



Estudio de la inmovilización de cadmio presente en suelos cacaoteros, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC) preparadas por síntesis verde, a nivel de laboratorio

Vera Rivadeneira, Daniela Fernanda

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

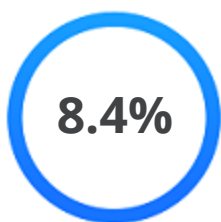
Cumbal Flores, Luis Heriberto PhD.

Sangolquí, 11 de febrero de 2022



TESISDV.docx

Scanned on: 15:36 February 2, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	805
Words with Minor Changes	150
Paraphrased Words	382
Ommited Words	0



Firmado electrónicamente por:
**LUIS HERIBERTO
CUMBAL FLORES**



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, **“Estudio de la inmovilización de cadmio presente en suelos cacaoteros, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC) preparadas por síntesis verde, a nivel de laboratorio”** fue realizado por la señorita **Vera Rivadeneira, Daniela Fernanda** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 11 de febrero de 2022

Firma:



Firmado electrónicamente por:
LUIS HERIBERTO
CUMBAL FLORES

Cumbal Flores, Luis Heriberto

C. C.: 1703553097



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, Vera Rivadeneira, Daniela Fernanda, con cédula de ciudadanía n°1400509509, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **Estudio de la inmovilización de cadmio presente en suelos cacaoteros, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC) preparadas por síntesis verde, a nivel de laboratorio** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 11 de febrero de 2022

Firma

.....
Vera Rivadeneira, Daniela Fernanda

C.C.: 1400509509



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo **Vera Rivadeneira, Daniela Fernanda**, con cédula de ciudadanía n°1400509509, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Estudio de la inmovilización de cadmio presente en suelos cacaoteros, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC) preparadas por síntesis verde, a nivel de laboratorio** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 11 de febrero de 2022

Firma

.....
Vera Rivadeneira, Daniela Fernanda

C.C.: 1400509509

Dedicatoria

A mi ñaño Beto mi angelito en el cielo, por haber estado conmigo durante esta etapa, por brindarme su compañía y su alegría. Por ayudarme a ser fuerte ante su partida, sé que desde el cielo me cuidas junto a mi papito Antonio y están muy orgullosos porque logro culminar esta estación en mi vida.

A mis padres, Roberto y Nanci que con su inagotable amor, esfuerzo y paciencia han permitido que yo culmine esta etapa de mi vida. Gracias papitos por no dejarme sola, por su constante apoyo y por siempre creer en mí.

A mi ñaño Jhoel que me ha acompañado en la recta final de esta tesis, porque a su corta edad me ha enseñado el valor de la perseverancia y el trabajo duro, gracias por ser esa luz en mi vida y alegría en cada momento.

A mi mami Pepa que con su cariño, amor y apoyo de una madre ha estado siempre presente, gracias mami por todas tus oraciones y enseñanzas. Sé que eres la persona más feliz por yo haber alcanzado este logro.

Daniela Fernanda Vera Rivadeneira

Agradecimientos

A Dios, por darme el más grande regalo de la vida, por su fortaleza para levantarme y continuar en los momentos más difíciles, por forjar mi carácter en medio del desierto y por caminar conmigo en cada momento amándome tal como soy.

A mi director de tesis, Ing. Luis Cumbal, PhD quien me abrió las puertas del Centro de Nanociencia y Nanotecnología y confió en mí para la realización de este proyecto de tesis, gracias por su guía, enseñanza y paciencia a lo largo de este proceso.

Al Dr. Alexis Debut por su tiempo y ayuda en este proyecto, a las ingenieras Karla Vizuite y Carina Stael técnicas del laboratorio, gracias por todo el apoyo, colaboración y por su gran amistad.

Al Ing. David Carchi por compartir sus conocimientos y por su ayuda constante a lo largo de este proyecto. A mis amigas y compañeras ingenieras en Biotecnología, Ambar, Geovy y Eri por brindarme su amistad y por los conocimientos impartidos a mi persona en este camino.

A la universidad, los docentes, a mis amigos del laboratorio, a mis amigos del salón de clases y de la vida con quienes recorrí todo este camino, gracias por haberme permitido conocerlos y poder aprender de cada uno de ellos. A mi amiga del alma Liz por estar siempre a mi lado.

A mi familia, de manera especial a mis padres, hermanos, abuelitos, por ser mi motor para poder llegar hasta aquí, gracias por cada consejo, risa y palabra de aliento. Gracias por tenerles siempre junto a mí.

A Cristian, por su amor y amistad, por apoyarme en todo momento y siempre creer en mí.

Índice de Contenido

Copyleaks	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos.....	7
Índice de Contenido.....	8
Índice de Tablas	12
Índice de Figuras.....	13
Resumen.....	15
Abstract	16
Capítulo 1	17
Introducción.....	17
Formulación del problema	17
Justificación del problema	18
Objetivos de la investigación	19
<i>Objetivo general</i>	19
<i>Objetivos específicos</i>	19
Marco Teórico	20
<i>Metales Pesados</i>	20
<i>Cadmio</i>	21

<i>Contaminación de suelos cacaoteros por Cadmio</i>	22
<i>Nanotecnología</i>	24
<i>Nanopartículas Multicomponente</i>	24
<i>Síntesis Verde de Nanopartículas</i>	26
<i>Flor de Jamaica</i>	27
Capítulo 2	29
Materiales y Métodos	29
Participantes	29
Zona de Estudio	30
Caracterización física del suelo	30
<i>Toma de muestra</i>	30
<i>Granulometría</i>	31
<i>Determinación de densidad aparente húmeda y densidad aparente seca</i>	32
<i>Determinación de la porosidad del suelo</i>	32
Caracterización química	33
<i>pH del suelo</i>	33
<i>Determinación de materia orgánica del suelo (MO)</i>	34
<i>Determinación de la capacidad de intercambio catiónico del suelo (CIC)</i>	34
<i>Determinación de carbonatos y sulfatos en el suelo</i>	36
<i>Determinación de metales contenidos en el suelo</i>	37
Obtención y caracterización del extracto vegetal	40
<i>Preparación de la muestra</i>	40
<i>Maceración y obtención del extracto vegetal</i>	40

	10
<i>Cuantificación de fenoles totales</i>	41
<i>Espectroscopia de absorción de luz ultravioleta y visible (UV-vis)</i>	42
Síntesis de nanopartículas multicomponente	42
Caracterización de nanopartículas multicomponente	43
<i>Técnicas de caracterización físico-químicas</i>	43
<i>Técnicas de caracterización morfológica</i>	44
Isotermas de adsorción de cadmio en el suelo.....	45
Cinética de adsorción de cadmio	47
Aplicación de nanopartículas multicomponente usando columnas de lecho fijo para la determinación del porcentaje de inmovilización de Cd.....	48
Análisis Estadístico.....	50
Capítulo 3	51
Resultados y Discusión.....	51
Caracterización físico-química del suelo.....	51
<i>Caracterización física:</i>	51
Caracterización química	54
Ensayo de isotermas de adsorción del cadmio en suelos	58
Ensayo de la cinética de adsorción de cadmio en suelos.....	61
Biosíntesis de nanopartículas multicomponente.....	65
Caracterización de las nanopartículas multicomponente	69
Reactividad de nanopartículas de Fe /FeS	74
Aplicación de Nps Fe/FeS en suelos cacaoteros mediante ensayos de columna de lecho fijo	77

	11
Capítulo 4	82
Conclusiones y Recomendaciones	82
Conclusiones.....	82
Recomendaciones	84
Bibliografía	85

Índice de Tablas

Tabla 1 <i>Clasificación de la porosidad del suelo</i>	33
Tabla 2 <i>Volumen de nanopartículas aplicados a las columnas</i>	49
Tabla 3 <i>Determinación de granulometría para suelos cacaoteros</i>	52
Tabla 4 <i>Parámetros físicos de las muestras de suelo S001 y S002</i>	54
Tabla 5 <i>Parámetros químicos de las muestras de suelo S001 y S002</i>	54
Tabla 6 <i>Concentración de Cd en cada fracción del suelo</i>	56
Tabla 7 <i>Parámetros obtenidos en el ajuste de isothermas de adsorción</i>	59
Tabla 9 <i>Análisis de varianza de la efectividad de los tratamientos en inmovilización de Cd en la</i> <i>Fracción 1</i>	81

Índice de Figuras

Figura 1 <i>Compartimentos del suelo donde se encuentran las diferentes formas químicas del cadmio y procesos de transferencia y especiación del cadmio</i>	23
Figura 2 <i>Esquema de nanopartícula multicomponente Fe/FeS</i>	25
Figura 3 <i>Planta de Hibiscus sabdariffa</i>	27
Figura 4 <i>Cálices de Flor de Jamaica</i>	28
Figura 5 <i>Estructura y sustituyentes de las antocianinas</i>	29
Figura 6 <i>Plantaciones de cacao en Flavio Alfaro</i>	31
Figura 7 <i>Titulación química de las muestras con hidróxido de sodio 0,5N</i>	35
Figura 8 <i>Selección, secado y pulverizado de cálices de flor de Jamaica</i>	40
Figura 9 <i>Filtrado y concentración del extracto de flor de Jamaica</i>	41
Figura 10 <i>Soluciones de sulfato de cadmio a diferentes concentraciones con 2 g de suelo</i>	45
Figura 11 <i>Ensayo de columnas para la aplicación de NPsMC en suelo contaminado con cadmio</i> 50	
Figura 12 <i>Porcentajes de arena y finos que se encuentran en las composición de los suelos cacaoteros</i>	52
Figura 13 <i>Curva granulométrica de las muestras de suelo S001 y S002</i>	53
Figura 14 <i>Concentración de cadmio inicial presente en S001 y S002</i>	57
Figura 15 <i>Isotermas de adsorción para S001 y S002</i>	59
Figura 16 <i>Modelos de Isotermas de Langmuir y Freundlich para S001 y S002</i>	60
Figura 17 <i>Cantidad de cadmio adsorbido a través del tiempo de contacto con la solución en A: S001 y B: S002</i>	62
Figura 18 <i>Cinética de pseudo segundo orden para A: S001 y B: S002</i>	64

Figura 19 Espectro UV-vis de los polifenoles en la flor de Jamaica	66
Figura 20 Estructuras químicas de las principales antocianinas que componen el extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	67
Figura 21 Proceso de síntesis de NPsMC	69
Figura 22 Histogramas del diámetro de NPsMC, obtenidos por: a)DLS;a.1 pH 9; a.2 pH 12, b)TEM	70
Figura 23 Imágenes TEM de nanopartículas multicomponente	71
Figura 24 Composición química de las NPsMC (Fe/FeS) determinada por EDS.....	73
Figura 25 SEM-mapping elemental de Fe, S y O de NPsMC.....	73
Figura 26 Espectro XRD de nanopartículas multicomponente	74
Figura 27 Remoción de cadmio en agua sintética con diferentes dosis de extracto de FDJ.....	75
Figura 28 Prueba de reactividad de las NPsMC en agua sintética de Cd ²⁺	76
Figura 29 Inmovilización de cadmio en S001 con 14 mL de NPsMC y CaCO3 2%.....	78
Figura 30 Inmovilización de cadmio en S002 con 14 mL de NPsMC y CaCO3 2%.....	79
Figura 31 Mecanismo de inmovilización de Cd por Nps Fe/FeS.....	80
Figura 32 Prueba Tukey para inmovilización de Cd en la fracción 1 (intercambiable)	81

Resumen

El objetivo de este proyecto fue estudiar la inmovilización de cadmio presente en suelos cacaoteros, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC) preparadas con síntesis verde, a nivel de laboratorio. Con este propósito se prepararon NPsMC de Fe/FeS usando extracto vegetal de Flor de Jamaica como agente estabilizante. El extracto se caracterizó por espectroscopia UV-Vis, en el que se observó un pico de absorbancia a 620 nm característico de las antocianinas presentes en el extracto. Las NPsMC se caracterizaron empleando dispersión dinámica de luz (DLS), microscopia de barrido (SEM-EDS), difracción de rayos X (XRD), microscopia de transmisión (TEM) y pruebas de reactividad. Se obtuvieron NPsMC de Fe/FeS con un diámetro hidrodinámico promedio de $15.34\text{nm} \pm 3.52\text{nm}$ y una capa de FeS $5.76 \pm 1.979\text{ nm}$ de espesor. Se demostró que existe inmovilización del Cd disponible al aplicarse las nanopartículas de Fe/FeS. Ensayos de inmovilización de cadmio usando columnas de lecho fijo, empacadas con 25g de suelos dopados con NPsCM, demuestran que el metal pesado decrece el 80.52% y el 81,38% en la fracción intercambiable en el suelo S001 y en el suelo S002, respectivamente, al aplicarse un volumen de 14 mL de nanopartículas. Se cree que la inmovilización de Cd por NPs de Fe/FeS ocurre a través de la co-precipitación química del S^{2-} y del Cd^{2+} para formar sulfuro de cadmio (CdS) en el suelo y de esta manera impedir que se encuentre biodisponible para la planta de cacao.

Palabras clave:

- **CADMIO**
- **NANOPARTÍCULAS MULTICOMPONENTE**
- **INMOVILIZACIÓN**

Abstract

The objective of this project was to study the immobilization of cadmium present in soils planted with cocoa trees, through the application of multicomponent nanoparticles (MCNPs) prepared with green synthesis, at the laboratory level. With this purpose, Fe/FeS MCNPs were prepared using flower of Jamaica plant extract as a stabilizing agent. The extract was characterized using UV-Vis spectroscopy, in which an absorbance peak at 620 nm, characteristic of the anthocyanins present in the extract was observed. The characterization of the nanoparticles was performed using Dynamic light scattering (DLS), scanning electron microscopy (SEM-EDS), X-ray diffraction (XRD), Transmission electron microscopy (TEM), and reactivity tests. Multicomponent Fe/FeS nanoparticles with an average hydrodynamic diameter of $15.34\text{nm} \pm 3.52\text{nm}$ and a FeS layer of $5.76 \pm 1.979\text{ nm}$ thick were obtained. It was shown that there is immobilization of the available Cd by applying the Fe/FeS nanoparticles. Immobilization tests of cadmium using fixed bed columns packed with 25g soils doped with MCNPs, demonstrate that the heavy metal decreases 80.52% and 81.38% in the exchangeable fraction in the soil S001 and in the soil S002, respectively, by employing a volume of 14 mL of nanoparticles. It is believed that immobilization of Cd by Fe/FeS NPs occurs through chemical co-precipitation of S^{2-} and Cd^{2+} to form cadmium sulfide (CdS) in the soil and thus preventing it from being bioavailable to the cocoa plant.

Keywords:

- **CADMIUM**
- **MULTICOMPONENT NANOPARTICLES**
- **IMMOBILIZATION**

Capítulo 1

Introducción

Formulación del problema

La exposición humana al cadmio proviene principalmente de la dieta, y se ha encontrado que las especies varían en su capacidad para absorberlo y acumularlo (Ruiz, 2011). Es por ello que en las últimas décadas ciertos quebrantos en la salud del hombre podrían ser generados por el consumo de productos alimenticios contaminados, especialmente por metales pesados.

Metales pesados como el Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Zinc (Zn), Cobre (Cu) que se encuentran presentes en cantidades elevadas son considerados tóxicos (Pino, 2018), ocasionando problemas en la salud debido a su acumulación en diferentes órganos del cuerpo humano. La Organización Mundial de la Salud establece que las manifestaciones y la gravedad de los signos, síntomas y cambios físicos resultantes del envenenamiento por cadmio están relacionadas con la cantidad, duración y vía de entrada del metal (Londoño et al., 2016).

Los contaminantes pueden provenir de forma natural, sea por las erupciones volcánicas o meteorización geológica y de fuentes antropogénicas o inducidas por el hombre, como las explotaciones de minas, quema de basuras urbanas, aplicación de fertilizantes fosfatados, gases provenientes de las industrias, derivados del petróleo, etc (Mite et al., 2010).

Las plantas cultivadas representan una importante vía para el movimiento de metales pesados potencialmente tóxicos desde el suelo hacia los humanos, acumulándolos en diferentes

cantidades y en sus diferentes órganos vegetales y reproductivos, resultando contribuciones venenosas en las dietas alimenticias.

Justificación del problema

La Unión Europea anunció planes para implementar regulaciones que rigen los Niveles máximos permitidos (MPL) de cadmio (Cd) permitidos en productos de chocolate y cacao, los cuales deben contener un máximo de 0,8 mg / kg de cadmio (Comisión del Codex Alimentarius, 2018). Es fundamental que todos los países productores de cacao, entre ellos Ecuador se preparen para el cumplimiento, ya que el incumplimiento resultará en el rechazo de los granos contaminados.

Por ello, INIAP-PROMSA reportó la presencia de cadmio en niveles tóxicos en suelos cacaoteros de la Provincia de El Oro y en granos de cacao cantidades superiores a 1 mg kg⁻¹ de Cd en las provincias de El Oro, Guayas, Zamora, Los Ríos, Francisco de Orellana, Esmeraldas y la parte tropical de Pichincha, siendo el límite permisible 0,5 mg kg⁻¹ de Cd en suelo de acuerdo al Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente en el Ecuador; además, las principales fuentes potenciales de contaminación son la quema de bolsas plásticas utilizadas en la agricultura, la proximidad a las carreteras y el uso de agua de las minas (Mite et al., 2010).

Por lo tanto, es necesario identificar las áreas problemáticas de acumulación de cadmio que pueden afectar la cadena alimentaria, para iniciar los trabajos de descontaminación del suelo. La remediación de suelos contaminados por metales pesados se lo puede realizar

mediante el uso de técnicas químicas y mediante fitorremediación que involucra el empleo de técnicas biológicas y químicas.

Sin embargo, hoy en día la nanoremediación ha permitido obtener resultados positivos, ya que las nanopartículas utilizadas en el tratamiento tienen propiedades que permiten la reducción química y la catálisis para reducir los contaminantes de interés, por lo que estas nanopartículas aumentan la velocidad y eficiencia del tratamiento de contaminantes (W. Zhang, 2003). Su pequeño tamaño y sus innovadoras capas superficiales permiten que estos nanomateriales penetren en áreas muy pequeñas del suelo. Teniendo en cuenta las ventajas de la nanoremediación, se propone utilizar nanopartículas multicomponente, preparadas mediante síntesis verde, para la inmovilización a escala de laboratorio de metales pesados como el cadmio.

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Estudiar la inmovilización de cadmio presente en suelos cacaoteros, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC) preparadas con síntesis verde, a nivel de laboratorio.

