) triturada y lavada con agua destilada; (b) filtrada; (c) secada en estufa (50 °C); (d) tamizada en malla 74 micras (B2m); (e y f) granulometría mayor a 74 micras (B2M).

Los resultados de la caracterización mediante FTIR-DRIFTS de la α -celulosa y de la biomasa derivada del fruto de *Araujia sericifera* se presentan en la Figura 8.5. Las bandas encontradas coinciden con reportes en la literatura [33], [34]. Se observa en los espectros la banda correspondiente al estiramiento del enlace O-H entre 3600 y 3200 cm^{-1} . Entre 3000 y 2800 cm^{-1} se presenta el pico asociado al estiramiento del enlace C-H correspondiente a grupos metilos y metilenos. En 1600 cm^{-1} aparece una banda que se asocia al H_2O absorbida por las muestras.

En el espectro de la α -celulosa, entre 1500 y 1200 cm^{-1} se detectan bandas que se relacionan con enlaces C-H, C-H₂ y OH. El estiramiento del enlace C-O-C en el enlace $\beta(1,4)$ -glicosídico y en el C-OH de la celulosa se presenta entre 1200 y 850 cm^{-1} .

La banda presente entre 1800 y 1700 cm^{-1} en la biomasa, ausente en la α -celulosa, se asigna al estiramiento del grupo carbonilo de la hemicelulosa. Los picos del espectro que se encuentran aproximadamente en 1600 y 1500 cm^{-1} se asocia a la vibración de la estructura aromática de la lignina, mientras que cerca de 1300 cm^{-1} se presenta el pico asociado a la vibración de estiramiento del enlace C=O de la lignina.

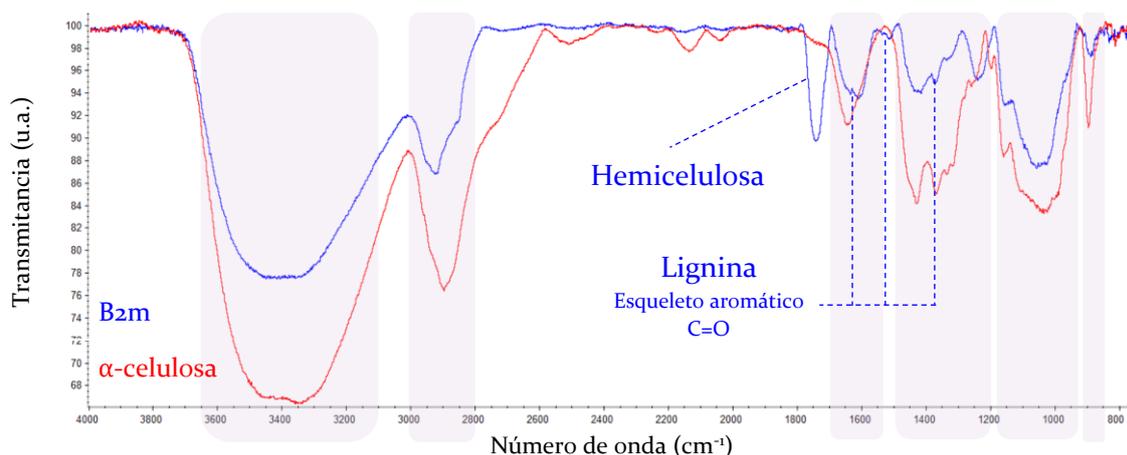


Figura 8.5 – Espectros FTIR-DRIFT de biomasa y α -celulosa.

8.3.3. Tratamiento químico de la biomasa

Se reporta en la literatura el tratamiento químico de la biomasa con el fin de activar la superficie [35], [36], [37]. Las partículas de B2m en NaOH se presentaron en solución homogénea (Figura 8.6a), mientras que las partículas de B2M se observaron suspendidas en la solución alcalina (Figura 8.6b). Se lavaron B2M y B2m luego del tratamiento básico hasta pH 10-11 y 7-8, respectivamente. Luego del tratamiento ácido, el lavado con agua destilada se realizó para ambas biomasa hasta pH 6-7. Al secar hasta peso constante se obtuvo el sólido presentado en la Figura 8.7, el cual se mortereó hasta lograr un polvo nuevamente.

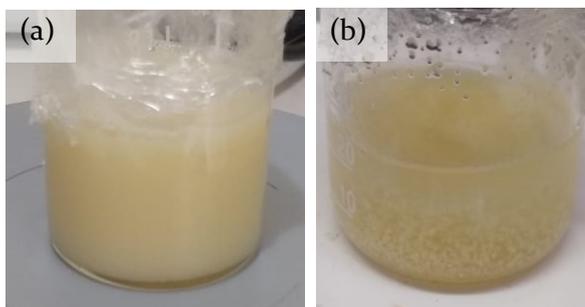


Figura 8.6 – Biomasa (a) B2m y (b) B2M en NaOH 0,1 M.

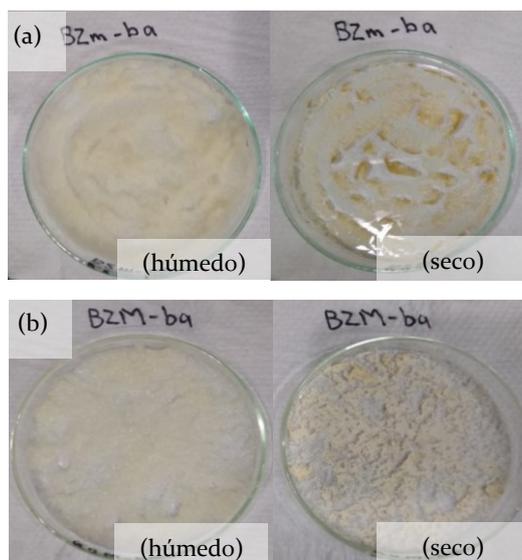


Figura 8.7 – (a) B2m-ba y (b) B2M-ba pre y post secado en estufa a 50 °C.

Las biomásas tratadas con NaOH-HCl (B2m-ba y B2M-ba) no adsorbieron RAS bajo las condiciones ensayadas (Figura 8.8).

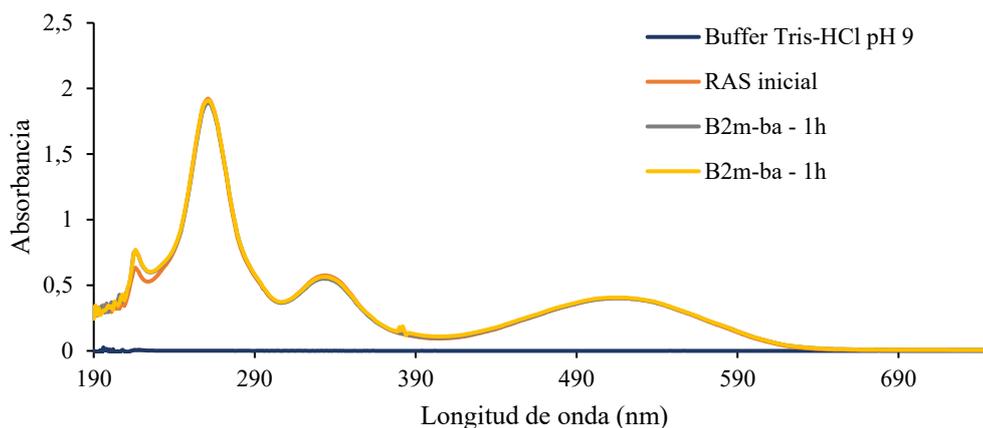


Figura 8.8 – Espectros UV-Vis (190-750 nm) de soluciones de RAS inicial y a 1 h ($[RAS] = 20 \text{ mg L}^{-1}$; pH 9,4; $[adsorbente] = 0,5 \text{ g L}^{-1}$; 30 °C; 200 rpm en shaker).

Los resultados de los ensayos realizados para evaluar el efecto del cambio del pH de la solución del colorante se presentan en la Tabla 8.3. La disminución del pH a 5 y a 7 no favorece la adsorción sobre B2m-ba y B2M-ba de RAS bajo las condiciones ensayadas. En agua destilada, la solución de RAS a pH 7 en contacto con la biomasa disminuye su pH a 6, produciendo un cambio en la longitud de onda de absorción característica del colorante (Figura 8.9). Sin embargo, considerando que el espectro final (a 2 h) pasa por el punto isobéptico que presentan los espectros de RAS en una concentración de 20 mg L^{-1} a diferentes pH, puede estimarse que no hubo cambios en su concentración, por lo que

las biomazas evaluadas no adsorben RAS bajo estas condiciones. Las biomazas sin tratar y la α -celulosa tampoco presentaron capacidad de remoción de RAS a pH 9.

Tabla 8.3 – Resultados de ensayos de adsorción utilizando biomasa tratada variando el pH de la solución de RAS.

Tipo de biomasa	Adsorbente (mg)	pH	Longitud de onda (nm)	Abs inicial	Abs final	% adsorción
B2m-ba	4,99	5 (buffer)	424	0,244	0,242	0,82
B2M-ba	5,05	5 (buffer)		0,245	0,249	0
B2m-ba	5,00	7 (buffer)	515	0,377	0,373	1,06
B2M-ba	5,08	7 (buffer)		0,381	0,384	0
B2m-ba	5,03	6-7 (AD)	Movimiento de pico	0,214	-	-
B2M-ba	5,12	6-7 (AD)		0,214	-	-
B2m	5,01	9	515	0,389	0,398	0
B2M	5,13	9		0,389	0,398	0
α -celulosa	4,99	9		0,389	0,389	0

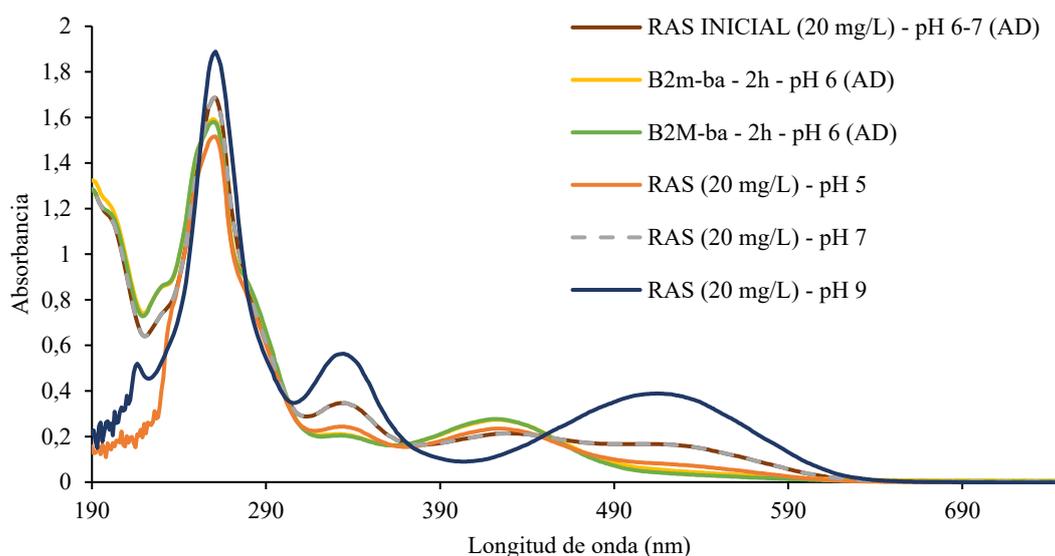


Figura 8.9 – Espectros UV-Vis (190-750 nm) de RAS 20 mg L⁻¹ bajo diferentes pH, y luego de adsorción con B2m-ba y B2M-ba en agua destilada por 2 h.

Los resultados obtenidos en los ensayos de remoción de NII se presentan en la Tabla 8.4. Los adsorbentes testeados tampoco fueron capaces de remover este colorante.

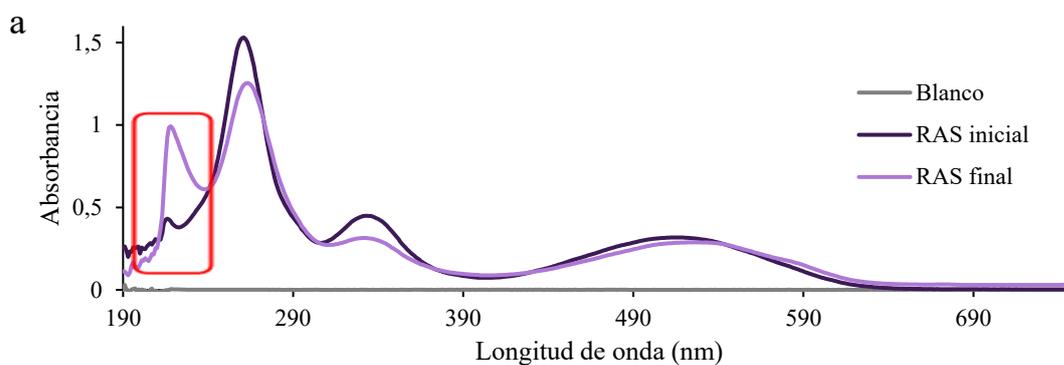
Pudo establecerse que, en ausencia de tratamiento y con un tratamiento básico/ácido, la biomasa no tiene, ni adquiere, la capacidad de remover RAS y NII bajo las condiciones exploradas. Se propuso como estrategia para activar la superficie de la biomasa, un tratamiento con APTS.

Tabla 8.4 – Resultados de adsorción de NII utilizando biomásas derivadas de *Araujia sericifera* ([NII] = 20 mg L⁻¹ a pH 9 en buffer; [adsorbente] = 0,5 g L⁻¹; 30 °C y 200 rpm en shaker; 2 h).

Tipo de biomasa	Adsorbente (mg)	Longitud de onda (nm)	Abs inicial	Abs final	% adsorción
B2m-ba	5,00	484 nm	1,151	1,144	0,61
B2M-ba	5,03		1,151	1,148	0,26
B2m	5,15		1,151	1,142	0,78
B2M	5,04		1,151	1,145	0,52
α -Celulosa	5,02		1,151	1,135	1,39

8.3.4. Tratamiento de biomasa con APTS

El objetivo del tratamiento fue silanizar y aminorar la biomasa mediante la incorporación de APTS que interaccionaría con los OH disponibles. Los grupos amino exhiben propiedades bifuncionales para adsorber compuestos aniónicos y catiónicos a diferentes valores de pH en solución acuosa. La hipótesis fue que la reacción de silanización dotaría a la biomasa de una mayor resistencia mecánica, hidrofobicidad y estabilidad térmica y química, además de mejorar la adsorción. Sin embargo, como se presenta en la Figura 8.10, el tratamiento con APTS, según el protocolo establecido, no conduce a una mejora en la capacidad de adsorción de RAS y NII por parte de la biomasa. Se observa un aumento de la absorbancia en longitudes de onda baja, lo cual indicaría el paso a la solución de algún componente de la biomasa.



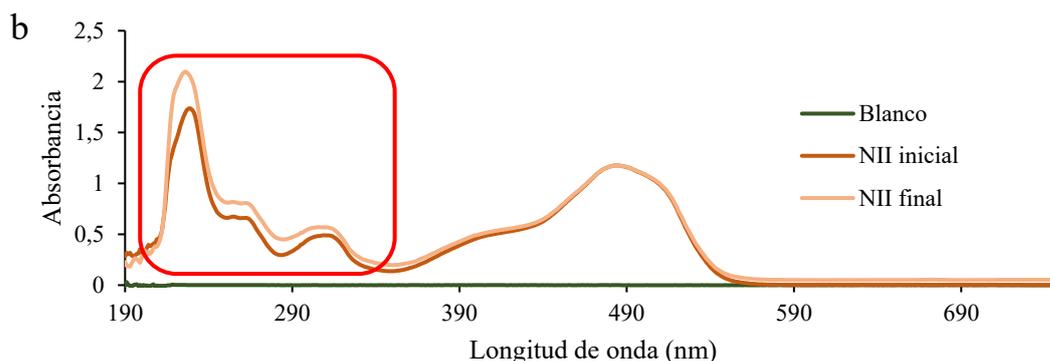


Figura 8.10 – Espectros UV-Vis de soluciones iniciales y finales de (a) RAS y (b) NII puestas en contacto con B2m tratada con APTS.

En función de los resultados obtenidos, se concluye que la biomasa acondicionada según lo descrito y bajo las condiciones de adsorción estudiadas, no es eficiente como adsorbente para la remoción de RAS y NII. Sin embargo, su incorporación en un sólido esférico en reemplazo parcial de QUIT resulta interesante considerando que, si bien este último deriva de residuos marinos y posee un costo bajo relativo a otros adsorbentes como carbón activado, tiene asociado inconvenientes en torno a su producción.

La producción de QUIT posee el requerimiento de gran cantidad de productos químicos y energía, siendo perjudicial para la salud humana y el ambiente, ya que da lugar a la producción de materiales que tienen aplicaciones posteriores limitadas [38]. El proceso requiere 1 ton de agua fresca (agua de proceso y agua en soluciones químicas) por kg de QUIT, y genera alrededor de la misma cantidad de agua residual que es difícil de tratar debido a la presencia de pigmentos, proteínas y otras impurezas [39]. Adicionalmente, por cada kg de quitina, se libera a la atmósfera alrededor de 0,9 kg de CO₂ [40].

8.3.5. Incorporación de biomasa en esferas de QUIT

Se obtuvieron soluciones de QUIT y QUIT/B2m en proporciones 80/20 y 60/40, tal como muestra la Figura 8.11.

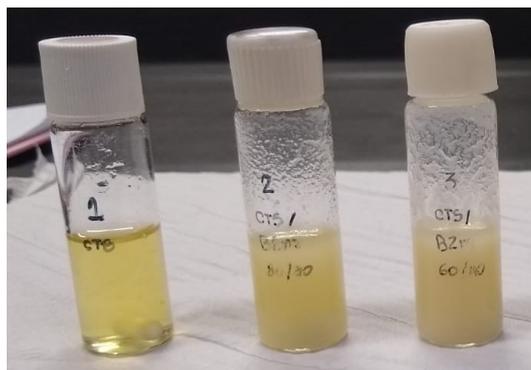


Figura 8.11 – Soluciones de (1) QUIT; (2) QUIT/B2m (80/20); QUIT/B2m (60/40) en ácido acético 5% v/v.

Al precipitar las soluciones sobre un medio alcalino, se encontró que la concentración de QUIT asociada a una relación QUIT (mg) / mL ácido acético 5% v/v igual a 35 es un requisito para la formación de un sólido esférico. En la Figura 8.12a, b y c, se presentan los sólidos obtenidos a partir de soluciones ácidas de QUIT, QUIT/B2m (80/20) y QUIT/B2m (60/40), respectivamente.

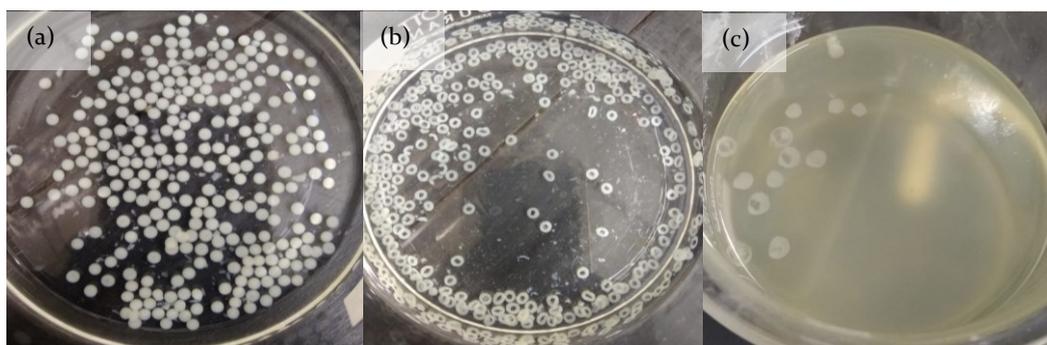


Figura 8.12 – Sólido obtenido al precipitar en medio alcalino soluciones ácidas de (a) QUIT puro; (b) QUIT/B2m (80/20); (c) QUIT/B2m (60/40).

Cuando se mantuvo la concentración de QUIT (35 a 1, la relación mg QUIT/ mL ácido acético 5%v/v) y se agregó la biomasa 25% m/m (que corresponde a 0,33 la relación mg B2m/mg QUIT) se obtuvo un sólido esférico al precipitar sobre solución alcalina. La solución debió gotearse desde una distancia mínima a la solución de NaOH. Las esferas de QUIT puro en estado húmedo (Figura 8.13a) presentan color blanco, mientras que las compuestas por QUIT/B2m (Figura 8.13c) tienen un leve color beige. Presentan un gran contenido de humedad, por lo que al secarse reducen considerablemente su tamaño. Las esferas de QUIT puro (Figura 8.13b) y con biomasa (Figura 8.13d) secas presentan un color amarillento con característica cristalina y opaca, respectivamente.

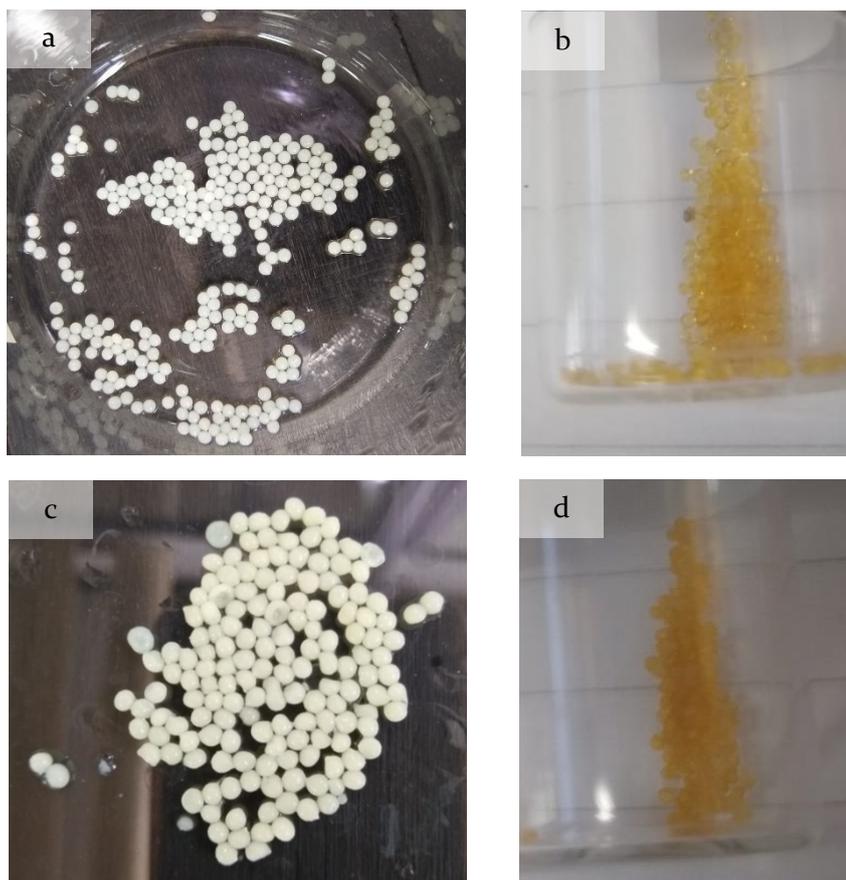


Figura 8.13 – Esferas de QUIT puro-TPP (a) húmedas y (b) secas. Esferas de QUIT/B2m (25% biomasa)-TPP (c) húmedas y (d) secas.

En la Tabla 8.5 se presenta la masa de sólido por esfera para esferas de QUIT puro y QUIT/B2m. Con esta información, se calculó la masa de TPP requerida para entrecruzar las esferas utilizando una relación TPP/sólido = 0,3 (30% m/m) en un volumen de 2 mL de buffer pH 7 durante 1 h a temperatura ambiente bajo agitación (200 rpm) en shaker.

Tabla 8.5 – Porcentaje de peso seco presente en las esferas húmedas de QUIT y QUIT/B2m.

Material	5 esferas húmedas (mg)	5 esferas secas (mg)	Masa por esfera (mg)	QUIT en peso húmedo (%)
QUIT	39,19	1,27	0,254	3,24
QUIT/B2m	41,14	1,49	0,298	3,62

Los resultados de adsorción de RAS de las esferas de QUIT-TPP y QUIT/B2m-TPP se presentan en la Tabla 8.6. Se obtuvieron remociones bajas del colorante utilizando el sólido seco. Se infiere que, al igual que las esferas magnéticas de QUIT, las esferas de QUIT puro al secarse pierden superficie de contacto, conduciendo a remociones bajas. En ensayos siguientes se exploró su aplicación en estado húmedo, y se evaluó el efecto del entrecruzamiento en el sólido.

