



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
AGRICULTURA

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

DEGRADACIÓN DE CARBAMAZEPINA Y DICLOFENACO BAJO LUZ
SOLAR Y ARTIFICIAL UTILIZANDO NANOCOMPUESTOS DE PALADIO Y
PLATA SINTETIZADOS CON EXTRACTO DE COCHINILLA

AUTOR: OÑATE MACÍAS, AMBAR SOFÍA

DIRECTOR: CUMBAL FLORES, LUIS HERIBERTO, PhD.

SANGOLQUÍ

2018



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, ***“DEGRADACIÓN DE CARBAMAZEPINA Y DICLOFENACO BAJO LUZ SOLAR Y ARTIFICIAL UTILIZANDO NANOCOMPÓSITOS DE PALADIO Y PLATA SINTETIZADOS CON EXTRACTO DE COCHINILLA”*** fue realizado por la Srta. ***Oñate Macías, Ambar Sofía*** el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 27 de Julio del 2018

Ing. Luis Heriberto Cumbal Flores, PhD

DIRECTOR

C. C. 1703553097



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Oñate Macías, Ambar Sofía*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: ***“DEGRADACIÓN DE CARBAMAZEPINA Y DICLOFENACO BAJO LUZ SOLAR Y ARTIFICIAL UTILIZANDO NANOCOMPÓSITOS DE PALADIO Y PLATA SINTETIZADOS CON EXTRACTO DE COCHINILLA”*** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 27 de Julio del 2018


AMBAR SOFÍA OÑATE MACÍAS

AUTOR

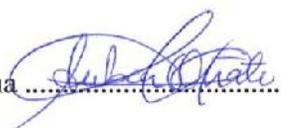
C. C. 1717414344

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

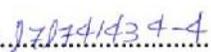
AUTORIZACIÓN

Yo, Oñate Macías, Ambar Sofía autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “Degradación de carbamazepina y diclofenaco bajo luz solar y artificial utilizando nanocompuestos de paladio y plata sintetizados con extracto de cochinilla” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 27 de Julio del 2018.

Firma

Ambar Sofía Oñate Macías

C.C.: 

DEDICATORIA

A mis padres

Siempre me dieron los mejores consejos y la libertad necesaria para aprender de mis decisiones, han sido un ejemplo sobre lo que está bien y lo que no, a lo largo de estos años me han dado su apoyo y comprensión en cada caída y en todos los momentos difíciles, gracias por todo su amor. Son los mejores padres, todo lo que soy se los debo a ustedes.

A mi hermano

Por ser tan luchador, y un gran Músico, te quiero Alexo.

A mis amigos

Gracias por estar en todas las aventuras, por apoyarme y escucharme, por las risas y peleas ustedes me dieron muchas experiencias.

A mis profesores

Gracias por su tiempo y por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Laboratorio del Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) al Dr. Luis Cumbal y al Dr. Alexis Debut, por brindarme la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo durante 12 meses. Agradezco especialmente a la Dra. Yolanda Angulo, quien guió mi trabajo en repetidas ocasiones.

A la Ing. Carina Stael, técnica del laboratorio del centro de Nanociencia y Nanotecnología por darme ánimos y apoyarme en los momentos en los quería claudicar, por aportar con su conocimiento, gracias por su colaboración y su gran amistad.

A los grandes científicos de la Universidad Central del Ecuador, quienes me guiaron y me ayudaron con el manejo de equipos en sus instalaciones, especialmente a Yandri Infante, analista en el Laboratorio de Química de Alimentos, quien me brindó su conocimiento para fortalecer los resultados del presente proyecto.

INDICE DE CONTENIDO

Tabla de contenido

CERTIFICACIÓN	i
AUTORIA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
INDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	iix
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xii
1. CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. <i>Formulación del problema</i>	1
1.2. <i>Justificación del problema</i>	2
1.3. <i>Objetivos</i>	3
1.3.1. <i>Objetivo General</i>	3
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	3
1.4. <i>Hipótesis</i>	4
2. CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	5
2.1. <i>Nanomateriales</i>	5
2.2. <i>Nanopartículas Metálicas (MNPs)</i>	6
2.2.1. <i>Generalidades</i>	6
2.3. <i>Nanopartículas de paladio (PdNPs)</i>	7
2.4. <i>Nanopartículas de plata (AgNPs)</i>	7
2.5. <i>Compuestos en base al carbono</i>	7
2.5.1. <i>Aplicación como refuerzo polimérico de los materiales grafénicos</i>	8
2.6. <i>Síntesis verde</i>	9
2.7. <i>Compuestos poli-fenólicos</i>	10
2.7.1. <i>Antraquinonas</i>	11
2.7.2. <i>Cochinilla</i>	12
2.7.3. <i>Composición Química</i>	13
2.7.4. <i>Ácido Carmínico</i>	13
2.8. <i>Caracterización de Nanomateriales</i>	14
2.8.1. <i>Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) y de barrido (SEM)</i>	14
2.8.2. <i>Espectrofotometría Ultravioleta-visible (UV- vis)</i>	14
2.8.3. <i>Voltametría Cíclica</i>	15
2.9. <i>Contaminantes emergentes</i>	15
2.9.1. <i>Fármacos</i>	16
3. CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. <i>Participantes</i>	19