Objetivos específicos

- Caracterizar física y químicamente muestras de suelo provenientes de fincas cacaoteras de la provincia de Manabí, con especial atención en la determinación de cadmio.

- Preparar nanopartículas multicomponentes mediante síntesis verde.
- Caracterizar morfológica y químicamente las NPsMC mediante microscopía de transmisión óptica.
- Determinar la capacidad máxima de adsorción del suelo a través de ensayos isotérmicos.
- Evaluar la inmovilización de Cadmio en muestras de suelo de fincas cacaoteras de Manabí al aplicar NPsMC, mediante ensayos en columnas de lecho fijo.

Marco Teórico

Metales Pesados

Es un grupo de elementos químicos con una densidad específica igual o superior a 5g/cm^3 . Los efectos tóxicos dependen del tipo de metal, su concentración y en algunos casos la edad de la población expuesta. (Reyes et al., 2016). Estos metales se encuentran en concentraciones relativamente bajas (0,1%) en la corteza terrestre, y la presencia de concentraciones nocivas (anómalas) en el suelo es una degradación particular conocida como contaminación. (Galán Huertos & Romero Baena, 2008). Los metales pesados se pueden encontrar en el suelo de forma natural, es decir de origen geogénico, y pueden provenir de las propias rocas fuente, de la actividad volcánica, lixiviación de la mineralización o haber sido introducido de forma antropogénica mediante prácticas agrícolas, minería, transporte para actividades industriales, tratamiento de residuos, etc (Cordero, 2015).

En el suelo hay 17 metales pesados que se consideran altamente tóxicos y siempre están disponibles en concentraciones por encima de los niveles tóxicos. Estos son: Ag, As, Bi, Cd,

Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Pd, Pt, Sb, Se, Sn, Te, Tl y Zn. De estos, diez son movilizados por la actividad humana en una proporción mucho mayor que por procesos geológicos. Este es el caso de: Ag, As, Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Sn, Tl (Novotny, 1995).

La biodisponibilidad de los metales en los suelos está controlada por varios factores como el pH, la concentración del metal, la capacidad de intercambio catiónico, el contenido de materia orgánica y la textura, entre otros (Alloway, 2012).

Cadmio

El cadmio (Cd) es un metal pesado que no tiene función biológica y forma parte de la composición natural de algunas rocas y suelos. Se libera al medio ambiente en cantidades variables debido a procesos naturales y actividades humanas. (Scaccabarozzi et al., 2020).

Las plantas pueden absorber concentraciones muy altas de cadmio (Cd^{2+}) a través de los canales de iones en las membranas de las células radiculares y pueden afectar los procesos metabólicos esenciales y/o contaminar los granos cosechables, contaminando así la red alimentaria (Blommaert, 2019).

El consumo de una gran cantidad de cadmio al comer alimentos contaminados puede causar daños graves a los órganos vitales, especialmente los riñones, los pulmones y el hígado, y puede provocar cáncer y otros problemas de salud que amenazan la vida. (Khan et al., 2017) .

Contaminación de suelos cacaoteros por Cadmio

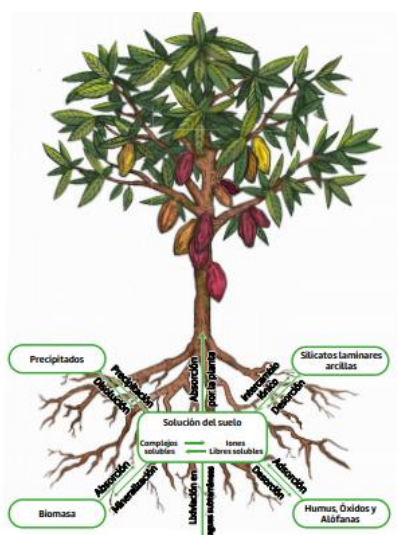
El cacao es un producto alimenticio con un crecimiento exponencial en los países productores debido a su facilidad de manejo y excelentes beneficios económicos (Castebianco, 2018).

Las concentraciones más altas de cadmio en el suelo de cacao pueden deberse a su acumulación a lo largo de los años en las hojas y vainas de cacao (Mite et al., 2010), sin embargo la presencia de Cd debido a la actividad antropogénica en el suelo se ha visto desequilibrada, permitiendo así que el aporte de este metal pesado no provenga directa y únicamente de la meteorización de la roca madre, sino llegar al suelo a través de la atmosfera, o directamente por el uso excesivo de fertilizantes fosfatados y biosólidos (Ramírez, 2013).

El cadmio en el suelo y sedimentos se puede alojar en cinco compartimentos: 1) soluble en la solución del suelo (Cd^{+2} complejos solubles), 2) en la fase intercambiable o sitios de intercambio catiónico de arcillas, 3) adsorbido en los óxidos e hidróxidos de Fe, Mn y Al, 4) Complejos con la materia orgánica del suelo (absorbido) y sulfuros y 5) precipitado a la roca madre (partículas sólidas).

Figura 1

Compartimentos del suelo donde se encuentran las diferentes formas químicas del cadmio y procesos de transferencia y especiación del cadmio (Cd^{2+}) en el suelo



Nota. Tomado de Mitigación de cadmio en el suelo mediante enmiendas inorgánicas por Carrillo et al., (2021)

La absorción del cadmio por las plantas se da en función a la forma química y física en la que se encuentre el metal en el suelo y la capacidad de la planta para absorberlo. En los suelos ácidos existe un incremento en la movilidad del metal, por el contrario, un suelo alcalino disminuye la movilidad del cadmio porque precipita cuando se obtienen formas insolubles y formas hidroxilo monovalentes, que interfieren en el intercambio iónico. (Ortiz, 2017).

A nivel mundial, los valores de Cd en suelos naturales no contaminados oscilan entre 0,01 y 2,7 mg/kg^{-1} , mientras que en suelos manejados el rango se extiende hasta 10,5 mg/kg^{-1}

(Scaccabarozzi et al., 2020). En Ecuador el límite permisible es de 0,5 mg kg⁻¹ de Cd en suelo de acuerdo al Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente en el Ecuador (TULSMA, 2015).

Nanotecnología

Nanopartículas Multicomponente

El uso de nanopartículas en procesos ambientales se ha convertido en una tecnología para la descontaminación de suelos con aplicación, inmovilización y/o descomposición in situ de contaminantes, incluidos los metales pesados, reduciendo su movilidad y biodisponibilidad. (Kidd et al., 2015; Rathor et al., 2017).

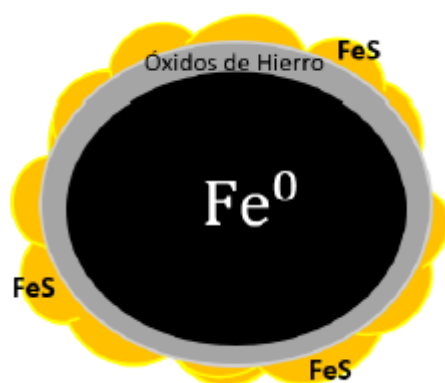
Las propiedades únicas de las nanopartículas, como su tamaño (de 1,0 a 100 nm), su alta relación superficie-volumen y su alta reactividad in situ. (Gupta et al., 2011), las han vuelto muy atractivas para su uso en diversas aplicaciones de procesos para sitios contaminados con hidrocarburos, organoclorados, pesticidas y metales. (Kumari & Singh, 2016).

Contienen dos o más elementos diferentes que juntos forman nanopartículas multicomponente (NPsMC). A diferencia de las nanopartículas de un solo componente, la adición de dos o más componentes puede agregar propiedades físicas y químicas únicas a las partículas, como actividad antimicrobiana, capacidad magnética y otras propiedades (Zeng & Sun, 2008).

Las nanopartículas multicomponente tienen un alto potencial para diversos usos, incluida la separación biológica, la liberación controlada de fármacos, la catálisis y la eliminación de contaminantes. (Kim et al., 2011). Entre las NPsMC preparadas hasta ahora, las nanopartículas de Fe / FeS (figura 2) se formaron a través de la reacción entre el hierro soluble y el sulfuro de hidrógeno utilizando borohidruro de sodio (NaBH₄) como agente reductor a temperatura ambiente. (Abril et al., 2018). Los sulfuros de hierro (FeS) han sido reconocidos como materiales valiosos para la remediación ambiental debido a su naturaleza calcificante y capacidad reductora, así como a su fuerte afinidad por los metales pesados y los contaminantes clorados (Kim et al., 2011).

Figura 2

Esquema de nanopartícula multicomponente Fe/FeS



Nota. Tomado de Estudio de la inmovilización de metales pesados presentes en suelos de Portovelo, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC), a nivel de laboratorio por Llumiquinga (2018).

Síntesis Verde de Nanopartículas

El proceso de síntesis de materiales a escala nanométrica requiere el consumo de muchos reactivos químicos tóxicos, lo que significa altos costos, además del daño ambiental asociado. La búsqueda de nuevos métodos de síntesis de estos nanomateriales ha allanado el camino para el surgimiento de la biosíntesis de nanopartículas de manera respetuosa con el medio ambiente y que además su uso en algunas ocasiones iguala o supera las expectativas de las nanopartículas sintetizadas por métodos físicos y químicos, en cuanto a costo y características de las nanopartículas obtenidas (Ledezma et al., 2014).

En este método, la reducción de metales ocurre mediante el uso de extractos de plantas y organismos con poder antioxidante, lo que reduce el uso de reactivos químicos como el borohidruro de sodio (NaBH_4) (Campos et al., 2019). Los agentes reductores naturales tienen una alta capacidad antioxidante gracias a sus componentes como terpenoides, polifenoles, azúcares, alcaloides y aminoácidos que son capaces de reducir los cationes en soluciones de sales minerales (Makarov et al., 2014).

Además, dado que estas partículas se unen a los residuos orgánicos de los extractos de plantas, en ocasiones es posible estabilizar estas partículas de tamaño nanométrico y evitar que se aglomeren y/o se oxiden. Otra gran ventaja de utilizar métodos de química verde es la capacidad de controlar el tamaño de las nanopartículas cambiando la concentración del extracto vegetal utilizado sin el uso de estabilizadores como polímeros y tensioactivos. (Neira, 2015).

Flor de Jamaica

La Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es una planta herbácea anual que puede crecer de 3 a 5 metros y pertenece a la familia Malvaceae. Es originaria de África tropical y actualmente se cultiva en México, América Central y del Sur y el Sudeste Asiático. (Castillo, 2017).

Figura 3

Planta de *Hibiscus sabdariffa*



Nota. Tomado de Efecto de uso del extracto de la Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como colorante natural y fuente de antioxidantes en las características fisicoquímicas de yogur sabor a fresa por Castillo (2017).

Específicamente los cálices contienen ácidos orgánicos (cítrico, hibiscico, málico, tartárico, oxálico) mucílagos, flavonoides, polifenoles y saponinas; antocianinas (delfidina, gosipetina, hidroxiflavonas, hibiscina y glucósidos), fitosteroles, pectina, ácido aspártico, ácido galacturónico y azúcares como ramnosa, galactosa, arabinosa, xilosa y mannosa (Carvajal et al., 2012). Estas biomoléculas presentes en la planta de flor de Jamaica juegan un papel importante en la reducción de iones metálicos a sus respectivos nanomateriales, ayudando también a que

las nanopartículas metálicas permanezcan estables durante largos períodos de tiempo. Además, los extractos de plantas son fáciles y seguros de manejar y contienen muchos metabolitos que pueden ayudar a reducir las sales metálicas a nanopartículas. (Mishra et al., 2015).

Lo más destacable de la planta es el cáliz, carnoso y de un color rojo intenso. El color de cálices de Jamaica está relacionado con el contenido de las principales antocianinas que posee esta planta que son: la cianidina-3-glucósido y la delphinidina-3-glucósido (Escobar et al., 2020).

Figura 4

Cálices de Flor de Jamaica

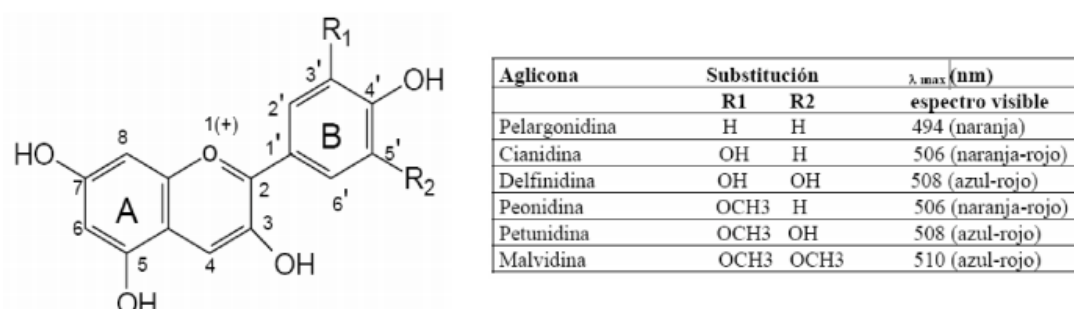


Las antocianinas son glucósidos de la familia de los flavonoides, su estructura consiste en dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres carbonos a través de enlaces beta-glucosídicos, y estas sustancias constituyen el principal grupo de pigmentos hidrosolubles naturales que pueden detectarse en la región visible del ojo humano (Garzón, 2008). Son seis

grupos diferentes de antocianidinas que pueden ser encontradas en la naturaleza de la que se derivan una infinidad de antocianinas, con diversas pautas de glicosidación (Ortiz *et al.* 2011).

Figura 5

Estructura y sustituyentes de las antocianinas



Nota. Tomado de Efecto de uso del extracto de la Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como colorante natural y fuente de antioxidantes en las características fisicoquímicas de yogur sabor a fresa por Castillo (2017).

Capítulo 2

Materiales y Métodos

Participantes

El presente proyecto de titulación fue desarrollado por Daniela Fernanda Vera Rivadeneira, bajo la dirección y cooperación del Ing. Luis Cumbal, Ph.D como director del proyecto de investigación.

Zona de Estudio

Las muestras de suelo se tomaron en fincas cacaoteras privadas en el Sector de Quiñonez del cantón Flavio Alfaro, ubicado en la provincia de Manabí, ocupando las siguientes coordenadas Norte: 9926300 / 9963140 y Este: 611270 / 666930.

El trabajo de experimentación se desarrolló en el laboratorio de Materiales Avanzados perteneciente al Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT), ubicado en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Av. El Progreso s/n vía Amaguaña, Sangolquí, cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha, Ecuador, cuyas coordenadas son Latitud 0°18'53,891" (Oeste), Altura Elipsoidal 2518.640 m.

Caracterización física del suelo

Toma de muestra

Se identificó y muestreó el suelo de dos fincas cacaoteras pertenecientes a la familia Minaya Moreira en el sector de Quiñonez, la primera cercana a las riveras de un riachuelo y la segunda en lo alto de una colina llamada Cerro de Oro. Se recogió una muestra combinada de cada finca, es decir se tomaron submuestras de diferentes árboles a una profundidad entre 0 a 15 cm y posteriormente se homogenizaron para recolectar 1000 gramos de suelo en fundas ziploc y colocarlas en un cooler para su posterior traslado al laboratorio.

Figura 6

Plantaciones de cacao en Flavio Alfaro

**Granulometría**

El método de ensayo granulométrico se realizó de acuerdo a la norma ASTM D-422, primeramente se tamizó el suelo en los tamices N°40 (0,425 mm) y N°200 (0,075 mm) saturándolos con agua, hasta que el agua resultante del lavado sea cristalina, por otra parte se pesó una cápsula vacía y luego se agregó el suelo húmedo proveniente del lavado y se volvió a pesar. Esta muestra fue llevada al horno durante 24 horas a 50°C. Se pesó la cápsula que contenía el suelo seco y posteriormente ser tamizado en mallas N°4 (4,76mm), N°10 (2 mm), N°40 (0,425 mm) y N°200 (0,075 mm), finalmente se pesó la ración de suelo que quedó acumulado en cada tamiz.

Determinación de densidad aparente húmeda y densidad aparente seca

La densidad aparente húmeda fue medida en el laboratorio, para ello se pesó una probeta de 50 cm³ vacía (M_p), después en la probeta hasta un volumen de 25 cm³ se colocó la muestra de suelo húmedo (V_t), y se pesó esta junto con el suelo (M_t). Para determinar la densidad aparente seca del suelo, se golpeó levemente a la probeta con el fin de reducir los espacios de aire de la muestra y se pasó a secar en la estufa a 105°C; finalmente se pesó la probeta con el suelo seco (M_s), (Forsythe, 1985). Se utilizó las Ec. 1 y Ec. 2 para realizar los cálculos correspondientes.

$$\text{Densidad total} \rightarrow \gamma_t = \frac{M_t - M_p}{V_t} \quad \text{Ec. 1}$$

$$\text{Densidad seca} \rightarrow \gamma_s = \frac{M_s - M_p}{V_t} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

M_t : Peso de la probeta y suelo húmedo

M_p : Peso de la probeta

M_s : Peso de la probeta y suelo seco

V_t : Volumen de 25 cm³

Determinación de la porosidad del suelo

Se calculó la porosidad total del suelo que se refiere a todo el espacio que no se encuentra ocupado por fracciones sólidas, minerales u orgánicas; diferentemente si este está ocupado por agua o aire al momento del muestreo. A partir de la densidad real y aparente del

suelo se aplicó la Ec. 3 y para su análisis se usó la tabla 1. de clasificación de la porosidad del suelo (Jordán, 2006).

$$P = \left(1 - \frac{D_a}{D_r}\right) \times 100 \quad \text{Ec.3}$$

Donde:

P: Porosidad expresada en porcentaje

D_r: Densidad real

D_a: Densidad aparente

Tabla 1

Clasificación de la porosidad del suelo

Porosidad total %	Interpretación
<30	Muy baja
30-40	Baja
40-50	Media
50-60	Alta
>60	Muy Alta

Caracterización química

pH del suelo

Se preparó una solución 1: 2,5 (suelo: agua), se agitó durante 1 hora y se dejó decantar 30 min (Beretta et al., 2014). El pH del suelo se determinó por el método potenciométrico y se

usó el pH-metro de marca Mettler Toledo que fue calibrado previamente con soluciones buffer de pH 4.00, 7.00 y 10.00. Luego se introdujo el electrodo en la muestra y se procedió a realizar la lectura de pH.