Tabla 8.6 – Resultados de las adsorciones con los materiales basados en QUIT, B2m y entrecruzante (TPP). Las condiciones de reacción fueron [RAS] 15 mg L⁻¹ en buffer Tris 0,1 M-HCl; pH 9,4; 2 g L⁻¹ adsorbente (10 mg en 5 mL); 30 °C y 200 rpm en shaker.

Adsorbente	Adsorbente (mg)	Abs inicial	Abs 1 h	% adsorción 1 h
QUIT-TPP (post precipitación) seco	10,25	0,314	0,298	5,1
QUIT-B2m-TPP (post precipitación) seco	10,20	0,314	0,300	4,5

8.3.6. Efecto del entrecruzamiento en esferas puras de QUIT

Inicialmente, se prepararon las soluciones ácidas de QUIT puro y de QUIT-TPP. La incorporación del TPP en 0,5 mL de agua destilada permitió una solución homogénea en 1 h de agitación. El entrecruzamiento del QUIT con el TPP se evidencia en el cambio de la solución de QUIT desde una coloración amarillenta cristalina (Figura 8.14a) hacia una coloración blanca opaca (Figura 8.14b).

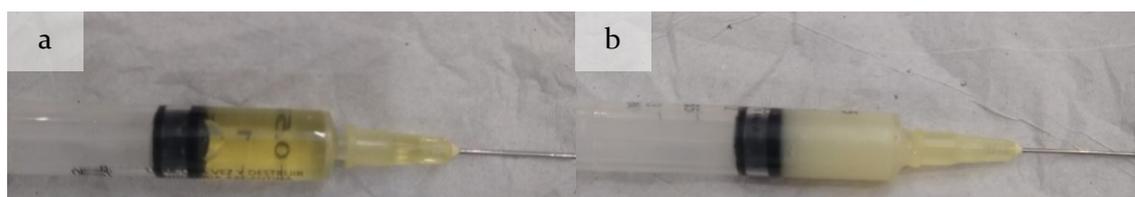


Figura 8.14 – Solución ácida de (a) QUIT puro y (b) QUIT-TPP.

Las dos soluciones ácidas: QUIT puro y QUIT-TPP permitieron obtener sólidos esféricos. Se sintetizaron esferas de QUIT puro; QUIT-TPP (entrecruzado post precipitación); y QUIT-TPP (entrecruzado en solución ácida), tal como se observa en la Figura 8.15.

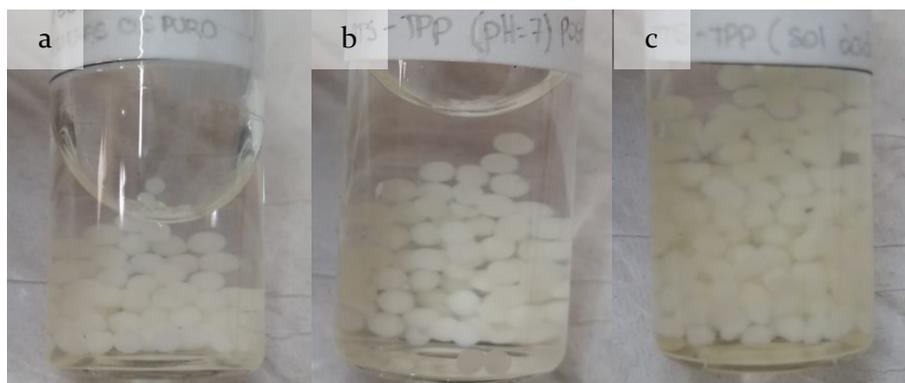


Figura 8.15 – Esferas de (a) QUIT puro; (b) QUIT-TPP (post precipitación); (c) QUIT-TPP (solución ácida).

En función del peso seco, se obtuvo el número de esferas húmedas que contienen 10 mg de material seco, siendo 35, 30 y 25 para las esferas de QUIT puro, QUIT-TPP (post precipitación) y QUIT-TPP (solución ácida), respectivamente. Un mayor entrecruzamiento implica una mayor densidad del sólido esférico.

Los resultados de remoción de RAS obtenidos para los sólidos preparados se presentan en la Tabla 8.7. En la Figura 8.16 se presentan las remociones de cada adsorbente en función del tiempo, y una fotografía del adsorbente coloreado luego de la adsorción de RAS.

Tabla 8.7 – Resultados de las adsorciones con los materiales basados en quitosano, biomasa (B2m) y entrecruzante (TPP). Las condiciones de reacción fueron [RAS] 20 mg L⁻¹ en buffer Tris-HCl; pH 9,4; 2 g L⁻¹ adsorbente (10 mg en 5 mL); 30 °C y 200 rpm en shaker.

Adsorbente	Adsorbente (mg)	% remoción 1 h	% remoción 3h
QUIT puro húmedo	10,09	19,4±0,56	20,8
QUIT puro seco	10,26	3,0	6,2
QUIT-TPP (post precipitación) húmedo	10,15	11,9	13,1
QUIT-TPP (post precipitación) seco	10,11	4,2	5,4
QUIT-TPP (solución ácida) húmedo	9,94	8,7	9,4
QUIT-TPP (solución ácida) seco	10,11	4,2	6,9

Las esferas de QUIT puro, QUIT-TPP entrecruzadas post precipitación y QUIT-TPP entrecruzadas en solución ácida presentaron bajas adsorciones de RAS cuando fueron aplicadas secas, siendo 6,2, 5,4 y 6,9%, respectivamente. Por otro lado, las esferas aplicadas en estado húmedo presentaron mayor capacidad de adsorción, aunque aún limitada bajo las concentraciones de adsorbente ensayadas. Los porcentajes de adsorción alcanzados por esferas de QUIT puro, QUIT-TPP entrecruzadas post precipitación y QUIT-TPP entrecruzadas en solución ácida fueron de 20,8, 13,1 y 9,4%, respectivamente.

Parecería que aumentando el grado de entrecruzamiento, disminuye la capacidad de adsorción. Esto podría asociarse al menor número de sitios disponibles en el QUIT a medida que aumenta el entrecruzamiento. Es importante aclarar que las esferas entrecruzadas en solución ácida presentaron mayor fragilidad, desprendiendo fragmentos luego de las 3 h de agitación en shaker. Considerando los resultados obtenidos, los ensayos posteriores se realizaron utilizando esferas de QUIT sin entrecruzar, y en estado húmedo.

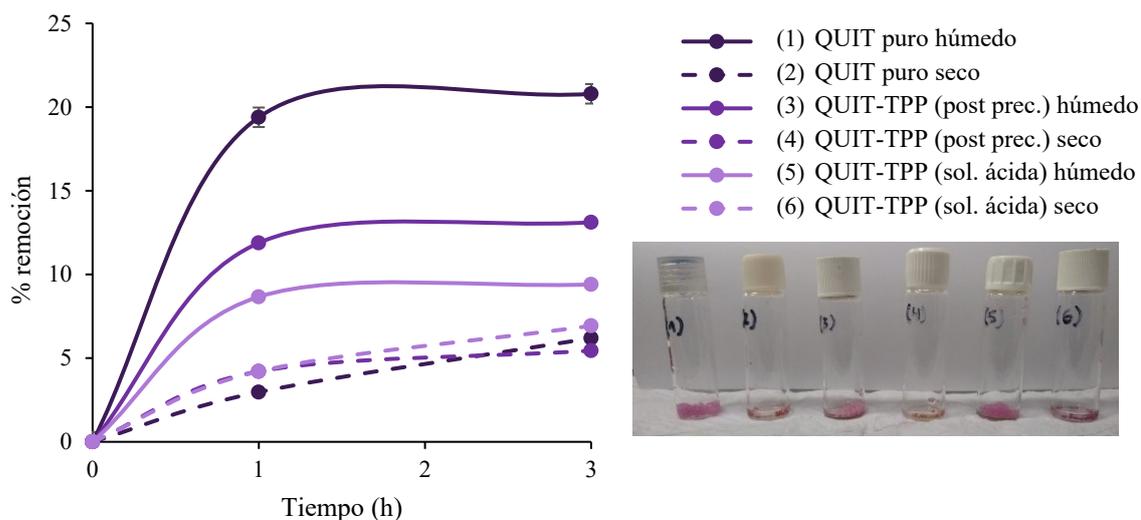


Figura 8.16 – Remoción de RAS por adsorción en función del tiempo sobre esferas de QUIT; QUIT-TPP (post precipitación) y QUIT-TPP (solución ácida) húmedas y secas.

8.3.7. Efecto de la variación del contenido de biomasa en esferas de quitosano

Los sólidos obtenidos a partir de soluciones ácidas de QUIT puro y diferentes relaciones B2m/QUIT (0,20; 0,30; 0,40) se presentan en la Figura 8.17.

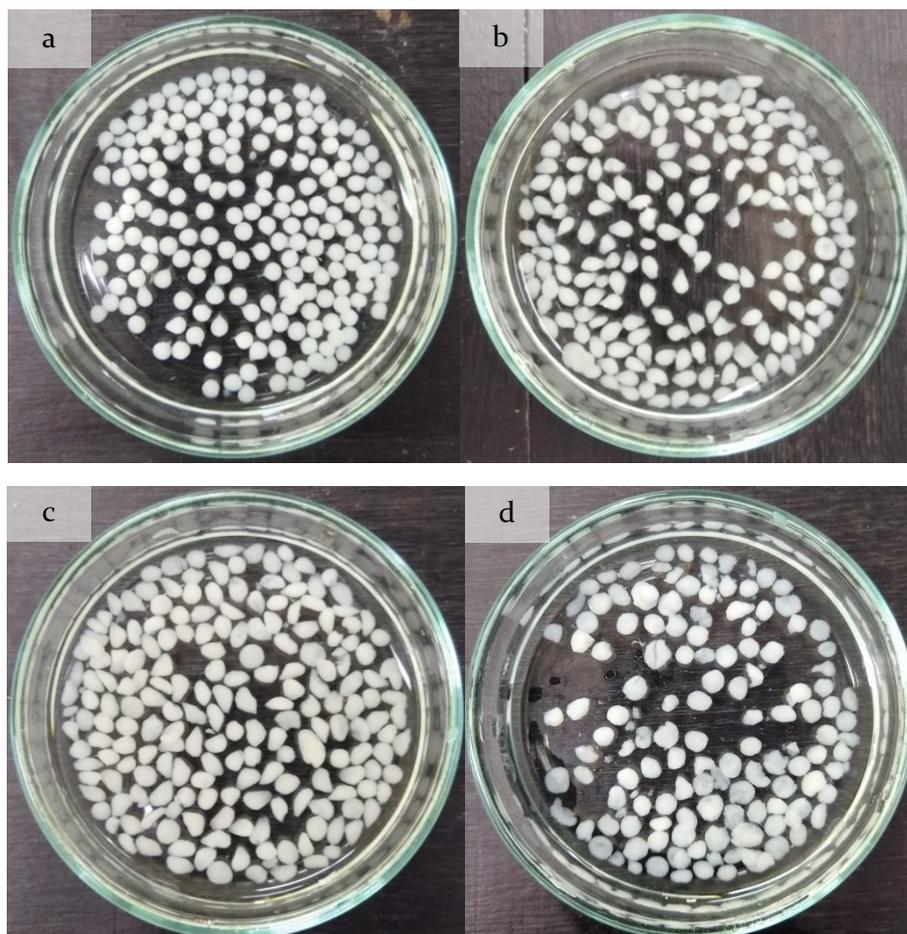


Figura 8.17 – (a) QUIT puro; (b) B2m/QUIT = 0,2; (c) B2m/QUIT = 0,3; (d) B2m/QUIT = 0,4.

Un contenido de biomasa de hasta 0,3 mg de B2m por mg de QUIT permite la precipitación de partículas. La precipitación desde una distancia mínima y sin agitación magnética del NaOH permite obtener partículas con mayor grado de homogeneidad.

La capacidad de adsorción de partículas húmedas de QUIT puro, B2m/QUIT = 0,2, B2m/QUIT = 0,3 y B2m/QUIT = 0,4 fue evaluada en 20 mg L⁻¹ de RAS (5 mL a pH 9,4; 30 °C y 200 rpm) obteniendo los resultados presentados en Tabla 8.8.

Tabla 8.8 – Adsorción (%) de RAS utilizando partículas de QUIT puro y QUIT-biomasa.

Adsorbente (húmedo)	Adsorbente en 5 mL (mg)	% adsorción 1 h	% adsorción 3 h	mg L ⁻¹ RAS removidos por mg QUIT a 3 h
QUIT puro	10,13	18,6	20,3	0,40
B2m-QUIT (0,2)	10,13	19,6	19,6	0,46
B2m-QUIT (0,3)	10,20	19,6	19,6	0,50
B2m-QUIT (0,4)	10,13	12,4	14,1	0,39

Manteniendo la concentración de QUIT en 35 mg mL^{-1} de solución ácida (ácido acético 5% v/v) puede incorporarse B2m hasta una relación B2m (mg) /QUIT (mg) de 0,3 sin que las partículas se fragmenten durante la precipitación y la manipulación. Además, las partículas mantienen el porcentaje de remoción de RAS a 3h, lo cual implica una mayor eficiencia por parte del QUIT en la remoción del colorante en presencia de la biomasa. Sin embargo, cuando la biomasa se agrega en una proporción de 0,4, las partículas son frágiles y disminuye su capacidad de adsorción.

8.3.8. Efecto de la concentración de adsorbente y de los colorantes en la adsorción de RAS y NII sobre esferas de quitosano y biomasa

En la Figura 8.18a se presentan los resultados de remoción de RAS (20 mg L^{-1}) con diferentes concentraciones de adsorbente. En la Figura 8.18b se muestra una fotografía de la solución inicial de RAS (20 mg L^{-1}) en matraz, el adsorbente luego del proceso de adsorción (3 h) y las soluciones finales. Se encontró que con 14 g L^{-1} de adsorbente se logra una remoción del 100% de RAS. Al utilizar 14 g L^{-1} de adsorbente y aumentar la concentración de colorante, se alcanzan remociones del 94,4, 89,0 y 84,1% para concentraciones del colorante correspondientes a 50, 70 y 100 mg L^{-1} (Figura 8.19).

Respecto al colorante NII, en la Figura 8.20a se presentan las remociones alcanzadas con diferentes concentraciones de adsorbente, logrando con 20 g L^{-1} una remoción máxima de 43,7%. En la Figura 8.20b se presenta una fotografía de la solución inicial de NII (20 mg L^{-1}) en matraz, el adsorbente luego del proceso de adsorción (3 h) y las soluciones finales. Aumentos en la concentración del colorante a 50 y 100 mg L^{-1} , conduce a remociones de 36,9 y 29,7%, respectivamente (Figura 8.21).

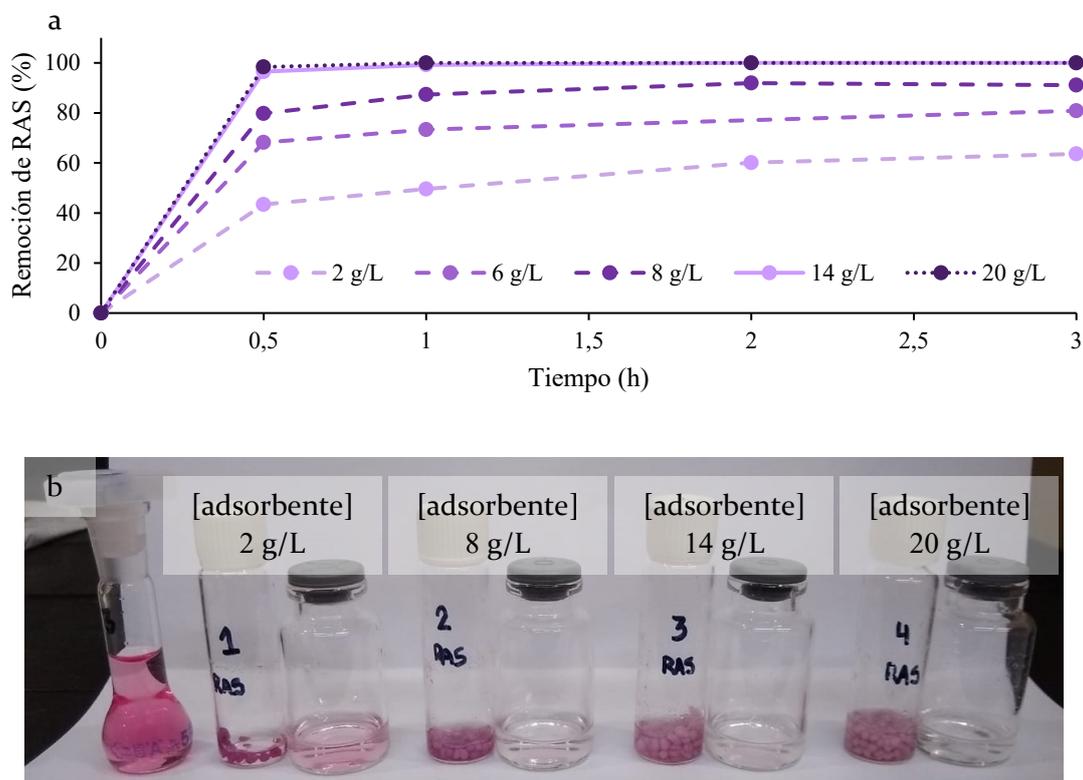


Figura 8.18 – (a) Resultados de adsorción de RAS (20 mg L⁻¹) sobre QUIT-B2m con concentraciones del adsorbente correspondientes a 2, 6, 8, 14 y 20 g L⁻¹ (pH 7; T = 30 °C; 200 rpm en shaker). (b) Fotografía de solución inicial de RAS (20 mg L⁻¹) en matraz, adsorbentes post 3 h de adsorción y soluciones finales para cada concentración de adsorbente.

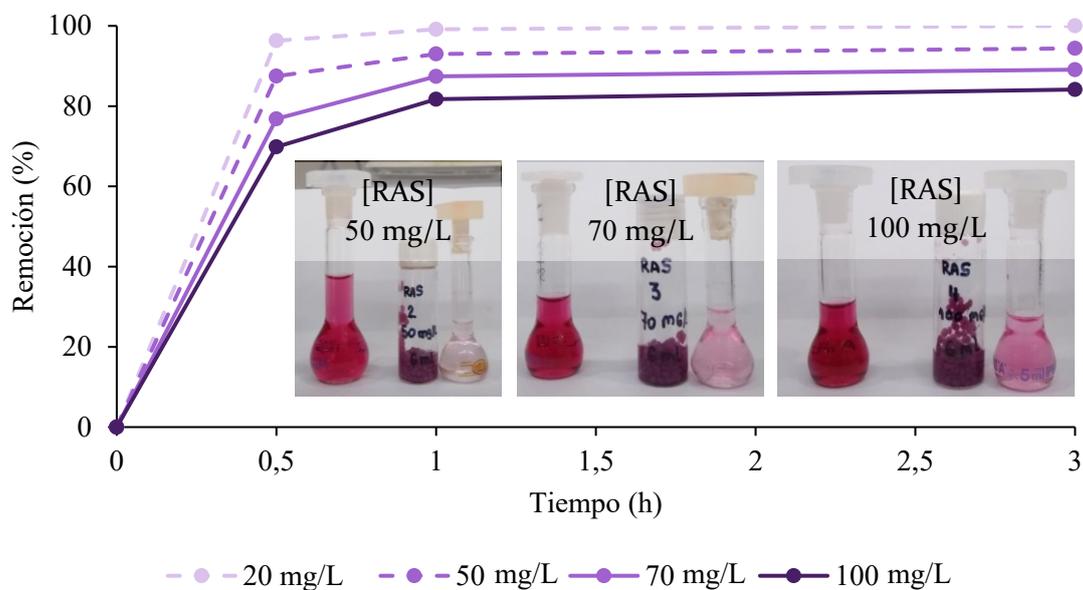


Figura 8.19 - Resultados de adsorción de RAS sobre QUIT-B2m para concentraciones del colorante correspondientes a 20, 50, 70 y 100 mg L⁻¹ (pH 7; T = 30 °C; 200 rpm en shaker).

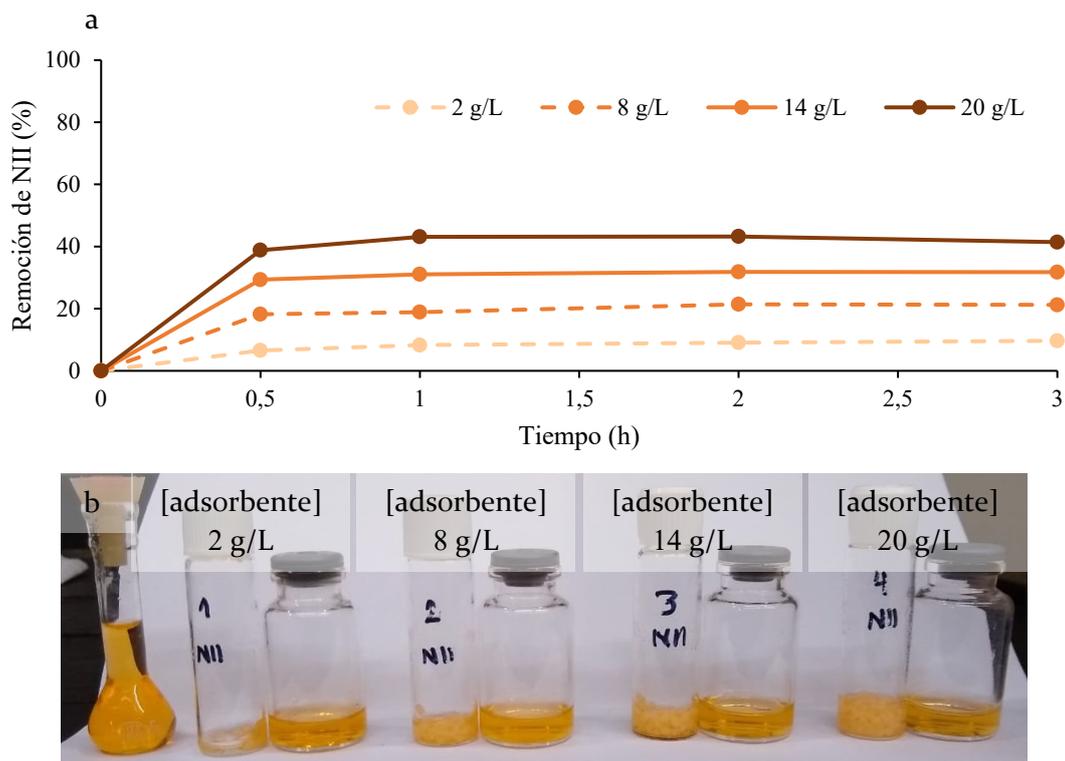


Figura 8.20 - Resultados de adsorción de NII (20 mg L^{-1}) sobre QUIT-B2m con concentraciones del adsorbente correspondientes a 2, 8, 14 y 20 g L^{-1} (pH 6,7 en agua destilada; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$; 200 rpm en shaker). (b) Fotografía de solución inicial de NII (20 mg L^{-1}) en matraz, adsorbentes post 3 h de adsorción y soluciones finales para cada concentración de adsorbente.

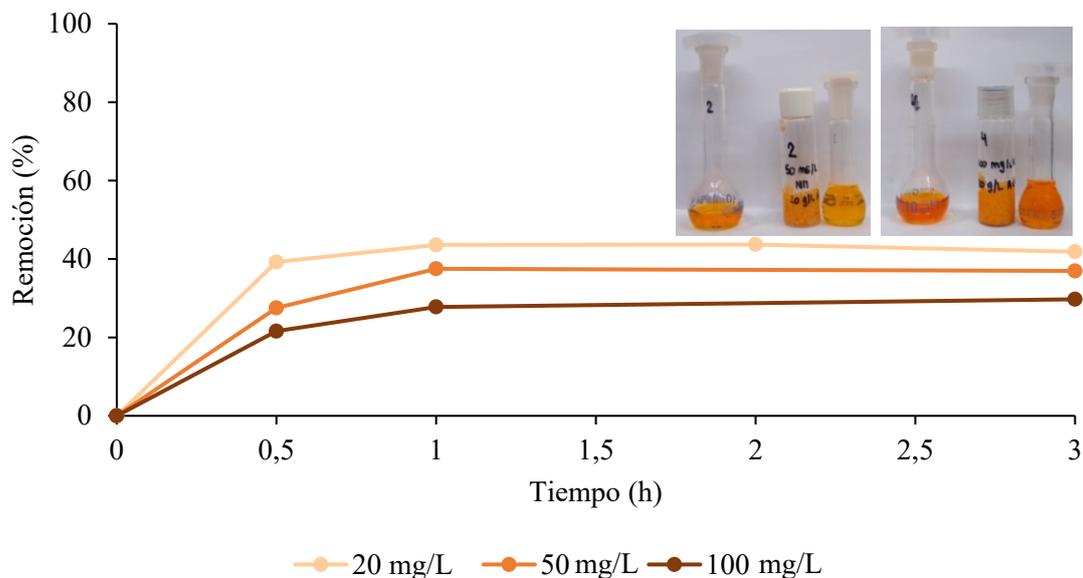


Figura 8.21 - Resultados de adsorción de NII sobre QUIT-B2m para concentraciones del colorante correspondientes a 20, 50 y 100 mg L^{-1} (pH 6,7; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$; 200 rpm en shaker).