3.1.1. Instituciones.....	19
3.1.2. Colaboradores Científicos.....	19
3.2. <i>Periodo de investigación</i>	20
3.3. <i>Preparación del Óxido de Grafeno</i>	20
3.4. <i>Obtención del extracto de cochinilla</i>	21
3.5. <i>Síntesis de nanocompósitos usando extracto de cochinilla como agente reductor</i>	22
3.6. <i>Caracterización de los nanocompósitos</i>	24
3.6.1. Análisis Espectrofotométrico UV-VIS.....	24
3.6.2. Microscopía Electrónica de barrido en modo de transmisión (STEM).....	25
3.6.3. Microscopía Electrónica de transmisión (TEM).	26
3.6.4. Voltametría cíclica (CVS): Pruebas electroquímicas de la cochinilla y de los nanocompósitos.....	27
3.6.5. Difracción de rayos X (XRD).....	29
3.7. <i>Análisis Estadístico de la síntesis de nanocompósitos</i>	29
3.8. <i>Degradación de Fármacos</i>	30
3.8.1. Curva de calibración para lecturas cuantitativas de fármacos en HPLC	30
3.8.2. Ensayos de degradación en simulador solar y luz solar natural	30
3.8.3. Estandarización del método de separación del nanocompósito y la muestra.....	32
3.8.4. Preparación de la muestra	32
3.8.5. Lectura en HPLC	32
3.9. <i>Análisis estadístico de la degradación de los fármacos y eficiencia fotocatalítica de los nanocompósitos</i>	33
4. CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. <i>Preparación del Óxido de Grafeno</i>	35
4.2. <i>Extracto de cochinilla</i>	37
4.3. <i>Síntesis y Caracterización de Nanocompósitos</i>	42
4.3.1. Análisis Estadístico de la Síntesis de Nanocompósitos.....	54
4.3.2. Caracterización por microscopía electrónica.....	55
4.3.3. Análisis de Difracción de rayos X (XRD)	57
4.3.4. Voltametría Cíclica.....	59
4.4. <i>Degradación de los fármacos</i>	67
4.4.1. Degradación de DIC	67
4.4.2. Ensayo cinético de remoción de DIC con luz solar	71
4.4.3. Degradación de CBZ.....	74
4.4.4. Mejoramiento de condiciones experimentales en la degradación de la CBZ.....	76
4.4.5. Ensayo de cinética de remoción de CBZ con luz solar	79
4.4.6. Análisis Estadístico de la degradación de los Fármacos DIC y CBZ.	82
5. CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	84
5.1. <i>Conclusiones</i>	84
5.2. <i>Recomendaciones</i>	86
6. CAPÍTULO 6: BIBLIOGRAFÍA	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Peso seco de cochinilla y cantidad de extracto obtenido.</i>	22
Tabla 2 <i>Variables manipuladas en la síntesis de nanocompuestos.</i>	24
Tabla 3 <i>Valores de medición para el espectrofotómetro UV-VIS.</i>	25
Tabla 4 <i>Datos de medición para Voltametría cíclica.</i>	28
Tabla 5 <i>Pesos utilizados en la elaboración del agua sintética.</i>	31
Tabla 6 <i>Concentración de cada fármaco en el agua sintética.</i>	31
Tabla 7 <i>Condiciones experimentales.</i>	31
Tabla 8 <i>Resultados de prueba de Folin- Ciocalteu.</i>	37
Tabla 9 <i>Datos cualitativos sobre los NCs de plata obtenidos a pH5 después de realizar los lavados.</i>	44
Tabla 10 <i>Resultados cualitativos sobre los NCs de plata obtenidos a pH 12 después de realizar los lavados.</i>	46
Tabla 11 <i>Datos cualitativos sobre los NCs de paladio obtenidos a pH12 después de realizar los lavados.</i>	50
Tabla 12 <i>Datos cualitativos sobre los NCs de paladio obtenidos a pH8 después de los lavados.</i>	51
Tabla 13 <i>Valores obtenidos para los nanocompuestos, mediante Voltametría Cíclica.</i>	64
Tabla 14 <i>Análisis cuantitativo de los blancos.</i>	67
Tabla 15 <i>Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con simulador solar para DIC.</i> .	68
Tabla 16 <i>Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con luz natural para DIC.</i>	70
Tabla 17 <i>Resultados del análisis de cinética de degradación para DIC con Pd-rGO.</i>	71
Tabla 18 <i>Resultados del análisis de cinética de degradación para DIC con Ag-rGO.</i>	72
Tabla 19 <i>Análisis cuantitativo de los blancos.</i>	74
Tabla 20 <i>Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con simulador solar para CBZ.</i>	74
Tabla 21 <i>Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con luz natural para CBZ.</i>	75
Tabla 22 <i>Resultados del análisis cuantitativo de los blancos.</i>	77
Tabla 23 <i>Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con luz natural modificado para CBZ.</i>	77
Tabla 24 <i>Resultados del análisis de cinética de degradación para DIC con PD-rGO.</i>	79
Tabla 25 <i>Resultados del análisis de cinética de degradación para CBZcon Ag-rGO.</i>	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Lámina de grafeno.....	8
Figura 2. Mecanismo de formación de nanopartículas de plata	10
Figura 3. Estructura general de las antraquinonas.	11
Figura 4. Cochinilla (<i>Dactylopius coccus</i>) a) formas de la cochinilla a1 y a2 representaciones del insecto macho, a3 y a 4 representan al insecto hembra vista ventral y vista dorsal respectivamente. b) cochinilla sobre las tuneras <i>Opuntia</i>	12
Figura 5. Ácido carmínico.	13
Figura 6. Proceso de síntesis del Óxido de Grafeno.	21
Figura 7. a)Óxido de Grafeno comercial 250ug/mL, b)Espectro UV-vis comparativo entre GO comercial y GO sintetizado en solución acuosa a pH neutro.	35
Figura 8. Óxido de Grafeno sintetizado: a) GO2 sintetizado en Julio 2017, b) GO1 sintetizado en Noviembre 2016, c) GO1 después de ser filtrada, d) GO2 después de ser filtrada.	36
Figura 9. Espectro UV-VIS del extracto de cochinilla (<i>D. coccus</i>) a pH 5.	38
Figura 10. Espectro Uv vis del extracto de cochinilla a pH 5 en el transcurso de 2 meses.	39
Figura 11. Imágenes del extracto de cochinilla 2 meses después de su extracción a) Espectros Uv-vis del extracto acuoso de cochinilla en un volumen de 67mL y 3mL, b) volumen 67mL y alícuota de 3mL de la misma extracción, c) comparación de color a simple vista.	40
Figura 12. Distintos volúmenes probados para determinar relación de trabajo entre los tres reactantes en la síntesis de nanocompuestos de plata.	41
Figura 13. Espectros UV-vis de ensayos para síntesis nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido: a)10 mM de AgNO_3 , b) 5 mM de AgNO_3 , c) 1 mM de AgNO_3 , d) alícuotas prelavado y post lavado del producto de la síntesis a pH5.	43
Figura 14. Ensayos para síntesis nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido a)1 mM de AgNO_3 , b) 5 mM de AgNO_3 , c) 10 mM de AgNO_3 , d) alícuotas prelavado y post lavado del producto de la síntesis a pH.	45
Figura 15. Nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido a pH12	47
Figura 16. Imágenes STEM de Nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido en la primera prueba exitosa pH12.	48
Figura 17. Espectro UV-vis del NC de plata comparado con los espectros del óxido	49
Figura 18. Ensayos de síntesis de nanocompuestos de paladio y óxido de grafeno reducido, post lavado del producto a pH12.	51
Figura 19. Espectro Uv-vis de absorción de Ag-NCs con.....	52
Figura 20. Espectro Uv-vis de absorción de Pd-NCs con.....	52
Figura 21. Espectro Uv-vis de absorción de Ncs sintetizados a pH8 comparados con GO comercial (negro) y sintetizado (rojo): a) Pd-NCs y b) Ag-NCs ambas en color azul.	53
Figura 22. Espectro Uv-vis de ensayos de estabilidad hasta 15 días después de la síntesis nanocompuestos post lavado del producto con el método a pH8	54
Figura 23. Imágenes de STEM de los nanocompuestos a) Ag-rGO, b) Pd-rGO.	55

Figura 24. a) Imagen TEM del nanocompuesto Ag-rGO, b) tamaño medio del nanocompuesto Ag-rGO, c) nanocompuesto Pd-rGO de imagen TEM y d) tamaño medio del nanocompuesto Pd-rGO.....	56
Figura 25. Difractograma XRD de nanocompuesto de Ag-rGO.	58
Figura 26. Difractograma XRD de nanocompuesto de Pd-rGO.	59
Figura 27. Voltamperograma representa el comportamiento de los Nanocompósitos en color azul para Ag-rGO y en color verde para Pd-rGO, además se observa el potencial RÉDOX del extracto de cochinilla en rojo.	59
Figura 28. Voltamperograma de cada Nanocompósito a) Ag-rGO b) Pd-rGO.	61
Figura 29. Determinación de band gap del AgNC: a) pico representativo en el espectro de la formación del nanocompósito, b) derivada del espectro UV-Vis band gap del nanocompósito 2.13 eV. Gráfica de Tauc: c) band gap de GO 4.25 eV, d) band gap #1 Ag 3.08 eV y e) band gap NC 2,13 eV.	65
Figura 30. Determinación de band gap del PdNC: a) pico representativo en el espectro de la formación del nanocompósito, b) derivada del espectro UV vis, band gap de NC 1,93 eV. Gráfica de Tauc: c) band gap GO 4,25 eV , d) band gap #1 Pd 2,33 eV y band gap #2 Pd 1.9 eV.	66
Figura 31. Tratamiento para DIC con simulador solar.	68
Figura 32. Tratamiento para DIC con luz solar.	68
Figura 33. Curva de tendencia de la cinética de degradación para DIC con Pd-rGO.	71
Figura 34. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para DIC con Pd-rGO.....	72
Figura 35. Curva de tendencia de la cinética de degradación para DIC con Ag-rGO.....	73
Figura 36. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para DIC con Ag-rGO.	73
Figura 37. Ensayos screening para mejorar condiciones de remoción.	76
Figura 38. Muestras de CBZ procesadas para ser analizadas en HPLC.	78
Figura 39. Curva de tendencia de la cinética de degradación para CBZ con Pd-rGO.....	79
Figura 40. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para CBZ con Pd-rGO.....	80
Figura 41. Curva de tendencia de la cinética de degradación para CBZ con Ag-rGO.....	81
Figura 42. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para CBZ con Ag-rGO.	81

RESUMEN

En el presente trabajo de titulación se sintetizaron nanocompuestos de grafeno y nanopartículas de paladio (PdNCs) y de plata (AgNCs), empleando como agente reductor al extracto de cochinilla (*Dactylopius coccus*). Las propiedades ópticas, morfológicas y electroquímicas de los nanocompuestos fueron investigadas empleando técnicas de análisis como UV-Vis, TEM, STEM, XRD y Voltametría cíclica. El diámetro promedio de las nanopartículas preparadas con concentraciones óptimas de AgNO_3 y K_2PdCl_6 fue 20.6 nm y 18.9 nm, respectivamente. La degradación de los fármacos, Carbamazepina y Diclofenaco sódico en agua, aplicando los nanocompuestos depende del tiempo de exposición a la fuente de luz de un simulador solar y la radiación solar natural. La degradación máxima promedio de Diclofenaco sódico fue 63,39% empleando luz solar natural y PdNCs y 63,26% con la misma fuente de luz y AgNCs. Mientras que en los tratamientos empleando el simulador solar se logró 18,71% con PdNCs y 27,33% con AgNCs. En cambio para carbamazepina se obtuvo valores de degradación de 48,89% y 48,22% con luz solar natural y AgNCs y PdNCs, respectivamente. Mientras que utilizando el simulador solar no hubo variación significativa, 48,56% para AgNCs y 48,67% para PdNCs. De manera que con radiación solar prolongada se obtiene una mejor degradación del diclofenaco mientras que para degradar satisfactoriamente carbamazepina es necesario realizar estudios adicionales de concentración y tiempo de exposición a la luz solar.