Determinación de materia orgánica del suelo (MO)

El contenido total de materia orgánica que posee el suelo se determinó por el método de calcinación de acuerdo a la norma NEN 5754. Para esto, se pesó 10 g (W_i) de suelo seco en una cápsula de porcelana que se colocó en un horno mufla a una temperatura de 600°C por 6 h. Al cumplirse ese tiempo en el que se produjo la calcinación de la muestra se sacó el crisol y se colocó dentro de un desecador hasta que se enfríe, finalmente se pesó la cápsula de porcelana con el suelo calcinado (W_f). Se utilizó la Ec. 4 para determinar la cantidad de materia orgánica que se perdió durante el proceso de calcinación, en donde se aplica la diferencia de peso entre las medidas antes y después de calcinar (Valdiviezo, 2016).

$$\%MO = \left(\frac{W_i - W_f}{W_f} \right) \times 100 \quad \text{Ec. 4}$$

Determinación de la capacidad de intercambio catiónico del suelo (CIC)

Se pesó 10 g de suelo seco previamente tamizado por la malla número 10, se colocó el suelo en un tubo falcon y se añadió 25 mL de acetato de amonio 1N, posteriormente se agitó la muestra en un rotor mecánico durante 30 min, transcurrido ese tiempo se centrifugó el contenido por 20 min, del cual el sobrenadante fue descartado. El precipitado restante se lavó tres veces con agua desmineralizada, al precipitado de suelo lavado se le añadió 25 mL de cloruro de sodio al 10%, para filtrarlo a través de un embudo Buchner, se desechó el suelo y se

conservó el filtrado. Al filtrado se le agregó 10 mL de formol al 37 %, fue agitado manualmente y se colocó 4-5 gotas de fenolftaleína. Finalmente la solución se titula con hidróxido de sodio 0,5N hasta que cambie a color rosado tenue (ver figura 7) (Chávez, 2015; Jaramillo, 2002).

Figura 7

Titulación química de las muestras con hidróxido de sodio 0,5N.



Se calculó la CIC con la siguiente ecuación (Ec. 5):

$$CIC \left(\frac{meq}{100 \text{ g suelo}} \right) = \frac{(V_{muestra} - V_{blanco}) \times N_{NaOH} \times 100}{g \text{ de muestra}} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

V muestra: mL de titulante gastado en la muestra

V blanco: mL de titulante gastados en el blanco

N_{NaOH} : normalidad del titulante

Determinación de carbonatos y sulfatos en el suelo

Para determinar carbonatos se colocó en agitación durante dos horas una solución con 50 g de suelo en 250 mL de agua, de esta solución se tomó una alícuota de 15 mL y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 150 mL. Además, se preparó una solución de 250 mL de ácido sulfúrico 0,01N, 100 mL de indicador de naranja de metilo y 100 mL de fenolftaleína.

A la alícuota de 15 mL de solución de suelo se le adicionó 1 gota de fenolftaleína. Al existir cambio de color, se añadió con ayuda de una bureta gotas de ácido sulfúrico 0,01N, hasta que el color desapareció. Después se añadió a la solución de suelo dos gotas del indicador de naranja de metilo y se tituló con ácido sulfúrico 0,01N hasta que la solución se tornó color canela. Se anotó el volumen de ácido consumido de las dos titulaciones.

Se utilizó la Ec. 6 y Ec. 7 para obtener los carbonatos y bicarbonatos.

$$CO_3 \text{ (meq/L)} = \frac{2y \times N \times R \times 1000}{W_t} \quad \text{Ec. 6}$$

$$HCO_3 \text{ (meq/L)} = \frac{(t-2y) \times N \times R \times 1000}{W_t} \quad \text{Ec. 7}$$

Donde:

y = volumen gastado en la primera titulación

t = volumen gastado en la segunda titulación

N = normalidad de la solución H₂SO₄

R= radio entre el volumen total del extracto y el volumen del extracto utilizado para la titulación

W_t = peso de la muestra de suelo

La presencia de aniones sulfato en la solución de suelo se detectó por medio del equipo *Ion Chromatography System* de marca DIONEX modelo ICS-1100, para ello previamente se procesó la muestra de suelo debido a que la muestra a inyectar en el equipo debe ser líquida, por lo que para obtener esta solución de suelo líquida se pesaron 3 g de la muestra y se disolvió en 30 mL de agua desionizada. Se llevó a baño ultrasónico por 30 min y se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,45 μm . Las muestras se inyectaron por medio de un automuestreador para ser analizadas.

Determinación de metales contenidos en el suelo

Se utilizó el método de digestión secuencial establecido por Tessier 3111-B y 3114-C para la determinación de cadmio en cada fracción del suelo (Tessier et al., 1979) y el sistema de digestión ácida asistida por microondas para el análisis de elementos traza totales de Fe, Mn y Cd.

Proceso de extracción secuencial de cadmio desde muestras de suelos

Fracción intercambiable. –Se pesó 1 g de suelo y se agregó 8 mL de acetato de sodio 1M (pH= 8,2). La mezcla fue agitada durante una hora a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó por 15 min a 3800 rpm, recuperando en tubos de ensayo el sobrenadante. La fracción sólida resultante de la centrifugación se lavó 3 veces con agua desmineralizada.

Fracción unida a carbonatos. - A los tubos lavados anteriormente, se añadieron 8 mL de acetato de sodio 1M (pH=5, regulado con ácido acético) y se agitó por 5 h a temperatura ambiente. Después el contenido se centrifugó por 15 min a 3800 rpm, se recuperó el sobrenadante y el precipitado en los tubos se lavó 3 veces con agua desmineralizada.

Fracción unida a óxidos de hierro y manganeso. – Se añadieron a los tubos lavados anteriormente 20 mL de cloruro de hidroxilamina 0,04M en 25% (v/v) de ácido acético, el contenido se agitó ocasionalmente, manteniendo una temperatura de 96°C por 6 h en baño maría. Posteriormente, los tubos se centrifugaron por 15 min a 3800 rpm, se recuperó el sobrenadante y el precipitado en los tubos se lavó nuevamente 3 veces.

Fracción unida a materia orgánica. – Se añadió 3 mL de ácido nítrico 0,02 M y 5 mL de peróxido de hidrógeno al 30% (pH=2, regulado con ácido nítrico) y el contenido se agitó por 2 h a 85°C en baño maría. Pasado ese tiempo se colocó 3 mL de peróxido de hidrógeno al 30% (pH=2) agitando ocasionalmente durante 3 h más a 85 °C. Finalmente, se dejó enfriar los tubos por una hora y se añadió 5 mL de acetato de amonio 3,2 M en 20%(v/v) de ácido nítrico, además se diluyó la mezcla con agua desmineralizada hasta 20 mL. El contenido se agitó por 30 min a temperatura ambiente, se centrifugó y recuperó el sobrenadante.

Fracción residual. – Después de los lavados, a los tubos se agregaron 8 mL de agua regia (1:4, HNO₃:HCl) y el contenido se agitó por 48 horas a temperatura ambiente.

Los sobrenadantes recuperados de cada fracción se filtraron a través de filtros de 0,45 μm y 0,22 μm para su posterior análisis de la concentración de Cadmio mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA) marca Perkin Elmer AAnalyst 800 y su lectura se realizó empleando el método de flama. Los resultados obtenidos se los expresó en mg de contaminante/kg de suelo (ppm) con el fin de que se pueda comparar con el límite máximo de cadmio permisible en el suelo establecido en la normativa ambiental.

Para ello se utilizó la siguiente ecuación (Ec. 8):

$$Cd \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{[Concentración\ del\ metal\ \left(\frac{mg}{L} \right)] \times [Volumen\ de\ la\ muestra\ (mL)]}{[Peso\ de\ la\ muestra\ (kg)] \times \frac{1000\ mL}{1\ L}} \quad \text{Ec. 8}$$

Descripción del proceso de digestión ácida asistida por microondas

Se pesó 1g de muestra de suelo y se agregó 8 mL de agua regia (1:4, HNO_3 :HCl). La mezcla fue agitada durante varios segundos hasta lograr homogenizar. Posteriormente la mezcla se trasladó a los tubos en el digestor del microondas de modelo Multiwave 5000 marca Anton Paar previamente calibrado según las instrucciones del fabricante. Se recuperó el sobrenadante después del proceso de digestión y se filtró utilizando filtros de 0,45 μm y 0,22 μm para su posterior análisis de la concentración total de hierro, manganeso y cadmio mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA), su lectura se realizó empleando el método de flama.

Obtención y caracterización del extracto vegetal

Preparación de la muestra

En esta investigación se utilizó la planta de Flor de Jamaica para la obtención del extracto vegetal necesario para la síntesis de nanopartículas multicomponente, los cálices de flor de Jamaica se adquirieron en el Mercado “27 de febrero” de la ciudad de Macas, provincia de Morona Santiago. Una vez obtenida la materia prima se seleccionaron los cálices en estado fresco y que no presentaban lesión, se secaron en una estufa al vacío a 40°C y 0,06 Mpa para evitar la contaminación de la muestra (ver figura 8). La muestra seca fue pulverizada en una licuadora Oster hasta obtener un polvo fino.

Figura 8

Selección, secado y pulverizado de cálices de flor de Jamaica



Maceración y obtención del extracto vegetal

El extracto de flor de Jamaica se obtuvo por extracción sólido-líquido según el método de (Salazar-González et al., 2012) con algunas modificaciones, muestra seca pulverizada se colocó en un erlenmeyer de vidrio de 500 mL de capacidad, el cual fue protegido de la luz con

papel aluminio. La maceración se realizó usando un solvente polar: Etanol:Agua, en proporción (70:30%, v/v), el erlenmeyer fue sellado con parafilm para evitar la evaporación del solvente y se agitó en un agitador orbital digital SHO-2D WISD durante 24 horas, la muestra se filtró con papel filtro Whatman N°2 (125mm) y el proceso se repitió hasta agotamiento del pigmento. El extracto líquido filtrado se concentró en un rotavapor marca Buchi R-210, a una temperatura de 40°C y 20mbar de presión con rotación de 150rpm para la obtención de extracto sólido en forma de cristales y la recuperación del solvente (ver figura 9). Los cristales solidos se almacenaron en frascos color ámbar sellados en un desecador a temperatura ambiente.

Figura 9

Filtrado y concentración del extracto de flor de jamaica



Cuantificación de fenoles totales

En el extracto se determinó el contenido total de fenoles, (TCP, por sus siglas en inglés: Total Phenolic Content) por medio del cambio de coloración debido a la oxidación de compuestos fenólicos utilizando el reactivo Folin Ciocalteu (FC).

Se utilizó la metodología de Shahidi y Naczk (1995), en donde se tomó 0.5 mL de extracto o de estándar fenólico diluido (1:10, v/v) más 5mL del reactivo Folin Ciocalteu previamente diluido en agua destilada (1:10, v/v) y 4mL de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3 , 1M). La mezcla de las soluciones fue calentada en baño maría a 45°C durante 15 min. Se preparó una curva de calibración estándar con 0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/L de ácido gálico en metanol-agua (50:50, v/v) ya que el contenido de fenoles se expresa en equivalentes de ácido gálico (mg/g masa seca). El TCP se leyó a una absorbancia de 765nm por espectroscopia de absorción de luz ultravioleta y visible (UV-vis) (Mohankumar et al., 2017).

Espectroscopia de absorción de luz ultravioleta y visible (UV-vis)

Para obtener los espectros del extracto se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis marca Analytikjena modelo SPECORD S600, en una celda de cuarzo se colocó 2,5 mL de agua destilada y 5 μL de extracto de flor de Jamaica homogenizando ambas soluciones y se leyó la absorbancia con acumulación de 20 e integración de 100 ms.

Síntesis de nanopartículas multicomponente

Según el método de Kim (2011), con algunas modificaciones se preparó nanopartículas multicomponente de Fe/FeS, para ello se utilizó cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), borohidruro de sodio (NaBH_4), tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), sulfito de sodio (Na_2SO_3), extracto de flor de Jamaica y agua destilada.

Se preparó una solución de Na_2SO_3 0,26 mg/L, para poder obtener una atmósfera inerte durante el proceso de síntesis y evitar la oxidación de los compuestos, en un matraz se colocó 13,52 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,5 M que se disolvió en 100 mL de sulfito de sodio y se añadió 0.5 mL de extracto de flor de Jamaica, homogenizando de manera constante. Se preparó una solución de NaBH_4 0,8M y se dejó reposar durante 1 min, a esta solución se agregó 0,4 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Después, la solución resultante con la ayuda de una bureta se añadió gota a gota en una relación 3:1, es decir 30 mL de NaBH_4 en 10 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ con extracto, se dejó en agitación por un tiempo de 30 min. Al finalizar el proceso se observó la formación de un precipitado de color negro indicativo de la formación de nanopartículas de Fe/FeS. Para purificar las nanopartículas se realizaron tres lavados con agua destilada y con la ayuda de un imán, se obtuvo una concentración de nanopartículas multicomponente de 0,04 mg/mL.

Caracterización de nanopartículas multicomponente

Técnicas de caracterización físico-químicas

Para determinar el tamaño y la distribución de las nanopartículas multicomponente se realizaron mediciones en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS, Dynamic Light Scattering Particle Size Analyzer) de marca HORIBA, modelo LB-550. Para ello, en una celda de cuarzo se añadió 3 mL de agua destilada y 20 μL de solución de nanopartículas, la muestra fue homogenizada y colocada dentro del analizador de partículas.

Se analizó la estructura cristalina de las nanopartículas mediante un equipo de difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés *X-Ray diffraction*), para el análisis se colocó en el porta muestras la solución de nanopartículas previamente fijada y secada en un

portaobjetos. Finalmente con las bases de datos cristalográficas se pudo llevar a cabo una identificación de fases cristalinas presente en las muestras. El análisis fue realizado por la Ing. Karla Vizuite, técnico del laboratorio de Caracterización de Nanomateriales ESPE.

La composición química de las nanopartículas se determinó mediante espectrometría de energía dispersiva (EDS, por sus siglas en inglés *Energy dispersive spectrometry*) por la Ing. Karla Vizuite en el microscopio electrónico de barrido (SEM) marca TESCAN, modelo MIRA3. Se colocó la muestra en el carrusel del SEM previamente recubierto con una cinta de carbón y se realizó el análisis en diferentes puntos de la muestra.

Para medir la reactividad de las nanopartículas multicomponente se preparó una solución de 5 mg/L de sulfato de cadmio (CdSO_4)₃ * 8H₂O. En tubos falcon de 15 mL se añadió 10 mL del agua dopada y se adicionó 1mL de solución de nanopartículas. Se agitó en un agitador rotativo mecánico y se extrajo alícuotas a los 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240 y 360 min de haber puesto en contacto las nanopartículas con el agua sintética, posteriormente las muestras fueron filtradas y leídas en el espectrofotómetro de absorción atómica (EAA).

Técnicas de caracterización morfológica

La caracterización morfológica de las nanopartículas se realizó a través de un microscopio electrónico de transmisión TEM (TECNAI TWIN SPIRIT A 80 kV), para ello se depositó 10 µL de solución de nanopartículas en una rejilla de cobre que se colocó en el carrusel del microscopio para la obtención de imágenes a una escala de 100 nm y 500 nm en donde se observa la distribución y tamaño de las mismas, las imágenes fueron analizadas en el software

ImageJ. El análisis fue realizado por el Dr. Alexis Debut, PhD en el laboratorio de caracterización de nanomateriales.

Isotermas de adsorción de cadmio en el suelo

El ensayo se realizó por lotes con una solución de sulfato de cadmio ($3 \text{ CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) que se preparó a diferentes concentraciones: 2, 5, 10, 15, 20, 40 y 80 ppm de Cd^{2+} . Se dosificó por triplicado 200 mL de cada concentración en botellas de mayor capacidad y se añadió a cada una, 2 gramos de suelo (figura 10) y el contenido se agitó en un agitador rotativo durante 48 h.

Figura 10

Soluciones de sulfato de cadmio a diferentes concentraciones con 2 g de suelo



Finalmente, éstas se filtraron a través de un sistema de vacío con filtros de membrana de $0.45 \mu\text{m}$ y con filtros de jeringa de $0.22 \mu\text{m}$. Para la lectura del cadmio se realizaron diluciones a las muestras y fueron leídas en el espectrómetro de adsorción atómica por el método de flama.

Se calculó la capacidad que tiene el suelo de adsorción de cadmio con la ecuación (9):

$$q_t = \frac{(C_o - C_e) \times (V)}{W} \left(\frac{mg}{g} \right) \quad \text{Ec. 9}$$

Donde:

q_t : capacidad de adsorción en un tiempo determinado

C_o : concentración inicial en la fase líquida del metal (mg/L)

C_e : concentración en equilibrio en la fase líquida del metal (mg/L)

V : volumen de solución (L)

W : masa del adsorbente usado (g)

Los resultados de ensayos se ajustaron a los modelos de adsorción de Freundlich y Langmuir (Albis et al., 2017).

Modelo de isoterma de Freundlich

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad \text{Ec. 10}$$

Donde:

K_F : constante de isoterma de Freundlich ($mg^{1-(1/n)} L^{1/n} g^{-1}$)

n : intensidad de adsorción

C_e : concentración de equilibrio del adsorbato (mg/L)

q_e : capacidad de adsorción en equilibrio (mg/g).

La expresión linealizada de la ecuación de Freundlich se obtiene aplicando logaritmos a la

Ec. 10

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Ec. 11}$$

Modelo de isoterma de Langmuir

$$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad \text{Ec. 12}$$

Donde:

K_L : constante de isoterma de Langmuir (L/mg)

C_e : concentración de equilibrio del adsorbato (mg/L)

q_{\max} : capacidad máxima de adsorción de la monocapa (mg/g)

q_e : capacidad de adsorción en equilibrio (mg/g).

La ecuación de Langmuir en su forma lineal se expresa de la siguiente manera:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{\max} K_L} + \frac{C_e}{q_{\max}} \quad \text{Ec. 13}$$

Cinética de adsorción de cadmio

Para determinar la cinética de adsorción de cadmio se utilizaron las botellas con concentraciones de 2, 5, 10, 15, 20, 40 y 80 ppm de Cd^{2+} y suelo preparadas en el ensayo de isotermas de adsorción, de cada botella se extrajeron alícuotas de 2 mL en intervalos de tiempo de 5, 10, 30, 60, 120, 240 min, 6, 15, 24 y 48 h, a las que se colocó 10uL de ácido nítrico para

disociar el cadmio de los sedimentos presentes en la alícuota. Se utilizó filtros de membrana de 0.45 μm y filtros de jeringa de 0.22 μm para filtrar las muestras y leerlas en el EAA por método de flama.