Considerando que los resultados previos evidenciaron que la biomasa (B2m) no tiene capacidad de adsorción de los colorantes estudiados, tuvo sentido expresar los resultados en términos de la masa de QUIT presente en el sólido adsorbente. Dado que la relación biomasa (g) : QUIT (g) = 0,3. En 14 y 20 g de adsorbente, en peso seco, 10,77 y 15,8 g corresponden a QUIT. En la Tabla 8.9 se presentan los resultados de adsorción de RAS y NII (% de adsorción; mg de colorante removidos por L; y mg de colorante removidos por g de QUIT).

Al comparar la adsorción de RAS y NII usando 14 g L⁻¹ de adsorbente y 20 mg L⁻¹ de colorantes, se observa que se adsorben 1,85 mg de RAS frente a 0,6 mg de NII por g de QUIT. Fue claro que el adsorbente presentó mayor capacidad de remoción del colorante antraquinónico respecto al azoico.

Tabla 8.9 – Resultados de remociones de RAS y NII utilizando QUIT-B2m (B2m/QUIT = 0,3) para diferentes concentraciones iniciales de los colorantes.

		Concentración inicial de los colorantes (mg L ⁻¹)			
		20	50	70	100
RAS 14 g L⁻¹ de adsorbente	Adsorción (%)	100,00	94,40	89,00	84,10
	RAS removido (mg L ⁻¹)	20,00	47,20	62,30	84,10
	mg RAS removidos por g de QUIT	1,85	4,38	5,78	7,80
NII 20 g L⁻¹ adsorbente	Adsorción (%)	43,7	36,9	-	29,70
	NII removido (mg L ⁻¹)	8,74	18,45	-	29,70
	mg NII removidos por g de QUIT	0,57	1,20	-	1,93
NII 14 g L⁻¹ adsorbente	Adsorción (%)	32,09	-	-	-
	NII removido (mg L ⁻¹)	6,42	-	-	-
	mg NII removidos por g de QUIT	0,60	-	-	-

En la Figura 8.22 se presentan los espectros FTIR-DRIFTS de B2m, QUIT, RAS y de las esferas de QUIT-B2m utilizadas en la adsorción del colorante RAS. Las bandas del colorante RAS se asignaron a los grupos funcionales de la molécula en función de la literatura [41]. El colorante RAS presenta dos picos cercanos a 1670 y 1635 cm⁻¹ que se asocian al estiramiento de los enlaces C=O. La banda cercana a 1500 cm⁻¹ se atribuye al estiramiento del enlace C=C en la molécula del colorante. Las bandas que se presentan por debajo de 1500 cm⁻¹ se relacionan a las vibraciones que involucran a los anillos

aromáticos. Las sales de ácido sulfónico y los sulfonatos absorben en 1230-1120 cm^{-1} y en 1080-1025 cm^{-1} debido al estiramiento antisimétrico y simétrico del grupo SO_3^- . En el espectro FTIR-DRIFTS correspondiente a QUIT-B2m-RAS se evidencia la presencia del colorante debido al corrimiento y pronunciamiento de la banda entre 3000 y 3600 cm^{-1} que se encuentran presentes en RAS.

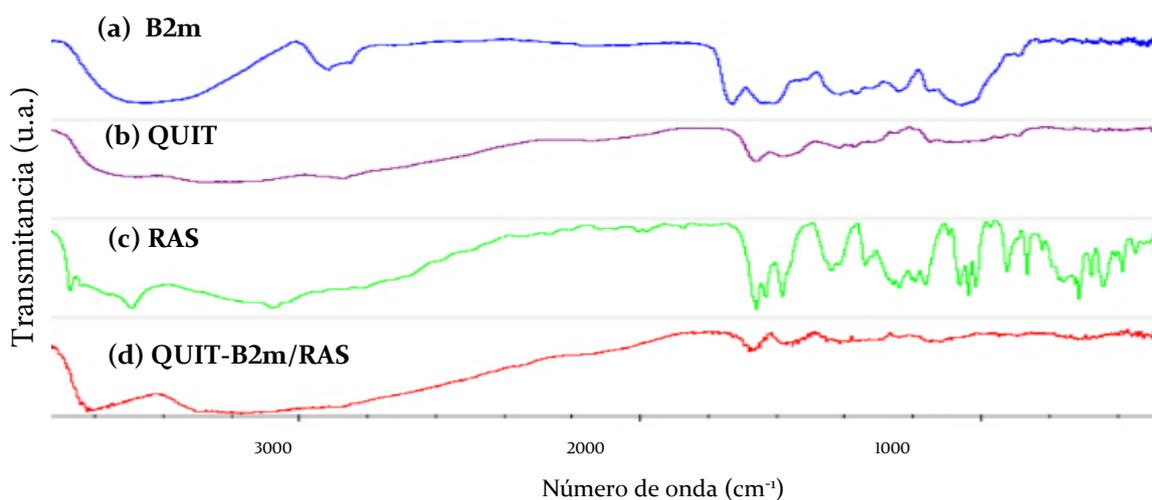


Figura 8.22 – Espectros FTIR-DRIFT de (a) B2m; (b) QUIT; (c) RAS; (d) QUIT-B2m/RAS.

El estudio de adsorción de colorantes y su evaluación según distintos tipos de modelos de adsorción está ampliamente reportado en la literatura específica. Se ha estudiado el ajuste de datos de adsorción sobre material biopolimérico a distintos modelos (Langmuir, Freundlich, Tempkin, Generalizado, Redlich–Peterson, Toth) [42]. Se concluyó que los mejores modelos tanto desde el punto de vista del ajuste simple como del análisis del error son Langmuir y Freundlich.

Se reporta la adsorción de azul de metileno en QUIT-clinoptilolita (Zeolita), a 25 °C, evaluando 2, 5, 10 y 20 mg L^{-1} en 40 mL de solución con 15 mg de adsorbente ($0,375 \text{ g L}^{-1}$) [43]. Se encontró que los parámetros según el ajuste de Langmuir para QUIT puro alcanzaron 41,7 mg g^{-1} para $Q_{\text{máx}}$, con un K_L de 0,015 y un R^2 de 0,9603; mientras que para el compuesto QUIT-zeolita, $Q_{\text{máx}}$ alcanzó 12,95 mg g^{-1} con un K_L de 0,54 y un R^2 de 0,9516. En el caso del ajuste de Freundlich para QUIT puro K_F alcanzó valores de 0,74 con n de 1,21 y un R^2 de 0,9736 mientras que para QUIT-zeolita los valores fueron 5,20, 3,2, y 0,8339, respectivamente. Claramente, Freundlich ajusta mejor la adsorción sobre QUIT, mientras que Langmuir ajusta la adsorción del colorante sobre QUIT-clinoptilolita. Adicionalmente, se encuentran revisiones recientes que recopilan gran

cantidad de información de parámetros publicados según la aplicación de distintos modelos de adsorción para caracterizar biopolímeros como QUIT [44].

En función de lo expuesto, en el presente trabajo se evaluó el modelo de adsorción de Freundlich y de Langmuir. La isoterma de adsorción de Freundlich está asociada con la adsorción multicapa en la superficie, mientras que la isoterma de adsorción de Langmuir está asociada con la adsorción monocapa. La Figura 8.23 muestra la relación entre la masa adsorbida por unidad de masa de adsorbente y la concentración en el equilibrio para distintos tipos de adsorciones.

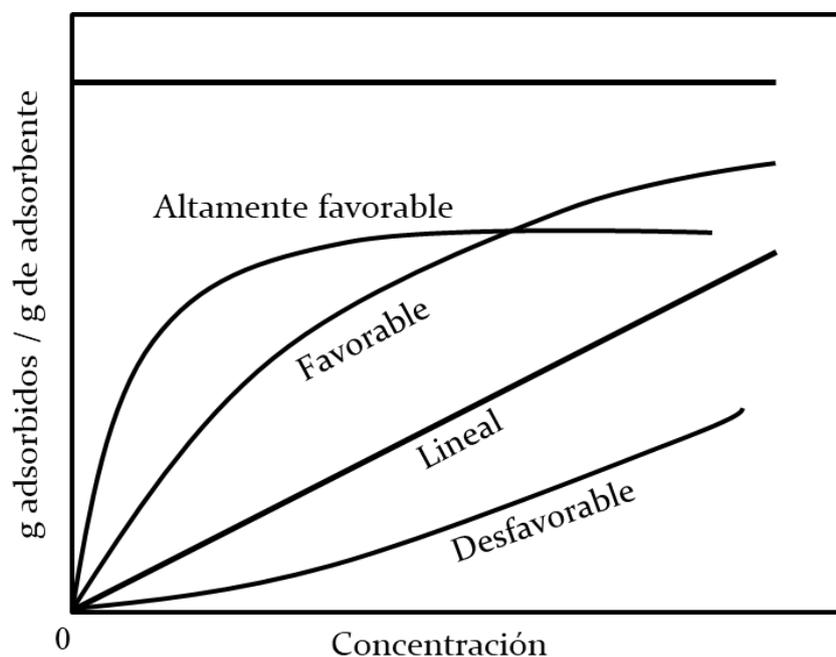


Figura 8.23 – Relación entre la masa adsorbida por masa de adsorbente y la concentración en solución en el equilibrio. Adaptado de [45].

Las gráficas de cantidad de colorante adsorbido por g de adsorbente en función de la concentración de colorante en solución acuosa en el equilibrio para RAS y NII se presentan en la Figura 8.24a y Figura 8.24b, respectivamente. En la Figura 8.24c se aprecia la diferencia encontrada en relación a la adsorción de los dos colorantes. Como se expuso, para RAS se logró un rango de remoción entre 84 y 100% para concentraciones entre 20 y 100 mg L⁻¹, y para NII entre 10 y 44% para concentraciones entre 10 y 100 mg L⁻¹, utilizando esferas de QUIT-B2m. Al comparar ambas curvas, es evidente que la adsorción de RAS es altamente favorable mientras que la de NII se acerca a la linealidad en concentraciones bajas de C_e.

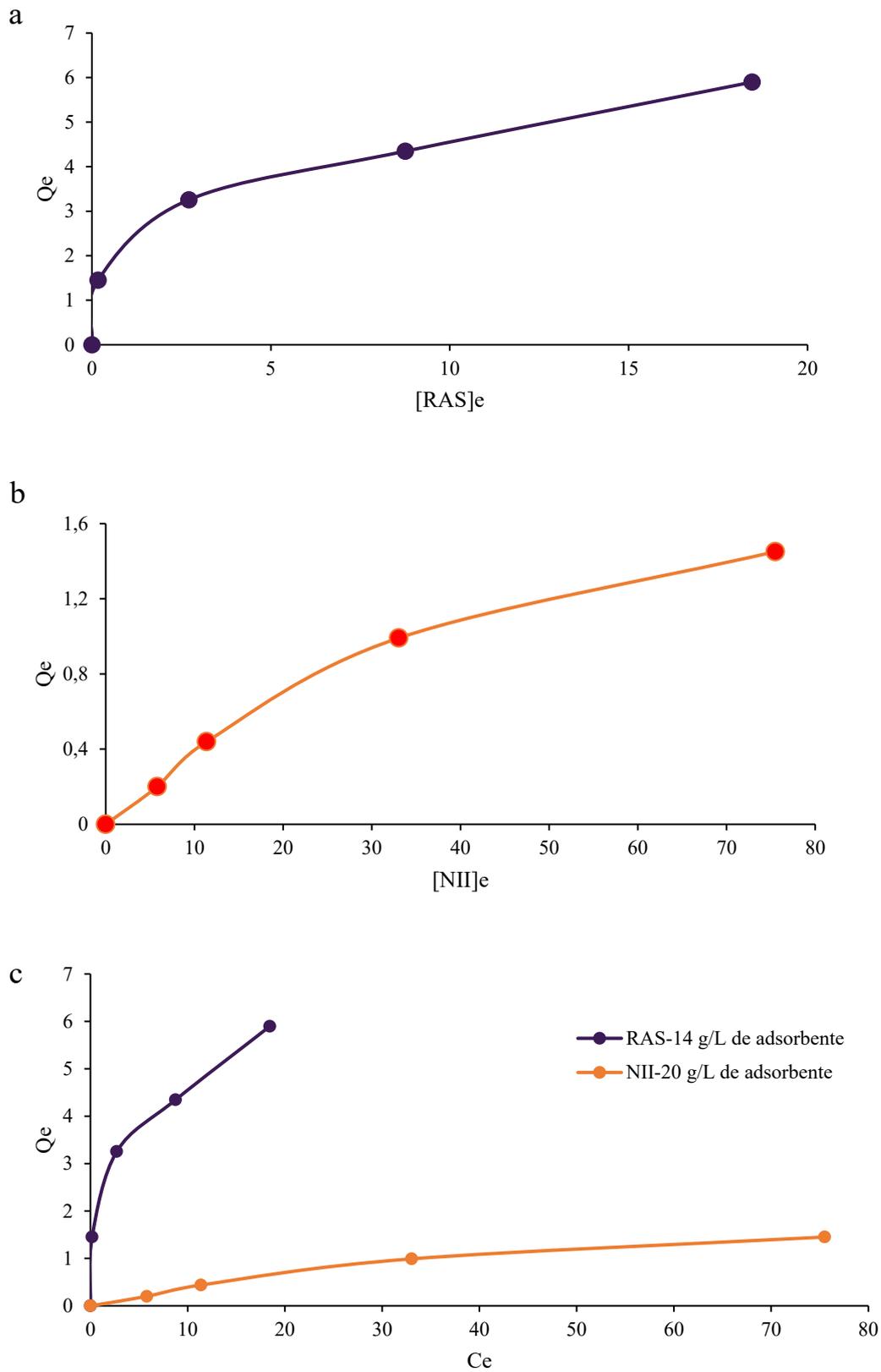


Figura 8.24 – Masa de (a) RAS y (b) NII adsorbida utilizando 14 g L⁻¹ de adsorbente con concentraciones iniciales entre 20 y 100 mg L⁻¹, y 20 g L⁻¹ de adsorbente y concentraciones iniciales entre 10 y 100 mg L⁻¹, respectivamente. (c) Superposición de gráficas a y b.

Los resultados de la aplicación de los modelos de Langmuir y Freundlich a los datos de RAS y NII sobre QUIT/B2m se resumen en la Tabla 8.10.

Tabla 8.10 – Ajuste de los resultados de adsorción de RAS y NII a modelos de adsorción propuestos por Langmuir y Freundlich.

	R^2	$Q_{\text{máx}}$ (mg g^{-1})	K_L (L mg^{-1})	R_L	n	K_F
Rojo de Alizarina S						
Langmuir	0,9618	4,5	2,667	0,003-0,017	-	-
Freundlich	0,9965	-	-	-	3,4	2,41
Naranja II						
Langmuir	0,9889	5,6	0,00661	0,589-0,938	-	-
Freundlich	0,9705	-	-	-	1,3	0,06

Pang et al. (2021) reportan en un artículo de revisión que los procesos de biosorción utilizando QUIT/cuarcita, QUIT/zeolita y QUIT/MgO siguen el modelo de isoterma de Freundlich con un valor R^2 mayor que el modelo de isoterma de Langmuir, tal como ocurre en este trabajo con RAS [44]. Los autores explican que la adsorción en estos casos tuvo lugar en una superficie heterogénea, la interacción se produjo entre las moléculas de colorante con el QUIT y con las moléculas adsorbidas de colorante, lo que resulta en la formación de espesor molecular multicapa. Valores de K_L mayores que 1 en Langmuir indican que la adsorción no es favorable, mientras que valores entre 0 y 1 indican que la adsorción es favorable. En el caso de RAS, Langmuir no se ajusta como Freundlich, que muestra un valor de n mayor que 1. Para valores del factor de heterogeneidad mayor a 1, se consideró que la remoción de los colorantes implicaba fisisorción. Por el contrario, para Naranja II, los datos se ajustan al modelo de Langmuir, con K_L menor a 1 y R_L entre 0,5 y 1.

Es importante destacar que se utilizó este análisis para caracterizar las esferas de QUIT/B2m en relación a la capacidad de adsorción de los colorantes RAS y NII. Sin embargo, la aplicación del adsorbente en el contexto de la presente tesis implica su uso luego de una primera etapa de degradación de los colorantes, en donde, según se ha visto en capítulos anteriores, existe una importante degradación de la estructura inicial. Esta segunda etapa tendría, potencialmente, una remoción adicional de color probablemente por adsorción de estructuras más simples químicamente y de menor peso molecular producto de la degradación.

La Figura 8.25 representa el proceso de biosorción de colorantes o sus productos de degradación en la esfera de QUIT. La interacción entre colorantes orgánicos y la superficie del biopolímero puede producirse mediante, por ejemplo, interacción electrostática, intercambio iónico, complejación, quelación, microprecipitación [44]. La interacción de biosorción entre sorbato y biosorbente se produce principalmente en dos diferentes condiciones: sorción superficial y sorción intersticial. La sorción superficial implica difusión hasta la superficie, y ocurre cuando el sorbato se mueve a través de la solución y se difunde a través de la capa límite de película líquida que rodea la superficie biosorbente. Este proporciona numerosos sitios activos para la unión del sorbato. El sorbato se adsorbe en los sitios de adsorción de carga opuesta en la superficie del biosorbente. Este fenómeno se promueve fuertemente por fuerzas de van der Waals, interacciones dipolares o enlaces puente de hidrógeno. A este proceso le sigue la sorción intersticial que involucra la difusión intraparticular. El sorbato se difunde aún más en los poros del biosorbente y, finalmente, se adhiere a la superficie interior del mismo. Los colorantes orgánicos requieren un tiempo de contacto más largo para difundir desde la fase acuosa y alcanzar la superficie interna de los biosorbentes al pasar a través de los poros. Cuanto menor sea el tamaño de la molécula, mayor será la posibilidad de acceder al interior de la esfera de QUIT o compuestos QUIT-aditivo. Este modelo es útil para comprender la adsorción de colorantes y sus productos de degradación en esferas de QUIT como componente mayoritario.

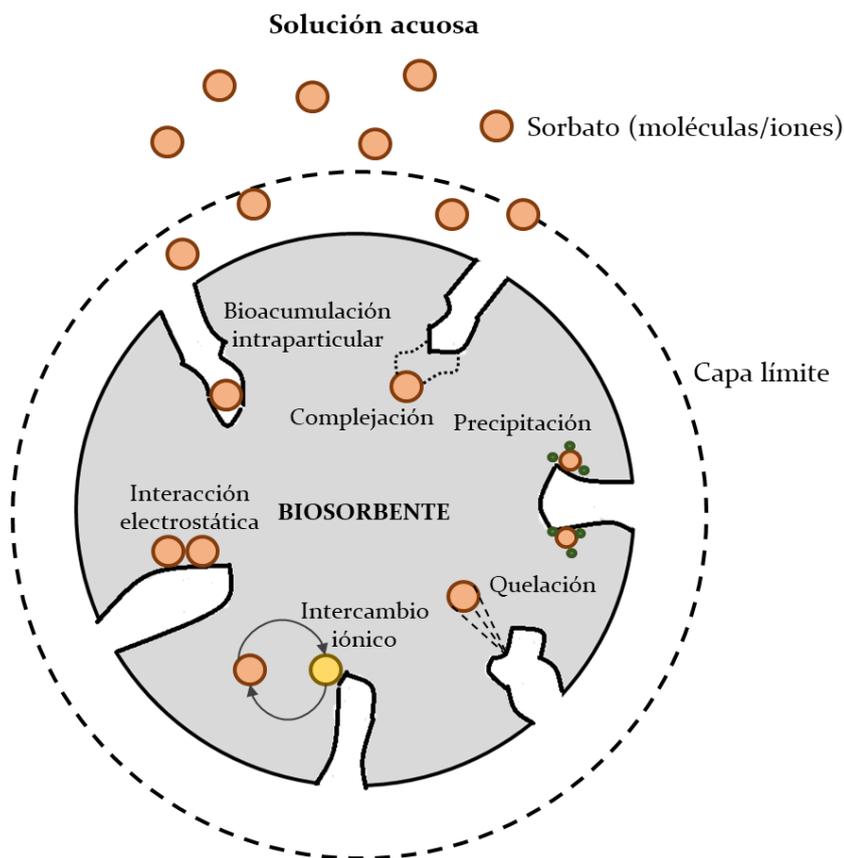


Figura 8.25 – Diferentes mecanismos involucrados en los procesos de biosorción. Adaptado de [44], [46].

8.3.9. Estudio computacional simple sobre adsorción de NII y RAS sobre QUIT

Los resultados experimentales obtenidos plantearon interrogantes asociados a las diferencias observadas en las remociones de RAS y NII por adsorción con QUIT. Se encontró que con 20 g L^{-1} de adsorbente, se logra remover un 100% de RAS mientras que un 43,7% fue el máximo de remoción alcanzado para NII.

A continuación, se presentan estudios de modelado molecular realizados por la Dra. Ferreira, que permitieron explorar diferentes formas de adsorción de los colorantes sobre la superficie de QUIT.

La Tabla 8.11 presenta los resultados obtenidos para la adsorción de NII sobre QUIT.

Tabla 8.11 – Resultados obtenidos a partir del modelo MM2 y PM3 para la adsorción de NII sobre QUIT.

Forma	1	2	3	4	5
Modelo PM3					
Entalpía de formación (Kcal/mol)	-1124	-1099	-1129	-1127,5	-1132
Modelo MM2					
Energía estérica (Kcal/mol)	212,7	231,8	195,5	236,5	218,9

En el modelo PM3, cuanto más exotérmica es la entalpía de formación, más estable es la estructura conformacional. Se obtuvo la siguiente secuencia de menor a mayor estabilidad: Forma 2 < Forma 1 < Forma 4 < Forma 3 < Forma 5. Desde el punto de vista electrónico, la Forma 5 (lateral, con el grupo sulfónico y grupos OH cercanos a la superficie del QUIT) es 33 Kcal/mol más estable que la Forma 2 (perpendicular con el grupo sulfónico alejado de la superficie del QUIT), y es similar energéticamente a la Forma 3 (paralela a la superficie del QUIT), la segunda más estable. Por otro lado, en el modelo MM2 cuanto menor es la energía estérica, menor es la repulsión entre el colorante y la superficie del QUIT. Por lo que, desde el punto de vista estérico, la secuencia de estabilidad de menor a mayor estabilidad es: Forma 4 < Forma 2 < Forma 5 < Forma 1 < Forma 3.

Según estos resultados, el colorante NII se adsorbería en forma lateral, con interacción principal del grupo sulfónico; en forma paralela al QUIT, con interacción entre el grupo sulfónico y los OH e H de los grupos OH y NH₂ del biopolímero; y en forma perpendicular a través de interacciones similares.

Adicionalmente, es posible la adsorción por formación de enlaces puentes de hidrógeno con moléculas de colorante cercanas, sobre todo en forma paralela a la superficie. Esta forma muestra menor energía estérica que la adsorción en forma perpendicular. Puede ocurrir la adsorción de moléculas de NII en multicapa, presentando una diferencia en la energía estérica con la Forma 3 de aproximadamente 30 Kcal/mol. La Figura 8.26 presenta las formas de adsorción multicapa del colorante NII.