PALABRAS CLAVES:

- **PIGMENTO NATURAL.**
- **NANOCOMPÓSITOS.**
- **FÁRMACOS.**

ABSTRACT

In this study nanocomposites of graphene and nanoparticles of palladium (PdNCs) and silver (AgNCs) were synthesized using the cochineal extract (*Dactylopius coccus*) as a reducing agent. Optical, morphological and electrochemical properties of the nanocomposites were investigated using analytical techniques such as UV-Vis, TEM, STEM, XRD and Cyclic Voltammetry. The average diameter of the nanoparticles prepared with optimal AgNO_3 and K_2PdCl_6 concentrations was 20.3 nm and 18.9 nm, respectively. The degradation of the pharmaceuticals, Carbamazepine and Diclofenac Sodium in water by applying nanocomposites, depends on the exposure time to the light source of a solar simulator and to the natural sunlight. The average maximum degradation of Diclofenac sodium was 63.39% using natural sunlight and PdNCs and 63.26% with the same light source and AgNCs. While in the treatments using the solar simulator was achieved 18.71% with PdNCs and 27.33% with AgNCs. In contrast, for carbamazepine, degradation values of 48.89% and 48.22% were obtained with natural sunlight and AgNCs and PdNCs, respectively. While utilizing the solar simulator there was no significant variation, 48.56% and 48.67% for AgNCs and PdNCs, in that order. Therefore with extended solar radiation, a better degradation of diclofenac is obtained, while to satisfactorily degrade carbamazepine, additional studies of concentration and time of exposure to sunlight should be carried out.

KEYWORDS:

- NATURAL PIGMENT,
- NANOCOMPOSITES
- DRUGS.

1. CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Formulación del problema

La contaminación de agua dulce, es un problema medioambiental que requiere gran atención y que en los últimos años, se ha normalizado en las leyes para así obtener rangos límite para cada contaminante. Los contaminantes emergentes son un problema a largo plazo en el medioambiente, al no conocerse los efectos que conllevan a la salud humana, es necesario tomar acciones preventivas a sus posibles efectos, además la contaminación en cuerpos de agua dulce disminuye la capacidad de las poblaciones de encontrar agua para consumo. Los agravantes de esta situación es el crecimiento poblacional, ya que en las ultimas décadas el desarrollo de las poblaciones ha significado sin duda una reducción de las fuentes naturales de agua dulce, la contaminación por las actividades del hombre, entre las que se destacan las actividades industriales, hospitalarias, domésticas y recreativas, donde se utilizan o se producen contaminantes emergentes (Ovalle Serrano, Blanco Tirado, & Mariany, 2013)Entre ellos cabe destacar a los fármacos residuales, productos de higiene y cuidado personal, drogas, tenso activos, etc. Una buena parte de los contaminantes emergentes están presentes en los efluentes de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales, lo que indica, que estos contaminantes no son degradables mediante tratamientos biológicos convencionales; además las concentraciones muy bajas de los mismos no aportan una carga de carbono orgánico significativa, por lo tanto el efluente, aun cumpliendo los requisitos que establece la normativa para su descarga, puede generar problemas medioambientales en el medio hídrico receptor (Carbajo, 2013).

1.2. Justificación del problema

En la actualidad existen tecnologías alternativas y procesos avanzados para el tratamiento de efluentes contaminados con compuestos orgánicos con alta toxicidad, refractarios y/o difícilmente biodegradables pueden ser clasificados en: procesos no destructivos y los procesos que si lo son. Los procesos no destructivos como la adsorción, la desorción, la extracción en fase líquida con disolventes o la tecnología de membranas. Por el contrario los procesos destructivos destacan la incineración, oxidación húmeda y oxidación húmeda catalítica, la oxidación en condiciones supercríticas y la oxidación avanzada. Los tratamientos como la incineración o la oxidación húmeda avanzada sólo son aplicables cuando la concentración de contaminantes es muy elevada por el contrario los procesos de oxidación avanzada, (fotocatálisis, UV/H₂O₂, O₃, entre otros) son eficientes en intervalos de carga de Carbono Orgánico Total (TOC) y caudales moderados o bajos como es el caso de los fármacos (Carbajo, 2013).

La síntesis de nanocompósitos es un campo que está despertando interés, ya que paulatinamente se ha descubierto una amplia variedad de materiales que no solo mejoran algunas de sus propiedades sino que también pueden llegar a adquirir características innovadoras y presentar nuevas aplicaciones en los campos biomédicos, ópticos, electrónicos y fotocatalíticos (García I. N., 2015)

La necesidad de buscar procesos más eficientes para la descontaminación de cuerpos de agua ha llevado a la implementación de la nanotecnología, a fin de desarrollar nuevas técnicas para los tratamientos de oxidación avanzada. La obtención de nanomateriales fotocatalíticos, mediante un método nuevo de síntesis verde, utilizando extractos naturales como agentes reductores, hacen de este proceso más económico. Además esta alternativa de síntesis presenta

varias ventajas con respecto a los métodos convencionales, ya que los niveles de toxicidad son bajos, no se emplean reactivos agresivos ni generan subproductos nocivos al medioambiente (Ovalle Serrano, Blanco Tirado, & Mariany, 2013).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Evaluar la degradación de carbamazepina y diclofenaco utilizando nanocompósitos grafeno-paladio y grafeno-plata sintetizados con extracto de cochinilla.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Obtener óxido de grafeno mediante el método modificado de Hummer.
- Sintetizar nanocompósitos de grafeno y metales preciosos (paladio y plata) utilizando extracto de cochinilla como agente reductor.
- Caracterizar espectroscópicamente mediante UV-VIS, composición mineralógica y fases mediante XRD y morfológicamente mediante microscopía electrónica de barrido en modo de transmisión (STEM) a los nanocompósitos obtenidos.
- Evaluar la degradación de los fármacos utilizando los nanocompósitos sintetizados, a temperatura ambiente y a la exposición de luz solar y lámpara UV, empleando la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).
- Realizar la cinética de degradación de los fármacos empleando los nanocompósitos.

1.4. Hipótesis

Los nanocompuestos de grafeno y metales preciosos (paladio y plata)) exhiben una elevada eficiencia en la degradación de fármacos.

2. CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Nanomateriales

En los últimos años ha surgido el interés en la comunidad científica por la Nanotecnología, esta consiste en el diseño y la producción de objetos o estructuras muy pequeños, inferiores a 100 nanómetros (100 millonésimas de milímetro) así como también su caracterización y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y tamaño. Los productos nanotecnológicos o los nanomateriales como partículas, tubos o fibras a nanoescala son aquellos que contienen nanopartículas al menos en una dimensión, estos materiales poseen mayor área superficial por unidad de volumen en comparación a los materiales convencionales, debido a que mientras el tamaño de grano o de partícula en un material poli cristalino se hace más pequeño, el número de átomos localizados en el borde de grano o en la superficie se incrementa (Manirovich, 2009).

Por lo tanto un nanomaterial se define como un material compuesto, en el cual la dimensión de al menos una de las dimensiones está en el rango entre 1 y 100 nm. Los nanomateriales tienen un amplio espectro de uso industrial y en campos como el sanitario, la nanobiotecnología, la electrónica (nanoelectrónica), como refuerzo en sus propiedades de barrera, resistencia a la llama, aplicaciones cosméticas y propiedades bactericidas, entre otros (Marinovich, 2009)

Diversas nanopartículas funcionales (p. ej., puntos cuánticos semiconductores (QD), nanopartículas de oro, nanopartículas magnéticas, nanotubos de carbono y nano láminas de grafeno) reportadas por la literatura científica están siendo muy utilizadas para obtener nanocompuestos poliméricos (Acuna Porras, 2015).