La cinética de adsorción de cadmio en el suelo fue determinada usando el modelo de pseudo segundo orden desarrollado por Ho y McKay y presentado en 1999. Este modelo de reacción cinética está representado de la siguiente forma (Hameed et al., 2007):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 (q_e)^2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{Ec. 14}$$

Donde:

k_2 : constante de velocidad de pseudo segundo orden, (g/mg. s)

Aplicación de nanopartículas multicomponente usando columnas de lecho fijo para la determinación del porcentaje de inmovilización de Cd

La evaluación de los porcentajes de inmovilización de cadmio en suelos cacaoteros se hizo por medio de un prototipo de columnas a nivel de laboratorio. Se empaquetó las columnas con una base de papel filtro y posteriormente se adicionó 25 g de suelo, se saturó el suelo con 30 mL de agua destilada y se aplicaron distintos volúmenes de nanopartículas, ver Tabla 2 y figura 11. El ensayo de columnas se realizó por triplicado para cada tratamiento y se dejaron en reposo durante 24h para que la solución de nanopartículas penetre en el poro del suelo. Para los tratamientos control se aplicó el mismo procedimiento con modificaciones, un control positivo

al que se le adicionó 30 mL de carbonato de calcio o cal agrícola al 2% (Suguru, 2015), esta enmienda se preparó mezclando 2 g de cal agrícola en 100 mL de agua destilada y un control negativo que fue la aplicación de agua. Se desmontó las columnas y se extrajo el suelo tratado para secarlo en una estufa a 40 °C durante 24 h. Posteriormente, este suelo fue sometido al proceso de extracción secuencial. Los extractos se analizaron por cadmio empleando el equipo de absorción atómica.

Los porcentajes de remoción de cadmio se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_o - C_f}{C_o} \times 100 \quad \text{Ec. 15}$$

Donde:

C_o : concentración inicial de cadmio (mg/kg)

C_f : concentración final del cadmio (mg/kg)

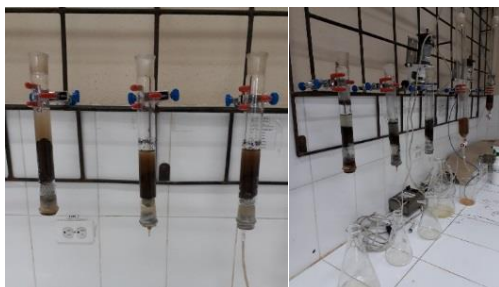
Tabla 2

Volumen de nanopartículas aplicados a las columnas

Tipo de Nanopartícula	Tratamiento	Volumen (mL)
Fe/FeS	V1	28
	V2	14
	V3	7

Figura 11

Ensayo de columnas para la aplicación de NP_sMC en suelo contaminado con cadmio



Análisis Estadístico

Para la inmovilización de cadmio con nanopartículas multicomponente en suelos cacaoteros contaminados se realizó un diseño experimental unifactorial que se aplicó a las dos muestras de suelo para cada una de las cinco fracciones que tiene el suelo con nueve repeticiones:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} es la variable aleatoria que representa la observación j -ésima del i -ésimo tratamiento (nivel i -ésimo del factor).

μ es la media global de las poblaciones de todos los tratamientos

τ_i : efecto del tratamiento i -ésimo. Es la parte de y_{ij} debida a la acción del nivel i -ésimo, que será común a todos los elementos sometidos a ese nivel del factor

i representa tres niveles (7, 14, 28 mL)

E_{ijn} es el error experimental para la i -ésima observación bajo el j -ésimo tratamiento

Por tanto, este diseño factorial constó de 3 tratamientos más 3 blancos con 9 repeticiones cada uno teniendo un total de 54 observaciones, para la muestra de suelo S001 y 54 observaciones para la muestra S002.

Capítulo 3

Resultados y Discusión

Caracterización físico-química del suelo

Caracterización física:

La textura se refiere a la proporción de los componentes inorgánicos del suelo como arena, limo y arcilla. Los resultados se presentan en la Tabla 3 y en Figura 12. De acuerdo a la granulometría de los suelos cacaoteros estudiados, se verifica que el suelo S001 está formado por el 20% de arena y 80% de finos (arcilla) mientras que en el suelo S002 los porcentajes de arena y arcilla son 14% y 86%, respectivamente. Además, se presenta la curva granulométrica (Figura 13). Se observa que el suelo S001 y S002 corresponden a la clase textural arcillosa de acuerdo al diagrama del triángulo textural (USDA, 2000) (ver anexo A), lo que indica que contienen mayor cantidad de arcillas en su estructura. Varas, (2016) menciona que este tipo de suelos posee una buena aptitud agrícola debido a que por su estructura y conformación granulométrica poseen una alta capacidad de retener agua y nutrientes en épocas de sequías.

Tabla 3

Determinación de granulometría para suelos cacaoteros

Tamiz #	RETENIDO						PASA %	
	Parcial (g)		Total (g)		%		S001	S002
	S001	S002	S001	S002	S001	S002		
Nº 4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01%	0,0%	100%	100%
Nº10	0,15	0,03	0,17	0,05	0,13%	0,0%	100%	100%
Nº 40	3,63	2,79	3,80	2,84	2,82%	2,8%	97%	97%
Nº 200	23,60	10,88	27,40	13,72	20,37%	13,5%	80%	86%

Figura 12

Porcentajes de arena y finos que se encuentran en las composición de los suelos cacaoteros.

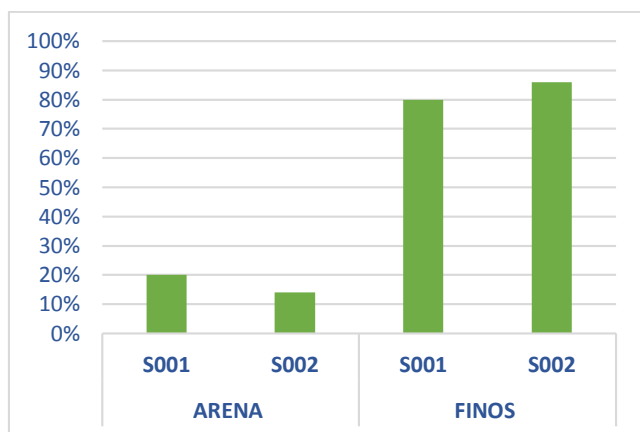
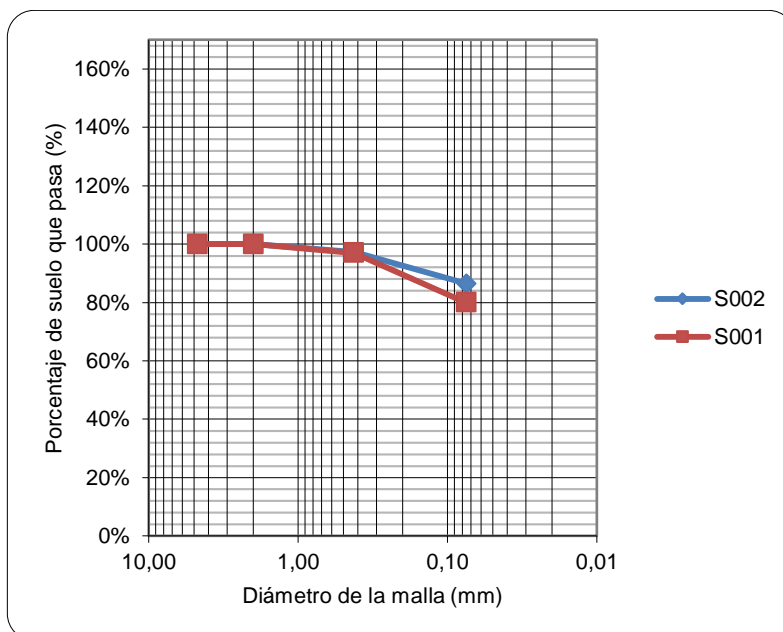


Figura 13

Curva granulométrica de las muestras de suelo S001 y S002



En la Tabla 4 se indican los parámetros físicos adicionales que fueron analizados a las muestras de suelo S001 y S002. De acuerdo a la Tabla 1 y Tabla 4, S001 y S002 poseen una alta porosidad y valores de densidad aparente bajos, resultados característicos de suelos que poseen esta textura (anexo B). El crecimiento radicular en estas plantaciones de cacao no se verá afectado ya que Lutens & Salazar, (2000) señalan que a valores superiores a 1,47 g/cm³ de densidad aparente en este tipo de suelos, se pueden producir afectaciones o inhibición en el crecimiento de las raíces de las plantas.

Tabla 4*Parámetros físicos de las muestras de suelo S001 y S002*

Parámetros	S001	S002
Densidad aparente húmeda	1,32 g/cm ³	1,29 g/cm ³
Densidad real	2,78 g/cm ³	2,75 g/cm ³
Porosidad	52,51%	53,09%

Caracterización química

Las propiedades químicas y físicas del suelo se encargan de condicionar la capacidad productiva de las plantas y de absorción de metales pesados, entre ellos el cadmio. En la Tabla 5 se presentan los parámetros químicos del suelo correspondientes a cada muestra analizada.

Tabla 5*Parámetros químicos de las muestras de suelo S001 y S002*

Parámetros	S001	S002
pH	6,33	6,21
Materia Orgánica	4,20%	6,10%
CIC	8 meq/100g suelo	9,3 meq/100g suelo
Mn (total)	355 mg/kg	340 mg/kg
Fe (total)	10853 mg/kg	11019 mg/kg
Cd (total)	2,32 mg/kg	2,17 mg/kg
Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	4,63 mg/L	3,98 mg/L
Bicarbonatos (HCO ₃ ⁻)	4,33 meq/L	3,66 meq/L

La propiedad del suelo más influyente en la biodisponibilidad y movilidad del cadmio es el pH, Marchive et al., (2021) mencionan que esta condición se debe a que el equilibrio de los procesos de adsorción-desorción y precipitación-disolución de muchos metales pesados son

sensibles al pH. De acuerdo a los valores de pH obtenidos en el suelo S001 y S002, éstos se ubican en promedio en el rango óptimo (5.1 a 7.0) para el desarrollo del cacao, rango reportado por Argüello et al., (2019) en su investigación. Esto no significa que el cadmio no esté biodisponible en este tipo de suelo, por lo contrario, el metal se encuentra más biodisponible a pH ácidos (< 7), de manera que suelos con pH ácido, provocan que las raíces de las plantas aumenten la solubilidad y absorción del metal (Kabata-Pendias & Szteke, 2015). Mientras que en suelos con pH entre 7.5 -8.0 el cadmio se vuelve menos biodisponible debido a la fuerte unión electrostática que tiene con las partículas de suelo o tiende a precipitarse como carbonatos e hidróxidos.

Argüello et al., (2019) reporta que en suelos cacaoteros de Machala se obtuvieron valores alrededor del pH 7 a pH 7.5 e indica que éstos están relacionados con valores de CIC altos y materia orgánica elevada, mientras que a pH ligeramente ácido los contenidos de materia orgánica y de CIC son bajos, como los obtenidos en este estudio (Tabla 5), Ruales et al., (2017) señala que esto es propio de suelos tropicales, debido a que éstos están enriquecidos naturalmente con minerales secundarios como arcillas, óxidos e hidróxidos metálicos, lo que explica su bajo CIC y pH ligeramente ácido. Khan et al., (2017) recomienda que los contenidos de materia orgánica en suelos cacaoteros se los mantenga en altos niveles, esto permitirá que se incremente los sitios de contacto y la formación de complejos estables ayudando a disminuir la biodisponibilidad de cadmio en el suelo. Sin embargo, la presencia de sulfatos en estos suelos (ver Tabla 5) indica que estos aniones no producen un bloqueo significativo que impida la incorporación del cadmio en los coloides del suelo.

Mediante el método de extracción secuencial de Tessier se extrajo las concentraciones de cadmio presentes en cada fracción del suelo (Tabla 6).

Tabla 6

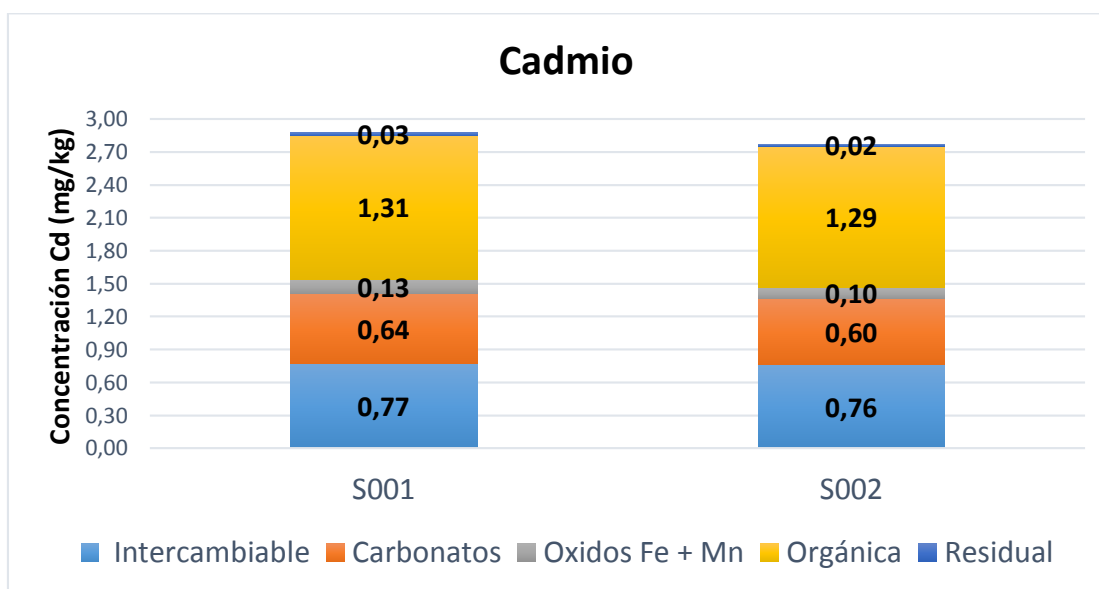
Concentración de Cd en cada fracción del suelo

Concentraciones de Cd (mg/kg)						
Fracciones						
Suelo #	F1 Intercambiable	F2 Unida a Carbonatos	F3 Unida a Óxidos de Fe y Mn	F4 Unida a Materia Orgánica	F5 Residual	Total
S001	0,77	0,64	0,13	1,31	0,03	2,88
S002	0,76	0,60	0,10	1,29	0,02	2,77

El total de Cd presente en S001 y S002 sobrepasa el valor de 0.5 mg/kg de cadmio permisible en el suelo según el Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente en el Ecuador (TULSMA, 2015). Incluso las fracciones biodisponibles que tiene el suelo (ver figura 14, F1 y F2) sobrepasan este límite. Estas fracciones solubles facilitan la movilidad del cadmio en el suelo y al mineralizarse existe mayor disponibilidad para las plantas.

Figura 14

Concentración de cadmio inicial presente en S001 y S002



La muestra de suelo S001 arroja una cantidad total de Cd superior a S002 debido a la presencia de un curso de agua cercano a la finca de donde se obtuvo dicha muestra, lo que significa que el cuerpo de agua a través del tiempo pudo haber sido una fuente relevante de cadmio, esto lo corrobora Chavez et al., (2015) que en su estudio señalaron que niveles elevados de Cd han sido reportados en ríos cercanos al área de estudio del sur del Ecuador.

La fracción con menor cantidad de cadmio corresponde a la fracción unida a óxidos debido a que existen elementos del suelo como Fe (10853-11019 mg/kg) y Mn (340-355 mg/kg) que pueden influir en la absorción de cadmio, Argüello et al.,(2019) en su estudio menciona que los oxihidróxidos de Fe y Mn son fuertes adsorbentes de metales presentando una alta afinidad para unirse al Cd y de esta manera disminuir su biodisponibilidad. La fracción orgánica es la más

estable y más resistente a la mineralización, por lo que en general puede retener los metales pesados, especialmente el Cd, en formas no disponibles al igual que la fracción residual.

Ensayo de isotermas de adsorción del cadmio en suelos

En la figura 15 se muestra la relación que existe entre la cantidad de cadmio adsorbido por unidad de peso de adsorbente y la concentración del metal en la fase líquida en equilibrio. Los resultados experimentales se ajustan mejor a la isoterma de Langmuir para el suelo S001 ($R^2=0.9410$) y el suelo S002 ($R^2=0.9998$) respectivamente (Figura 16b y 16d). Mientras que el ajuste lineal con Freundlich proporciona menores valores del coeficiente de determinación ($R^2=0,9049$ y $R^2=0.9989$) (ver figuras 16a y 16c). Según Noppadol & Pongsakorn (2014) la consistencia de la isoterma de Langmuir puede deberse a que las superficies de los suelos se encuentren cubiertas con una monocapa de partículas metálicas. En la Tabla 7 se indican los parámetros obtenidos del ajuste lineal de las isotermas de adsorción.