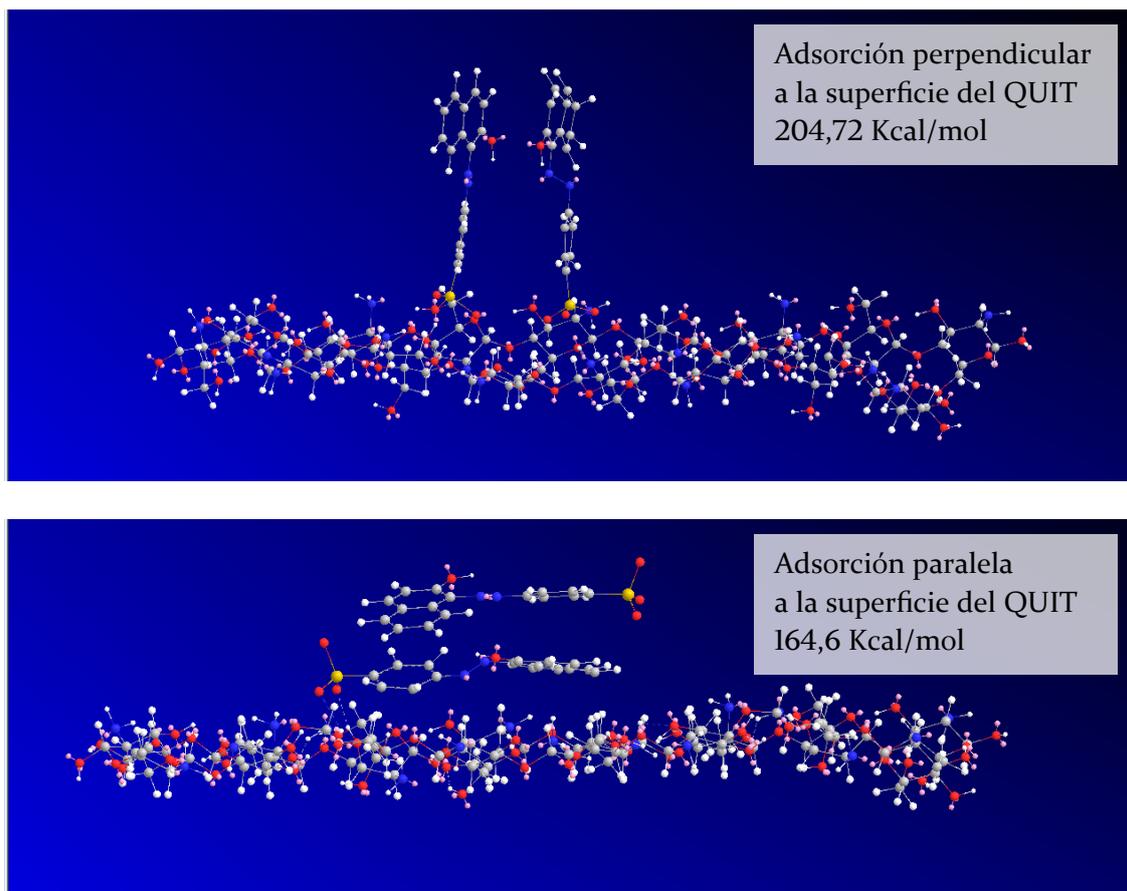


Figura 8.26 – Formas de adsorción multicapa de NII sobre QUIT.

La Tabla 8.12 presenta los resultados obtenidos para la adsorción de RAS sobre QUIT.

Tabla 8.12 - Resultados obtenidos a partir del modelo MM2 y PM3 para la adsorción de RAS sobre QUIT.

Forma	1	2	3	4	5
Modelo PM3					
Entalpía de formación (Kcal/mol)	-1281,5	-1259,7	-1271,8	-1275,6	-1276,7
Modelo MM2					
Energía estérica (Kcal/mol)	273,3	282,8	258,7/251,6	274,7	269,9

Los resultados obtenidos por el modelo PM3, indican que, desde el punto de vista electrónico, la secuencia de menor a mayor estabilidad corresponde a: Forma 2 < Forma 3 < Forma 4 < Forma 5 < Forma 1. Según el modelo MM2, desde el punto de vista estérico, la secuencia de menor a mayor estabilidad es: Forma 2 < Forma 4 < Forma 1 < Forma 5 < Forma 3.

Los modelos seleccionados muestran que la Forma 2 (perpendicular con el grupo sulfónico alejado de la superficie del QUIT) corresponde a una adsorción poco probable. La diferencia en entalpía de formación es del orden de 12 a 22 Kcal/mol respecto a las

otras formas de adsorción. Se encuentra muy desfavorecida desde el punto de vista de interacción repulsiva (muestra el valor de energía estérica más positivo). Las Formas 4 (lateral, con el grupo sulfónico y grupos OH cercanos a la superficie del QUIT) y 5 (lateral, con los grupos OH alejados de la superficie del QUIT) son similares en entalpía de formación, mientras que la Forma 1 (perpendicular, con el grupo sulfónico cerca de la superficie del QUIT) aparece como la más estable y la Forma 3 (paralela a la superficie del QUIT) es la menos favorable entre las Formas 1, 3, 4 y 5. En términos estéricos las formas 1, 4 y 5 muestran energías estéricas similares en el orden de 270 a 275 Kcal/mol.

La adsorción en multicapa de RAS coordinada por enlace puente de hidrógeno muestra baja energía estérica (Figura 8.27). La diferencia en este modo de adsorción, presenta una diferencia de casi 50 Kcal/mol con la Forma 3.

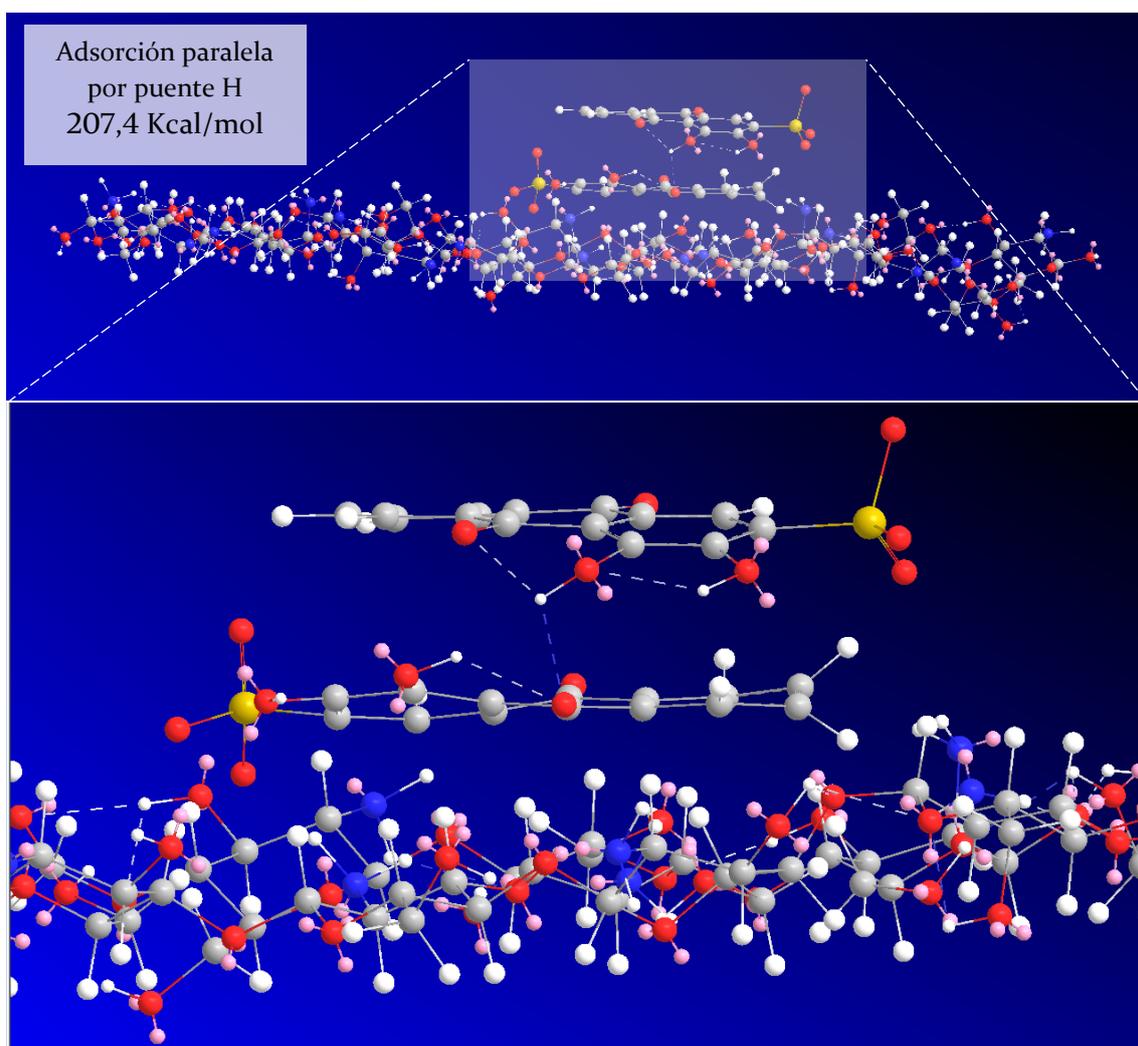


Figura 8.27 – Adsorción de RAS en multimerización por puente hidrógeno.

Las moléculas de NII y de RAS pueden compararse en términos de descriptores moleculares que se correlacionan con el volumen molecular y el área molecular (utilizando el cálculo de propiedades dentro de Chem3D Bio-Ultra). Los valores de los parámetros: área accesible Connolly; área molecular Connolly; volumen excluido de solvente Connolly; ovalidad; atributo de forma; y área superficial polar para cada colorante se presentan en la Tabla 8.13.

Tabla 8.13 – Valores de descriptores moleculares para RAS y NII (Chem3D Bio-Ultra).

Molécula	RAS	NII
Área Accesible Connolly-A ²	465,05	560,3
Área Molecular Connolly-A ²	239,7	290
Volumen Excluido de solvente Connolly-A ³	205,6	241,6
Ovalidad	1,42	1,55
Atributo de forma	20	22
Área superficial polar	131,8	102,15

Comparativamente la molécula de RAS tiene valores menores de los parámetros Connolly respecto a NII, pero mayor área superficial polar. La Figura 8.28 muestra una representación esquemática del área accesible para solvente, el área van der Waals y el área molecular Connolly.

El parámetro de ovalidad en química computacional cuantifica cuánto se aleja una molécula de una forma esférica, tomando en cuenta la superficie mínima que tendría una esfera equivalente. Este descriptor se asocia tanto con la superficie molecular como con la superficie mínima que corresponde al volumen de van der Waals de la molécula [47]. Para una molécula esférica, el índice de ovalidad es igual a uno, y este valor se incrementa conforme la molécula adopta una forma más alargada o lineal. Por lo que un valor menor del parámetro ovalidad para RAS implica que se desvía menos de la forma esférica que el colorante azoico.

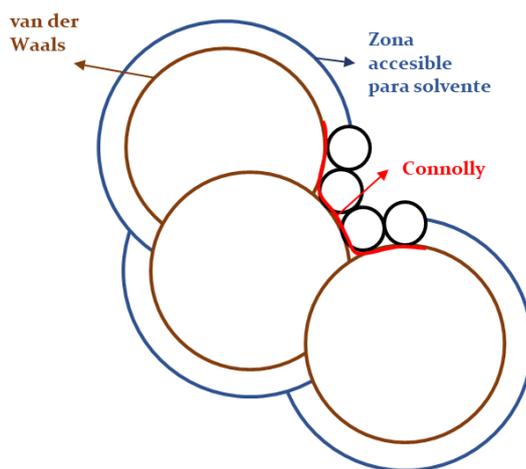


Figura 8.28 – Representación esquemática del área molecular Connolly, el área accesible para solvente y el área van der Waals (Adaptado de [48]).

De los resultados experimentales, es evidente que RAS se adsorbe más eficientemente que NII sobre las esferas de QUIT-B2m. Considerando los resultados de los cálculos realizados, el análisis de los parámetros moleculares y el tipo de especies en solución bajo las condiciones experimentales utilizadas, se considera que la diferencia radica en tres aspectos fundamentales:

- (I) **El tamaño y la forma molecular de RAS.** La molécula del colorante antraquinónico tiene menor tamaño y volumen que NII y, por lo tanto, es más probable que acceda a la superficie disponible de la esfera en solución acuosa, incluso si debe difundir hacia el interior del sólido.
- (II) **Las formas más probables de adsorción.** Ambas moléculas se adsorben en paralelo y perpendicularmente sobre el QUIT, con una estabilidad relativa de las distintas formas dependiente de la estructura específica. Para NII la forma paralela es de las más probables (Figura 8.29a), seguida por la forma perpendicular apilada (Figura 8.29b). Ambas formas se ven favorecidas. Para RAS las formas que ocupan menos espacio (1, 4 y 5) son energéticamente más favorables (Figura 8.30). Así, RAS se adsorbe sobre todo en forma perpendicular a través del grupo sulfónico, con la posibilidad de adsorción múltiple sobre la superficie minimizando repulsión estérica y maximizando recubrimiento.

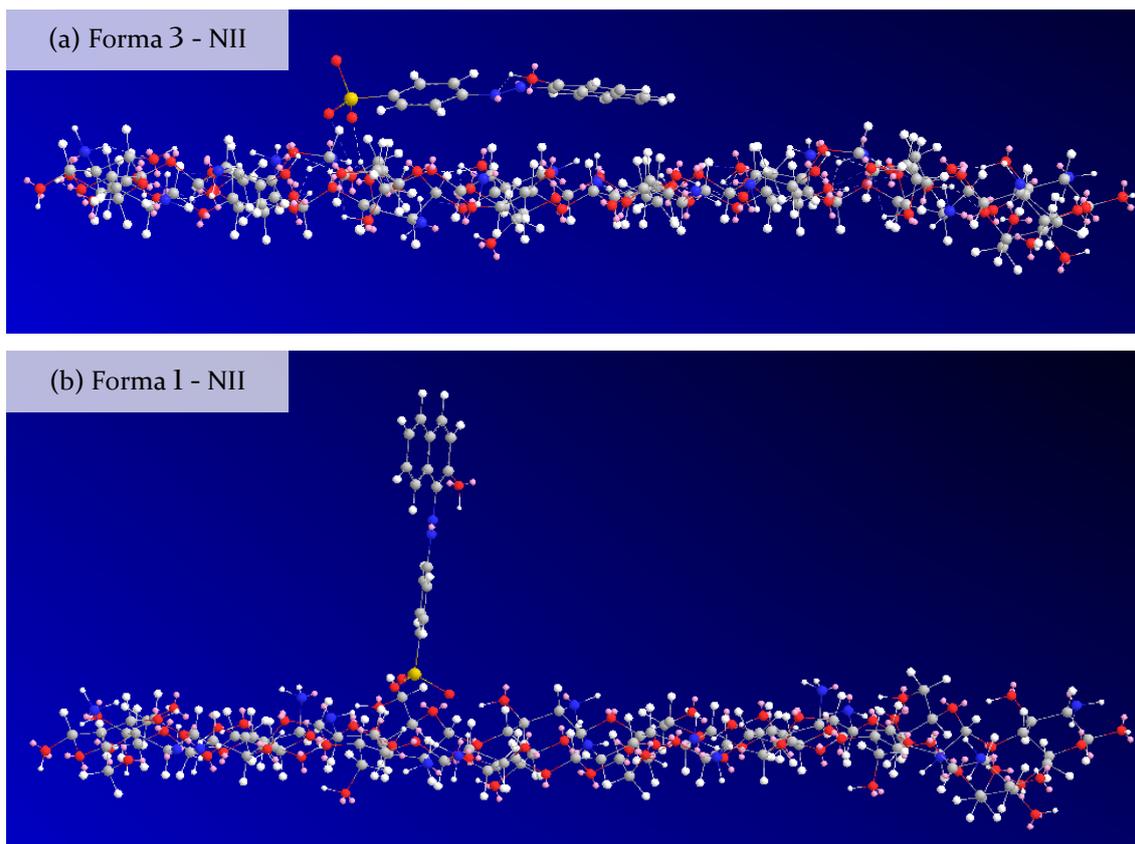


Figura 8.29 – Adsorción de NII sobre QUIT: (a) Forma 3, más probable (paralela, 195,5 Kcal/mol); (b) Forma 1 (perpendicular, 212,75 Kcal/mol).

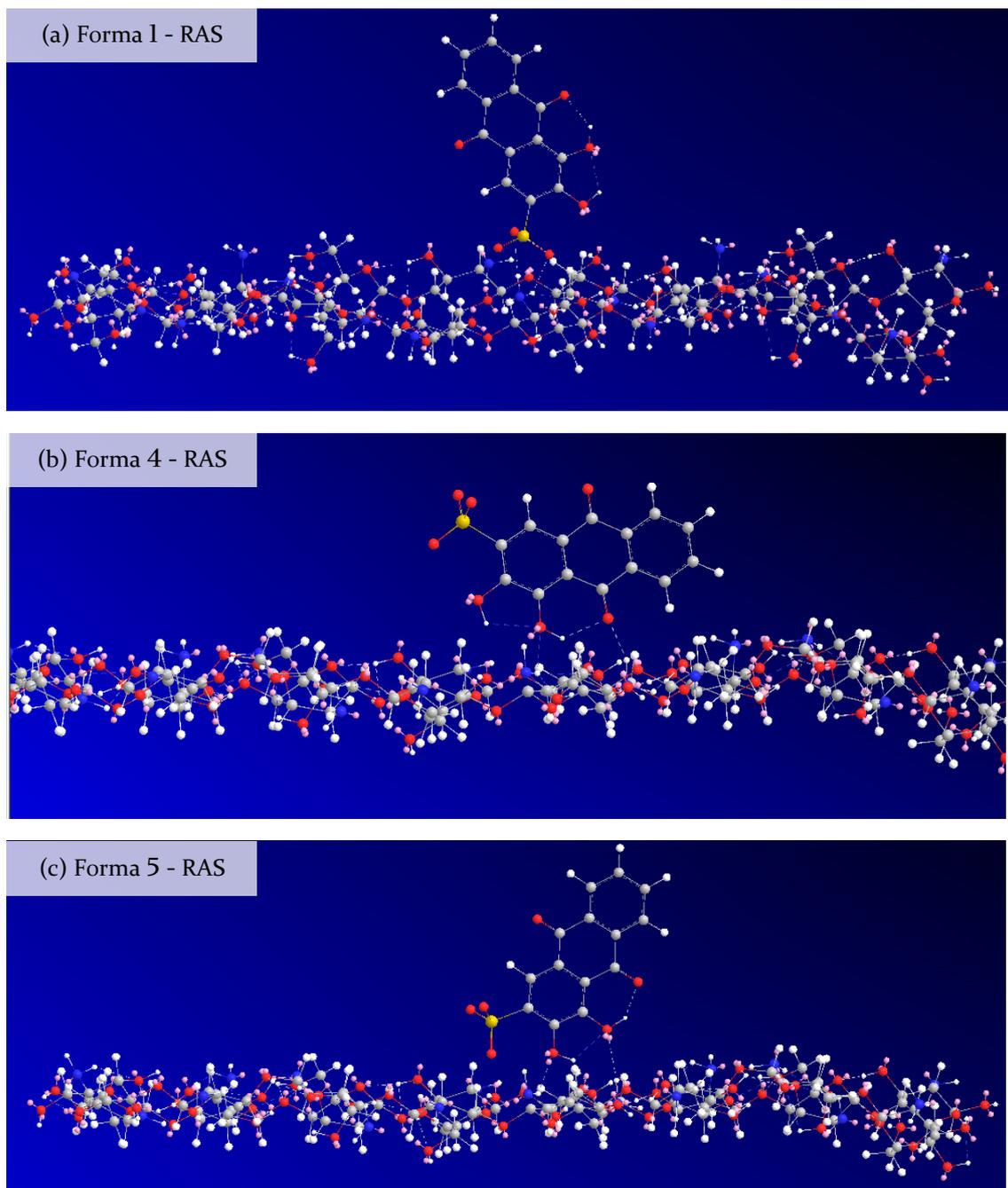


Figura 8.30 - Forma de adsorción sobre QUIT más probable para RAS (a) Forma 1 (273,3 Kcal/mol); (b) Forma 4 (264,7 Kcal/mol); Forma 5 (269,9 Kcal/mol).

(III) **La posibilidad de enlace puente de hidrógeno con la superficie.** Con la molécula de RAS, existen múltiples posibilidades de interacción de enlace puente de hidrógeno.

8.4. Conclusiones

En el presente capítulo, se evaluó el uso de biomasa derivada de la pulpa del fruto de *Araujia sericifera* como adsorbente. Se obtuvo un material fino ($<74 \mu\text{m}$) que fue utilizado sin tratamiento y post tratamientos (básico-ácido y con APTS). En ninguno de los casos la biomasa presentó capacidad para adsorber los colorantes RAS y NII bajo las condiciones estudiadas.

No obstante, se establecieron condiciones para la síntesis de un adsorbente basado en QUIT y biomasa derivada de frutos de *Araujia sericifera* sin tratar (B2m). Se encontró que el adsorbente presenta capacidad de remoción maximizada cuando se aplica húmedo y sin entrecruzar con una relación B2m/QUIT igual a 0,3.

Fue clara la mayor capacidad de remoción del colorante antraquinónico (RAS) respecto al azoico (NII). Las esferas, luego de estar en contacto con los colorantes, se vieron fuertemente coloreadas. La presencia de RAS en superficie se evidenció mediante FTIR-DRIFTS. A través de un estudio de modelado computacional simple, se estudiaron las formas más probables de adsorción de RAS y NII sobre QUIT. Se postula que considerando los resultados de los cálculos realizados, el análisis de los parámetros moleculares y el tipo de especies en solución bajo las condiciones experimentales utilizadas, existen diferencias entre los colorantes que explican las distintas remociones utilizando QUIT como adsorbente. Por un lado, RAS presenta menor tamaño y ovalidad (se aleja menos que NII de una forma esférica). Adicionalmente, el análisis de las formas de adsorción de cada colorante da indicio de que una de las formas favorecidas de adsorción es en paralelo a la superficie del QUIT. La estructura molecular plana del colorante RAS le permite generar interacciones entre moléculas por puente hidrógeno que favorecerían la adsorción en multicapa. Por el contrario, el colorante azoico, dado que contiene un grupo azo ($-\text{N}=\text{N}-$) podría representar restricciones en el acomodamiento en multicapas.

Los resultados de la simulación molecular de la adsorción de los colorantes sobre los modelos de QUIT se correlacionan con los resultados de la evaluación de los ajustes según los modelos de Langmuir y Freundlich. Los datos de adsorción de RAS, que tiende a formar multicapas y cuyas moléculas interactúan sobre la superficie, se ajustan mejor según el modelo de Freundlich. Por otro lado, la adsorción de NII, que no tendería a formar multicapas y que no muestra la misma tendencia que RAS en la interacción

superficial con otras moléculas de NII, ajustan mejor según el modelo de Langmuir. En el modelo de Langmuir la superficie del adsorbente se considera homogénea y uniforme, y no hay interacción entre los adsorbatos. En RAS la simulación molecular mostró que la formación de dímeros o especies adsorbidas como tales sobre la superficie alcanza mínimos de energía estérica (a través de estabilizarse mediante enlaces puente de hidrógeno). Para la isoterma de Freundlich, la superficie del adsorbente es heterogénea, existe interacción entre los adsorbatos y la superficie no es uniforme. En el modelo de Langmuir existe un equilibrio dinámico adsorbente-adsorbato, involucra adsorción y desorción, da explicaciones cuantitativas a la adsorción y tiene fundamento teórico. El modelo de Freundlich es empírico, e involucra solo la adsorción.

En principio y en base a los resultados expuestos, el sólido esférico basado en QUIT-B2m representa un adsorbente interesante para ser aplicado luego del tratamiento de soluciones que contienen colorantes mediante el sistema Fenton heterogéneo previamente estudiado.

8.5. Referencias

- [1] G. Crini, “Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review,” *Bioresour Technol*, vol. 97, pp. 1061–1085, 2006, doi: 10.1016/j.biortech.2005.05.001.
- [2] A. Azanaw, B. Birlie, B. Teshome, and M. Jemberie, “Textile effluent treatment methods and eco-friendly resolution of textile wastewater,” *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 6, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.cscee.2022.100230.
- [3] Y. Zhou, J. Lu, Y. Zhou, and Y. Liu, “Recent advances for dyes removal using novel adsorbents: a review,” *Environmental Pollution*, 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2019.05.072.
- [4] P. K. Yeow, S. W. Wong, and T. Hadibarata, “Removal of Azo and Anthraquinone Dye by Plant Biomass as Adsorbent – A Review,” *Biointerface Res Appl Chem*, vol. 11, no. 1, pp. 8218–8232, 2021.
- [5] S. Homaeigohar, “The nanosized dye adsorbents for water treatment,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 2, pp. 1–42, 2020, doi: 10.3390/nano10020295.
- [6] M. O. Omorogie, J. O. Babalola, and E. I. Unuabonah, “Regeneration strategies for spent solid matrices used in adsorption of organic pollutants from surface water: a critical review,” *Desalination Water Treat*, no. November 2014, pp. 37–41, 2014, doi: 10.1080/19443994.2014.967726.
- [7] H. T. Rahma, K. F. Mai, I. A. Ali, A. E. S. Shakinaz, and A. T. Maha, “Magnetite-based nanoparticles as an efficient hybrid heterogeneous adsorption/oxidation process for reactive textile dye removal from wastewater matrix,” *Int J Environ Anal Chem*, 2021, doi: 10.1080/03067319.2021.1896716.
- [8] V. K. Gupta and Suhas, “Application of low-cost adsorbents for dye removal - A review,” *J Environ Manage*, vol. 90, no. 8, pp. 2313–2342, 2009, doi: 10.1016/j.jenvman.2008.11.017.
- [9] I. Anastopoulos and I. Pashalidis, “Environmental applications of *Luffa cylindrica*-based adsorbents,” *J Mol Liq*, vol. 319, p. 114127, 2020, doi: 10.1016/j.molliq.2020.114127.