2.2. Nanopartículas Metálicas (MNPs).

2.2.1. Generalidades

Uno de los objetivos principales de la nanotecnología es diseñar y construir pequeñas estructuras para el diseño de materiales avanzados y nano dispositivos de alto rendimiento (Daniel, 2004). Las nanopartículas metálicas son particularmente atractivas para tales propósitos, debido a sus únicas propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas y catalíticas (Grieve, 2000)

Los metales de transición, especialmente los metales preciosos, muestran una gran actividad catalítica en reacciones orgánicas e inorgánicas (Medintz, 2005). Estos materiales en tamaño nano muestran propiedades tanto en la catálisis homogénea como en la heterogénea (Springer, 2008). Las nanopartículas de metales nobles como oro, plata, cobre, paladio, etc., tienen gran ventaja debido a sus propiedades únicas de coloración, reactividad química, absorción de radiación y relación área/volumen y, en algunos de estos metales, como la plata y el paladio se destaca su comprobada actividad plasmónica y fotocatalítica respectivamente que dependen directamente de su forma y tamaño (Link, 1999).

En particular los metales deben utilizarse en forma de nanopartículas para maximizar su área específica, pero porque son inestables en ese estado, es necesario unirlos a la superficie de una partícula de óxidos, de manera que no entren en contacto unos con otros. Este tipo de catalizadores son llamados catalizadores metálicos soportados, ya que ocupan una fase diferente a la de la fase fluida en la que se encuentran los reactantes. Estos materiales son llamados catalizadores heterogéneos porque proporcionan una superficie en la que pueda tener lugar la reacción (El Bakkali, 2016).

2.3. Nanopartículas de paladio (PdNPs)

Dentro de los metales de transición, el paladio, se utiliza ampliamente como catalizador para un gran número de aplicaciones como: la hidrogenación, hidroformilación, carbonilación, reacciones de acoplamiento C-C como la de Suzuki-Miyaura, entre otras (Sun J. F., 2015). El paladio como catalizador, ya sea en catálisis homogénea o heterogénea, no ha podido ser sustituido por otro metal, porque sus propiedades catalíticas son únicas (Pérez, 2008).

2.4. Nanopartículas de plata (AgNPs)

Estas nanopartículas pueden ser utilizadas en distintos campos por sus características antibacterianas, plasmónicas, ópticas, superconductoras y catalizadoras (Riley, 2002) y su eficiencia está relacionada con el tamaño de partícula y con su morfología. Las AgNPs tienen la posibilidad de ser sintetizadas en condiciones ambientales, usando medios acuosos gracias a la estabilidad que tiene este metal cuando presenta valencia cero.

Diferentes métodos de síntesis de nanopartículas han sido investigados, entre ellos la reducción de sales metálicas con boro hidruro o citrato de sodio como agentes químicos, y otros métodos que incluyen el uso de microondas, electrolisis, microemulsión y fotoreducción de iones (Morales, 2009).

2.5. Compuestos en base al carbono

El carbono es uno de los elementos químicos más cuantiosos de la naturaleza y constituye el pilar básico de la química orgánica. El carbono está presente en cerca de 16 millones de compuestos y forma parte de todos los seres vivos. Por su configuración electrónica tiene la

característica de formar distintos tipos de enlace dando lugar a una gran variedad de materiales con estructuras y propiedades muy diferentes (García Martínez, 2013)

Las nano estructuras de carbono exhiben propiedades sorprendentes, que las vuelve en materiales de alta aplicabilidad en la ciencia y la tecnología. Están constituidas por una lámina de átomos de carbono organizados en una red hexagonal con espesor atómico. Esta lámina bidimensional es conocida con el nombre de grafeno (Fig. 1) donde cada átomo de carbono se une a otros tres átomos de carbono mediante enlaces sp^2 para formar una lámina plana con una estructura semejante a la de un panel de abeja, donde los átomos de carbono están separados por una distancia de $1,42\text{Å}$ (Solís P. , 2011).

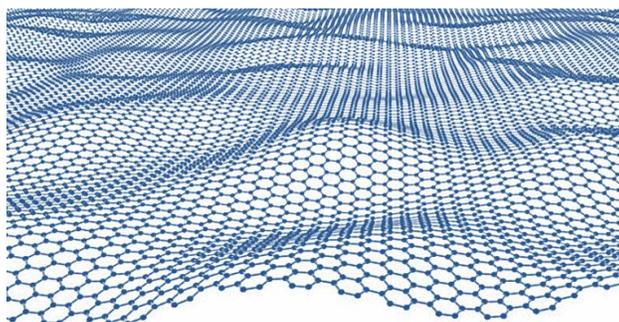


Figura 1. Lámina de grafeno

Fuente:(Carrasco Marín, 2014).

Si varias láminas de grafeno se apilan de manera ordenada manteniendo una distancia interlaminar de $3,37\text{Å} = 0,337\text{ nm}$ se obtiene una estructura tridimensional, el grafito (Galey, 2013).

2.5.1. Aplicación como refuerzo polimérico de los materiales grafénicos

El perfeccionamiento de catalizadores es un área de gran impacto científico y tecnológico empleado para la elaboración de productos orgánicos, eliminación de residuos y procesos destinados a la obtención de energía. Los catalizadores organometálicos tienen la ventaja de ser

fáciles de controlar con la introducción de diferentes tipos de ligandos. Básicamente los catalizadores organometálicos poseen elevada versatilidad y actividad catalítica, es por ello que se busca desarrollar sistemas que permitan su reciclado, así se producen los catalizadores soportados en matrices sólidas permitiendo la separación del catalizador por filtración y su posterior reutilización. El grafeno y sus derivados son excelentes soportes ya que estos materiales que poseen una elevada porosidad y conducción (Castellón, 2015)

La utilización del grafeno y sus derivados, como el óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno reducido (rGO), como catalizadores se ha desarrollado en los últimos años. Las propiedades del grafeno son únicas en cuanto a conductividad y favorecen la utilización de estos materiales como catalizadores y como soporte para los catalizadores. Los catalizadores de grafeno se basan en la introducción de metales nobles en la superficie del grafeno en forma de nanopartículas (Jeon, Seo, Lee, Lee, Um, & Kim, 2013); (Oshi, Sharma, Sharma, Prakash, & Singh, 2013) u óxidos metálicos. El inconveniente trascendental de estos materiales es que esta modificación con metales en forma de nanopartículas modifica las propiedades del grafeno, lo que puede producir la pérdida de la conductividad eléctrica (PATENTE Mata, et al., 2013).

2.6. Síntesis verde

La síntesis de nanomateriales es un proceso en el cual se utilizan varias técnicas, siendo posible la utilización de procesos físicos y químicos de alta complejidad y en su mayoría de alto costo. La utilización de métodos químicos implica no solo el costo de reactivos si no también un peligro para la salud y el daño ambiental asociado (Alfaro, 2012). El nacimiento de la química verde y su manejo en el área de la Nanociencia es una alternativa sustentable y bio-compatibile con el futuro. El uso de extractos naturales de frutas se ha popularizado en los últimos años por su

contenido de poli-fenoles, azúcares reductores, bases nitrogenadas y aminoácidos; capaces de reducir cationes en una disolución de sal metálica (Camacho Polo, 2013). En el proceso de síntesis de nanopartículas en disolución se emplean: un precursor metálico, un agente reductor y un agente estabilizante, los compuestos naturales que están en plantas y otros seres vivos pueden ser utilizados como agente reductor y estabilizante, por lo que se elimina la necesidad de compuestos químicos que sean tóxicos y a su vez evitan la agregación de estas partículas (Hernández, 2013). La formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones metálicos consta de dos etapas: nucleación y crecimiento (fig.8). La nucleación es la agrupación de iones metálicos que a su vez van incorporando lugares vecinos de nucleación para la formación de nanopartículas dando paso a la etapa de crecimiento (Monge, 2014).

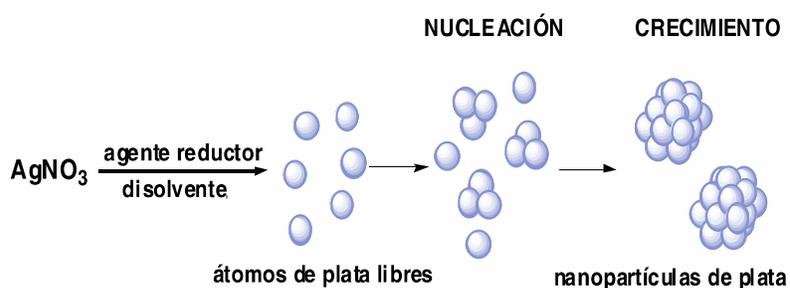


Figura 2. Mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de la reducción química en disolución de sal AgNO_3 .