Figura 15

Isotermas de adsorción para S001 y S002

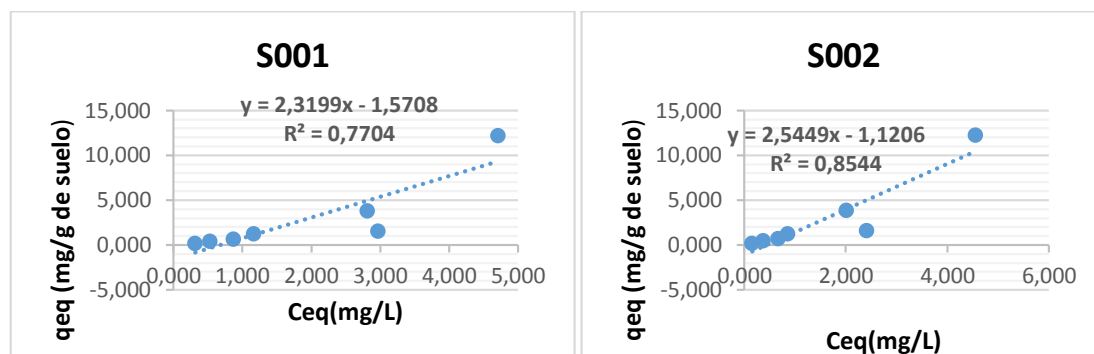


Tabla 7

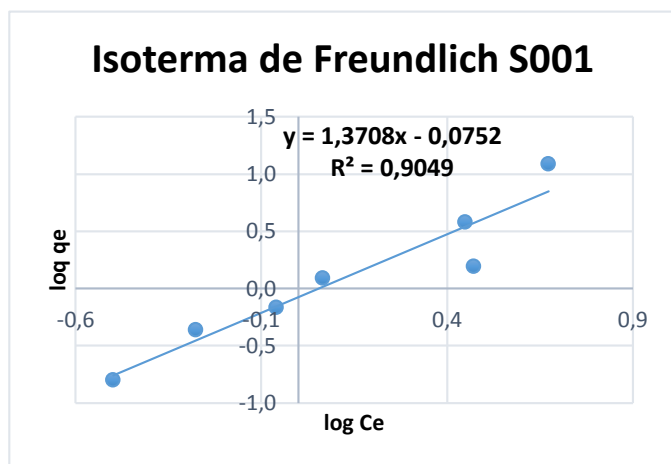
Parámetros obtenidos en el ajuste de isotermas de adsorción

Suelo	Modelo Isotherma de Langmuir			Modelo Isotherma de Freundlich		
	qmax (mg/g)	K _L (L/mg)	R ²	n	K _F (mg/g)(L/mg) ^{1/n}	R ²
S001	1,82	0,5571	0,9410	0,73	0,8410	0,9049
S002	434,78	0,0004	0,9998	1,02	0,1755	0,9989

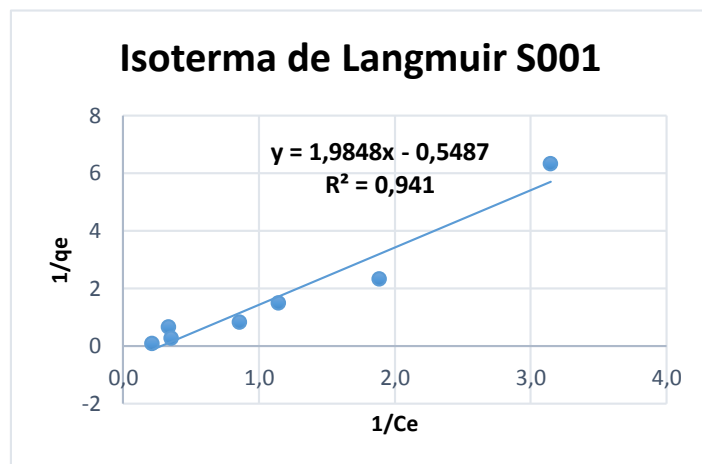
Figura 16

Modelos de Isotermas de Langmuir y Freundlich para S001 y S002

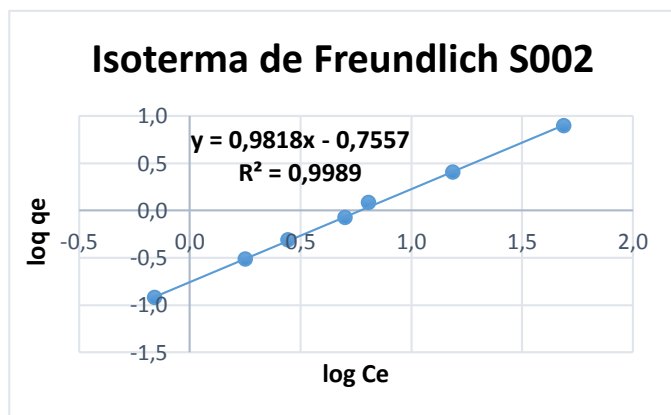
a)



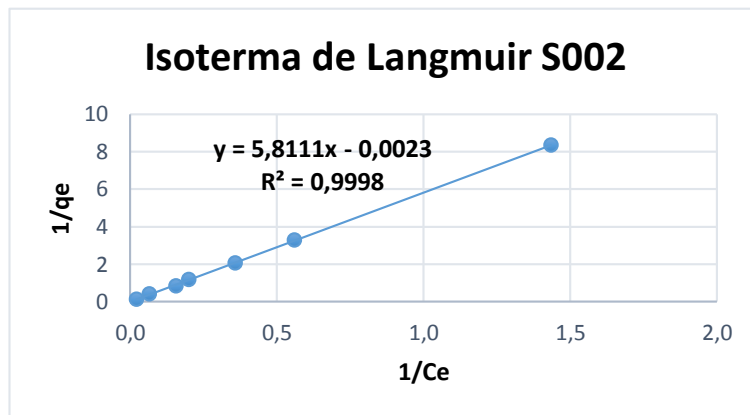
b)



c)



d)

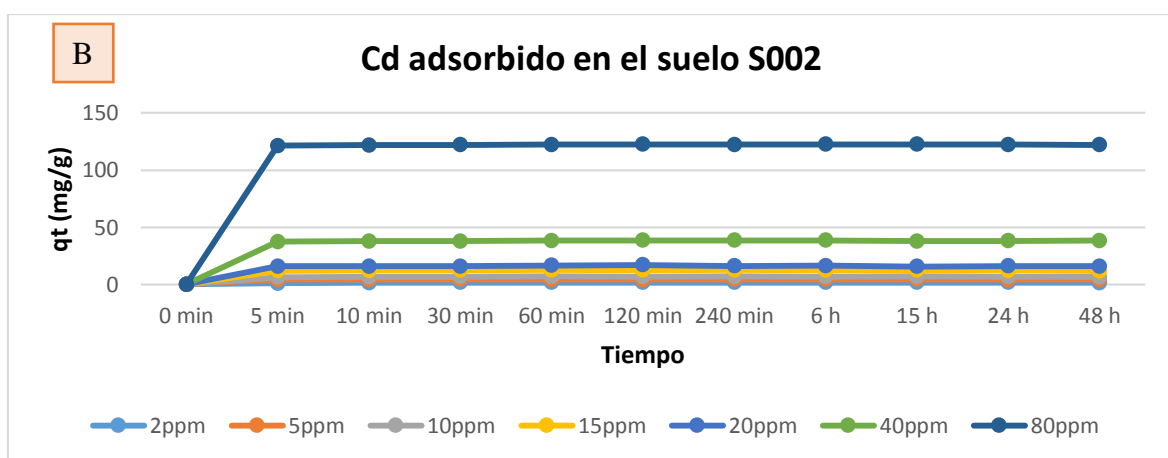
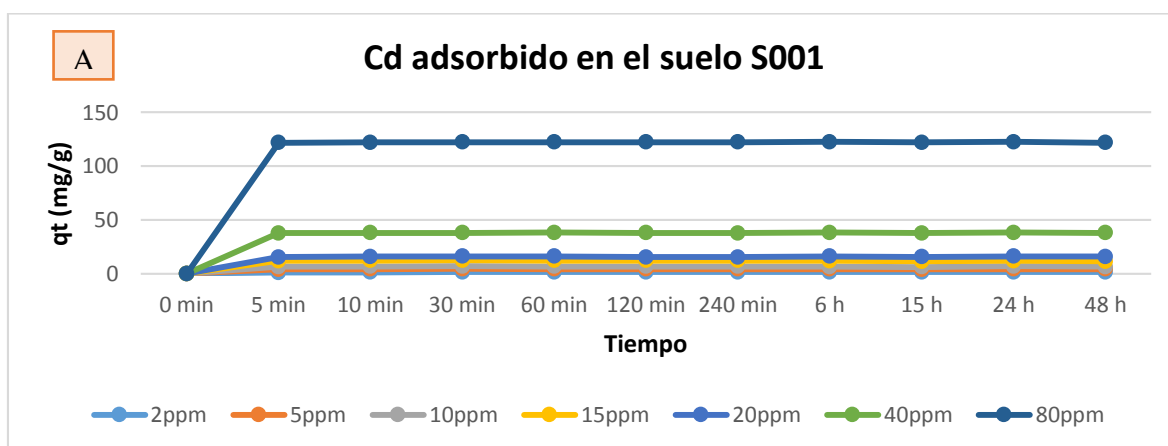


Ensayo de la cinética de adsorción de cadmio en suelos

En la Figura 17 se muestra como el suelo adsorbe cadmio ante diferentes concentraciones del metal vs tiempo. Se observa que a los 5 min llega a un máximo de adsorción que se mantiene constante hasta las 48 h, esto ocurre en el suelo S001 (figura 17.A) y S002 (figura 17.B). Según He et al., (2020) esto ocurre cuando los sitios de unión o los microporos en la superficie del adsorbente (suelo) se han llenado por completo, es decir, la adsorción alcanza la saturación y la capacidad de adsorción ya no aumenta con el aumento de la concentración de adsorbato (Cd).

Figura 17

Cantidad de cadmio adsorbido a través del tiempo de contacto con la solución en A: S001 y B: S002



De acuerdo a la tabla 8, la cinética de adsorción del cadmio en las muestras de suelo se ajusta muy bien al modelo de pseudo segundo orden, lo que puede interpretarse como que la adsorción ocurre por la formación de enlaces químicos entre adsorbente y adsorbato.

Tabla 8

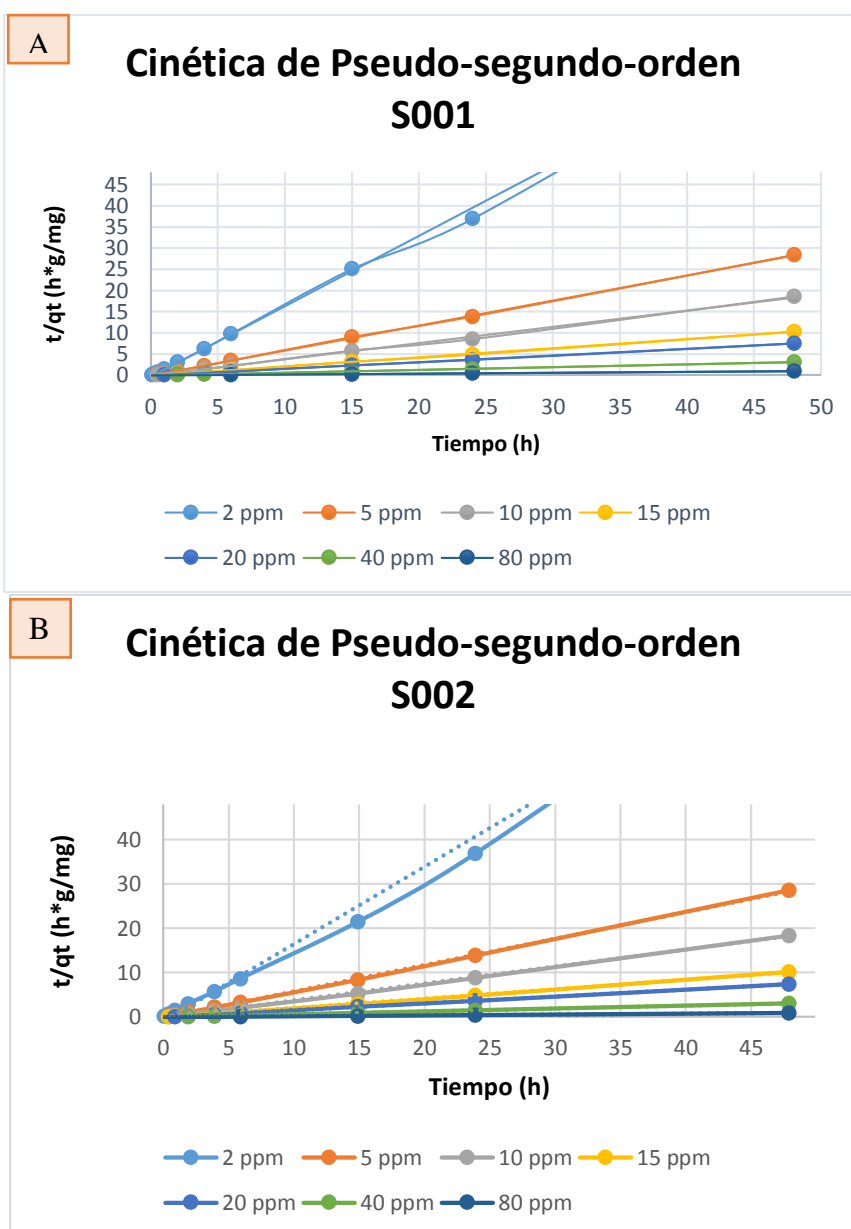
Parámetros de cinética de adsorción de pseudo segundo orden

Co (mg/L)	Modelo Cinético de Pseudo-segundo-orden S001			Modelo Cinético de Pseudo-segundo-orden S002		
	qe,cal(mg/g)	K ₂ (g/mg*h)	R ²	qe,cal(mg/g)	K ₂ (g/mg*h)	R ²
1,898	0,60	0,090	0,999	0,57	0,371	0,994
4,844	1,69	0,031	1,000	1,68	0,310	1,000
7,644	2,60	0,345	0,999	2,62	0,565	0,999
13,446	4,65	0,599	1,000	4,72	1,060	0,999
18,504	6,37	0,118	1,000	6,40	0,156	1,000
40,608	15,20	0,069	1,000	15,31	0,141	1,000
126,928	48,78	0,714	1,000	48,78	0,238	1,000

Los gráficos lineales de los modelos cinéticos de pseudo segundo orden que corresponde a S001 y S002 se pueden visualizar en la figura 18.

Figura 18

Cinética de pseudo segundo orden en A: S001 y B: S002



Biosíntesis de nanopartículas multicomponente

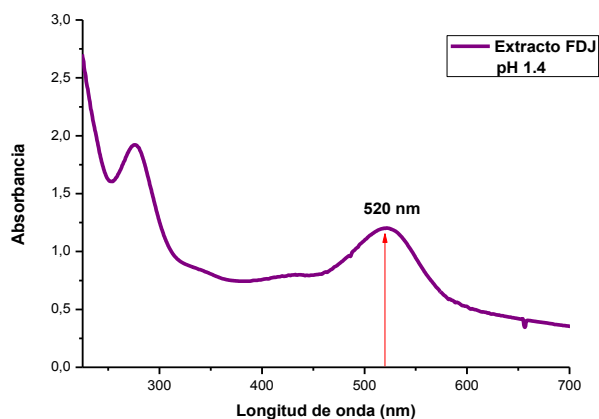
Para la síntesis verde de nanopartículas multicomponente se seleccionó el extracto de flor de Jamaica (FDJ) para minimizar los problemas de contaminación asociados con los métodos convencionales (el uso de estabilizadores tóxicos, disolventes y tensioactivos).

La capacidad reductora de este extracto determinada por el método de Folin-Ciocalteu fue de 3701,8 mg AG/ 100 g Flor de Jamaica (ver Anexo C y D), sin embargo los niveles de fenoles totales determinados de esta manera no son medidas absolutas de las cantidades de materiales fenólicos, sino que de hecho se basan en su capacidad de reducción química en relación con una capacidad de reducción equivalente del ácido gálico (McDonald et al., 2001). Debido a esto, Mystrioti et al., (2014) en su estudio de biosíntesis de nanopartículas de hierro cero-valente manifiestan que el uso de extractos vegetales no es suficiente para una completa reducción de Fe^{+3} a Fe^0 , probablemente porque el poder reductor de los extractos vegetales depende de un tipo específico de polifenol y no está directamente relacionado con el método de Folin- Ciocalteau.

La presencia de compuestos fenólicos en el extracto de FDJ con pH original de 1.4 fue monitoreado a través del espectro UV-vis, en el que se observa un pico de absorbancia a 520 nm (figura 19).

Figura 19

Espectro UV-vis de los polifenoles en la flor de Jamaica

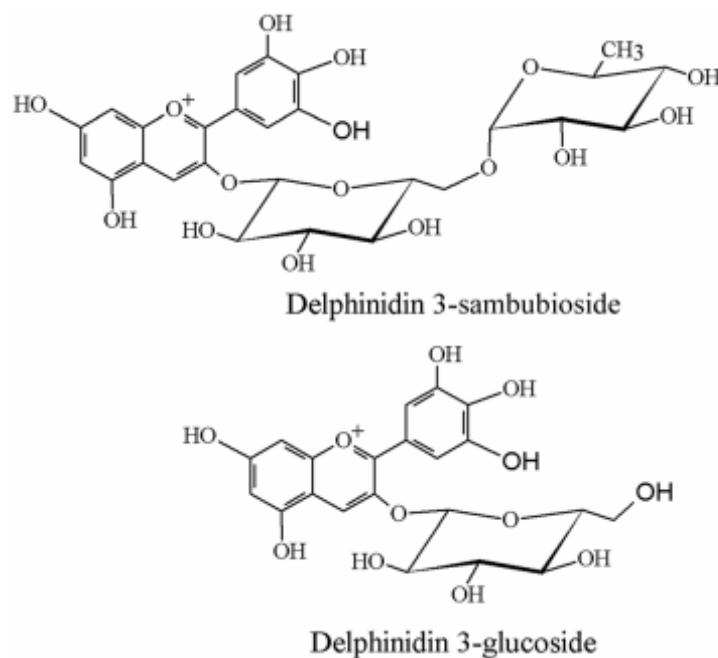


Según Alshehri & Malik, (2017) los principales compuestos de Hibiscus sabdariffa que intervienen en el proceso de síntesis son la delphinidina 3-sambubiósido y delphinidina 3- glucósido que reportan un máximo de absorbancia a 524 nm y 516 nm respectivamente, que en conjunto se observa un máximo de absorción a 520nm (Achir et al., 2018), por lo que el pico observado en el extracto vegetal estudiado puede corresponder a estas antocianinas.

Estos compuestos fenólicos presentan sus grupos hidroxilo (OH) en las posiciones meta (ver figura 20) y según Gade et al., (2011) los compuestos que intervienen en el proceso de reducción son fenoles que tienen grupos hidroxilos en las posiciones para y meta, por efectos de resonancia.

Figura 20

Estructuras químicas de las principales antocianinas que componen el extracto de Hibiscus sabdariffa



Nota. Tomado de Advances Biofabrication of Fe nanoparticles in aqueous extract of Hibiscus sabdariffa with enhanced photocatalytic activities por Alshehri & Malik (2017)

Por el limitado poder reductor del extracto de FDJ, la preparación de las nanopartículas multicomponente de Fe/FeS se decidió realizar por un método típico de co-sulfuración propuesto por Kim et al., (2011) con modificaciones, Se observó que aparecen partículas negras y magnéticas inmediatamente después de agregar una solución de $\text{NaBH}_4 + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ en la solución precursora de Fe^{3+} conteniendo el extracto de flor de Jamaica (ver figura 21 y Anexo E).

Según Xu et al., (2021) este cambio de coloración indica que la nucleación de Fe/FeS ocurre al comienzo del proceso de síntesis.