- [10] S. I. Mohammadabadi and V. Javanbakht, “Industrial Crops & Products Fabrication of dual cross-linked spherical treated waste biomass / alginate adsorbent and its potential for efficient removal of lead ions from aqueous solutions,” *Ind Crops Prod*, vol. 168, no. June 2020, p. 113575, 2021, doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113575.
- [11] R. Han, L. Zhang, C. Song, M. Zhang, H. Zhu, and L. Zhang, “Characterization of modified wheat straw , kinetic and equilibrium study about copper ion and methylene blue adsorption in batch mode,” *Carbohydr Polym*, vol. 79, no. 4, pp. 1140–1149, 2010, doi: 10.1016/j.carbpol.2009.10.054.
- [12] A. M. Elgarahy, K. Z. Elwakeel, S. H. Mohammad, and G. A. Elshoubaky, “A critical review of biosorption of dyes, heavy metals and metalloids from wastewater as an efficient and green process,” *Clean Eng Technol*, vol. 4, no. November 2020, p. 100209, 2021, doi: 10.1016/j.clet.2021.100209.
- [13] S. I. Siddiqui, B. Fatima, N. Tara, G. Rathi, and S. A. Chaudhry, *Recent advances in remediation of synthetic dyes from wastewaters using sustainable and low-cost adsorbents*. Elsevier Ltd., 2019. doi: 10.1016/b978-0-08-102491-1.00015-0.
- [14] S. A. Qamar, M. Ashiq, M. Jahangeer, A. Riasat, and M. Bilal, “Chitosan-based hybrid materials as adsorbents for textile dyes—A review,” *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 2, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.cscee.2020.100021.
- [15] R. Mansour, A. Abdelaziz, and A. Fatima Zohra, “Characterization of long lignocellulosic fibers extracted from *Hyphaene thebaica* L. leaves,” *Research Journal of Textile and Apparel*, vol. 22, no. 3, pp. 195–211, Oct. 2018, doi: 10.1108/RJTA-02-2018-0009.
- [16] H. Yang, R. Yan, H. Chen, D. H. Lee, and C. Zheng, “Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis,” *Fuel*, vol. 86, no. 12–13, pp. 1781–1788, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.fuel.2006.12.013.
- [17] X. Li, L. G. Tabil, and S. Panigrahi, “Chemical treatments of natural fiber for use in natural fiber-reinforced composites: A review,” *J Polym Environ*, vol. 15, no. 1, pp. 25–33, Jan. 2007, doi: 10.1007/s10924-006-0042-3.

- [18] S. Banerjee and M. C. Chattopadhyaya, “Adsorption characteristics for the removal of a toxic dye, tartrazine from aqueous solutions by a low cost agricultural by-product,” *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 10, pp. S1629–S1638, 2013, doi: 10.1016/j.arabjc.2013.06.005.
- [19] H. Yan *et al.*, “Sorption of methylene blue by carboxymethyl cellulose and reuse process in a secondary sorption,” *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 380, no. 1–3, pp. 143–151, 2011, doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.02.045.
- [20] X. Meng *et al.*, “Synthesis, characterization, and utilization of a lignin-based adsorbent for effective removal of azo dye from aqueous solution,” *ACS Omega*, vol. 5, pp. 2865–2877, 2020, doi: 10.1021/acsomega.9b03717.
- [21] S. Pirillo, M. L. Ferreira, and E. H. Rueda, “Adsorption of alizarin, Eriochrome blue black R, and fluorescein using different iron oxides as adsorbents,” *Ind Eng Chem Res*, vol. 46, no. 24, pp. 8255–8263, 2007, doi: 10.1021/ie0702476.
- [22] S. Pirillo, M. L. Ferreira, and E. H. Rueda, “The effect of pH in the adsorption of Alizarin and Eriochrome Blue Black R onto iron oxides,” *J Hazard Mater*, vol. 168, no. 1, pp. 168–178, 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.02.007.
- [23] S. Pirillo, V. Pedroni, E. Rueda, and M. L. Ferreira, “Elimination of dyes from aqueous solutions using iron oxides and chitosan as adsorbents. A comparative study,” *Quim Nova*, vol. 32, no. 5, pp. 1239–1244, 2009, doi: 10.1590/S0100-40422009000500030.
- [24] N. Landi *et al.*, “A haem-peroxidase from the seeds of *Araujia sericifera*: Characterization and use as bio-tool to remove phenol from aqueous solutions,” *Biocatal Agric Biotechnol*, vol. 20, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.bcab.2019.101215.
- [25] P. S. Mateos, M. B. Navas, S. R. Morcelle, C. Ruscitti, S. R. Matkovic, and L. E. Briand, “Insights in the biocatalyzed hydrolysis, esterification and transesterification of waste cooking oil with a vegetable lipase,” *Catal Today*, vol. 372, pp. 211–219, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.cattod.2020.09.027.
- [26] D. A. Sánchez, T. Gabriela, and M. L. Ferreira, “Estudio de la regioselectividad de la fracción insoluble en agua del látex de *Araujia sericifera*,” in *XXIII Congreso Argentino de Catálisis*, La Plata, Argentina, Mar. 2022.

- [27] S. B. Franceschini, C. P. Sendeski, K. D. DE LIMA, K. P. Nicolini, and J. Nicolini, “A ‘green’ adsorbent: effect of chemical modification of biosorbents on the adsorption of methylene blue and malachite green,” *An Acad Bras Cienc*, vol. 95, 2023, doi: 10.1590/0001-3765202320210124.
- [28] P. F. Santos, J. B. Neris, F. H. M. Luzardo, F. G. Velasco, M. S. Tokumoto, and R. S. Da Cruz, “Chemical modification of four lignocellulosic materials to improve the Pb²⁺ and Ni²⁺ ions adsorption in aqueous solutions,” *J Environ Chem Eng*, vol. 7, no. 5, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.jece.2019.103363.
- [29] A. dos Santos, A. R. Sotiles, and F. J. Anaissi, “Application of Corn Straw, an Agro-Waste, to Remove Dyes in an Aqueous Medium, Producing Blue or Red Fibers,” *Processes*, vol. 12, no. 4, Apr. 2024, doi: 10.3390/pr12040694.
- [30] L. An, C. Si, J. H. Bae, H. Jeong, and Y. S. Kim, “One-step silanization and amination of lignin and its adsorption of Congo red and Cu(II) ions in aqueous solution,” *Int J Biol Macromol*, vol. 159, pp. 222–230, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.072.
- [31] B. Dash and B. Das, “Adsorption of Pb(II) Ions from Aqueous Solutions Using a Low Grade Iron Ore as an Effective Adsorbent,” *Adsorption Science and Technology*, vol. 27, no. 5, 2009.
- [32] E. Voudrias, K. Fytianos, and E. Bozani, “Sorption-desorption isotherms of dyes from aqueous solutions and wastewaters with different sorbent materials,” *Global Nest: the Int. J.*, vol. 4, pp. 75–83, 2002.
- [33] A. Singh, B. Ranawat, and R. Meena, “Extraction and characterization of cellulose from halophytes: next generation source of cellulose fibre,” *SN Appl Sci*, vol. 1, no. 11, Nov. 2019, doi: 10.1007/s42452-019-1160-6.
- [34] S. Naduparambath, J. T.V., V. Shaniba, S. M.P., A. K. Balan, and E. Purushothaman, “Isolation and characterisation of cellulose nanocrystals from sago seed shells,” *Carbohydr Polym*, vol. 180, pp. 13–20, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.088.

- [35] M. S. Akindolie and H. J. Choi, “Acid modification of lignocellulosic derived material for dye and heavy metals removal: A review,” *Environmental Engineering Research*, vol. 28, no. 2, Apr. 2023, doi: 10.4491/eer.2021.574.
- [36] A. Lorenci Woiciechowski *et al.*, “Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances,” May 01, 2020, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.biortech.2020.122848.
- [37] S. M. Abegunde, K. S. Idowu, O. M. Adejuwon, and T. Adeyemi-Adejolu, “A review on the influence of chemical modification on the performance of adsorbents,” Sep. 01, 2020, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.resenv.2020.100001.
- [38] B. Bellich, I. D’Agostino, S. Semeraro, A. Gamini, and A. Cesàro, “‘The good, the bad and the ugly’ of chitosans,” May 01, 2016, *MDPI AG.* doi: 10.3390/md14050099.
- [39] N. Yan and X. Chen, “Don’t waste seafood waste,” *Nature*, vol. 524, pp. 155–157, 2015.
- [40] I. Junceda-Mena, E. García-Junceda, and J. Revuelta, “From the problem to the solution: Chitosan valorization cycle,” *Carbohydr Polym*, vol. 309, p. 120674, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.carbpol.2023.120674.
- [41] A. Holmgren, L. Wu, and W. Forsling, “Fourier transform infrared and Raman study of Alizarin Red S adsorbed at the fluorite-water interface,” 1999.
- [42] F. Gimbert, N. Morin-Crini, F. Renault, P. M. Badot, and G. Crini, “Adsorption isotherm models for dye removal by cationized starch-based material in a single component system: Error analysis,” *J Hazard Mater*, vol. 157, no. 1, pp. 34–46, Aug. 2008, doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.12.072.
- [43] E. Gallardo, S. Maioco, and N. Francois, “Remoción de un colorante básico por adsorción con Quitosano y con un material compuesto de Quitosano-Zeolita,” 2014. Accessed: May 26, 2025. [Online]. Available: <https://www.ina.gov.ar/ifrh-2014/Eje2/2.10.pdf>
- [44] Y. L. Pang, J. H. Tan, S. Lim, and W. C. Chong, “A state-of-the-art review on biowaste derived chitosan biomaterials for biosorption of organic dyes: Parameter

- studies, kinetics, isotherms and thermodynamics,” Sep. 01, 2021, *MDPI*. doi: 10.3390/polym13173009.
- [45] W. L. McCabe, J. C. Smith, and P. Harriot, “Chapter 25. Adsorption.,” in *Unit operations of chemical engineering. 5th edition.*, B. J. Clark and E. .Castellano, Eds., McGraw-Hill Book Co., 1993.
- [46] M. I. A. Abdel Maksoud, A. M. Elgarahy, C. Farrell, A. H. Al-Muhtaseb, D. W. Rooney, and A. I. Osman, “Insight on water remediation application using magnetic nanomaterials and biosorbents,” *Coord Chem Rev*, vol. 403, p. 213096, 2020, doi: 10.1016/j.ccr.2019.213096.
- [47] V. Vlaia, T. Olariu, C. Ciubotariu, M. Medeleanu, L. Vlaia, and D. Ciubotariu, “Molecular descriptors for quantitative structure-toxicity relationship (QSTR),” *REV. CHIM*, vol. 12, 2009, [Online]. Available: <http://www.revistadechimie.ro>
- [48] O. Sourina, J. Torres, and J. Wang, “Visual haptic-based biomolecular docking and its applications in E-Learning,” in *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, 2009, pp. 105–118. doi: 10.1007/978-3-642-03270-7_8.

PUBLICACIONES ASOCIADAS

Los resultados presentados en la Parte 2 de la tesis, que incluye los Capítulos VI, VII y VIII, se presentaron en el siguiente trabajo a congreso:

- Estudio exploratorio del uso de hematin soportado en esferas magnéticas de quitosano en la eliminación de Rojo de Alizarina S.

Autores: Rial, Juliana Belen; Ferreira, María Luján. Presentado en formato póster en el XXIII Congreso Argentino y XI Congreso Mercosur de Catálisis, llevado a cabo durante los días 15, 16 y 17 de noviembre de 2023 en la ciudad de Salta, Argentina.

PARTE 3

TRATAMIENTO EN ETAPAS

PROCESO DE OXIDACIÓN AVANZADA Y ADSORCIÓN

Capítulo IX

Decoloración de soluciones mediante oxidación avanzada seguida de adsorción

9.1. Introducción

Se ha abordado el estudio de la decoloración de RAS y NII en soluciones modelo individuales (Capítulo VI) y en soluciones mezcla de RAS/NII en sistema modelo y en matriz de efluente simulado (Capítulo VII) mediante un sistema tipo Fenton heterogéneo. Se utilizó un catalizador basado en HEM soportado en esferas magnéticas de QUIT en combinación con H_2O_2 como agente oxidante. Las remociones alcanzadas en la matriz de efluente simulado alcanzaron un máximo de 60,5 % en soluciones con RAS y NII 50 mg L^{-1} cada uno (pH 9,4 en buffer Tris-HCl; 30 °C; agitación 200 rpm; [catalizador] = 40,6 g L^{-1} ; 6 h).

Adicionalmente, se ha explorado la síntesis de un adsorbente basado en QUIT y biomasa, sin tratar, derivada del fruto de *Araujia sericifera* (B2m). Se encontró que con 14 g L^{-1} de adsorbente, se logran remociones del 100, 94,4, 89,0 y 84,1% para concentraciones de RAS correspondientes a 20, 50, 70 y 100 mg L^{-1} (pH 7 en buffer; 30 °C; 200 rpm en shaker). Respecto a NII, con 20 g L^{-1} de adsorbente se logró una remoción máxima de 43,7% (pH 6,7 en agua destilada; 30 °C; 200 rpm en shaker). Aumentos en la concentración del colorante azoico a 50 y 100 mg L^{-1} , condujeron a remociones de 36,9 y 29,7%, respectivamente.

Es claro que el tratamiento de efluentes textiles implica la remoción de sustancias altamente recalcitrantes, por lo que en ocasiones los procesos por separado pueden no ser eficientes. Por lo tanto, una estrategia adecuada es combinar operaciones (en este caso, un POA con un proceso de adsorción) con el fin de producir sistemas de tratamiento que sean eficientes y viables en términos técnicos y económicos [1].

Bello y Raman (2019) publicaron una revisión sobre la aplicación de POAs y de adsorción combinados para la eliminación de contaminantes recalcitrantes en agua [2]. Llegaron a la conclusión de que algunas de las ventajas de integrar la adsorción con POAs son un mayor rendimiento, un menor tiempo de tratamiento y la posibilidad de regeneración de los adsorbentes usados. La combinación de procesos de adsorción y de oxidación avanzada podría emplearse con dos objetivos diferentes: utilizar material con doble función (adsorbente y catalizador en sistema Fenton o tipo Fenton heterogéneo) o aplicar dos sistemas en secuencia (reacción Fenton o tipo Fenton heterogénea seguida de adsorción).

Existen reportes de catalizadores que pueden actuar como adsorbentes y como catalizadores heterogéneos. Por ejemplo, Li et al. (2017) emplearon un compuesto de MAG/CeO₂ para eliminar el colorante azul de metileno [3]. En este caso, el compuesto cumple una doble función, como adsorbente y catalizador tipo Fenton en presencia de H₂O₂. El CeO₂ presentó abundantes vacantes de Ce³⁺ lo que le confiere una gran capacidad de adsorción. Y, al mismo tiempo, el Fe²⁺ y el Ce⁴⁺ generan un efecto sinérgico que potencia la actividad catalítica. Sin adición de H₂O₂, la eficiencia en la eliminación fue menor, mientras que con la adición de H₂O₂, la eliminación del colorante fue mejorada.

La adsorción puede utilizarse como un proceso integrado a la oxidación mediada por un POA, ya sea oxidación tipo Fenton o por radicales sulfato, como complemento. Por ejemplo, Chen et al. (2019) utilizaron nanocompuestos de carbono activado/CoFe₂O₄ como catalizadores del persulfato ácido de potasio para degradar el azul de metileno [4]. En este caso, el CoFe₂O₄ actuó como catalizador en la generación de radicales sulfato, mientras que el carbón activado cumplió el papel de adsorbente creando un efecto sinérgico en la eliminación del colorante. Además, Lu et al. (2019) prepararon un catalizador compuesto HKUST-1 (*metal organic frameworks*), MAG y microfibrillas de celulosa (CMF) [5]. Tanto las CMF como el HKUST-1 actuaron como adsorbentes, mientras que la reacción tipo Fenton fue catalizada por MAG. Cuando se utilizó MAG en presencia de H₂O₂, sólo se eliminó un 25% de azul de metileno, mientras que al utilizar MAG/CMF y MAG/HKUST-1 se alcanzó un 50% y un 67% de remoción, respectivamente. Cuando se utilizó el compuesto Fe₃O₄/CMF/HKUST-1, la eficacia en la eliminación del colorante aumentó hasta el 98%, lo que indica un efecto sinérgico entre

la adsorción y la reacción tipo Fenton. El problema de estos enfoques es que se añade un contaminante potencial (como la sal de persulfato).

Hasta aquí se presentan reportes de la aplicación integrada de POAs y procesos de adsorción. Sin embargo, resulta interesante la combinación de estos procesos en serie, con el fin de lograr remociones mejoradas de los colorantes presentes en solución. De este modo, el objetivo de este capítulo fue aplicar en serie los tratamientos estudiados. Se incluye una Etapa I, reacción de oxidación avanzada (utilizando esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM y H₂O₂ como agente oxidante en un sistema Fenton heterogéneo) y Etapa II, adsorción (utilizando esferas de QUIT/B2m) para la remoción de los colorantes RAS y NII en solución.

9.2. Materiales y métodos

9.2.1. Reactivos

RAS y NII fueron comprados en Biopack (Buenos Aires, Argentina). Los componentes de la matriz de efluente simulado se reportan en el Capítulo VII, Sección 7.2.1. El agua destilada utilizada fue preparada en el destilador del laboratorio de Catálisis.

9.2.2. Decoloración de soluciones RAS/NII en sistema modelo y en matriz de efluente simulado

Se definieron cuatro tipos de soluciones (en agua destilada) a tratar, que se identificaron como:

- MOD: solución de RAS/NII (50 mg L⁻¹ cada uno) en sistema modelo.
- MEF: solución de RAS/NII (50 mg L⁻¹ cada uno) en matriz de efluente simulado.
- RAS: 50 mg L⁻¹ de RAS en sistema modelo.
- NII: 50 mg L⁻¹ de NII en sistema modelo.

La Tabla 9.1 esquematiza las reacciones que se llevaron a cabo. Las soluciones iniciales, identificadas con un subíndice 0 se trataron con el catalizador QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM y H₂O₂ (Etapa I). Luego, estas soluciones fueron luego tratadas por adsorción utilizando esferas de QUIT/B2m (Etapa II).

Tabla 9.1 – Identificación de las soluciones iniciales, a tratar en cada etapa y las finales luego de ambas etapas de tratamiento.

Solución inicial		Post reacción		Post adsorción
MOD ₀	Etapa I Oxidación avanzada	MOD _{RX}	Etapa II Adsorción	MOD _{ADS}
MEF ₀		MEF _{RX}		MEF _{ADS}
RAS ₀		RAS _{RX}		RAS _{ADS}
NII ₀		NII _{RX}		NII _{ADS}

Nota: MEF refiere a la matriz de efluente simulado; MOD refiere al sistema sin la matriz de efluente simulado.

9.2.2.1. Etapa I: Oxidación con catalizador y peróxido de hidrógeno

En función de los resultados obtenidos en el Capítulo VII se establecieron las siguientes condiciones de reacción: $[NII] = 50 \text{ mg L}^{-1}$; $[RAS] = 50 \text{ mg L}^{-1}$; $[H_2O_2] = 2,75 \text{ mM}$; $[\text{catalizador}] = 40,6 \text{ g L}^{-1}$; 200 rpm en shaker; 30 °C; volumen de reacción 8 mL; 6 h. En las soluciones que incluyen la matriz de efluente simulado, las concentraciones de cada uno de los componentes fueron las mismas reportadas en el Capítulo VII. Las reacciones se realizaron en agua destilada, sin control de pH (con un pH inicial 6-7). Esto se definió considerando que los sistemas bajo estudio podrían formar parte de un tratamiento terciario, por lo que los efluentes a tratar tendrían pH cercano a la neutralidad debido a los tratamientos previos. De este modo, se simula de manera adecuada las condiciones esperadas en un sistema de tratamiento real.

Se prepararon soluciones stock de los colorantes en agua destilada en concentración igual a 200 mg L^{-1} . Las concentraciones se verificaron por espectroscopía UV-Vis utilizando las curvas de calibrado reportadas en Capítulo 3 para cada colorante en agua destilada (RAS, $y = 0,0120x - 0,0013$ con $R^2 = 0,9996$; y NII, $y = 0,0569x + 0,0122$ con $R^2 = 0,9995$). Las soluciones stock de H_2O_2 160 mM se titularon por permanganometría.

Inicialmente, se prepararon 10 mL de cada solución inicial, de los cuales 2 mL se destinaron al análisis por espectroscopía UV-Vis. Los 8 mL restantes se utilizaron en reacción. Los 10 mL iniciales están conformados por 2,5 mL de RAS 200 mg L^{-1} ; 2,5 mL de NII 200 mg L^{-1} ; 2,5 mL de la matriz concentrada de efluente simulado; 0,2 mL de H_2O_2 160 mM; y agua destilada hasta alcanzar volumen final. En el volumen de reacción, los componentes de la matriz de efluente simulado tuvieron las concentraciones reportadas en el Capítulo VII. El catalizador se colocó en un vial de vidrio y el agregado de la solución inicial dio inicio a la reacción.

Al finalizar la reacción, las soluciones se almacenaron en heladera toda la noche hasta el tratamiento por adsorción.

Se calculó la variación de la absorbancia en el pico principal de los espectros de RAS, NII y RAS/NII que corresponden a 511, 484 y 488 nm, respectivamente (Ecuación 9.1).

Ecuación 9.1 – Cálculo de la variación de absorbancia luego de la reacción de oxidación.

$$\Delta\text{Abs} = \frac{\text{Abs}_0 - \text{Abs}_{6\text{h oxidación}}}{\text{Abs}_0} \times 100$$

9.2.2.2. Etapa II: Adsorción sobre QUIT/B2m

Las adsorciones se realizaron con una concentración de adsorbente de 20 g L⁻¹, temperatura de 30 °C, 200 rpm en shaker y tiempo final de 3 h.

Se colocó el adsorbente húmedo en un vial de vidrio y luego se añadieron 5 mL de las soluciones, previamente tratadas por el sistema tipo Fenton heterogéneo, dando inicio a la adsorción.

Se calculó la variación de la absorbancia en el pico principal de los espectros de RAS, NII y RAS/NII que corresponden a 511, 484 y 488 nm, respectivamente (Ecuación 9.2) respecto a solución tratada por oxidación en Etapa I.

Ecuación 9.2 – Cálculo de la variación de absorbancia luego de la reacción de oxidación.

$$\Delta\text{Abs} = \frac{\text{Abs}_{6\text{h oxidación}} - \text{Abs}_{3\text{h adsorción}}}{\text{Abs}_{6\text{h oxidación}}} \times 100$$

9.2.3. Caracterización

Las soluciones iniciales, post tratamiento en Etapa I y post tratamiento en Etapa II fueron caracterizadas en términos de conductividad, DQO y COT. Las determinaciones de DQO y COT se realizaron en las muestras MOD₀, MOD_{rx}, MOD_{ADS}, MEF₀, MEF_{rx}, MEF_{ADS}.

El estudio del sistema catalítico aplicado en remoción de RAS y NII, tanto en soluciones modelo como en matriz de efluente simulado (Capítulos VI y VII), se realizó a pH 9,4 en buffer Tris-HCl. Es importante considerar que la presencia del Tris en el medio de reacción interfiere en las determinaciones de COT y DQO debido a que contiene carbono en su estructura, (HOCH₂)₃CNH₂. Esta fue una razón adicional para realizar las reacciones utilizando agua destilada como disolvente.

9.3. Resultados

En el Capítulo VII se estudió la aplicación del sistema catalítico en un medio a pH 9,4 utilizando buffer Tris-HCl. El uso del buffer Tris-HCl es adecuado para análisis por espectroscopía UV-Vis dado que no absorbe en longitudes de onda correspondientes a 190-900 nm. Controlar el pH de la reacción con buffer tiene sentido al estudiar y caracterizar el sistema. Sin embargo, la composición orgánica del buffer aporta interferencias al momento de caracterizar las soluciones mediante DQO y COT. Además, desde el punto de vista de la aplicación real, resultó interesante evaluar la performance del sistema en agua.