Fuente: (Monge, 2014).

2.7. Compuestos poli-fenólicos

Los compuestos fenólicos forman una de las familias más numerosas y ampliamente distribuidas en el reino vegetal, con más de 8000 estructuras conocidas. Constituyen un amplio grupo de metabolitos con diversas propiedades y funciones implicadas en el crecimiento y desarrollo de algunos seres vivos. Los poli-fenoles aportan pigmentación, o propiedades

antioxidantes que protegen los tejidos contra el daño celular o frente a agentes patógenos y depredadores (Serna, 2012).

2.7.1. Antraquinonas

En la clasificación de compuestos poli fenólicos, se tiene a las antraquinonas, son la base y fuente de muchos colorantes; además son una clase de metabolitos secundarios con una funcionalidad p-quinoides en un núcleo antracénico cuyos carbonos se enumeran tal como se muestra en la figura 10, tienen dos grupos cetona, su mayoría en posición 9,10; puede ser sustituida de varias formas, resultando en una gran diversidad de estructuras (Ramawat, 2007).

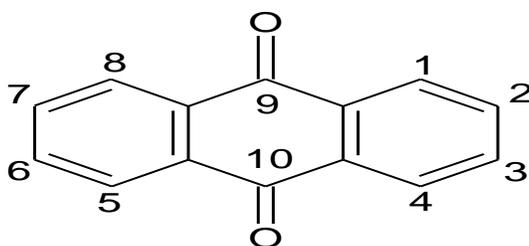


Figura 3. Estructura general de las antraquinonas.

Fuente: (Serna, 2012).

Las antraquinonas se encuentran libres o en estado de combinaciones glicosídicas, están distribuidas entre los seres vivos, están en microorganismos, plantas, equinodermos e insectos tintóreos de la familia de los *Cóccidos* (Bozzi, 2007). Estos insectos producen, los ácidos antraquinontetrahidroxi-metil-carboxílicos, como son los ácidos quermésico y carmínico (Gibaja Oviedo, 1998).

2.7.2. Cochinilla

La cochinilla (*Dactylopius coccus*) es un insecto originario de México y de los países andinos como Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, que crece como plaga en los tallos de las tuneras Opuntia (*Opuntia ficus-indica*) (Fig.15b). De la hembra se extrae el carmín que es utilizado como tinte en varias áreas comerciales como la industria alimenticia, textil y cosmética. La hembra es capaz de poner hasta 400 huevos, tiene un tamaño de unos 6 mm y apenas se mueve en las hojas. El macho es un insecto de proporciones menores y con alas, no supera los 2,5 mm (Fig.15a) (Ortega Cifuentes, 2012).

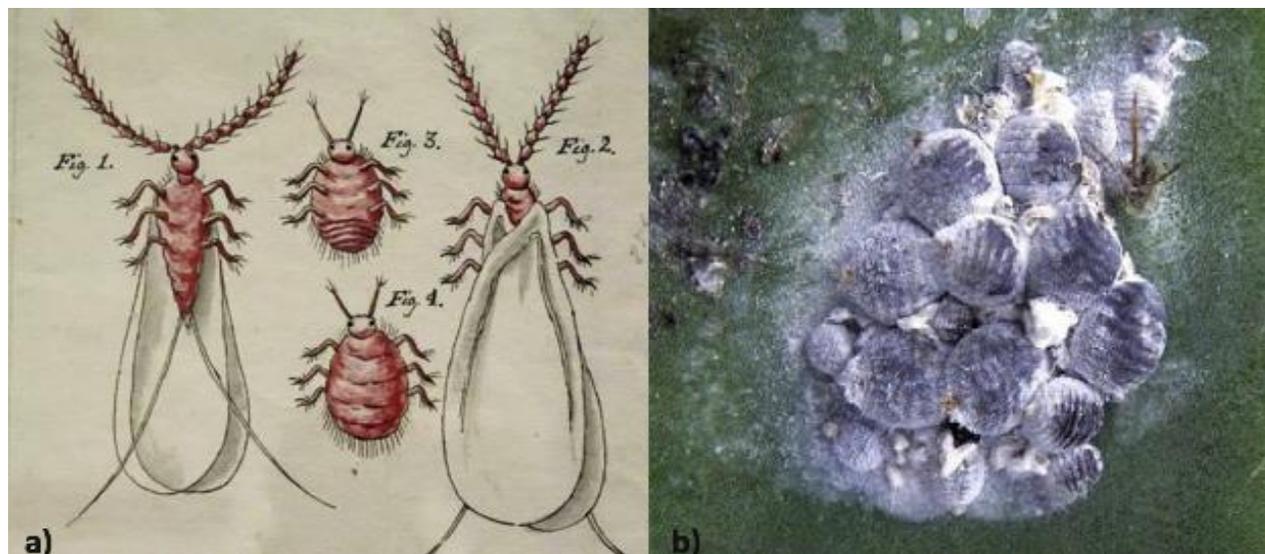


Figura 4. Cochinilla (*Dactylopius coccus*) a) formas de la cochinilla a1 y a2 representaciones del insecto macho, a3 y a 4 representan al insecto hembra vista ventral y vista dorsal respectivamente. b) cochinilla sobre las tuneras Opuntia.

Fuente: (Gómez Hernández, 2013).

2.7.3. Composición Química

Según investigaciones previas la cochinilla presenta valores del 15 y 20 % del ácido carmínico en peso seco (Gómez Hernández, 2013). La calidad de la grana cochinilla se mide tomando en cuenta diversos elementos como el tamaño y la edad de las hembras, los métodos de sacrificio y secado entre otros, siendo el más importante el contenido de ácido carmínico. Varios autores han sugerido que la recolección de los insectos debe realizarse cuando las hembras estén oviplenas y que la cosecha debe efectuarse antes de la oviposición, para que haya una concentración máxima de colorante (Briseño-Garzón, 2008).

La cochinilla, además de ácido carmínico, contiene ácido kermésico, ácido flavokermésico y pigmentos no identificados.

2.7.4. Ácido Carmínico

El ácido carmínico (Fig.5) o ácido antraquinon-7-glucopiranosil-3,5,6,8- tetrahidroxi-1-metil-2-carboxílico, cristaliza en prismas rojos, no tiene punto de fusión y se descompone a 120°C. Su constitución fue estudiada por Dimroth y Kammerer, posteriormente Ali y Haynes establecieron que la cadena lateral del ácido carmínico es un D-glucopiranosilo (Wouters, 1992)

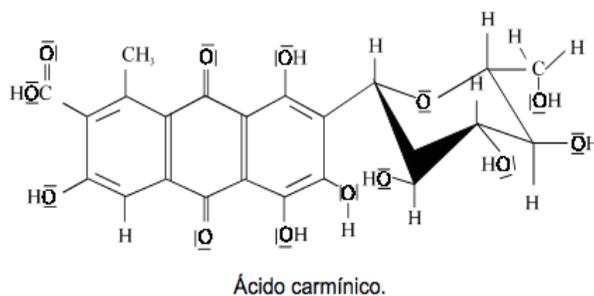


Figura 5. Ácido carmínico.

Fuente: (Wouters, 1992)

2.8. Caracterización de Nanomateriales

La caracterización de un material no es más que la descripción de las propiedades físicas y composición química del mismo (Guarnizo Franco, 2016).

2.8.1. Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) y de barrido (SEM)

El mejor método para conocer el tamaño y forma de las nanopartículas es utilizar la Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) y de barrido (SEM), estas técnicas muestran la imagen de las nanopartículas derivada de la interacción de un haz de electrones con la muestra. Para el modo TEM esta imagen se crea con electrones que atraviesan la muestra, mientras que en el modo SEM, se recogen los electrones que la muestra refleja. El TEM tiene como desventajas propias de su análisis la agregación y descomposición promovida por el haz de electrones, los problemas inherentes a la interpretación de imágenes bidimensionales de muestras tridimensionales; el reducido tamaño de las muestras estadística, que se traduce en un número finito, poco representativo en comparación con el número de Avogadro (Madrid, 2017). En la técnica STEM la imagen se construye con los electrones transmitidos de forma similar al TEM, pero con un arreglo de detectores que permite el rastreo de los mismos dispersados alrededor del haz incidente.