Su et al., (2015) presenta una serie de reacciones que corresponden al mecanismo de síntesis de nanopartículas multicomponente de Fe/FeS. En la fase de síntesis inicial ocurre un aumento del pH de la solución de FeCl₃ por la adición de la mezcla de NaBH₄ y Na₂S₂O₄. Fe³⁺ solo se reduce a Fe²⁺ (Ec. 16) pero se da una rápida descomposición de Na₂S₂O₄ que produce S⁰ (Ec. 18). En la siguiente fase, debido a que el pH aumenta de ~4 a ~8, se genera abundante cantidad de Fe⁰ (Ec.17) incorporándose así el S⁰ a las nanopartículas de Fe⁰. De tal manera, que a medida que el Na₂S₂O₄ se introduce en la solución, se va a generar una gran cantidad de H₂S (Ec. 20) y posteriormente se produce la formación de sulfuro ferroso (FeS), sulfuro férrico (Fe₂S₃) (Ec. 21).

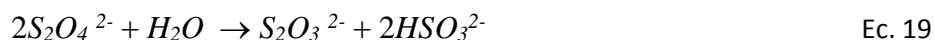
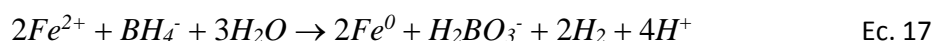
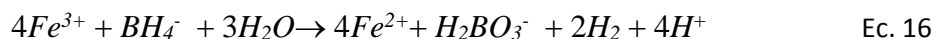
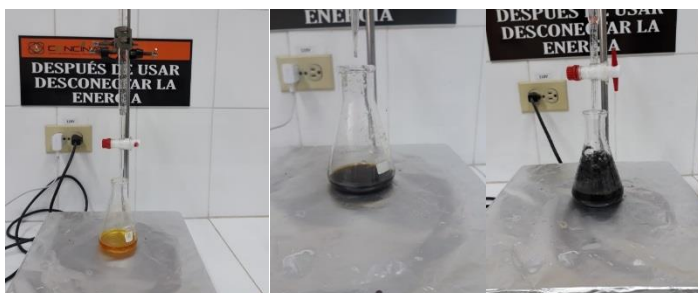


Figura 21

Proceso de síntesis de NPsMC

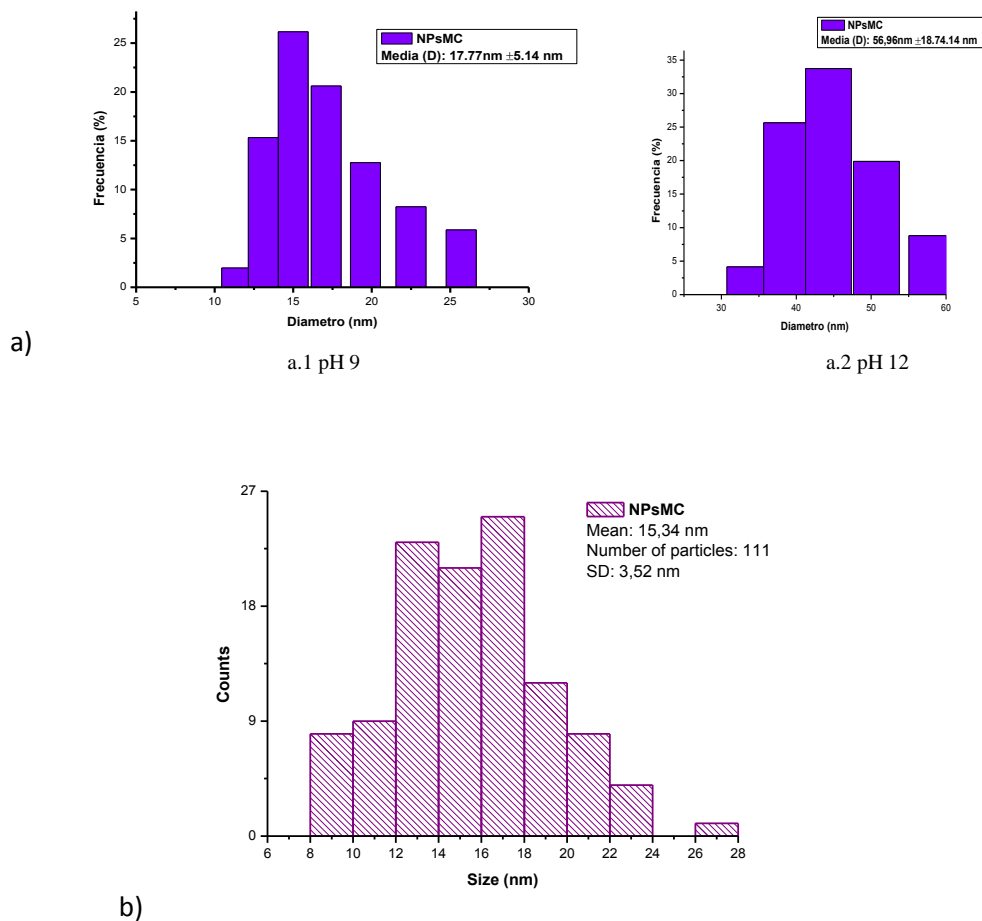


Caracterización de las nanopartículas multicomponente

Se observa en la figura 22a el diámetro hidrodinámico de los aglomerados de NpsMC obtenidos con la dispersión dinámica de la luz (DLS) a distintos pH, a.1)pH 9, a.2)pH12, Desalegn et al., (2019) señala que a condiciones de pH más bajas se obtienen tamaños más pequeños y uniformes de nanopartículas, por lo que el tamaño medio de partícula seleccionado para utilizarlo en el proceso de inmovilización de cadmio en el presente estudio fue el obtenido a pH 9 de $17.17\text{nm} \pm 5.14\text{nm}$ (figura 22 a.1), mientras que el diámetro promedio obtenido por TEM (figura 22b) fue de $15.34\text{nm} \pm 3.52$.

Figura 22

Histogramas del diámetro de NpsMC, obtenidos por: a) DLS; a.1 pH 9; a.2 pH 12, b) TEM

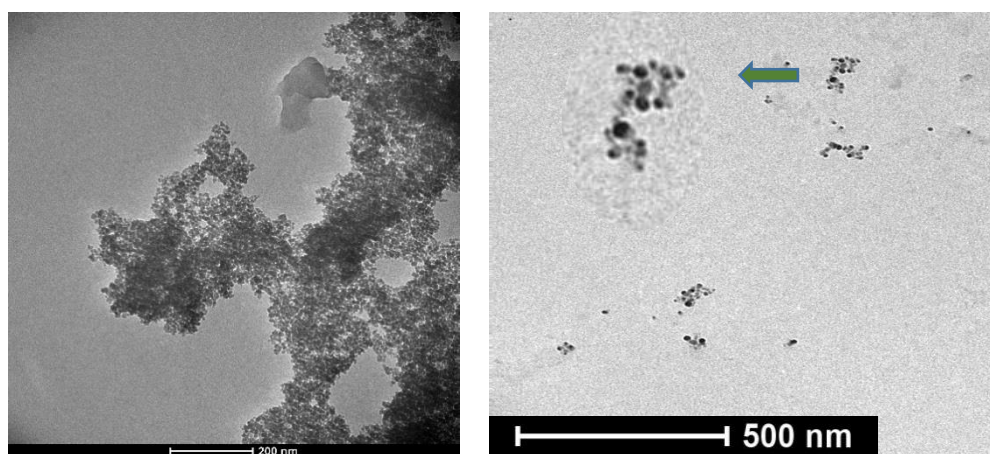


El tamaño superior obtenido por la técnica de DLS puede atribuirse a una mayor aglomeración de partículas de Fe/FeS en soluciones de mayor fuerza iónica, Cumbal et al., (2015) reporta que las nanopartículas multicomponente se agregan creando estructuras en forma de cadena, además es probable que la sulfuración puede aumentar el tamaño del aglomerado de partículas frescas debido a la formación de puentes de FeS durante la síntesis de

partículas (ver figura 23a) y a su vez mejora la estabilidad de los aglomerados de partículas a largo plazo (Brumovský et al., 2020).

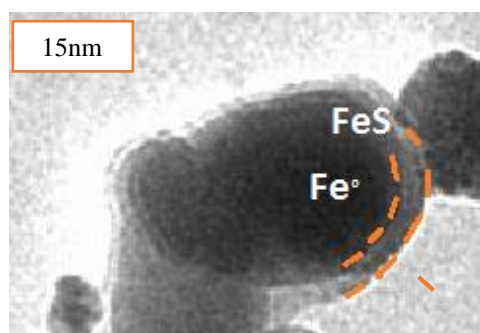
Figura 23

Imágenes TEM de nanopartículas multicomponente



a)

b)



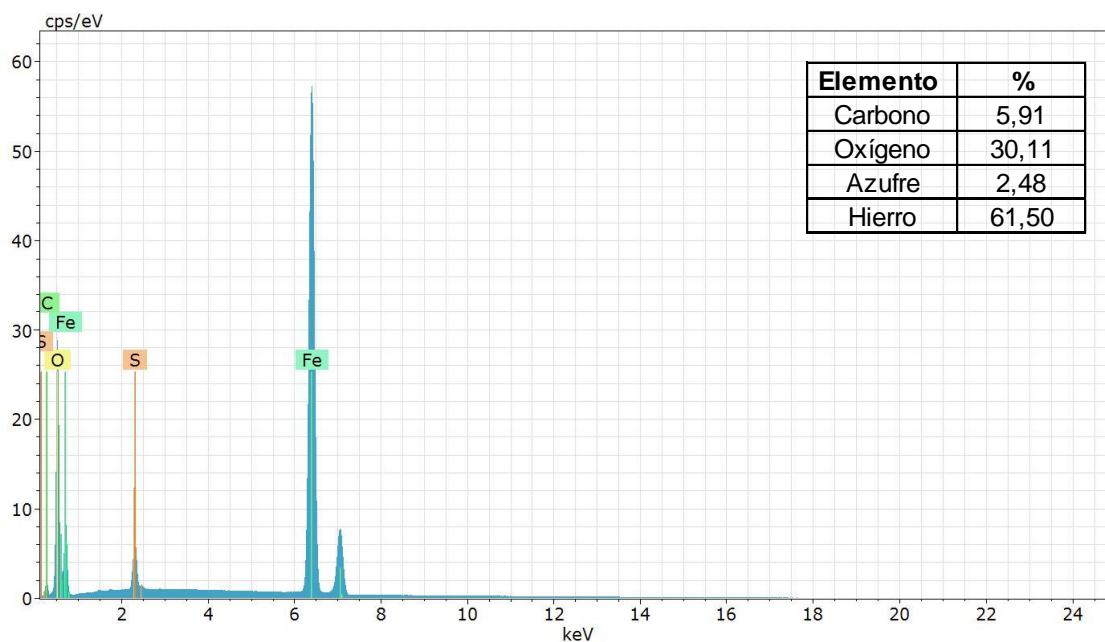
c)

La morfología de las partículas de Fe/FeS se estudió utilizando TEM, se observa que tienen un núcleo negro de forma esférica con una capa gris clara alrededor del núcleo que indica que la nanopartícula está recubierta por una capa de FeS de espesor promedio de 5.76 ± 1.979 nm (figura 23b y 23c), este resultado fue similar al obtenido por Brumovský et al., (2020) en nanopartículas de hierro cero-valente con cubierta de FeS que osciló entre 6,1 y 9,7 nm. Este tipo de morfologías aparentemente son resistente a la oxidación química pero propensas a daños mecánicos (Rajajayavel & Ghoshal, 2015).

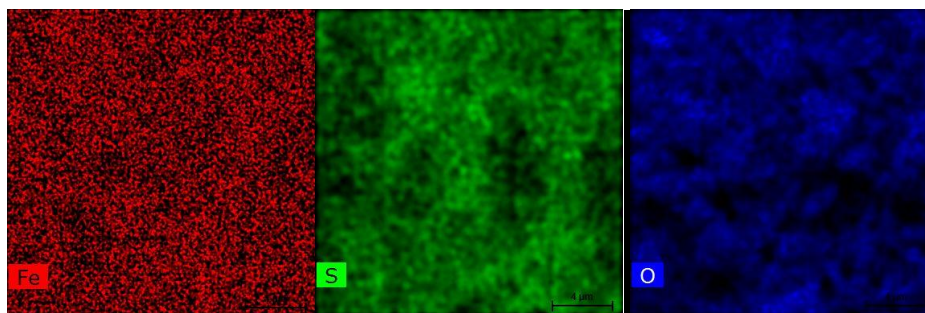
Aplicando el análisis SEM-EDS, en la figura 24 se observa el análisis elemental de la muestra registrándose los siguientes valores: Fe (61.50%), S (2.48%), C (5.91%), O (30.11%) de masa normalizada lo que indica que, si existe la presencia de azufre tras la sulfuración, sin embargo, se evidenció la presencia de oxígeno y carbono indicando la formación de una ligera y fina capa orgánica en la superficie procedente de los polifenoles del extracto (Machado et al., 2015). Semejantes resultados obtuvo Desalegn et al., (2019) donde menciona que la presencia de oxígeno y carbono podría posiblemente ser por elementos de las proteínas o compuestos orgánicos presentes en los extractos vegetales en el proceso de síntesis. Además, con el mapping realizado con SEM se confirma la presencia de estos tres, en la figura 25 se observa claramente la presencia de Fe (en rojo), azufre (verde) y una distribución uniforme de O (en azul).

Figura 24

Composición química de las NPsMC (Fe/FeS) determinada por EDS

**Figura 25**

SEM-mapping elemental de Fe, S y O de NPsMC

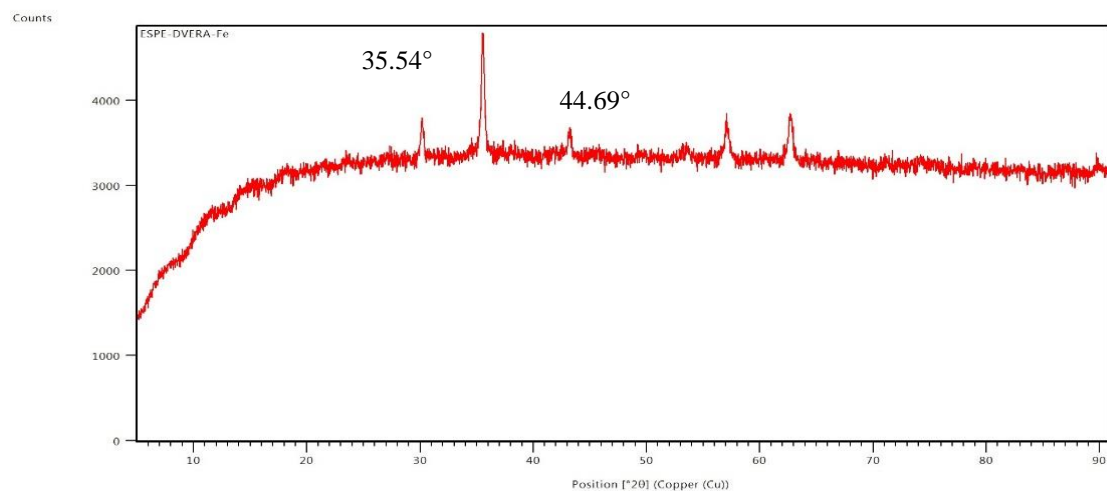


Los datos de XRD obtenidos con las NPsMC de Fe/FeS mostraron picos para hierro elemental ($\alpha\text{-Fe}^0$) a 44.69° (2θ), además se evidencia un pico a 35.44° que se asigna a los

planos cristalográficos (110) (JCPDS N° 33-0664) que corresponden a las nanopartículas de óxidos de hierro (ver figura 26). Sin embargo, los compuestos que contienen azufre, como FeS, no se pudieron ver en el espectro debido a su baja concentración o bajo grado de cristalinidad (Abril et al., 2018; Q. Zhang et al., 2016), que al encontrarse bajo los límites de detección del equipo este no emite ninguna señal.

Figura 26

Espectro XRD de nanopartículas multicomponente



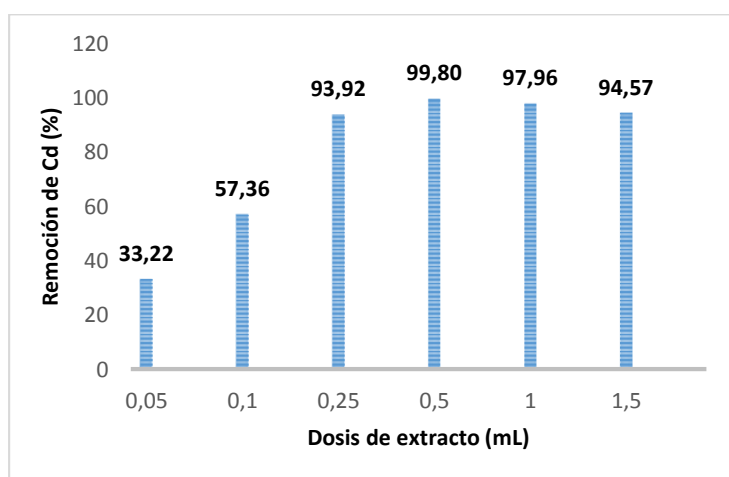
Reactividad de nanopartículas de Fe /FeS

Para determinar la dosis de extracto óptima a utilizar en la síntesis de nanopartículas de Fe/FeS, se realizaron pruebas de reactividad en agua sintética con diferentes dosis de extracto. Se presenta en la figura 27, los porcentajes de remoción obtenidos a diferentes dosis de nanopartículas, siendo los porcentajes de remoción más altos con valores >99% 0,5, 1, y 1,5mL

de extracto, es por ello que de estos se escogió utilizar 0,5 mL por cada 10 mL de cloruro férrico de acuerdo a Abril et al., (2018), autor que menciona que la dosis de extracto vegetal empleada debe ser mínima, debido que a medida que se aumenta el volumen de materia orgánica en biosíntesis, la reactividad de las nanopartículas disminuye, lo que concuerda con lo obtenido en este estudio.