La Tabla 9.2 presenta los resultados de la Etapa I: reacción de oxidación aplicando HEM soportado sobre esferas magnéticas de QUIT y H₂O₂ como agente oxidante; mientras que la Tabla 9.3 muestra los resultados de la Etapa II: adsorción QUIT/B2m.

Tabla 9.2 – Resultados de Etapa 1: reacción de oxidación mediante sistema Fenton heterogéneo ([NII] = 50 mg L⁻¹; [RAS] = 50 mg L⁻¹; [H₂O₂] = 2,75 mM; [catalizador] = 40,6 g L⁻¹; 200 rpm en shaker; T = 30 °C; volumen de reacción 8 mL).

Ensayo	Longitud de onda (nm)	Abs inicial	Abs rx (6h)	Variación de Abs	Reacción Δ abs (%)
MOD _{rx}	488 nm	0,362	0,225	0,137	37,8
MEF _{rx}	488 nm	0,367	0,17	0,197	53,2±0,6
RAS _{rx}	511 nm	0,073	0,009	0,064	87,7
NII _{rx}	484 nm	0,304	0,152	0,152	50,0

Tabla 9.3 – Resultados de Etapa 2: adsorción sobre QUIT/B2m (solución tratada en etapa I, 20 g L⁻¹, 30 °C, 200 rpm en shaker y tiempo final de 3 h).

Ensayo	Longitud de onda (nm)	Abs _{rx}	Abs _{ads} (3h)	Variación de Abs	Adsorción Δ abs ¹ (%)
MOD _{ADS}	488 nm	0,225	0,143	0,082	60,5
MEF _{ADS}	488 nm	0,170	0,10	0,074	73,4±2,9
RAS _{ADS}	511 nm	0,009	0,006	0,003	91,8
NII _{ADS}	484 nm	0,152	0,107	0,045	64,8

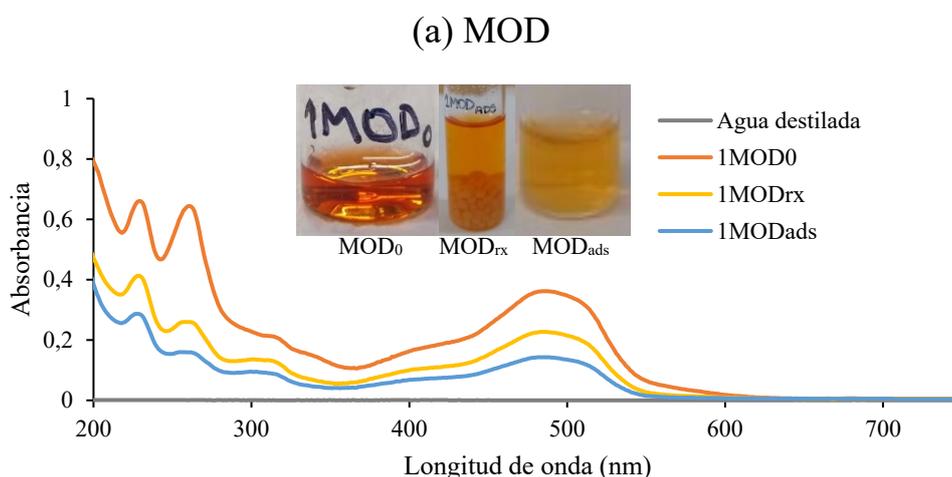
Nota: ¹ La variación de absorbancia (Δ abs) está calculado respecto a la absorbancia inicial de las soluciones, previo al tratamiento en la Etapa 1.

Se obtuvo que, respecto a los resultados previos, ocurre una disminución considerable de la remoción de los colorantes en agua (37,8%) respecto a la decoloración lograda en buffer Tris-HCl (62,7% a pH 9,4) cuando el sistema es modelo (sin la matriz

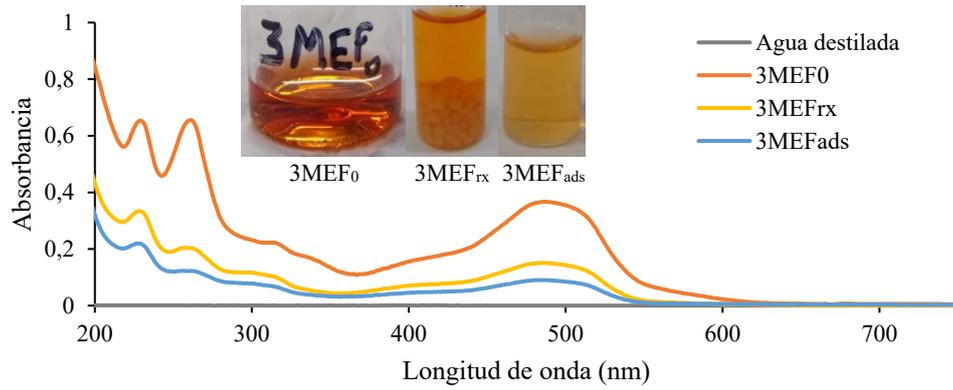
de efluente simulado). Esto permite inferir que el buffer tiene algún tipo de rol en la reacción de remoción de los colorantes. Sin embargo, cuando se observan los resultados de remoción en soluciones con matriz de efluente simulado en agua (53,2%) pareciera existir algún efecto compensatorio de la ausencia de Tris debido a la presencia de la matriz de efluente simulado. Entre los componentes, se encuentran especies de hierro en solución, que podrían estar cumpliendo un papel importante como sistema Fenton homogéneo (soluble).

La aplicación del sistema catalítico sobre los colorantes en soluciones individuales y en sistemas modelo condujo a remociones del 87,7 y 50,0% para RAS y NII, respectivamente. NII es recalcitrante respecto a RAS para el sistema bajo estudio.

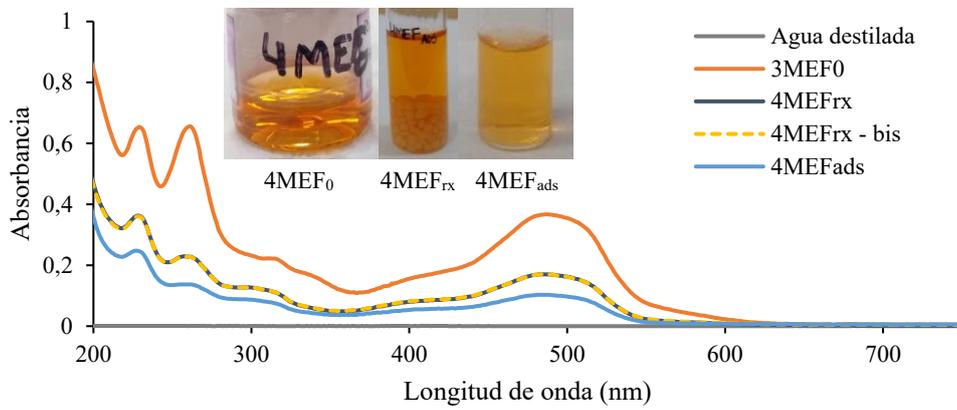
La Figura 9.1 presenta los espectros de absorción UV-Vis (200-750 nm) y el registro fotográfico de las soluciones iniciales, luego de reacción y luego de adsorción de cada reacción realizada. Se puede observar la visible decoloración de las soluciones, particularmente la de RAS en sistema modelo. La Tabla 9.4 presenta un resumen de los porcentajes de reducción de absorbancia y los valores de conductividad y pH en cada instancia de tratamiento. Los porcentajes de variación de absorbancia se reportan respecto al valor inicial, previo al tratamiento por Etapas 1 y 2. En todos los casos la conductividad disminuye luego de cada proceso (oxidación y adsorción) respecto al inicial.



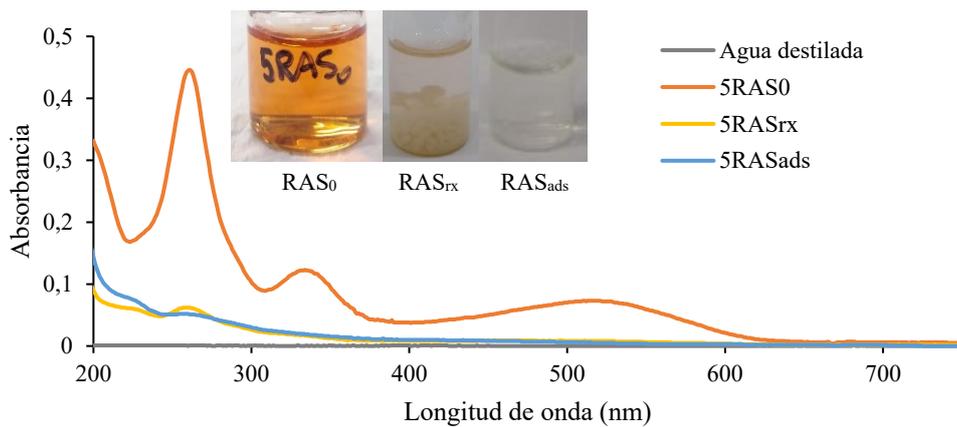
(b) MEF



(c) MEF



(d) RAS



(e) NII

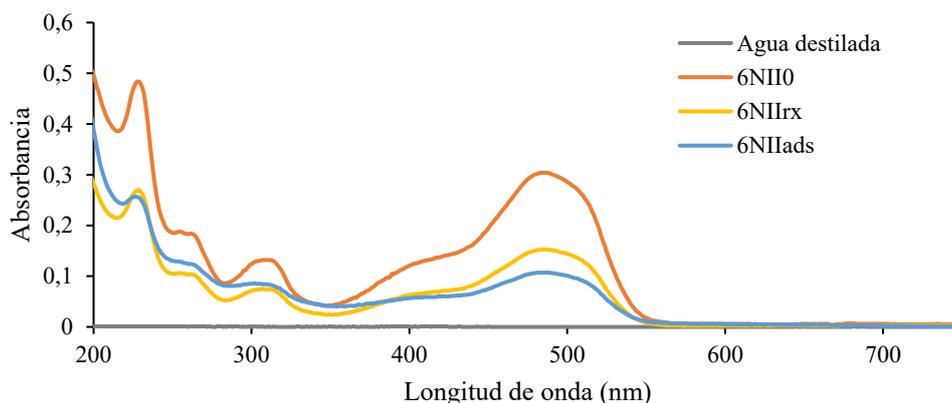


Figura 9.1 – Espectros UV-Vis (200-750 nm) y registro fotográfico de soluciones iniciales (0), luego de reacción (rx) y luego de adsorción (ads) para (a) mezcla de colorantes (50 mg L⁻¹ de RAS y 50 mg L⁻¹ de NII) en sistema modelo (1MOD); (b) y (c) mezcla de colorantes (50 mg L⁻¹ de RAS y 50 mg L⁻¹ de NII) en matriz de efluente simulado (3MEF y 4MEF); (d) solución individual de RAS (50 mg L⁻¹) en sistema modelo; (e) solución individual de NII (50 mg L⁻¹) en sistema modelo.

Tabla 9.4 – Resumen de resultados de reducción de absorbancia en Etapa 1: oxidación y Etapa 2: adsorción; y valores de conductividad y pH iniciales y luego de cada una de las etapas aplicadas.

Reacción (RX) + adsorción (ADS)	Etapa I: oxidación Δabs (%)	Etapa II: adsorción Δabs (%)	Conductividad (μS cm ⁻¹)			pH		
			Inicial	RX	ADS	inicial	RX	ADS
MOD 488 nm	37,8	60,5	500	400	220	6	7	7
MEF 488 nm	53,2±0,6	73,4±2,9	800	660	260	6	7	7
RAS 511 nm	87,7	91,8	-	-	-	6	7	7
NII 484 nm	50,0	64,8	-	-	-	6	7	7

Nota: La conductividad fue medida a 25 ± 1 °C (se controló temperatura con termómetro).

En la Tabla 9.5 se muestran los resultados de DQO y COT obtenidos para las muestras MOD y MEF iniciales, post reacción de oxidación y post adsorción. La DQO, el COT y la DBO son parámetros ampliamente utilizados para la caracterización de los efluentes y ofrecen un panorama integral de la calidad de los tratamientos aplicados [6].

En la literatura se encuentran reportadas correlaciones, obtenidas por análisis de regresión, entre DBO, DQO y COT [7], [8]. Para aguas residuales que ingresan a una planta de tratamiento se plantea la relación $DQO = (3,00 \times COT) + 49,2$. Por otro lado,

para efluentes tratados aplica la relación $DQO = (2,99 \times COT) + 7,25$ [7]. Los resultados obtenidos de DQO y COT en el presente trabajo, se ajustaron a la correlación definida para efluentes tratados, con diferencias menores al 2,6%. Se infiere que los datos obtenidos son confiables. Este ajuste a la correlación tiene sentido, dado que las soluciones utilizadas como iniciales en todas las reacciones estudiadas simulan un efluente que ha pasado, a priori, por operaciones unitarias primarias en una planta de tratamiento de efluentes.

En la Etapa I del tratamiento se encontraron reducciones considerables de la DQO (84,6% en MEF y 79,2% en MOD) y del COT (84,6% en MEF y 62,5% en MOD), acompañadas de disminuciones en la conductividad (17,5% en MEF y 20% en MOD), mientras que en la etapa II del tratamiento se observaron aumentos significativos tanto de la DQO como de COT. Los valores de DQO y COT se ajustan a la correlación entre ellos y, como son similares en todas las muestras, se infiere que provienen de un mismo aporte.

El incremento de los valores de DQO y COT se asocian a la ruptura/disolución del adsorbente. Aunque no se encontró evidencias de disolución por espectroscopía UV-Vis, la determinación de COT y DQO fue clave para evidenciar la fragilidad del adsorbente. El mismo fue aplicado en estado húmedo y sin entrecruzamiento, debido a la pérdida en su capacidad de adsorción de RAS y NII en estado seco y con TPP como agente entrecruzante. Durante la agitación en shaker se produce el impacto entre las esferas húmedas de QUIT/B2m, lo cual podría ocasionar la disolución parcial del mismo. Este es un inconveniente, dado que imposibilita la recuperación del sólido del medio de reacción. Aún es necesario incrementar la resistencia del sólido adsorbente.

Tabla 9.5 – Resultados de DQO y COT para las muestras MOD y MEF iniciales, post reacción y post adsorción.

Reacción (RX) + adsorción (ADS)	DQO (mg L ⁻¹)			COT (mg L ⁻¹)		
	Inicial	RX	ADS	Inicial	RX	ADS
MOD	240	50	2120	80	30	700
MEF	780	120	1900	260	40	630

Sin embargo, considerando las remociones alcanzadas en la etapa I, en términos de absorbancia UV-Vis, conductividad, DQO y COT; la etapa II de tratamiento para las soluciones estudiadas podría no ser necesaria. Con la etapa I, las soluciones tratadas cumplen con los valores máximos admisibles de DQO para el vertido en colectora cloacal, conducto pluvial o cuerpo de agua superficial, absorción por el suelo o mar abierto, regulados en la Resolución 336/03 (Tabla 9.6). No obstante, para el vertido de efluentes tratados se debe cumplir con todos los parámetros reportados en la normativa. Es necesario además, explorar la toxicidad de los efluentes tratados.

Tabla 9.6 – Valores de pH, DQO y COT máximos admisibles para el vertido de efluentes regulados en el Anexo II de la Resolución N° 336/03: Parámetros de calidad de las descargas límite admisibles.

Parámetro	Unidad	Colectora cloacal	Conducto pluvial o cuerpo de agua superficial	Absorción por el suelo	Mar abierto
pH	upH	7,0-10	6,5-10	6,5-10	6,5-10
DQO	mg L ⁻¹	≤700	≤250	≤500	≤500
COT	mg L ⁻¹	NE	NE	NE	NE

Nota: En “Absorción por el suelo” deben comprenderse solamente a las lagunas facultativas y riego por aspersión.

Las esferas de QUIT/B2m han demostrado tener problemas de estabilidad en solución acuosa según los datos de DQO y COT, lo cual es un problema a resolver, tanto para la etapa de adsorción en sí como para su potencial regeneración y reutilización. Considerando el análisis del Capítulo VIII y la evaluación de los resultados obtenidos utilizando QUIT/B2m como adsorbente post etapa de oxidación, surge la posibilidad de utilizar el sólido como estructura de base para luego complejizar y optimizar la composición con el fin de lograr una alta remoción de colorantes con un material estable.

En un artículo de revisión reciente, Grigoras et al. (2024) reporta la aplicación de adsorbentes basados en óxidos combinados con grafenos y otros polímeros, resultando en materiales con muy altos porcentajes de remoción (entre el 54 y el 100%) dependiendo de las condiciones específicas [9]. En las conclusiones se explicita que para aumentar la capacidad de adsorción, se recomienda modificar la estructura de los hidrogeles agregando nuevos componentes, como combinaciones de arcillas y óxidos metálicos. Estos aditivos podrían mejorar la estabilidad del adsorbente.

No obstante, debe pensarse la adsorción como una instancia adicional y no única, dado que existe un inconveniente relevante asociado con esta aproximación, los contaminantes estarían moviéndose de una matriz acuosa a una sólida, sin cambiar su estructura química o toxicidad. Además, aún cuando la adsorción de colorantes antraquinónicos estructuralmente intactos es alta, la de colorantes azoicos no lo es.

Por otro lado, es importante comparar las concentraciones necesarias de adsorbente y catalizador para lograr remociones similares de NII. Para remover 43,7% y 44,0%, se requirieron 20 g L⁻¹ de esferas QUIT/B2m en un proceso de adsorción ([NII] = 20 mg L⁻¹; 3 h; pH 6-7 en agua destilada; 30 °C; 200 rpm shaker) y no más de 6 g L⁻¹ de esferas QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM en un proceso de oxidación avanzada ([H₂O₂] = 5 mM; [NII] = 100 mg L⁻¹; 6 h; pH 9,4 buffer Tris-HCl; 30 °C; 300-400 rpm), respectivamente. Es importante tomar en consideración en este punto, que el catalizador presenta como ventaja adicional la posibilidad de reutilización.

Como se ha visto en el Capítulo VIII, revisiones recientes alientan el estudio de la aplicación de sistemas a base de QUIT en efluentes complejos. Considerando que se emplearon 50 mg L⁻¹ de cada colorante para la Etapa 1, es destacable que en la segunda etapa se logró para MOD y MEF (soluciones mezcla de RAS/NII) un cambio de absorbancia del orden del 20 al 23%, del orden de 5% para RAS y cerca del 15% para NII. Esta tendencia muestra cómo el comportamiento es diferente para cada tipo de solución.

En la Etapa I se muestra el impacto de la composición del efluente simulado (MEF), con casi 16% más de cambio de absorbancia respecto al efluente modelo (MOD). Es importante tener en cuenta que la distribución de radicales generados por los colorantes y la distribución de especies generadas por la interacción del H₂O₂ con el sistema multicatalítico son diferentes en los 4 casos (MOD, MEF, RAS y NII). Existe una contribución potencial importante de los carbonatos/especies iónicas presentes en el efluente simulado (como Fe²⁺) que impactan en la generación de radicales y, por ende, en la degradación de los colorantes.

Al analizar los resultados de la Etapa I en soluciones mezcla de RAS/NII en sistema modelo (MOD) y en las soluciones con los colorantes por separado (RAS y NII) también en sistema modelo, es evidente que en soluciones mezcla, el sistema no responde de forma aditiva respecto a la degradación de los colorantes por separado. Se debe tener en cuenta

que el proceso involucra adsorción y reacción y, por lo tanto, en el sistema MOD podría ocurrir la adsorción mixta sobre la superficie ($40,6 \text{ g L}^{-1}$) de ambos colorantes (50 mg L^{-1} cada uno). Esto puede disminuir la transferencia de masa del H_2O_2 a la superficie de MAG para la generación de radicales en forma adicional al sistema HEM/ H_2O_2 .

Del análisis de los resultados, el cambio de absorbancia total luego de la etapa II es de casi 61% para MOD y casi 65% para NII. Se podría sugerir, en función de todos los resultados obtenidos, que el sistema remueve mayoritariamente RAS.

Los datos iniciales de DQO de MOD y MEF reflejan las composiciones diferentes. La reducción de DQO y COT es sustancialmente mayor para MEF que para MOD luego de la Etapa I. En términos absolutos, la DQO disminuye 660 mg L^{-1} y 190 mg L^{-1} para MEF y para MOD, respectivamente; mientras que disminuye 220 mg L^{-1} y 50 mg L^{-1} de COT para MEF y para MOD, respectivamente.

Los resultados de conductividad mostraron reducciones importantes tanto para MOD como para MEF luego de la adsorción (Etapa II). Se alcanzó una disminución del 55 % de la conductividad al final de la etapa I para MOD y del 39,4 % para MEF. Para el proceso completo, la conductividad tuvo una disminución total (calculada como $[(\mu\text{S}/\text{cm}_{\text{inicial}} - \mu\text{S}/\text{cm}_{\text{final}}) / \mu\text{S}/\text{cm}_{\text{inicial}}] \times 100$) del 56 % para MOD y del 67,5% para MEF. Estos resultados muestran que potencialmente QUIT-B2m adsorbe iones de la composición inicial del efluente simulado. En función de lo expuesto y teniendo en cuenta que los espectros de absorción UV-Vis muestran disminución de las bandas de los colorantes en solución luego de la Etapa II, es coherente asignar el incremento del DQO y de COT a la solubilidad parcial del QUIT.

9.4. Análisis integrado considerando trabajos previos.

La investigación sobre la eliminación de colorantes comenzó en el grupo de Catálisis en el 2000. Desde entonces, durante casi 25 años, se ha generado un gran volumen de conocimiento que se condensa en dos tesis doctorales, producciones científicas y diversos trabajos en colaboración. Esta tesis es el paso siguiente en lo aprendido, con la mirada en la potencial aplicación, focalizando esfuerzos en la síntesis y la caracterización de un material multicatalítico y su aplicación como parte de un sistema de tratamiento de soluciones coloreadas en dos etapas. Es pertinente mencionar algunos de los hallazgos previos y discutirlos en función de los resultados aquí presentados.

El primer antecedente es la tesis de la Dra. Pirillo (2011) [10], en la cual se abordó la adsorción de colorantes sobre óxidos de Fe y QUIT, así como la actividad de la enzima HRP en comparación con HEM.

En este contexto, se analizarán algunos de sus resultados empleando alizarina como colorante modelo. Este colorante presenta una estructura molecular similar a RAS, pero en ausencia del grupo sulfónico (Figura 9.2).

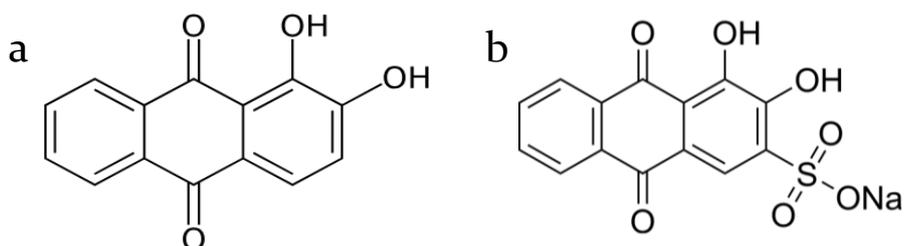


Figura 9.2 – Estructura molecular de (a) alizarina y (b) RAS.

MAG, obtenida por coprecipitación alcalina en la tesis de Pirillo, presentó carga negativa a pH superior a 6,7, mientras que el catalizador sintetizado en la presente tesis mostró un PZC de 7,9. Esto podría asignarse al impacto combinado del QUIT, TPP, APTS y HEM. Pirillo reporta que MAG pura presentó una densidad de sitios de 2,7 por nm² y un área superficial del orden de 42 m² g⁻¹. Alizarina mostró un coeficiente de absortividad del orden de 0,0309 L mg⁻¹. Para el sistema de adsorción de alizarina sobre MAG, los valores de los parámetros de la isoterma de adsorción de Langmuir fueron $K_L=0,01657$ y $Q_{\text{máx}} = 66.3 \text{ mg g}^{-1}$, siendo el modelo de Langmuir favorable frente al de Freundlich. En términos de remoción, el porcentaje alcanzó el 50% en el rango de 10 a 60 mg colorante por g de óxido. Por último, MAG, a 4 g L⁻¹, mostró una adsorción del 90% para 75 mg colorante L⁻¹ en un amplio rango de pH (2 a 10). La Figura 9.3 ilustra la distribución de especies según el pH en la superficie de MAG.