2.8.2. Espectrofotometría Ultravioleta-visible (UV- vis)

La espectrofotometría se fundamenta en la capacidad de las moléculas para absorber y emitir radiaciones de acuerdo con los siguientes parámetros las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que absorba se verán afectadas, dentro de ellos se habla de la estructura atómica, condiciones de pH y temperatura, fuerza iónica y constante

dieléctrica, por lo que es una técnica que brinda mucha información para la determinación y caracterización de bio-moléculas (Madrid Sani, 2017)

Esta técnica es ampliamente utilizada para realizar seguimiento de la cinética de reacciones químicas, también es utilizado en la caracterización de NPs que poseen banda de resonancia plasmónica. La banda de acuerdo a su posición y forma nos indica el tipo de metal, el tamaño, la forma y la polidispersidad de las partículas en disolución, y las sustancias adsorbidas en su superficie (Guarnizo Franco, 2016)

2.8.3. Voltametría Cíclica

La electroquímica de las reacciones y potenciales rédox de la especie electro activa conforman información importante en la caracterización de nuevos materiales con futuras aplicaciones fotocatalíticas y electrónicas, por esta razón se utiliza la Voltametría cíclica (VC). Esta técnica se basa en procesos electroquímicos que utilizan la respuesta corriente-potencial de un electrodo polarizable en la solución que se analiza. La difusión es el proceso fundamental en el transporte de la especie electro activa, mientras que la migración y la convección se reducen por la adición de un exceso de electrolito soporte y evita el movimiento de agitación y gradientes de temperatura (González García, 2010)

2.9. Contaminantes emergentes

Hoy en día los contaminantes emergentes no se encuentran regulados ni incluidos entre los parámetros de monitorización de calidad del agua, recientemente se han desarrollado técnicas de detección con sensibilidad mayor y límites detectables mínimos, por lo que en los últimos años se ha logrado captar la existencia de estos contaminantes en el orden de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} . Entre ellos

cabe resaltar a los productos de cuidado personal, las drogas y fármacos, etc. Estos contaminantes se encuentran presentes en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), lo que indica que en gran parte no son biodegradables, y que al encontrarse en concentraciones tan bajas no son una fuente significativa de carbono orgánico, sin embargo el efluente de las PTARs es descargado al medio ambiente (Carbajo, 2013).

2.9.1. Fármacos

Comparándolos con otros contaminantes emergentes, los fármacos han sido diseñados para provocar actividad fisiológica y farmacológica específica, por lo que pueden producir reacciones varias en los seres vivos. Por ejemplo estos pueden causar desbalances endocrinos, resistencia a fármacos, alteraciones metabólicas y entre otros problemas resistividad microbiológica y bioacumulación en organismos acuáticos (Carbajo, 2013).

Los fármacos se pueden clasificar por sus características químicas y estructurales, como son: poder de disolución en la célula, liposolubilidad, poder de ionización. (fármacos polares y no polares) y polaridad.

La mayoría de los medicamentos son de peso molecular bajo, generalmente entre 250 y 500 u.m.a. y de carácter ácido o básico débil y son, por lo tanto electrolitos que en fase acuosa se encuentran en dos formas: ionizada y no ionizada; cuando se disuelven suelen estar en forma ionizada, sobre todo cuanto se disuelvan en pH “opuesto”. Las interacciones en el organismo se dan con las barreras celulares que son permeables a las formas no ionizadas. Así que las formas ionizadas son polares y a su vez solubles en agua; no-ionizadas son menos polares o más liposolubles y esta fracción no ionizada depende del su pKa, y del pH del medio de disolución.

2.9.1.1. *Carbamazepina*

Es un agente antiepiléptico y analgésico específico para la neuralgia trigeminal. Su nombre químico es 5H-dibenzo-[b, f]-azepina-5-carboxamida, con un peso molecular es 236.27 g/mol. Después de una dosis oral, la carbamazepina se absorbe lentamente pero casi por completo. La biodisponibilidad de la Carbamazepina dentro del organismo humano es del orden del 85%. La vida media de eliminación de la carbamazepina inalterada es de 36 horas después de una dosis oral y de 16-24 horas después de dosis repetidas. La carbamazepina se metaboliza al 10,11-epóxido-carbamazepina, farmacológicamente activa, cuya vida media de eliminación del plasma es de aproximadamente 6 horas. Después de la administración de una dosis oral única de 400 mg de carbamazepina el 72% es excretado en la orina y el 28% en las heces. En la orina aproximadamente 2% de la dosis es recuperada sin cambio y alrededor del 1% como el metabolito farmacológicamente activo 10,11-epóxido. Otros metabolitos descritos son el derivado 10 11-transdiol y su glucurónido como los metabolitos principales. Otras vías importantes de biotransformación para la carbamazepina conllevan a varios compuestos monohidroxilados así como a N-glucurónido de carbamazepina (Stoner, 2007). Según su solubilidad en distintos solventes se puede determinar el tipo de compuesto que es la carbamazepina, la solubilidad en Agua a 20°C es prácticamente nula o insoluble de igual forma en el éter, en etanol es ligeramente soluble y en cloroformo es soluble en la relación (1:10) , por lo que se lo considera un compuesto apolar (ACOFARMA, 2008).

2.9.1.2. *Diclofenaco*

Esta sustancia pertenece al grupo de los AINE (antiinflamatorios no esteroideos). Como el resto del grupo, su acción terapéutica consiste en alivio del dolor y la inflamación. Después de una dosis oral, el diclofenaco se absorbe en su totalidad en comparación con la administración intravenosa, medida por la recuperación de la orina. Sin embargo, sólo alrededor del 50% de la dosis absorbida está disponible sistémicamente debido al metabolismo de primer paso. Este fármaco se metaboliza y posteriormente es eliminado a través de la excreción urinaria y la biliar del glucurónido y los conjugados de sulfato de los metabolitos. El 65% de la dosis se excreta en la orina y el 35% en la bilis como conjugados de diclofenaco sin cambios además de cinco metabolitos (Gan, 2010). Con respecto a su solubilidad el Diclofenaco sódico es fácilmente soluble en metanol; soluble en etanol; ligeramente soluble en agua según la ficha de seguridad de Thermo Fisher 50g/L (Fisher., 2017); casi insoluble en cloroformo y éter dietílico, por lo que puede considerarse un compuesto polar (FEUM, 2016).

3. CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Participantes

3.1.1. Instituciones

El proyecto fue realizado en el Laboratorio de Materiales Avanzados del Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, para la parte de síntesis, mientras que los análisis de HPLC para la cuantificación de la degradación de los fármacos elegidos fue realizada en los laboratorios de Química de Alimentos de la Universidad Central del Ecuador.

3.1.2. Colaboradores Científicos

Luis Cumbal, PhD. CENCINAT (Director del Proyecto de Titulación).

Carina Staël, Ing. (Técnico del laboratorio de Nuevos nanomateriales, CENCINAT-ESPE).

Alexis Debut, PhD., CENCINAT (Director del laboratorio de Caracterización de nanomateriales, CENCINAT-ESPE).

KarlaVizuete, Ing. (Técnico del laboratorio de Caracterización de nanomateriales, CENCINAT-ESPE).

Pablo Bonilla Valladares, Dr. (Director de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador).

Yandri Infante, Giovany Garófalo (Técnicos del Laboratorio de Química de Alimentos en la Universidad Central del Ecuador).

3.2. Periodo de investigación

La investigación fue desarrollada en un periodo de 12 meses, desde febrero 2017 hasta enero de 2018.

3.3. Preparación del Óxido de Grafeno

Para la preparación del óxido de grafeno (Fig. 6), (graphene oxide por sus siglas en inglés (GO)) se utilizó como materia prima, grafito en polvo obtenido de lápices reciclados. Se utilizó el método modificado de Hummer y Offeman (Shahriary, 2014). En este método de preparación existen tres fases de temperatura: inicialmente baja temperatura, pasando por una fase de temperatura media y terminando con una fase de alta temperatura. En la primera fase, en un matraz de 1000 mL se añadieron 3 gramos de polvo de grafito y 1,5 gramos de NaNO_3 sobre 69 mL H_2SO_4 concentrado bajo agitación y baño de hielo por 30 minutos. Después se agregaron lentamente 9 gramos de KMnO_4 , teniendo en cuenta que la mezcla debe mantenerse a 5°C y en agitación durante dos horas. Para alcanzar la fase de temperatura media, se retiró el baño de hielo y se elevó la temperatura a 45°C , manteniendo la agitación durante una hora. Posteriormente, se alcanza la fase de alta temperatura, en la cual se agregaron 138 mL de agua destilada. Esta mezcla se agitó durante 30 minutos a 90°C . Para finalizar con la síntesis, se adicionaron 360 mL de agua destilada, seguida de la agregación lenta de H_2O_2 (18 mL, 30%) con la finalidad de reducir el KMnO_4 residual.