Figura 27

Remoción de cadmio en agua sintética con diferentes dosis de extracto de FDJ

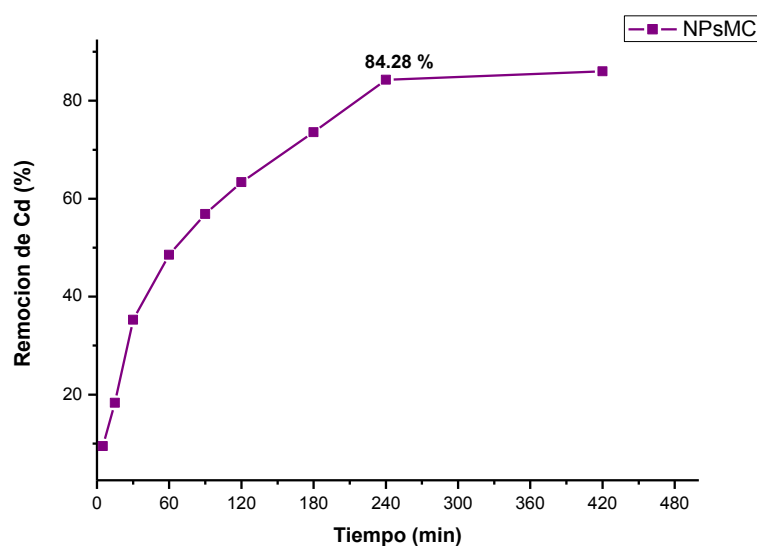


Wang et al., (2014) encontró que ciertos polifenoles de la solución de extracto de eucalipto se unían como agente estabilizador a las superficies de nanopartículas de hierro cero-valente preparadas por síntesis verde y determinó que esto puede dificultar o retrasar la reacción entre el Fe^0 y el contaminante circundante. Esto sucedió con nuestras NPsMC preparadas por síntesis verde, pues el extracto de FDJ actuó como estabilizante evitando la pronta oxidación de las mismas evidenciándose una lenta reactividad a través del tiempo con una remoción del 84.24% de Cd que es alcanzada a los 240 min de estar en contacto (ver figura

28), comparado con las NPsMC realizadas únicamente por síntesis química que presenta Torres,(2019) en su investigación en las que estas remueve 77,50% de Cd^{2+} en 60 min, estas nano partículas pueden reaccionar más rápido al contaminante debido a que no presentan material orgánico adherido a su estructura.

Figura 28

Prueba de reactividad de las NPsMC en agua sintética de Cd^{2+}



Estudios consideran que las nanopartículas de Fe/FeS son mejores que las de hierro cero-valente para la remediación de aguas subterráneas. Ya que se ha demostrado que la sulfuración de Fe^0 a través de la reacción con una especie S reducida puede inhibir significativamente la reacción secundaria con H_2O al tiempo que proporciona una mayor reactividad y selectividad hacia los contaminantes objetivo, como el Cd^{2+} (aq), y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (aq) en

matrices de aguas subterráneas reales y simuladas (Cao et al., 2017; Qin et al., 2018; Tang et al., 2016; Xu et al., 2021).

Aplicación de Nps Fe/FeS en suelos cacaoteros mediante ensayos de columna de lecho fijo

Se estudió la inmovilización de cadmio en los suelos S001 y S002 mediante ensayos en columnas de lecho fijo, los resultados de la extracción secuencial de cadmio desde el suelo, en la muestra S001 con la aplicación de 14 mL de NPsmc indican que el cadmio disminuyó en la fracción intercambiable y carbonatada de 26,7% (sin tratar) a 5,2% y de 22,2% a 4,2% respectivamente (figura 29). De igual manera, con el suelo S002 dopado con 14 mL de NPsmc, se disminuyó el cadmio de 27,4% a 5,1% en la fracción intercambiable y de 21,7% a 4,3% la fracción carbonatada. Se verificó que en ambos suelos el cadmio aumentó en la fracción ligada a materia orgánica, lo que significa que se redujo significativamente la movilidad y disponibilidad de Cd en los suelos (figura 29 y 30). Según Gil-Díaz et al., (2016) a dosis bajas de nanopartículas no se modifica representativamente el fraccionamiento de cadmio y en el presente estudio a dosis de 28 mL y 7 mL de NPsmc aplicadas se obtuvo un fraccionamiento menor al obtenido con 14 mL (ver anexo F), por lo que concuerda con lo reportado por Guo et al., (2021) en el que menciona que con la adición de nanopartículas de Fe/FeS, el Cd unido a la fracción intercambiable que es la más inestable y altamente biodisponible (G. Liu et al., 2013) se transformó en formas menos disponibles en varios grados, dependiendo de la dosis de NPsmc.

De igual manera, en este estudio se realizó un ensayo de inmovilización de cadmio utilizando enmiendas minerales como el carbonato de calcio (CaCO₃) al 2%, como competidor directo de las NPsmc, ya que la adición del mineral es considerada, la técnica más antigua para

disminuir la movilidad de metales del suelo (Carrillo et al., 2021). Como puede verse en la figura 29 y figura 30, la adición de CaCO_3 al 2% resultó en una disminución parcial del Cd en la fracción intercambiable para S001 de 26,7% (sin tratar) a 21,5% y para S002 de 27,4% (sin tratar) a 22%. Además, la proporción de Cd en la fracción residual en el suelo aumentó de 1% a 9,4% y de 0,7% a 7,2% en S001 y S002 respectivamente. Estos resultados indican que el Cd del suelo ha cambiado de la forma de Cd disponible a la forma de Cd más estable (G. Huang et al., 2016). Carrillo et al., (2021) menciona que la inmovilización de cadmio se da debido a que CaCO_3 aumenta el pH de los suelos ácidos, provoca la precipitación de cadmio en forma de CdCO_3 y reduce su capacidad de absorción para las plantas de cacao. Sin embargo, los porcentajes de inmovilización obtenidos en este ensayo son menores a los obtenidos mediante la aplicación de NPsMC.

Figura 29

Inmovilización de cadmio en S001 con 14 mL de NPsMC y CaCO_3 2%

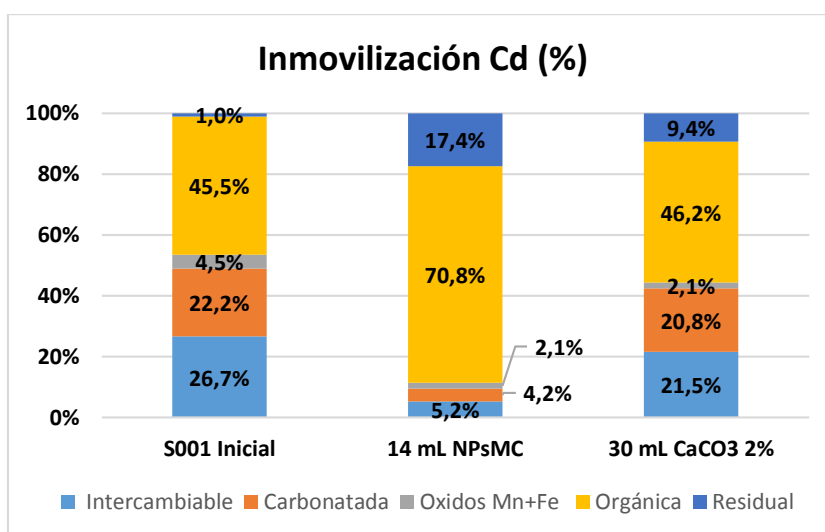
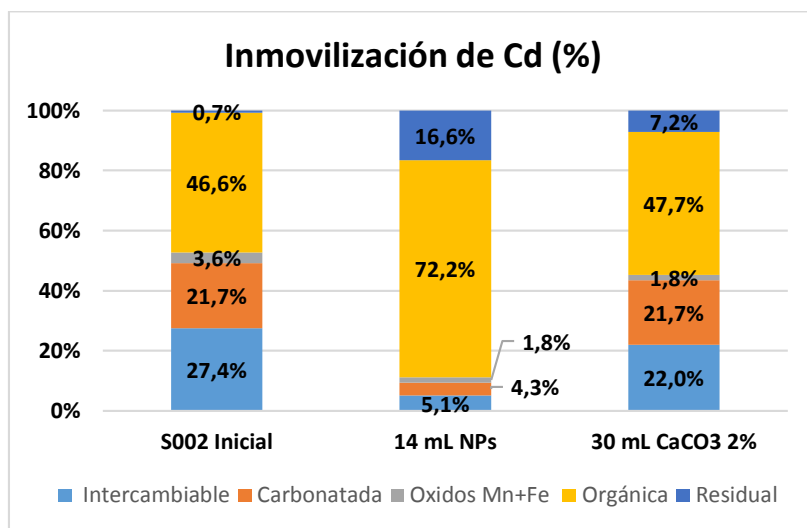


Figura 30

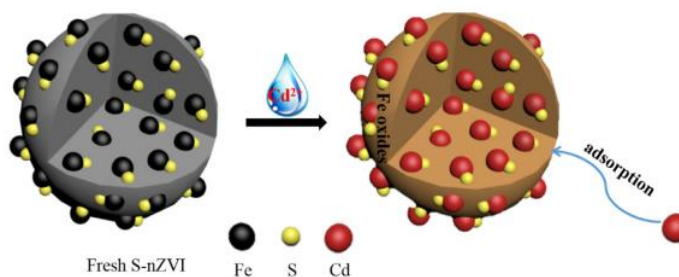
Inmovilización de cadmio en S002 con 14 mL de NPsMC y CaCO₃ 2%



De esta manera, los resultados obtenidos por la aplicación de NPsMC indican que el Cd en el suelo, se adsorbe principalmente en la fracción ligada a materia orgánica y sulfuros; por lo que, la presencia de minerales sulfurados o sulfatados pueden ayudar en el desplazamiento del Fe en FeS por parte de los cationes metálicos, en este caso el cadmio (Liang et al., 2021). De esta manera, se puede concluir que la inmovilización de Cd por NPs de Fe/FeS en el presente estudio se da a través de la co-precipitación química para formar CdS mencionada por Liang et al., (2020) (figura 31).

Figura 31

Mecanismo de inmovilización de Cd por NPs Fe/FeS



Nota. Tomado de The removal of Cd by sulfidated nanoscale zero-valent iron : The structural , chemical bonding evolution and the reaction kinetics por Liang et al., (2020)

Por otra parte, Guo et al., (2021) menciona que durante el periodo de remediación, se produce la oxidación de las nanopartículas de Fe/FeS, de manera que los óxidos de hierro obtenidos en este proceso podrían adsorber Cd (D. Huang et al., 2018) y convertirse en otro factor que promueva la inmovilización de Cd. Sin embargo, la sorción por óxidos no se considera estable (D. Huang et al., 2018; Y. Liu et al., 2020).

Con ANOVA se determinó si existen diferencias significativas entre los volúmenes de NPs Fe/FeS aplicados a S001 y S002 en la inmovilización de Cd contenido en el suelo en las cinco fracciones: intercambiable (fracción 1), ligada a carbonatos (fracción 2), ligada a óxidos de hierro y manganeso (fracción 3), ligada a materia orgánica y sulfuros (fracción 4) y residual (fracción 5). Este análisis de varianza de acuerdo a la prueba de Tukey se muestra en la Tabla 9a y figura 32a para la fracción 1 del suelo S001 y en la Tabla 9b y figura 32b para el suelo S002, en ellos se muestra un p-valor de <math><0.0001</math>, menor al nivel de significancia $\alpha=0.05$, rechazando así la

hipótesis nula H_0 : que la media de todos los tratamientos son iguales e indica que la efectividad de la inmovilización de cadmio en esta fracción depende del volumen de nanopartículas aplicado. En el anexo G se muestran los resultados para cada fracción del suelo.

Tabla 8

Análisis de varianza de la efectividad de los tratamientos en inmovilización de Cd en la Fracción 1

a) S001

Análisis de la varianza

FASES	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FRACCION 1 [Cd2+]	(mg/kg)	54	1,00	1,00	1,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,97	5	0,59	6918,77	<0,0001
TRATAMIENTO	2,97	5	0,59	6918,77	<0,0001
Error	4,1E-03	48	8,6E-05		
Total	2,98	53			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01297

Error: 0,0001 gl: 48

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
V2= 14 mL	0,15	9	3,1E-03 A
V3=7 mL	0,28	9	3,1E-03 B
V1= 28 mL	0,56	9	3,1E-03 C
CaCO3 2%	0,62	9	3,1E-03 D
Digestión inicial	0,77	9	3,1E-03 E
Agua	0,77	9	3,1E-03 E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

b) S002

Análisis de la varianza

FASES	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FRACCION 1 [Cd2+]	(mg/kg)	54	1,00	1,00	2,17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,95	5	0,59	4733,76	<0,0001
TRATAMIENTO	2,95	5	0,59	4733,76	<0,0001
Error	0,01	48	1,2E-04		
Total	2,95	53			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01561

Error: 0,0001 gl: 48

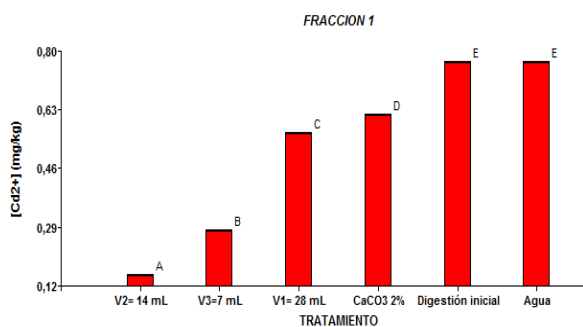
TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
V2= 14 mL	0,14	9	3,7E-03 A
V3=7 mL	0,27	9	3,7E-03 B
V1= 28 mL	0,55	9	3,7E-03 C
CaCO3 2%	0,61	9	3,7E-03 D
Agua	0,76	9	3,7E-03 E
Digestión inicial	0,76	9	3,7E-03 E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

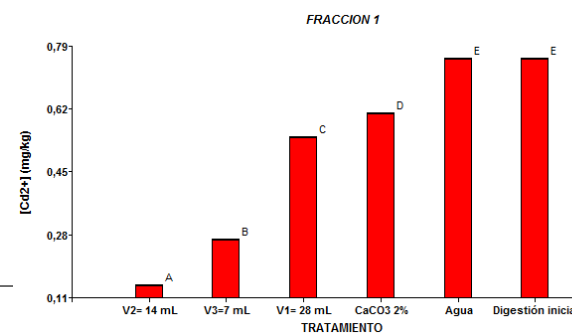
Figura 32

Prueba Tukey para inmovilización de Cd en la fracción 1 (intercambiable)

a)S001



b)S002



Capítulo 4

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

Las características de los suelos cacaoteros de las fincas de Flavio Alfaro fueron suelos de textura fina con la presencia de partículas de arcilla, esta estructura facilita la retención de humedad y de nutrientes. El pH del suelo para S001 (6,33) y S002 (6,21) indica que el cadmio se intercambia fácilmente; por lo tanto, se encuentra disponible para las plantas. Además, a estos valores de pH el cadmio no tiende a ser adsorbido por los bicarbonatos presentes en el suelo, ya que la concentración de los bicarbonatos no es alta. Los niveles de CIC y materia orgánica son bajos propios de suelos que presenta este tipo de pH y de estructura arcillosa.

Se determinó la cantidad total de Cd presente en estos suelos, 2.88 mg/kg Cd para S001 y 2.77 mg/kg Cd para S002, sobrepasa el límite máximo permitido de cadmio en suelos de acuerdo al Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente en el Ecuador. En particular, el contenido de Cd en la fracción intercambiable S001 (0,77 mg/kg) y S002 (0,76 mg/kg) y en la carbonatada S001 (0,64 mg/kg), S002 (0,60 mg/kg) facilita su movilidad y biodisponibilidad en el suelo.

El cadmio soluble fue retirado de la solución de suelo por el contacto con la fase sólida luego de 5 min, lo que indica que los suelos de estas fincas cacaoteras adsorben rápidamente el metal pesado. La ecuación descrita por el modelo de Langmuir presenta un

mejor ajuste de los datos de adsorción de Cd en ambos suelos, esto indica que la adsorción se produce en una sola capa.

La capacidad reductora del extracto de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) fue de 3701,8 mg AG/ 100 g; sin embargo, no fue suficiente para lograr la reducción completa de Fe³⁺ a Fe⁰ por lo que se experimentó con una síntesis de co-reducción, empleando dos agentes reductores: extracto orgánico y NaBH₄. Además, el extracto sirvió de agente estabilizante en la síntesis de las nanopartículas de la presente investigación.

Se obtuvieron nanopartículas multicomponente de Fe/FeS con un diámetro promedio de 15.34nm ± 3.52nm obtenido con TEM, siendo un tamaño menor a 100nm adecuado para la aplicación de remediación de suelos in situ. La capa de FeS tuvo un espesor de 5.76 ± 1.979 nm. El análisis elemental SEM-EDS mostró la presencia de Fe (61.50%), S (2.48%), C (5.91%), O (30.11%) de masa normalizada en la estructura de las nanopartículas, lo que indica que si existe la presencia de azufre tras la sulfuración. Además, debido al extracto en el EDS se observa la presencia de carbono y oxígeno, que puede ser el resultado de la presencia de una fina capa de materia orgánica. Los espectros obtenidos por XRD confirman la presencia de hierro elemental (α -Fe⁰) por el pico a 44.69 ° (2 θ). Además, por el pico a 35.44° que se asigna al plano cristalográfico (110) que corresponden al óxido de hierro. Sin embargo, los compuestos que contienen azufre, como FeS, no fueron detectables por el equipo, debido a su baja concentración o bajo grado de cristalinidad.

Los ensayos de reactividad revelan que las nanopartículas multicomponente de Fe/FeS sintetizadas con extracto vegetal y borohidruro de sodio poseen una reactividad media en agua sintética, ya que requieren 15 min de contacto con la solución contaminada con Cd para capturarlo y alcanzan el estado estacionario a los 240 min.

Se comprueba que existe inmovilización del Cd disponible al aplicarse las nanopartículas de Fe/FeS en la matriz suelo. Los resultados de los ensayos indican que el metal pesado decrece el 80,52% y el 81,38% en la fracción intercambiable en el suelo S001 y en el suelo S002, respectivamente, al aplicarse un volumen de 14 mL de nanopartículas. Los experimentos también indican que la cantidad de Cd inmovilizado se trasladó a la fracción 4 del suelo, en la que el metal pesado no se encuentra biodisponible y por lo tanto no representa un peligro de absorción por parte de las plantas de cacao.

Recomendaciones

Estandarizar los protocolos para la caracterización de suelos y extractos, con el fin de que el investigador tenga protocolos ya establecidos y se pueda enfocar en los mecanismos de síntesis de las nanopartículas.

Aislar y estudiar la fracción del polifenol que interviene en el proceso de reducción durante la síntesis de nanopartículas multicomponente con el fin de reducir aún más la cantidad de borohidruro utilizado en la preparación.

En fase acuosa la remoción de Cd mediante la aplicación de las nanopartículas de hierro cero valente sulfurado (Fe/FeS) ha sido altamente efectiva, sin embargo hasta donde se sabe solamente existe una publicación en la que se tiene como objetivo evaluar la accesibilidad y explorar el mecanismo de inmovilización de Cd en suelos por partículas de hierro cero-valente sulfuradas por lo que sería importante investigar más a fondo cuales son los procesos de oxidación de Fe/FeS y su mecanismo de interacción con el Cd durante los procesos de remediación.