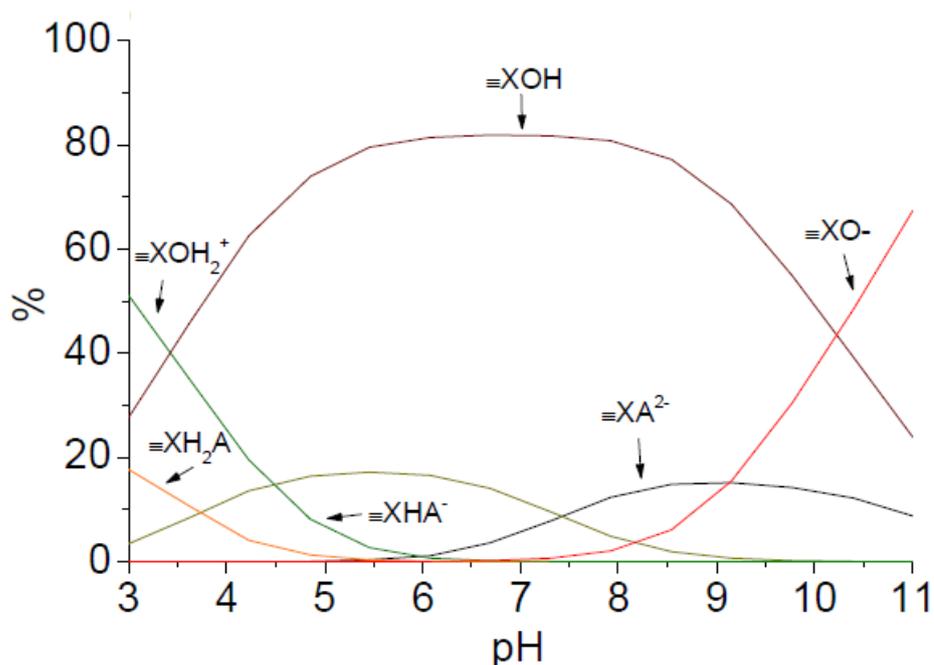


Figura 9.3 – Complejos superficiales en MAG en función del pH, con concentración de sitios superficiales de $7,5 \times 10^{-4}$ M. Figura tomada de [10].

En el caso del QUIT sólido, en forma de hojuelas, una gran cantidad de sitios activos permanecen no disponibles para la adsorción del colorante en medio ácido y alcalino. En la tesis de Pirillo se encontró que las mejores condiciones de adsorción se producen en un medio neutro, lo cual puede explicarse por la carga superficial y la naturaleza policatiónica del biopolímero. A pH 5, se presentaron aglomeraciones parciales debido a protonación de los grupos amino, lo que reduce la disponibilidad de sitios activos. Por otro lado, a pH 9, la ausencia de grupos amino protonados generó repulsión electrostática con las cargas negativas de los colorantes, limitando la interacción. Esto explica el comportamiento, aparentemente anómalo, observado en la adsorción de alizarina en función del pH. En contraste, para los óxidos de hierro, la mayor remoción de colorante se produjo a pH ácidos, donde la carga superficial positiva favorece la interacción.

Al comparar el efecto del pH en la adsorción de alizarina en QUIT, MAG y otros óxidos de hierro, se observó que, a pH 7, MAG adsorbía 0,07 mmol alizarina por g, mientras que QUIT adsorbía 16,33 mmol por g. Además, a pH 5 y 9, la adsorción en QUIT alcanzaba 3,86 mmol por g frente a 0,06 mmol por g en MAG. En estos ensayos, QUIT se utilizó en forma de hojuelas, lo que provocó una pérdida parcial de material debido a la solubilidad de la fracción de bajo peso molecular en el medio acuoso. A partir de estos resultados, se concluyó que “el área BET de los adsorbentes (QUIT y óxidos de

hierro) no tiene relación con la capacidad de adsorción de los colorantes seleccionados, debido a que el área BET del QUIT es un orden de magnitud inferior a la de los óxidos de hierro”. Estos hallazgos, y lo encontrado en cuanto al colapso de la estructura interna del catalizador en la etapa de secado, motivaron para la presente tesis la elección de métodos de caracterización alternativos, cuyos resultados sean correlacionables con el comportamiento de los sólidos (catalizador y adsorbente).

Cuando se analizó la capacidad de adsorción de alizarina y azul negro de eriocromo R en la tesis de Pirillo, se encontró que QUIT presentó mayor capacidad de adsorción del colorante antraquinónico respecto al azoico. Estos mismos resultados se encontraron en la presente tesis. Esta diferencia en la capacidad de adsorción puede atribuirse a las diferencias estructurales y electrostáticas entre ambos tipos de colorantes. QUIT podría presentar una mayor afinidad por colorantes con estructuras planas debido a interacciones π - π y fuerzas de van der Waals.

En la misma tesis se presentó, en forma comparativa, la actividad de HRP frente a HEM, en las condiciones adecuadas para cada catalizador (Figura 9.4). HEM fue más activo en la remoción de alizarina al comparar con las remociones alcanzadas para el azul negro de eriocromo R. La remoción máxima de alizarina se alcanzó para una concentración del colorante de 50 mg L^{-1} , bajo las condiciones ensayadas.

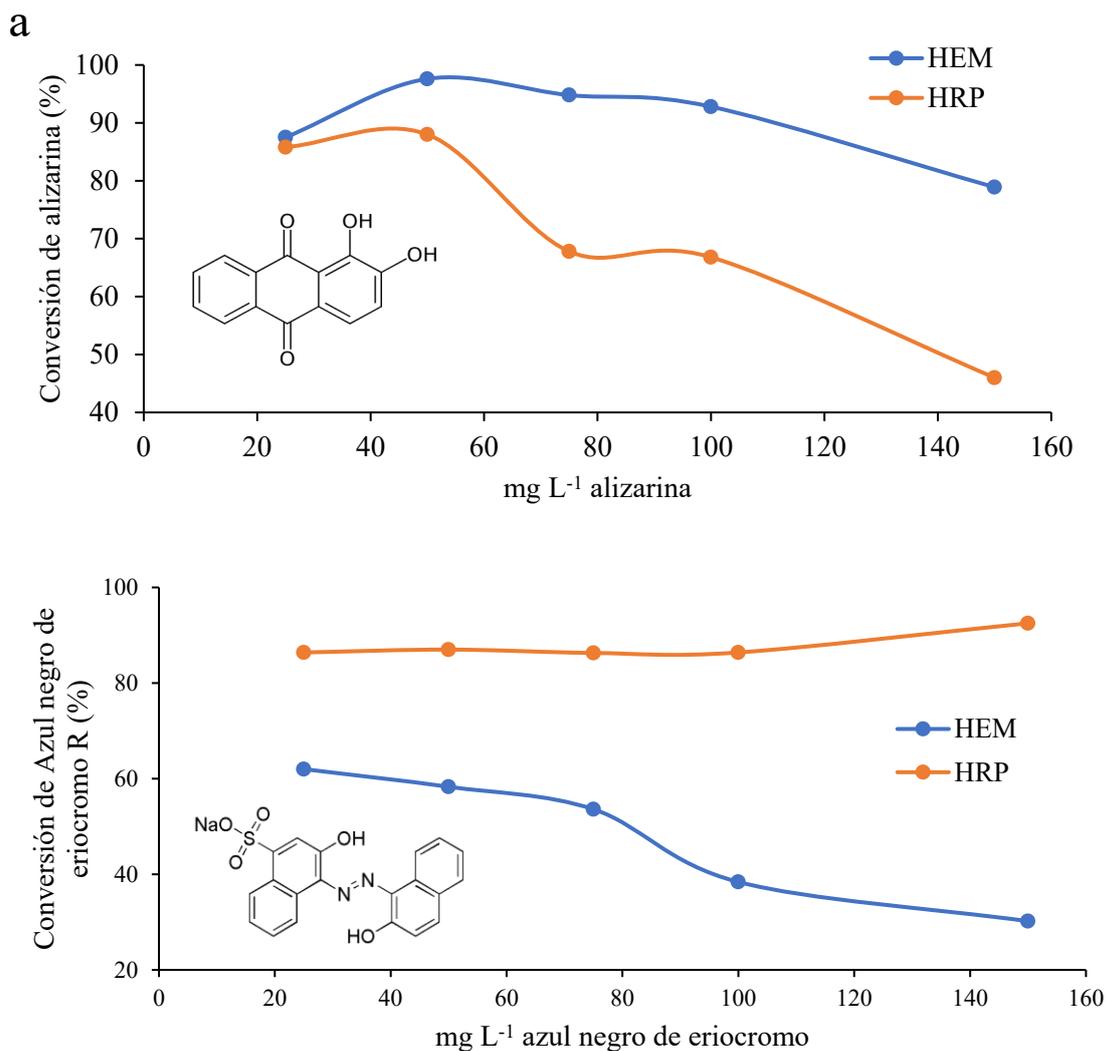


Figura 9.4 - Porcentaje removido de (a) alizarina y (b) azul negro de eriocromo por HEM y HRP para diferentes concentraciones iniciales de colorante a pH 7, [H₂O₂] = 0,021 M y 25 °C, HEM 25 mg L⁻¹, HRP 10 mg L⁻¹ y [H₂O₂] 8,6 x 10⁻³ M. Gráficas obtenidas de [10].

En el análisis del reúso, se comparó QUIT modificado con GA como adsorbente y HRP y HEM soportados en QUIT-GA como catalizadores en sistemas con H₂O₂ como oxidante, para la remoción de alizarina y azul negro de eriocromo R. Inicialmente, se realizaron experiencias de reúso con 10 mg de sólido (QUIT-GA y QUIT-GA-HEM) con 4,8% de HEM en el sistema QUIT-GA-HEM (1 g L⁻¹) para remover alizarina (50 mg L⁻¹). Se hicieron 4 agregados de 20 µL (a 5, 10, 15 y 20 min) de H₂O₂ al 9,1% hasta un total de 80 µL (21,4 mM) en 10 mL de volumen total, a temperatura ambiente, pH 7 y 2 h. Se encontró una elevada remoción de alizarina utilizando QUIT-GA-HEM con posibilidades de reúso múltiple (81,39% a 62,57% en el noveno reúso). El QUIT tratado con GA adsorbe entre 62-73% en 5 reúsos.

Adicionalmente se realizaron ensayos de reúso, bajo las mismas condiciones, pero para 150 mg alizarina L⁻¹ (Tabla 9.7) y 150 mg de azul negro de eriocromo R L⁻¹ (Tabla 9.8). Se observa como los catalizadores pierden actividad luego del primer uso. Si bien el GA es un eficaz agente de entrecruzamiento para mejorar la estabilidad de QUIT, su uso presenta limitaciones asociadas a su toxicidad y a su tendencia a disolverse parcialmente en solución. Además, se reporta que fracciones de QUIT de bajo peso molecular se disolvieron, aún estando entrecruzado. Estas cuestiones afectan la estabilidad y la reutilización del material. En este contexto, se optó, en la presente tesis, utilizar TPP como agente de entrecruzamiento alternativo.

Se observa que el colorante azoico no fue adsorbido sobre QUIT modificado con GA, mientras que el sistema con HEM soportado mostró la mayor actividad para la remoción de azul negro de eriocromo R. Estos resultados se correlacionan con los encontrados en esta tesis para el colorante azoico NII. QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM removió casi el 50 y 63,9% de NII en agua destilada (pH 6-7) y en buffer Tris-HCl (pH 9,4), respectivamente ([NII] = 50 mg L⁻¹; [H₂O₂] = 2,75 mM; [catalizador] = 40,6 g L⁻¹; 200 rpm en shaker; 30 °C; volumen de reacción 8 mL). En términos de MAG, la concentración en sistema multicatalítico estudiado correspondería a 4 g L⁻¹, mientras que la de HEM resultaría en casi 80 mg HEM L⁻¹. Aunque la concentración de catalizador es mayor en términos de masa, la concentración de H₂O₂ es aproximadamente la décima parte respecto a los ensayos de la tesis de Pirillo.

Tabla 9.7 - Experiencias de reúso utilizando 10 mg de sólido (QUIT-GA y QUIT-GA-HEM o HRP) para la remoción de alizarina (150 mg L⁻¹). Tabla obtenida de [10].

Soporte	QUIT-GA	QUIT-GA-HRP	QUIT-GA-HEM
Uso	% removido		
Inicial	37,6	52,02	31,27
1er reúso	25,06	37,03	24,74
2do reúso	14,91	37,26	0
3er reúso*	0	45,54	-
4to reúso*	-	0	-

Notas: *Las experiencias se realizaron al día siguiente.

Tabla 9.8 – Experiencias de reuso utilizando 10 mg de sólido (QUIT-GA y QUIT-GA-HEM o HRP) para la remoción de azul negro de eriocromo R (150 mg L⁻¹). Tabla obtenida de [10].

Soporte	QUIT-GA	QUIT-GA-HRP	QUIT-GA-HEM
Uso	% removido		
Inicial	0	44,47	64,94
1er reuso	0	8,23	59,41
2do reuso	-	0	34
3er reuso*	-	0	10
4to reuso*	-	0	0

Se reporta remoción de alizarina y azul negro de eriocromo R utilizando MAG como adsorbente y MAG y HEM soluble en presencia de H₂O₂. Se utilizaron 2 g L⁻¹ de MAG y 0,25 mg HEM, con 21 mM de H₂O₂ en buffer pH 7 0,1 M y a 25 °C. Se advierte la alta remoción de alizarina para los tres sistemas, mientras que para el colorante azoico se observó un comportamiento diferente (Tabla 9.9).

Tabla 9.9 – Porcentajes de colorantes removidos usando MAG y H₂O₂. Tabla obtenida de [10].

Muestra	% removido		
	MAG (adsorción)	MAG + H₂O₂	HEM soluble
Alizarina (100 mg L⁻¹)	93,8	93,5	93
Azul negro de eriocromo R (25 mg L⁻¹)	87,6	66,13	62

Al comparar HEM soluble con HEM soportado, se logró poner de manifiesto que si bien se alcanzan remociones mayores en términos de porcentaje, el biomimético soportado es menos eficiente, dado que parte del Fe de HEM soportado no se encuentra disponible para la acción catalítica (Tabla 9.10). No obstante, los sistemas heterogéneos ofrecen ventajas desde un punto de vista práctico y económico, dado que se propicia la recuperación y la reutilización.

Tabla 9.10 – Porcentaje removido y moles de colorante removidos/mg de HEM de azul negro de eriocromo R utilizando HEM soluble y soportado. Tabla obtenida de [10].

HEM	Azul negro de eriocromo R (50 mg L ⁻¹ , 25 °C)	
	% removido	μmoles de colorante removidos/ mg de HEM
Soluble	58,2	2,35
Soportado	74,09	1,96

Los sistemas estudiados en la tesis doctoral de la actual Dra. Pirillo permitieron evidenciar el comportamiento de MAG y HEM como mimético y biomimético, respectivamente, de la enzima HRP. Adicionalmente, brindó información útil respecto a procesos de adsorción sobre óxido de hierro y QUIT. Sin embargo, los sistemas estudiados fueron complejos de preparar, presentaron paso del GA residual a la solución, con la consecuente necesidad de múltiples lavados hasta pérdida nula del entrecruzante. QUIT presentó fracciones solubles, aún con GA presente. MAG utilizada como polvo y QUIT como hojuelas condujeron a dificultades en la manipulación y la separación del medio de reacción. En este contexto, el sólido catalizador sintetizado en el presente trabajo, utilizado luego de un secado/rehidratado, no presentó las problemáticas asociadas al *leaching* de hierro, disolución de QUIT o el paso a solución del agente entrecruzante. Por lo que la estabilidad del sólido, es un logro a destacar, permitiendo la recuperación y la utilización en ciclos de reúso.

Otro aporte en la evolución de este tema de investigación fue realizado por la Dra. Córdoba en su tesis doctoral, en la cual se abordó el estudio de un sistema de eliminación de colorantes fenólicos (RAS y NII) catalizado por HEM como biomimético de HRP. En dicho trabajo se estudió la actividad, se optimizaron las condiciones operativas de reacción, se analizaron los productos de decoloración y la producción de oxígeno. Esto permitió confirmar: la acción degradativa de HEM; la inactivación provocada por H₂O₂; y la generación de oxígeno. Se exploró la síntesis de catalizadores heterogéneos, inmovilizando HEM sobre QUIT. Se realizó un estudio cinético teórico experimental que permitió establecer una analogía entre el mecanismo del biomimético y el de HRP, con producción de radicales fenólicos y radicales O₂^{•-}.

Se exploró el reúso de HEM soportado mediante remoción de RAS utilizando 10,5 mg L⁻¹ de HEM soportado (o 250 mg de catalizador L⁻¹), a pH 9 y 6,6 mM de H₂O₂ para

200 mg L⁻¹ de RAS (Tabla 9.11). Los resultados muestran que el uso de APTS aumenta la conversión de RAS, presentando todos los catalizadores una importante disminución de la actividad en los usos siguientes. Estos resultados alentaron, para la presente tesis, el uso de APTS como agente acoplante para la inmovilización de HEM sobre esferas magnéticas de QUIT, logrando efectivamente aumentar la eficiencia en el procedimiento.

Tabla 9.11 – Resultados remoción de RAS sobre QUIT-GA-HEM, QUIT-APTS-GA-HEM, QUIT-GA-HRP en primer uso (1 h de reacción) y sexto reuso (24 h de reacción). Tabla obtenida de [11].

	Primer ciclo de uso	Sexto ciclo de uso
	1 h	24 h
QUIT-GA-HEM	29,5 ± 5,76	17,8 ± 3,28
QUIT-APTS-GA-HEM	48,7 ± 4,04	34,1 ± 4,95
QUIT-GA-HRP	20,0 ± 1,44	0,9 ± 1,00

Analizando la remoción de NII pudo identificarse que con el sistema soluble (17,2 mg L⁻¹ de HEM y 3,8 mM de H₂O₂) la conversión de 300 mg L⁻¹ de colorante NII alcanza a 80% en 70 min. La degradación de NII es muy rápida, aún a concentraciones altas de colorante. Por otro lado, la inmovilización de HEM cambia drásticamente la actividad del catalizador. Con 40 min se logra no más del 60% de conversión de 50 mg L⁻¹ de NII. Las condiciones para el catalizador heterogéneo fueron 32,9 mg L⁻¹ de HEM (o 1 g L⁻¹ de catalizador soportado), 24 mM de H₂O₂ y pH 10,6. El volumen de reacción fue de 25 mL y se utilizaron 25 mg de catalizador seco por corrida.

La pérdida de actividad encontrada, se asignó a la presencia de oligómeros de HEM sobre la superficie de QUIT modificado. En cuanto a las remociones de los colorantes, se presentan hallazgos relevantes asociados con la presencia agregados de RAS en la solución que podrían explicar las desviaciones a la simulación cinética aplicada, al disminuir la concentración nominal de monómeros en el medio de reacción; y la posibilidad de que la estructura de NII genere impedimentos estéricos para el acercamiento a HEM, por lo que en las reacciones con el colorante azoico podría estar favorecida la descomposición de H₂O₂ en forma comparativa a RAS.

Habiendo logrado los avances reportados en párrafos anteriores, se planteó uno de los objetivos principales de esta tesis, que fue combinar la actividad de MAG y HEM, como mimético y biomimético de peroxidasa, en un sistema con el fin de maximizar la degradación de los colorantes frente a la adsorción en el sistema catalítico.

Considerando el sistema QUIT-MAG en forma de esferas coprecipitadas, entrecruzadas con TPP, modificadas con APTS y HEM soportado en superficie, se deben tomar en cuenta varios puntos clave para discutir un potencial mecanismo de reacción de remoción de colorantes. Asimismo, se desprenden análisis interesantes acerca del uso de esferas de QUIT-B2m en la remoción de RAS y NII. Estas discusiones se detallan a continuación.

(I) Adsorción y difusión de colorantes y H₂O₂ en el sólido.

Dada la alta afinidad de QUIT por especies cargadas negativamente, es esperable que la primera etapa sea la adsorción de los colorantes sobre la superficie del catalizador, principalmente cuando la reacción se realiza en agua destilada, por debajo del PZC. Este proceso, estaría entonces fuertemente influenciado por el pH del medio. Estaría involucrada la adsorción de los colorantes y el oxidante en la superficie de la esfera y la difusión intersticial hacia el interior. El H₂O₂ es una molécula pequeña y no se espera que tenga dificultades en la difusión intra esfera, mientras que la estructura intacta de los colorantes se mantiene solamente hasta que interactúan con los radicales por interacción H₂O₂-MAG o H₂O₂-HEM. Esta interacción podría ocurrir en solución o en la superficie de la esfera. Desde esta perspectiva, la adsorción favorecería la proximidad de los colorantes a los sitios de generación de radicales, pero podría generar impedimentos para el acceso del H₂O₂ a la superficie de MAG.

(II) Reacción de H₂O₂ con MAG y HEM.

La etapa de adsorción inicial ocurriría en paralelo a la reacción con H₂O₂, tanto en la superficie de MAG como de HEM. A un pH entre 7 y 9, en la superficie de MAG, existen especies =FeOH y =FeO⁻ (ver nuevamente Figura 9.3). La interacción con el H₂O₂ generaría, en los valores de pH explorados, especies FeO²⁺ en la superficie de MAG y Fe^{IV}=O en la superficie de HEM, que luego podrían tener dos vías de reacción: la catalítica con la descomposición de H₂O₂ o la peroxidática a través de la reacción con los colorantes (generando radicales por abstracción de un H). Para que la reacción tipo

peroxidasa tenga lugar, es importante un acceso adecuado del colorante a las cercanías del enlace FeO de HEM.

En cuanto a la adsorción de colorantes sobre MAG, sería menos favorable, respecto a la adsorción sobre QUIT, tal como lo mostraron los resultados de la tesis de Pirillo.

Existen evidencias de la actividad combinada de HEM y ferritas. En el trabajo de Nicolás et al. (2021) se encontró una conversión del 36,8 % de 62,5 mg L⁻¹ de RAS a pH 11 y 20 mM de H₂O₂, utilizando 2,5 g L⁻¹ de catalizador compuesto por HEM-MnFe₂O₄ (0,74% HEM), mientras que la ferrita de Mn con 80 mM de H₂O₂ a pH 7 degrada 18% de RAS [12]. Esta misma ferrita no degrada NII a pH 9 en las mismas condiciones pero con HEM alcanza 100% de conversión de 62,5 mg L⁻¹ de NII a pH 11 y con 20 mM de H₂O₂. En estos casos, no puede descartarse cierta contribución del H₂O₂ en la oxidación espontánea. Estos materiales se evaluaron sin agitación debido a su fragilidad estructural y disolución parcial.

(III) Diferencias estructurales y reactivas entre RAS y NII en sistemas con HEM inmovilizado.

El análisis de la estructura molecular de RAS reveló que es una molécula plana, mientras que NII sufre una torsión con el enlace azo. Además, RAS posee dos grupos OH que pueden ceder un átomo de hidrógeno al enlace FeO de HEM, mientras que en NII el único grupo OH se encuentra involucrado en el equilibrio tautomérico entre la forma azo y la hidrazona. Las diferencias de reactividad de ambas moléculas tendrían entonces causas estéricas y electrónicas. En comparación con HEM en el sistema homogéneo (que genera alta degradación de NII según lo reportado en la tesis de la Dra. Córdoba), el sistema con HEM inmovilizado tendría restricciones para lograr una interacción productiva con NII.

(IV) Estabilidad de HEM frente a H₂O₂.

La degradación de HEM es un potencial problema al elevar la concentración de H₂O₂. En este sentido, en esta tesis se han utilizado concentraciones de H₂O₂ bajas en forma comparativa, con el objetivo de optimizar la eficiencia en su consumo y minimizar reacciones secundarias no productivas. Los resultados obtenidos no evidenciaron la degradación de la estructura de HEM en las soluciones mixtas de RAS/NII, especialmente considerando los resultados en el reúso del sistema QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM.

(V) Generación y reactividad de especies oxidantes en un sistema heterogéneo multicatalítico con MAG y HEM.

En este sistema multicatalítico, la generación de las especies oxidantes podría ocurrir en serie-paralelo o en paralelo. Esto permitiría, potencialmente, múltiples interacciones entre los productos de la reacción entre los colorantes y MAG/HEM activados por H₂O₂, como así también la generación de las especies oxidantes reconocidas. Estas reacciones no solo podrían resultar en la descomposición específica de H₂O₂, sino que también podrían inducir la evolución de O₂ en el medio, el cual tiene el potencial de generar otros radicales y continuar la reacción.

(VI) Efectos de la inmovilización de HEM sobre esferas magnéticas de QUIT sobre su actividad catalítica.