Para purificar la mezcla fue menester centrifugarla en tubos Falcón de 50 mL a 3000 rpm por 30 minutos. Esta mezcla fue lavada con una solución de HCl (5%) y enjuagada con

agua destilada, este proceso se realizó por triplicado. Luego, la mezcla es secada y almacenada para próximos ensayos (Murray-Smith, 2013).

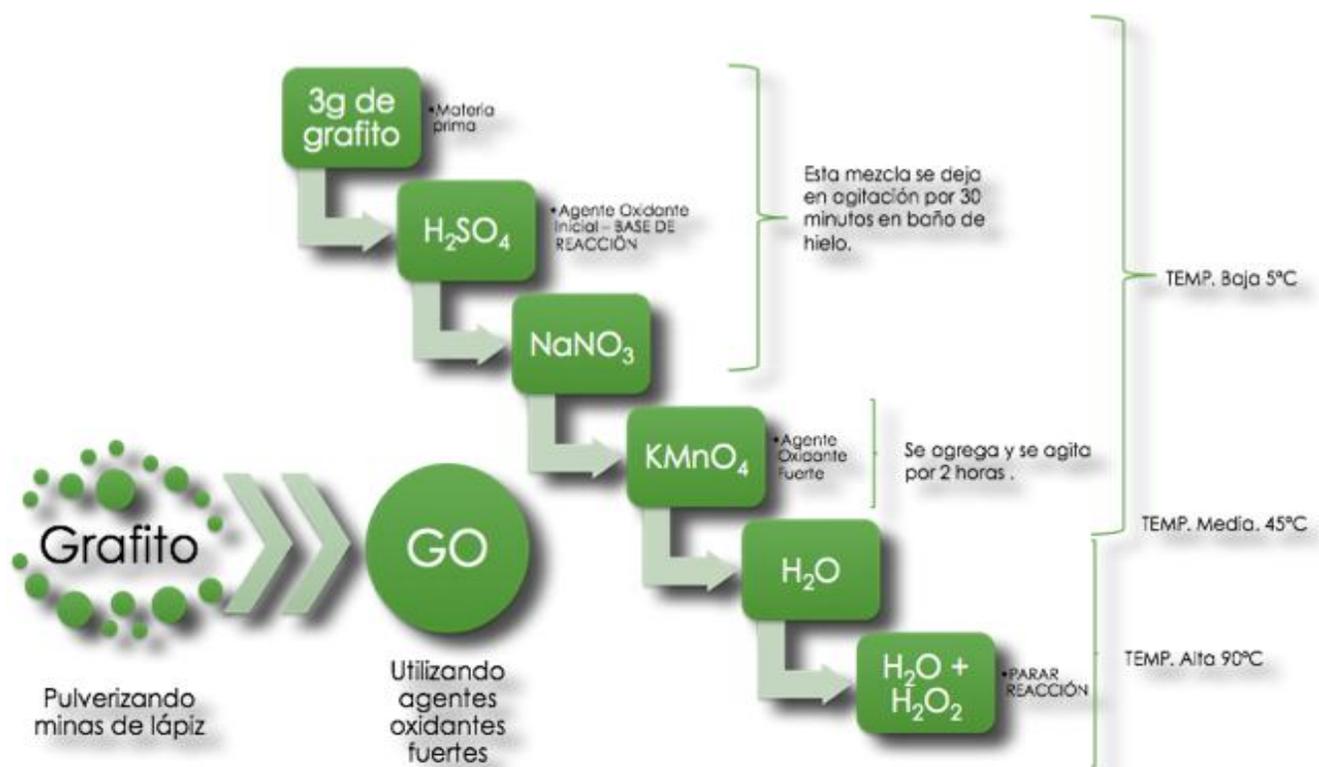


Figura 6.Proceso de síntesis del Óxido de Grafeno.

3.4. Obtención del extracto de cochinilla

Los insectos se obtuvieron de un proveedor de la provincia de Loja. La biomasa fue secada en una estufa al vacío. Una vez que las muestras se encontraron libres de agua, se molió la biomasa con ayuda de un mortero, hasta obtener un polvo muy fino de cochinilla. Las muestras del polvo del insecto sin purificación se colocaron en frascos Boeco de vidrio de 100 mL de capacidad. Previo a la maceración se realizó un análisis de contenido de polifenoles y así

determinar el mejor solvente para la maceración de la cochinilla. Para la maceración se siguieron recomendaciones del estudio de (Venegas, 2014), se utilizaron 25 gramos del polvo en 250 mL de agua sin agitación y en oscuridad por 24 h (Tabla 1). Transcurrido este tiempo, las muestras maceradas fueron filtradas mediante el uso de papel filtro N°2, obteniéndose biomasa que fue resuspendida en el mismo volumen de agua destilada pura, se realiza este proceso un total de 6 veces, produciéndose la biomasa final de cochinilla de color grisáceo; no se realizó concentración en el rotavapor del extracto de cochinilla (CE). Finalmente el extracto obtenido se almacenó en un frasco Boeco bien sellado a 4°C de refrigeración. Este extracto se caracterizó por ensayos de polifenoles, el uso de espectrofotometría Uv-vis, pH-metro, y por medio de Voltametría cíclica.

Tabla 1

Peso seco de cochinilla y cantidad de extracto obtenido.

Material animal	Peso seco (g)	Volumen de extracto (mL)
<i>(Dactylopius coccus)</i>	25	1500

3.5. Síntesis de nanocompuestos usando extracto de cochinilla como agente reductor.

El protocolo para la síntesis de nanocompuestos de óxido de grafeno reducido y plata (Ag-rGO) fue llevado a cabo siguiendo el método desarrollado por Vizuite y colaboradores con algunas modificaciones (Vizuite et al., 2016). Se realizaron ensayos heurísticos (Tabla 2) para determinar la mejor concentración de precursor en la síntesis de nanopartículas sobre la superficie del óxido de grafeno reducido como también para determinar el volumen de extracto de cochinilla necesario para su reducción. Con este fin se preparó soluciones madre; a) nitrato de plata de 1, 5 y 10 mM, b) una solución trabajo de óxido de grafeno (GO) con una concentración inicial de 250 µg/mL, de la que se tomaron alícuotas de 20mL y se sometieron

a sonicación por 30 minutos, y c) extracto de cochinilla (CE) cuyo pH se ajustó en un principio a 12, óptimo para la formación de nanopartículas de plata con CE según Kumar (Kumar, 2016), y luego este pH se optimizó por medio de ensayos a pH=8 ya que se requería de una síntesis lenta.

Para la síntesis, a la solución GO se le añadió el extracto de cochinilla (CE) en distintos volúmenes: 1, 5 y 10mL. Esta mezcla de GO y CE se mantuvo en agitación por 30 minutos para obtener el óxido de grafeno reducido (rGO) y se agregó por goteo 5mL de la solución precursora con las distintas concentraciones de nitrato de plata (AgNO_3), la mezcla final se mantuvo en agitación por 24 horas.

Para la preparación de los nanocompuestos de óxido de grafeno reducido y paladio (Pd-rGO) se siguieron recomendaciones de Darabdhara y colaboradores (Darabdhara , et al., 2015). Se prepararon soluciones acuosas del precursor en este caso Hexacloropaldato de potasio (K_2PdCl_6) en concentraciones de: 1, 5 y 10 mM, 5mL; estas soluciones fueron agregadas por goteo sobre la mezcla de diferentes volúmenes de extracto (1- 4mL) las que estuvieron en contacto por 30 minutos con 20mL de GO previamente sonicado. Todo el proceso de síntesis se realizó con agitación constante a 100 rpm por 24 horas.

Finalmente, la solución obtenida fue purificada por centrifugación a 14000 rpm por 20 minutos con etanol al 10% y 20 minutos con agua destilada, hasta obtener un sobrenadante transparente. El pellet obtenido se liofilizó para almacenamiento y caracterización.

Tabla 2
VARIABLES MANIPULADAS EN LA SÍNTESIS DE NANOCOMPÓSITOS.

Precursor	Volúmen de CE (mL)	pH de CE	Concentración [mM]	Tiempo (horas)	Agitación (rpm)
<i>Nitrato de plata</i>	1-10	8	1/5/10	24	100
<i>Hexacloropaldato de potasio</i>	1-4	8	0.5/1/1.5	24	100

3.6. Caracterización de los nanocompósitos

Para la caracterización de los nanocompósitos se analizaron las muestras de síntesis por triplicado utilizando la técnica UV-Vis.