Bibliografía

- Abril, M., Ruiz, H., & Cumbal, L. H. (2018). Biosynthesis of Multicomponent Nanoparticles with Extract of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) Berry: Application on Heavy Metals Removal from Water and Immobilization in Soils. *Journal of Nanotechnology*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9504807>
- Achir, N., Sinela, A., Mertz, C., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2018). Monitoring anthocyanin degradation in *Hibiscus sabdariffa* extracts with multicurve resolution on spectral measurement during storage. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.209>
- Albis, A. R., López Rangel, A. J., & Romero Castilla, M. C. (2017). Removal of methylene blue from aqueous solutions using cassava peel (*Manihot esculenta*) modified with phosphoric acid // Remoción de azul de metileno de soluciones acuosas utilizando cáscara de yuca (*Manihot esculenta*) modificada con ácido fosfórico. *Prospectiva*, 15(2), 60–73. <https://doi.org/10.15665/rp.v15i2.777>
- Alloway, B. (2012). Mucha-Habermann's Disease in Children: Treatment With Erythromycin. In *Archives of Dermatology* (Vol. 114, Issue 11). <https://doi.org/10.1001/archderm.1978.01640230053014>
- Alshehri, A., & Malik, A. (2017). RSC Advances Biofabrication of Fe nanoparticles in aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* with enhanced photocatalytic activities. *RSC Advances*, 7, 25149–25159. <https://doi.org/10.1039/C7RA01251A>
- Argüello, D., Chavez, E., Laurysen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Science of the Total Environment Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of the Total Environment*, 649, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>

- Beretta, A., Bassahum, D., & Musselli, R. (2014). ¿ Medir el pH del suelo en la mezcla suelo : agua en reposo o agitando ? Measure Soil pH at Rest or Stirring the Soil : water Mixture ? *Agrociencia Uruguay*, 8(2), 90–94.
- Blommaert, H. (2019). Uptake of cadmium by *Theobroma cacao* seedlings as affected by the distribution of roots and bioavailable cadmium : a stable isotope study. December.
- Brumovský, M., Filip, J., Malina, O., Oborná, J., Sracek, O., Reichenauer, T. G., Andryšková, P., & Zbořil, R. (2020). Core-shell Fe/FeS nanoparticles with controlled shell thickness for enhanced trichloroethylene removal. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(31), 35424–35434. <https://doi.org/10.1021/acscami.0c08626>
- Campos, A., Narciso, D., & Nazario, R. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles , by the reductive action of the aqueous extract of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) nanoparticles , by the reductive action of the aqueous Síntesis verde y caracterización de nanopartículas d. July 2019, 24–26.
- Cao, Z., Liu, X., Xu, J., Zhang, J., Yang, Y., Zhou, J., Xu, X., & Lowry, G. V. (2017). Removal of Antibiotic Florfenicol by Sulfide-Modified Nanoscale Zero-Valent Iron. *Environmental Science and Technology*, 51(19), 11269–11277. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02480>
- Carrillo, M., Durango, W., Peña, K., & Albán, C. (2021). MITIGACIÓN DE CADMIO EN EL SUELO MEDIANTE ENMIENDAS INORGÁNICAS. 1–23.
- Carvajal, O., Orta-flores, Z., Margaret, P., & Miranda-medina, A. (2012). *Hibiscus sabdariffa* L ., roselle calyx , from ethnobotany to pharmacology. 25–39.
- Castebianco, J. A. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *La Granja*, 27(1), 21–35. <https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.02>
- Castillo, R. (2017). Efecto de uso del extracto de la Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como colorante natural y fuente de antioxidantes en las características fisicoquímicas de yogur sabor a fresa.
- Chávez, A. (2015). Comparación de dos métodos para la determinación de la capacidad de intercambio catiónico en suelos calizos de la región central de Honduras. *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras*, 12.
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V. C. (2015). Science of the Total Environment Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. 533, 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Comisión del Codex Alimentarius. (2018). Informe de la 12a. reunión del Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos. 88. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh->

proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-12%252FREPORT%252520%2528FINAL%2529%252FREP18_CFs.pdf

- Cordero, C. J. K. (2015). Fitorremediación in Situ Para La Recuperación De Suelos Contaminados Por Metales Pesados (Plomo Y Cadmio) Y Evaluación De Selenio En La Finca Furatena Alta En El Municipio De Útica (Cundinamarca). Universidad Libre de Colombia, 1, 1–90. [https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/7958/Fitorremediación in situ para la remoción de metales pesados \(plomo y cadmio\) y evaluación de sel.pdf?sequence=1](https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/7958/Fitorremediación%20in%20situ%20para%20la%20remoción%20de%20metales%20pesados%20(plomo%20y%20cadmio)%20y%20evaluación%20de%20sel.pdf?sequence=1)
- Cumbal, L., Debut, A., Delgado, D. A., Jurado, C. B., & Stael, C. (2015). Synthesis of Multicomponent Nanoparticles for Immobilization of Heavy Metals in Aqueous Phase. 105–111.
- Desalegn, B., Megharaj, M., Chen, Z., & Naidu, R. (2019). Green synthesis of zero valent iron nanoparticle using mango peel extract and surface characterization using XPS and GC-MS. *Heliyon*, 5(5), e01750. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01750>
- Escobar, A., Castaño, E., Rocha, N., Gallegos, J., & Reynoso, R. (2020). Anthocyanins extraction from *Hibiscus sabdariffa* and identification of phenolic compounds associated with their stability. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10620>
- Forsythe, W. (1985). Manual de Laboratorio- Física de suelos (IICA (ed.); 2a ed.). <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/7841/BVE19040149e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gade, A., Rai, M., & Kulkarni, S. (2011). Phoma sorghina , a Phytopathogen Mediated Synthesis of Unique Silver Rods Phoma sorghina , a Phytopathogen Mediated Synthesis of Unique Silver Rods. *May 2015*, 37–41. <https://doi.org/10.1080/19430892.2011.628573>
- Galán Huertos, E., & Romero Baena, A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Macla*, 10, 48–60.
- Garzón, G. (2008). LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS : REVISIÓN Anthocyanins as Natural Colorants and Bioactive Compounds . A Review.
- Gil-Díaz, M., Pinilla, P., Alonso, J., & Lobo, M. C. (2016). Viability of a nanoremediation process in single or multi-metal(loid) contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.09.071>
- Guo, Y., Li, X., Liang, L., Lin, Z., Su, X., & Zhang, W. (2021). Immobilization of cadmium in contaminated soils using sulfidated nanoscale zero-valent iron : Effectiveness and remediation mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, 420(April), 126605. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126605>

- Gupta, K., Bhattacharya, S., Chattopadhyay, D., Mukhopadhyay, A., Biswas, H., Dutta, J., Ray, N. R., & Ghosh, U. C. (2011). Ceria associated manganese oxide nanoparticles: Synthesis, characterization and arsenic(V) sorption behavior. *Chemical Engineering Journal*, 172(1), 219–229. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.092>
- Hameed, B. H., Ahmad, A. A., & Aziz, N. (2007). Isotherms, kinetics and thermodynamics of acid dye adsorption on activated palm ash. *Chemical Engineering Journal*, 133(1–3), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.01.032>
- He, G., Zhang, Z., Wu, X., Cui, M., Zhang, J., & Huang, X. (2020). Adsorption of heavy metals on soil collected from lixisol of typical karst areas in the presence of CaCO₃ and soil clay and their competition behavior. *Sustainability (Switzerland)*, 12(18). <https://doi.org/10.3390/SU12187315>
- Huang, D., Hu, Z., Peng, Z., & Zeng, G. (2018). Cadmium immobilization in river sediment using stabilized nanoscale zero-valent iron with enhanced transport by polysaccharide coating. *Journal of Environmental Management*, 210, 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.001>
- Huang, G., Su, X., Rizwan, M. S., Zhu, Y., & Hu, H. (2016). Chemical immobilization of Pb, Cu, and Cd by phosphate materials and calcium carbonate in contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6885-9>
- Jaramillo, D. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. *Introducción a La Ciencia Del Suelo*, 619.
- Jordán, A. (2006). *Manual de edafología*.
- Kabata-Pendias, A., & Szteke, B. (2015). *Trace Elements in Abiotic and Biotic Environments*.
- Khan, M. A., Khan, S., Khan, A., & Alam, M. (2017). Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601–602, 1591–1605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.030>
- Kidd, P., Mench, M., Álvarez-López, V., Bert, V., Dimitriou, I., Friesl-Hanl, W., Herzig, R., Olga Janssen, J., Kolbas, A., Müller, I., Neu, S., Renella, G., Ruttens, A., Vangronsveld, J., & Puschenreiter, M. (2015). Agronomic Practices for Improving Gentle Remediation of Trace Element-Contaminated Soils. *International Journal of Phytoremediation*, 17(11), 1005–1037. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.1003788>
- Kim, E. J., Kim, J. H., Azad, A. M., & Chang, Y. S. (2011). Facile synthesis and characterization of Fe/FeS nanoparticles for environmental applications. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 3(5), 1457–1462. <https://doi.org/10.1021/am200016v>
- Kumari, B., & Singh, D. P. (2016). A review on multifaceted application of nanoparticles in the field of bioremediation of petroleum hydrocarbons. *Ecological Engineering*, 97, 98–105.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.08.006>

- Ledezma, A., Romero, J., Hernández, M., Moggio, I., Arias, E., Padrón, G., Orozco, V., Martínez, A., Martínez, C., & Torres, S. (2014). Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia* sp.) y su electrohilado polimérico. *Superficies y Vacío*, 27(4), 133–140.
- Liang, L., Li, W., Li, Y., Zhou, W., & Chen, J. (2021). Removal of EDTA-chelated Cd II by sulfidated nanoscale zero-valent iron : Removal mechanisms and influencing factors. *Separation and Purification Technology*, 276(June), 119332. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119332>
- Liang, L., Li, X., Lin, Z., Tian, C., & Guo, Y. (2020). The removal of Cd by sulfidated nanoscale zero-valent iron : The structural , chemical bonding evolution and the reaction kinetics. *Chemical Engineering Journal*, 382(August 2019), 122933. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122933>
- Liu, G., Tao, L., Liu, X., Hou, J., Wang, A., & Li, R. (2013). Heavy metal speciation and pollution of agricultural soils along Jishui River in non-ferrous metal mine area in Jiangxi Province , China. *Journal of Geochemical Exploration*, 132, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.06.017>
- Liu, Y., Huang, Y., Zhang, C., Li, W., Chen, C., Zhang, Z., Chen, H., Wang, J., Li, Y., & Zhang, Y. (2020). Nano-FeS incorporated into stable lignin hydrogel : A novel strategy for cadmium removal from soil. *Environmental Pollution*, 264, 114739. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114739>
- Llumiquinga, E. (2018). Estudio de la inmovilización de metales pesados presentes en suelos de Portovelo, mediante la aplicación de nanopartículas multicomponente (NPsMC), a nivel de laboratorio.
- Londoño, L. F., Londoño, P. T., & Muñoz, F. G. (2016). Risk of heavy metals in human and animal health. 14(2), 145–153. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)145-153)
- Luters, A., & Salazar, J. (2000). *Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo*.
- Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2015). Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. *Science of the Total Environment*, 533, 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.091>
- Makarov, Love, & Sinitsyna. (2014). “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Handbook of Families and Health: Interdisciplinary Perspectives*, 6(20), 40–61. <https://doi.org/10.4135/9781452231631.n3>
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73–84.

[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0)

- Mishra, P., Ray, S., Sinha, S., Das, B., & Khan, I. (2015). Facile Bio-synthesis of Gold Nanoparticles by using Extract of Hibiscus sabdariffa and Evaluation of its Cytotoxicity against U87 Glioblastoma Cells under Hyperglycemic Condition. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.09.021>
- Mite, F., Carrillo, M., & Durando, W. (2010). Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas de Ecuador. Xii Congreso Ecuatoriano de La Ciencia Del Suelo, November, 17–19.
- Mohankumar, J. B., Gladious, A. J., & Velvizhi, M. (2017). Antioxidant Content of Selected Medicinal Plants Used by Kaani Tribes of Kanyakumari District in Tamilnadu India. 5(3), 180–186. <https://doi.org/10.12691/jfnr-5-3-7>
- Mystrioti, C., Sparis, D., Papasiopi, N., Xenidis, A., Dermatas, D., & Chrysochoou, M. (2014). Assessment of Polyphenol Coated Nano Zero Valent Iron for Hexavalent Chromium Removal from Contaminated Waters. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1442-z>
- Neira, I. (2015). Síntesis verde de nanopartículas para la eliminación de colorantes en medios acuosos. Tesis Doctoral, Universidade Da Coruña, Facultade de Ciencias, 1–80. <http://hdl.handle.net/2183/14826>
- Noppadol, S., & Pongsakorn, P. (2014). Adsorption Behavior of Heavy Metals on Various Soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(18), 5606–5611. <https://doi.org/10.1021/jf0496402>
- Novotny, V. (1995). Diffuse Sources of Pollution by Toxic Metals and Impact on Receiving Waters. Heavy Metals, 33–52. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79316-5_3
- Ortiz, J. (2017). Trabajo Fin De Grado Ecotoxicología Del Cadmio, Riesgo Para La Salud Por La Utilización De Suelos Ricos En Cadmio. 3–22. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/JAVIER ORTIZ SANCHEZ.pdf>
- Pino, M. (2018). Universidad Técnica De Babahoyo Facultad De Ciencias Agropecuarias Escuela De Ingeniería Agropecuaria. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/5200>
- Qin, H., Guan, X., Bandstra, J. Z., Johnson, R. L., & Tratnyek, P. G. (2018). Modeling the Kinetics of Hydrogen Formation by Zerovalent Iron: Effects of Sulfidation on Micro- and Nano-Scale Particles [Research-article]. Environmental Science and Technology, 52(23), 13887–13896. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04436>
- Rajajayavel, S. R. C., & Ghoshal, S. (2015). Enhanced reductive dechlorination of trichloroethylene by sulfidated nanoscale zerovalent iron. Water Research, 78, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.04.009>

- Ramírez, A. (2013). Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de La Facultad de Medicina*, 63(1), 51. <https://doi.org/10.15381/anales.v63i1.1477>
- Rathor, G., Chopra, N., & Adhikari, T. (2017). Remediation of nickel ion from soil and water using nano particles of Zero-Valent Iron (nZVI). *Oriental Journal of Chemistry*, 33(2), 1025–1029. <https://doi.org/10.13005/ojc/330259>
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M., & González, E. (2016). Heavy metals contamination: implications for health and food safety. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 16(1), 14. <https://doi.org/10.1007/BF02796157>
- Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao : A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador * v e. 229, 950–963. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>
- Ruiz, J. (2011). Evaluation of treatments to reduce cadmium concentration in lettuce (*Lactuca sativa* L .) irrigated with water from the Bogota River. 5(2), 233–243.
- Salazar-González, C., Vergara-Balderas, F. T., Ortega-Regules, A. E., & -Beltrán, J. Á. (2012). Antioxidant properties and color of *Hibiscus sabdariffa* extracts. *Ciencia e Investigación Agraria*, 39(1), 79–90. <https://doi.org/10.4067/s0718-16202012000100006>
- Scaccabarozzi, D., Castillo, L., Aromatisi, A., Milne, L., Castillo, A. B., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Soil, site, and management factors affecting cadmium concentrations in cacao-growing soils. *Agronomy*, 10(6), 1–15. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060806>
- Su, Y., Adeleye, A. S., Keller, A. A., Huang, Y., Dai, C., Zhou, X., & Zhang, Y. (2015). Magnetic sulfide-modified nanoscale zerovalent iron (S-1 nZVI) for dissolved metal ion removal. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.004>
- Suguru, P. M. (2015). Simulated In-Situ Immobilization of Heavy Metals in Selected Soils of Karnataka. 1–6. <https://doi.org/10.4172/2165-8056.1000122>
- Tang, J., Tang, L., Feng, H., Zeng, G., Dong, H., Zhang, C., Huang, B., Deng, Y., Wang, J., & Zhou, Y. (2016). pH-dependent degradation of p-nitrophenol by sulfidated nanoscale zerovalent iron under aerobic or anoxic conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 320, 581–590. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.07.042>
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., & Bisson, M. (1979). Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *Analytical Chemistry*, 51(7), 844–851. <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>
- Torres, V. (2019). “Captura de cadmio en el proceso de fermentación de las almendras de cacao (*theobroma cacao*) usando nanopartículas multicomponente y de sulfuro de hierro.” c.

- TULSMA. (2015). Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente en el Ecuador. Criterios de calidad del suelo. 097.
- Valdiviezo, E. G. M. (2016). Validación Del Método Analítico Walkley Y Black De Materia Orgánica En Suelos Arcillosos, Francos Y Arenosos Del Ecuador. 93. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8137/1/T-UCE-0004-43.pdf>
- Varas, J. (2016). Evaluación de la aptitud de los suelos para el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Comunidad El Rocano del Cantón Arenillas de la Provincia de El Oro.
- Wang, T., Jin, X., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2014). Green synthesis of Fe nanoparticles using eucalyptus leaf extracts for treatment of eutrophic wastewater. *Science of the Total Environment*, 466–467, 210–213. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.022>
- Xu, J., Li, H., & Lowry, G. V. (2021). Sulfidized Nanoscale Zero-Valent Iron: Tuning the Properties of This Complex Material for Efficient Groundwater Remediation. *Accounts of Materials Research*, 2(6), 420–431. <https://doi.org/10.1021/accountsmr.1c00037>
- Zeng, H., & Sun, S. (2008). Syntheses, properties, and potential applications of multicomponent magnetic nanoparticles. *Advanced Functional Materials*, 18(3), 391–400. <https://doi.org/10.1002/adfm.200701211>
- Zhang, Q., Guo, W., Yue, X., Liu, Z., & Li, X. (2016). Degradation of Rhodamine B Using FeS-Coated Zero-Valent Iron Nanoparticles in the Presence of Dissolved Oxygen. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 33(3), 676–680. <https://doi.org/10.1002/ep>
- Zhang, W. (2003). Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: An Overview. *Journal of Nanoparticle Research*, 5(3–4), 323–332. <https://semspub.epa.gov/work/09/1142160.pdf%0Ahttp://www.ingentaconnect.com/content/klu/nano/2003/00000005/F0020003/05142765>