La caída de la actividad catalítica al inmovilizar HEM en esferas de MAG-QUIT puede atribuirse a dos factores: (1) la formación de agregados superficiales de HEM, una reacción conocida para este compuesto (dímeros, trímeros o tetrameros por interacciones a través de puente hidrógeno); y (2) la mayor rigidez estructural de HEM soportado para interactuar en forma productiva con moléculas voluminosas y no planas como NII.

En el caso particular de NII, los resultados se pueden explicar mediante una competencia entre el H₂O₂ y el colorante para acceder a HEM o a la superficie de MAG en la que el H₂O₂ es la ganadora, con la consecuente descomposición del agente oxidante en vez de la generación de radicales derivados de NII. Esto explicaría la baja actividad comparativa para NII en relación a RAS en los sistemas individuales modelos.

(VII) Efecto del secado sobre la remoción de colorantes RAS y NII en soluciones individuales modelo sobre esferas de QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM.

Se pudo observar el efecto del secado del catalizador en la remoción de los colorantes. Utilizando el catalizador húmedo y seco se lograron remociones de NII de 70,2 y 36,8%, respectivamente ([catalizador] = 5,5 g L⁻¹; [H₂O₂] = 5 mM; [NII] = 10 mg L⁻¹; 30 °C; pH 9,4; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h). Resultados similares se encontraron con RAS, utilizando el catalizador húmedo y seco, las remociones fueron 72,3 y 39,1% ([catalizador] = 5,3 g L⁻¹; [H₂O₂] = 0,5 mM; [RAS] = 100 mg L⁻¹; 30 °C; pH 9,4; agitación magnética 300-400 rpm; 6 h). El secado generaría el colapso de la estructura interna de poros del sólido. Como MAG se encontró distribuida en toda la

esfera, el secado implicó la disminución considerable de sitios activos de MAG, mientras que HEM se encontró distribuido teniendo en cuenta la presencia de APTS superficial y MAG expuesta disponible en superficie. Es importante considerar que en etapas de escalado el aumento de la masa de catalizador (número de esferas) al implementarse otros equipos de reacción podría compensar la disminución de la masa activa ocasionada por el secado.

(VIII) Remoción de RAS y NII en soluciones modelo utilizando QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM bajo condiciones optimizadas.

Bajo las condiciones de reacción optimizadas, en soluciones individuales de RAS y NII en sistemas modelo, se alcanzaron remociones de 92,5 y 63,9%, respectivamente ([catalizador] = 40,6 g L⁻¹; [colorantes] = 50 mg L⁻¹; [H₂O₂] = 2,75 mM; pH 9,4 en buffer Tris-HCl; 30 °C; 200 rpm en shaker; 6 h). Bajo las mismas condiciones de reacción, pero en soluciones mezcla de colorantes con 50 mg L⁻¹ de cada uno, se obtuvo un 62,7% de remoción de color a las 6 h. Estos resultados se encuentran reportados en el Capítulo VII. En el estudio de los blancos sin catalizador, se reportan remociones de RAS y NII similares a las encontradas con el catalizador, pero con concentraciones entre 20 y 80 mM. El uso del sólido catalizador evitaría el uso de cantidades excesivas de H₂O₂ y el consecuente tratamiento de eliminación. El impacto negativo de la temperatura es doble: aumenta la descomposición de H₂O₂ (disminuyendo la concentración de oxidante) y promueve reacciones de acoplamiento entre radicales y no de reacción de los radicales con estructuras orgánicas.

(IX) Capacidad de adsorción de QUIT-B2m para colorantes RAS y NII: efectos de la concentración y del entrecruzamiento.

Se obtuvo que el adsorbente compuesto por QUIT-B2m pudo remover 1,85 y 0,60 mg de RAS y NII, respectivamente, por g de QUIT. Se consideró, en función de los ensayos de adsorción realizados en la biomasa (B2m), que el QUIT es el material que conduce a la adsorción de los colorantes. Es interesante que, como se mencionó al analizar los resultados de la tesis de Pirillo, QUIT modificado con GA no adsorbió el colorante azoico azul negro de eriocromo R. Este comportamiento se asigna al impacto del entrecruzante, tal como ocurrió en esta tesis con el entrecruzamiento realizado con TPP. Nuevamente, de los resultados de adsorción de RAS y NII sobre las esferas de QUIT puro y QUIT-B2m, el entrecruzamiento da estabilidad pero disminuye la capacidad de

adsorción. El estudio computacional realizado por la Dra. Ferreira y la evaluación de ajustes a los modelos Langmuir y Freundlich, arrojaron argumentos sólidos para fundamentar la capacidad diferencial del QUIT en adsorber RAS y NII.

(X) Tratamiento en dos etapas: oxidación avanzada + adsorción.

La posibilidad de lograr reducciones sustanciales del DQO y COT en una sola etapa es un logro importante. El mayor costo e inversión para la aplicación estaría en el catalizador, el cual debería utilizarse en el rango de 10 a 40 g L⁻¹, con la posibilidad de reúsos múltiples y aplicación a temperaturas bajas. La concentración de H₂O₂ es cerca de un décimo de la que se reporta en la literatura, y la disminución de COT y DQO en las concentraciones mayores habilita a un efluente a cumplir con requisitos de riego por aspersión (regulado en Resolución 336/03, considerado dentro de “absorción por el suelo”) para esos parámetros y no solo para el vertido en red cloacal.

Este sistema evita la complejidad de otros sistemas con mayor sofisticación. La optimización del adsorbente a base de QUIT-B2m con modificación superficial específica para aumentar capacidad de adsorción y minimizar solubilidad, con un procedimiento de secado adicional como pretratamiento y como etapa adicional a la de oxidación avanzada es un tema a desarrollar en el futuro.

(XI) Consideraciones sobre costos del tratamiento.

Un tema relevante es el costo del sistema multicasalítico, que involucraría 10% de magnetita, con la posibilidad de incorporar un 23% de biomasa. Se reporta el costo del QUIT mediante importaciones (China, España y Ecuador), de aproximadamente 1.000 dólares el kg. Respecto a la disponibilidad de QUIT en el país, es importante destacar que, aunque el QUIT de alta pureza importado tiene un costo considerable, existen alternativas locales que podrían reducir significativamente estos costos. Según lo mencionado por la Dra. Noemi Zaritzky, investigadora superior del CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos, La Plata), el proceso tecnológico desarrollado en el país permitiría producir QUIT a un costo menor, del orden de 20 dólares por kg. Esto abre la posibilidad de que, en un futuro, el biopolímero pueda ser producido localmente y, por ende, ser materia prima para el desarrollo del catalizador aquí propuesto. Se estima, en términos amplios que, considerando la producción local de QUIT, 40 g L⁻¹ utilizados para tratar 25.000 L de solución, tendría un costo de 20.000

dólares. Esto, bajo un análisis conservador, que considera que el 100% de la masa es QUIT. Puede estimarse una reducción en el costo, considerando la optimización del proceso, el reúso, el uso del 23% de biomasa y el 10% de MAG, para lograr un 67% de QUIT en el sistema catalítico con H₂O₂.

9.5. Conclusiones

Se logró evaluar el sistema de oxidación avanzada en un medio sin control de pH con una matriz de efluente simulado, logrando remociones de RAS/NII (50 mg L⁻¹ cada uno) en términos de disminución de absorbancia del 53,2 ± 0,6%. Una etapa posterior de adsorción, permitió una remoción de hasta 73,4 ± 2,9%. El sistema catalítico permitió reducir la conductividad en 17,5%, la DQO en 84,6% y el COT en 84,6% de soluciones en matriz de efluente simulado. Si bien estos resultados son prometedores en términos de la aplicación real del catalizador para el tratamiento de efluentes, es necesario explorar la toxicidad de las soluciones tratadas.

En cuanto a la etapa de adsorción, se registró un aumento de la DQO y del COT que se asoció a la ruptura/disolución del adsorbente en el medio de reacción. Podría inferirse que los aumentos provienen de un mismo origen, dado que todas las muestras presentan valores similares. En consecuencia, es fundamental desarrollar estrategias para aumentar la estabilidad del QUIT en el sólido adsorbente.

Analizando los conocimientos previos puede destacarse que se lograron avances asociados principalmente con la obtención de un sólido catalizador que contiene QUIT y MAG estables en soluciones de operación. En este sentido, se superaron las problemáticas asociadas a la disolución de MAG y de QUIT en el medio de reacción. Los estudios previos establecen un marco sólido para comprender los mecanismos de degradación y adsorción de colorantes utilizando QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM como catalizador en combinación con H₂O₂ y QUIT-B2m como adsorbente. Los resultados obtenidos en la presente tesis amplían el conocimiento de esta línea de investigación al sintetizar una nueva estructura multicatalítica y evaluar su eficiencia en la remoción de colorantes bajo diversas condiciones de operación.

9.6. Referencias

- [1] M. Behera, J. Nayak, S. Banerjee, S. Chakraborty, and S. K. Tripathy, “A review on the treatment of textile industry waste effluents towards the development of efficient mitigation strategy: An integrated system design approach,” *J Environ Chem Eng*, vol. 9, no. 4, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.jece.2021.105277.
- [2] M. M. Bello and A. A. A. Raman, “Synergy of adsorption and advanced oxidation processes in recalcitrant wastewater treatment,” *Environ Chem Lett*, vol. 17, no. 2, pp. 1125–1142, 2019, doi: 10.1007/s10311-018-00842-0.
- [3] K. Li, Y. Zhao, C. Song, and X. Guo, “Magnetic ordered mesoporous Fe₃O₄/CeO₂ composites with synergy of adsorption and Fenton catalysis,” *Appl Surf Sci*, vol. 425, pp. 526–534, 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2017.07.041.
- [4] H. Chen *et al.*, “Cobalt ferrites/activated carbon: Synthesis, magnetic separation and catalysis for potassium hydrogen persulfate,” *Mater Sci Eng B Solid State Mater Adv Technol*, vol. 249, no. February 2018, p. 114420, 2019, doi: 10.1016/j.mseb.2019.114420.
- [5] H. Lu *et al.*, “Cellulose-supported magnetic Fe₃O₄–MOF composites for enhanced dye removal application,” *Cellulose*, vol. 26, no. 8, pp. 4909–4920, 2019, doi: 10.1007/s10570-019-02415-y.
- [6] J. Lee, S. Lee, S. Yu, and D. Rhew, “Relationships between water quality parameters in rivers and lakes: BOD₅, COD, NBOPs, and TOC,” *Environ Monit Assess*, vol. 188, no. 4, Apr. 2016, doi: 10.1007/s10661-016-5251-1.
- [7] D. Dubber and N. F. Gray, “Replacement of chemical oxygen demand (COD) with total organic carbon (TOC) for monitoring wastewater treatment performance to minimize disposal of toxic analytical waste,” *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, vol. 45, no. 12, pp. 1595–1600, Oct. 2010, doi: 10.1080/10934529.2010.506116.
- [8] H. Muñoz, G. Mejía, M. Chaverra, and E. Vásquez, “Una aproximación al estimativo la DBO y la DQO de aguas residuales por medio de la medida de COT,” *Revista Facultad de ingeniería, Universidad de Antioquia*, vol. 20, Jun. 2000.

- [9] C. G. Grigoraş, A. I. Simion, and C. Drob, “Hydrogels Based on Chitosan and Nanoparticles and Their Suitability for Dyes Adsorption from Aqueous Media: Assessment of the Last-Decade Progresses,” Mar. 01, 2024, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/gels10030211.
- [10] S. Pirillo, “Eliminación de colorantes en efluentes de la industria textil,” Repositorio Institucional Digital de la Biblioteca Central “Profesor Nicolás Matijevic” de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina, 2011. Accessed: May 26, 2025. [Online]. Available: <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/2137>
- [11] A. Córdoba, “Catalizadores enzimáticos y biomiméticos soportados para la eliminación de colorantes modelo de soluciones acuosas,” Universidad Nacional de Córdoba, 2015. Accessed: Mar. 19, 2025. [Online]. Available: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/4648>
- [12] P. Nicolás, G. S. López Pagni, F. Horst, V. Lasalle, and M. L. Ferreira, “Low-cost nanoparticulate oxidation catalysts for the removal of azo and anthraquinic dyes,” *J Environ Health Sci Eng*, 2021, doi: 10.1007/s40201-021-00640-x.

PUBLICACIONES ASOCIADAS

Los resultados derivados de la Parte 3 de la tesis, que incluye al Capítulo IX, se presentaron en el siguiente trabajo a congreso:

- Desechos basados en quitosano provenientes del tratamiento de soluciones coloreadas con potencial aplicación en remediación de aguas mediada por adsorción.

Autores: Rial, Juliana Belen; Botelli, Bruno; Sosa Lissarrague, Matías; Sánchez, Daniel; Lasalle, Verónica; Ferreira, María Luján. Presentado en formato video Poster Flash en el V workshop virtual de polímeros biodegradables y biocompuestos (BIOPOLI 2024) a realizarse en un evento virtual el 27, 28 y 29 de noviembre de 2024.

DISTINCIÓN ACADÉMICA

Ganadora del Premio DOW al Mérito Académico para Estudiantes de Posgrado del Departamento de Ingeniería Química el año 2023.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Capítulo X

Conclusiones y perspectivas futuras

10.1. Conclusiones

La presente tesis buscó, tomando como base los trabajos precedentes, estudiar un sistema de tratamiento de soluciones acuosas que contienen colorantes (antraquinónico y azoico) en dos instancias: ETAPA I, oxidación avanzada; y ETAPA II, adsorción.

La presentación del trabajo llevado a cabo para cumplir el objetivo general se dividió en tres partes. A continuación se detallarán los principales hitos alcanzados.

10.1.1. PARTE 1: Estudio preliminar

(a) Síntesis de las esferas de QUIT, QUIT/MAG y HEM soportado en QUIT/MAG

Se logró establecer un procedimiento simple para la obtención de esferas puras de QUIT mediante goteo en medio alcalino. Resultó un procedimiento versátil, considerando que, si bien no se exploró en el presente trabajo, el tamaño del sólido precipitado puede fácilmente ajustarse modificando el tamaño de gota (utilizando buretas o jeringas con diferentes diámetros).

Pudo incorporarse MAG de manera efectiva mediante coprecipitación de sales de hierro en simultáneo a la gelificación en atmósfera inerte, con una pérdida de hierro en solución precipitante menor al 1% respecto al hierro presente solución ácida de QUIT/ $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ precipitada. Se verificó mediante TEM la escala nanométrica de las partículas obtenidas bajo las condiciones de síntesis, en ausencia de QUIT. MAG proporciona al soporte de características magnéticas y la posibilidad de acoplarse como mimético de las enzimas catalasa y peroxidasa. La caracterización del soporte por SEM permitió observar una estructura de poros en cavidades paralelas con un evidente colapso debido a la pérdida de humedad del sólido por el secado.

Se logró inmovilizar HEM sobre el soporte y optimizar la eficiencia del procedimiento utilizando APTS (evolucionando de un 32% a un 52% en promedio cuando fue tratado con el agente acoplante).

10.1.2. PARTE 2: APLICACIÓN DEL CATALIZADOR Y EL ADSORBENTE

Puede disgregarse en dos líneas complementarias asociadas al estudio de la aplicación del catalizador en un POA y del adsorbente compuesto por QUIT-biomasa en remoción de colorantes en solución.

➤ **ETAPA I:** Sistema tipo Fenton heterogéneo

Aplicación del catalizador en remoción de RAS y NII en soluciones modelo individuales.

La búsqueda bibliográfica y los ensayos exploratorios de remoción de RAS y NII permitieron identificar parámetros adecuados de reacción tales como concentración de H₂O₂, concentración de colorantes, pH, disolvente, temperatura y tiempo de reacción. Pudo identificarse que, para el sistema estudiado, el colorante NII es recalcitrante respecto a RAS bajo las condiciones de reacción exploradas. Las diferencias de reactividad entre ambas moléculas se asociaron a causas estéricas y electrónicas. El estudio de la estructura molecular de RAS muestra que es una molécula plana, en contraste con NII que presenta una torsión en torno al enlace azo. Además, RAS tiene dos grupos OH capaces de donar un átomo de hidrógeno al enlace FeO en HEM, mientras que en NII el único grupo OH está implicado en el equilibrio tautomérico entre las formas azo e hidrazona.

Adicionalmente, se pudo evaluar, desde un punto de vista práctico, la aplicación del catalizador. Se estudió la aplicación del mismo en estado seco/rehidratado. Pese a la pérdida de actividad ocasionada por el colapso de la estructura interna del sólido, la cual no pudo evitarse incluso con el secado en estufa de vacío a temperatura ambiente, se considera que su uso en seco es apropiado dado que presenta ventajas asociadas a la manipulación, almacenamiento y transporte.

Aplicación del catalizador en remoción de RAS/NII en matriz de efluente simulado.

En función de una amplia revisión de literatura se estableció una composición de una matriz de efluente sintético con concentraciones de cada uno de los componentes que simulan un efluente textil. Se exploró la aplicación del catalizador en la remoción de RAS y NII en soluciones mezcla, con diferentes proporciones y concentraciones de los colorantes. Se encontró que el sistema optimiza variables de respuestas asociadas a la

decoloración de las soluciones bajo concentraciones de colorantes de 50 mg L⁻¹ cada uno, H₂O₂ 2,75 mM y 40,6 g L⁻¹ de catalizador, logrando variaciones en la absorbancia en la banda principal de los espectros de hasta un 58,6%, frente a un 62,7% para un sistema modelo (sin la matriz de efluente simulado). Puede inferirse que, ante la composición del efluente sintético propuesto, no se producen grandes efectos inhibitorios en la actividad catalítica del sólido estudiado. Adicionalmente, el catalizador mantuvo hasta un 65% de su actividad inicial al quinto uso. Estos factores son relevantes al pensar en su aplicación.

Se pudo concretar el objetivo del trabajo que fue considerar la perspectiva de la aplicación del sólido sintetizado, logrando un catalizador que: (1) combina la actividad mimética y biomimética de peroxidasa de MAG y HEM, respectivamente (comportamiento multicatalítico asociado a la generación de radicales por iones Fe²⁺/Fe³⁺ de MAG y por el Fe³⁺ en HEM en contacto con H₂O₂); (2) es estable en el medio de reacción; (3) permite múltiples reusos; (4) presenta bajo costo relativo de síntesis; (5) se aplica en condiciones de temperatura y presión ambiente.

➤ ETAPA II: ADSORCIÓN

Síntesis del adsorbente QUIT/biomasa y aplicación en remoción de RAS y NII.

Inicialmente se evaluó el uso de biomasa derivada de la pulpa del fruto de *Araujia sericifera* como adsorbente. Se obtuvo un material fino (<74 μm) que fue utilizando sin tratamiento y post tratamientos (básico-ácido y con APTS). En ninguno de los casos la biomasa presentó capacidad de adsorber los colorantes RAS y NII bajo las condiciones estudiadas.

Sin embargo, se retomó el protocolo de síntesis de esferas de QUIT puro, explorado en el estudio preliminar de la síntesis del catalizador, y se realizaron modificaciones con el fin de incorporar la biomasa en el sólido. Se encontró que las esferas de QUIT presentan mayor capacidad de remoción de RAS y NII en estado húmedo. Se logró incorporar biomasa (B2m (mg) /QUIT (mg) = 0,3) favoreciendo la eficiencia del QUIT en la remoción de RAS. Se pasó de 0,40 a 0,50 mg L⁻¹ RAS removidos por mg de QUIT en esferas de QUIT puro y de QUIT/B2m, respectivamente.

Fue evidente que el adsorbente presenta mayor capacidad de remoción de RAS que de NII. La estructura molecular plana del colorante RAS le permite generar interacciones entre moléculas por puente de hidrógeno que favorecerían la adsorción en multicapa. Por

el contrario, dado que el colorante NII contiene un grupo azo (-N=N-) podrían ocurrir restricciones en el acomodamiento molecular.

10.1.3. PARTE 3: TRATAMIENTO EN ETAPAS. SISTEMA TIPO FENTON HETEROGÉNEO Y ADSORCIÓN.

Finalmente, se estudió el tratamiento de soluciones mezcla de RAS y NII, en sistema modelo y en matriz de efluente simulado, en dos etapas: oxidación avanzada aplicando el catalizador basado en HEM soportado en esferas magnéticas de QUIT con H₂O₂ como agente oxidante; seguido de adsorción, utilizando esferas de QUIT/biomasa.

La aplicación del sistema multicutalítico basado en QUIT-MAG-TPP-APTS-HEM en combinación con H₂O₂ permitió la reducción sustancial de DQO y el COT. Está claro que sería importante la optimización de la concentración del catalizador para usos *ad-hoc*, que deberían evaluarse.

Se encontró que la etapa I, de oxidación, permitió reducir la conductividad en 17,5%, la DQO en 84,6% y el COT en 84,6% de soluciones en matriz de efluente simulado. En cuanto a la etapa de adsorción, se registró un aumento de la DQO y del COT que se asoció a la ruptura/disolución del adsorbente en el medio de reacción.

10.2. Perspectivas futuras

Se desprenden diversos tópicos a explorar en función de los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis sobre los cuales se podría avanzar en un trabajo a futuro.

Respecto a la síntesis del catalizador:

- (I) Emplear los resultados asociados al protocolo de síntesis del sólido soporte para el desarrollo de catalizadores, incluso con la incorporación de otros materiales activos, por ejemplo derivados del cobre o manganeso. Se reporta que Mn_zFe_yO_x presenta actividad catalítica debido a la combinación de Mn³⁺ y Fe²⁺/Fe³⁺, siempre y cuando se garantice la insolubilidad de los materiales en el medio de reacción.
- (II) Explorar el efecto del entrecruzamiento con TPP de las esferas magnéticas de QUIT-MAG, evaluando diferentes condiciones en el procedimiento (pH, tiempos de tratamiento, concentraciones de TPP, entre otros).
- (III) Optimizar teniendo en cuenta costos, explorando la incorporación de la biomasa en el catalizador.

- (IV) Explorar diferentes tipos de secado del material soporte con el fin de evitar que colapse la estructura interna radial de poros. Se espera evaluar la deshidratación del sólido utilizando CO_2 con el objetivo de fijar la estructura y evitar el colapso observado en el secado.
- (V) Realizar un estudio cinético del sistema en condiciones óptimas con el fin de tener modelos útiles para un potencial escalado del tratamiento.
- (VI) Estudiar exhaustivamente el procedimiento para el reúso del catalizador, con principal foco en el acondicionamiento del sólido entre aplicaciones. Es importante evaluar el efecto del lavado entre usos, pH de solución de lavados, tiempos de lavado, entre otros.
- (VII) Evaluar la aplicación del catalizador en un sistema abierto, simulando lo que podría ocurrir en una pileta de una planta de tratamiento de efluentes. Es fundamental tener en cuenta la posible interacción con el CO_2 atmosférico, ya que este puede disolverse en el medio de reacción. Una vez en solución, el CO_2 puede reaccionar con el agua para formar ácido carbónico (H_2CO_3) en un equilibrio dinámico. A su vez, el ácido carbónico se disocia parcialmente, generando iones bicarbonato (HCO_3^-) y carbonato (CO_3^{2-}) en función del pH del sistema. Adicionalmente (I) la presencia de estos iones puede afectar significativamente el equilibrio ácido-base del entorno, alterando las propiedades superficiales del catalizador y, por ende, su actividad, y (II) puede contribuir a la generación de radicales.

Respecto a la síntesis del adsorbente:

- (I) Desarrollar estrategias para aumentar la resistencia de las esferas de QUIT, con modificaciones superficiales específicas que maximicen la capacidad de adsorción y minimicen la fragilidad.
- (II) Aplicar el adsorbente optimizado en soluciones tratadas por Etapa I del sistema de tratamiento, y caracterizar las soluciones tratadas en términos de DQO, COT y conductividad.
- (III) Explorar reúsos del adsorbente optimizado.

En cuanto al sistema integrado, se plantea estudiar su desempeño en un efluente coloreado real, poniendo particular atención en el análisis de toxicidad del efluente tratado.

Se considera que el costo de un proceso de eliminación del color se desglosa en: (1) cambios en la infraestructura y preparación del nuevo emplazamiento requerido; (2) compra e instalación de equipamientos; (3) costos de funcionamiento u operativos: productos químicos, energía, eliminación de lodos, entre otros. En este sentido, el presente trabajo proporciona las bases para continuar con el estudio de tratamientos que, desde el diseño, estén orientados a garantizar la aplicación en un contexto real. Se propone como trabajo a futuro, aplicar el catalizador optimizado diseñando ensayos que reflejen las operaciones a escala real, teniendo en mente, la nula o mínima modificación de las infraestructuras presentes en las plantas de tratamiento de efluentes textiles actuales.