Además se analizó la composición, morfología, distribución y tamaño de partícula de los nanocompósitos en STEM, TEM y XRD y para obtener mayor información de su potencial RÉDOX se empleó Voltametría Cíclica.

3.6.1. Análisis Espectrofotométrico UV-VIS

Utilizando un espectrofotómetro UV Visible Analytik-jena, marca Specord S-600 se determinó el espectro de absorción entre (200 - 800 nm).

Las muestras de nanocompósitos de plata y óxido de grafeno reducido (Ag-rGO/NCs) y paladio con óxido de grafeno reducido (Pd-rGO/NCs), a diferentes concentraciones de nitrato de plata: 1, 5 y 10mM, y de Hexacloropaldato potásico: 1, 5 y 10mM, respectivamente, se leyeron en el espectrofotómetro UV-VIS con la finalidad de observar las bandas representativas para cada nanocompósito (NC). Para ello la nanoestructura fue preparada en solución y posteriormente

diluida en una celda de cuarzo usando 3mL de agua destilada. Se utilizó como blanco agua destilada antes de las mediciones de cada muestra (Tabla 3).

Tabla 3

Valores de medición para el espectrofotómetro UV-VIS.

Muestra	Dilución en la celda de cuarzo	Volumen final en la celda (uL)
(Ag-rGO/NCs)	100 uL en 3 mL de agua destilada Millipore tipo I	3100
(Pd-rGO/NCs)	100 uL en 3 mL de agua destilada Millipore tipo I	3100

Con los resultados de los ensayos, se procedió a descartar las condiciones de síntesis que no fueron adecuadas y se eligieron los NCs a utilizar en el la fase de degradación de fármacos.

La energía de la banda prohibida se determinó mediante la siguiente ecuación aplicada a la derivada del espectro:

$$E_{\text{gap}} = \frac{hc}{\lambda}$$

Donde E_{gap} es la energía de banda prohibida, h es la constante de Planck, c es la velocidad de la luz y λ es la longitud de onda a la cual absorbe de fotocatalizador.

3.6.2. Microscopía Electrónica de barrido en modo de transmisión (STEM).

3.6.2.1. Preparación de las muestras

Las muestras de NCs liofilizadas, se colocaron en eppendorf y se re-suspendieron para tener soluciones concentradas de Ag-rGO/NCs y de Pd-rGO/NCs elegidas. Luego se procedió a mezclarlas a temperatura ambiente, utilizando un vórtex durante 1 minuto. Posteriormente, se tomó 50uL de cada muestra con una micropipeta, se depositó sobre una rejilla de cobre y se

procedió a colocarlas en el carrusel, cuidando de ajustar los tornillos que soportan a la rejilla de cobre.

3.6.2.2. *Análisis de las muestras*

Para realizar el análisis de las muestras en STEM se utilizó el equipo de marca TESCAN, modelo MIRA 3, las condiciones para la observación de las muestras fueron a un voltaje de 30kV, magnitud de 70kX, una distancia de trabajo (WD) de 5,79 mm, el detector que se utilizó fue un Bright Field (TE-BF), y las imágenes se obtuvieron con escala de 500 nm. Los nanocompuestos fueron observados en diferentes partes significativas de la rejilla de cobre.

3.6.3. Microscopía Electrónica de transmisión (TEM).

3.6.3.1. *Preparación de las muestras*

Las muestras de NCs liofilizadas, se colocaron en eppendorf y se re-suspendieron para tener soluciones concentradas de Ag-rGO/NCs y de Pd-rGO/NCs elegidas. Las muestras re-suspendidas se mezclaron a temperatura ambiente, utilizando un vórtex durante 1 minuto. Posteriormente, se tomó 5 μ L de cada muestra con una micropipeta, se depositó sobre una rejilla de cobre y se procedió a colocarlas en el carrusel, con capacidad de 6 muestras, cuidando de ajustar los tornillos que soportan a la rejilla de cobre.

3.6.3.2. *Análisis de las muestras*

Para verificar la distribución y tamaño de los NCs elegidos, se utilizó el equipo de marca TECNAI TWIN SPIRIT a 80kV. Las condiciones de trabajo se manipularon en el programa Tecnai™ G2 Spirit del mismo equipo. las imágenes se obtuvieron con escala de 200 nm. Los nanocompuestos fueron observados en diferentes partes significativas de cada

muestra y con las micrografías se procedió a analizar el tamaño de las nanopartículas metálicas con el programa Matlab.

3.6.4. Voltametría cíclica (CVS): Pruebas electroquímicas de la cochinilla y de los nanocompuestos

3.6.4.1. Estandarización del purgado

Se realizaron mediciones electroquímicas de los nanocompuestos de Ag-rGO y Pd-rGO utilizando el potenciostato Metrohm Autolab. Antes de utilizar el potenciostato se debe realizar un purgado de los electrodos, evitando así la aparición de residuos de otras lecturas. Para realizar este proceso se lavaron los materiales a utilizar con agua destilada, y con detergente al 1%, se retiró el detergente con abundante agua destilada, los electrodos que se utilizan en Voltametría cíclica son tres: electrodo referencial de Ag/AgCl, electrodo de trabajo de carbón y el electrodo auxiliar de platino. El electrodo de trabajo a base de carbono se lijó manualmente con lijas de granulometría de mayor a menor, en el siguiente orden: 1μ , 0.3μ y $0,05\mu$, durante 5 minutos para cada lijado y lavando con agua destilada en cada cambio de granulometría. El sistema de CVS (Recipiente de titulación, agitador magnético, electrodo de trabajo y auxiliar) fue lavado con una solución de ácido nítrico al 15%. También se limpió el soporte para evitar cualquier interferencia en la lectura de las muestras. El electrodo de referencia (electrodo calomel Ag/AgCl), se lava con solución al 0.1M de Cloruro de Potasio (KCl).

El proceso de lavado se realizó con la ayuda de un equipo de ultrasonicación marca NUMAK, modelo Luz 60A durante 15 minutos. Posteriormente, se enjuagaron los materiales de trabajo con agua destilada, empleando el mismo proceso de sonicación, al finalizar el sonicado,

todos los materiales fueron lavados con solución de 0.1M KCl y se armó el sistema colocando 20 mL de solución de 0.1M KCl en el recipiente de titulación. Finalmente, se pasó una corriente de nitrógeno durante 5 minutos dentro del recipiente. La corriente de nitrógeno se debe aplicar entre cada lectura para evitar oxidación por la presencia de aire (Madrid Sani, 2017).

3.6.4.2. *Análisis de las muestras*

Utilizando el programa NOVA, se condicionaron los parámetros para Voltametría cíclica, para el punto inferior: -1.2 y el superior: 1.2, Electrodo estándar de hidrógeno(SHE) vs Electrodo de calomelanos saturado(SCE), con un rango de escaneo de 5 electronvoltios por segundo (eV/s). Como primer paso se procedió a la determinación del blanco (KCl 0.1M) en el Potenciostato, marca Metrohm Autolab. Para realizar los análisis de CE, se evaluaron diferentes concentraciones hasta ubicar los cambios en las gráficas V-t que fueron analizados utilizando el programa Origin Pro 8. Similar procedimiento se utilizó para analizar las muestras con los NCs (Madrid Sani, 2017).

Tabla 4

Datos de medición para Voltametría cíclica.

Muestra /Proceso	Cantidad máxima depositada (uL)	Número de cruces de parada
Ag/rGO Ncs	160	6
Pd/rGO NCs	2560	6
Extracto de <i>Dactylopius coccus</i>	20480	6

3.6.5. Difracción de rayos X (XRD)

3.6.5.1. *Preparación de las muestras*

Para el análisis de XRD se liofilizaron las muestras de NCs, obteniéndose 500mg de polvo fino. El polvo fue depositado en un soporte de silicio que no interfiere en la lectura de componentes de los NCs .

3.6.5.2. *Análisis de las muestras en el equipo XRD*

Para realizar el análisis de las muestras se utilizó el equipo PANalytical Empyrean. Con este fin se depositó la muestra en el porta muestras del equipo y con el software HighScore Plus se obtuvieron los análisis de los difractogramas generados.

3.7. Análisis Estadístico de la síntesis de nanocompuestos

Para los ensayos de síntesis se tomó un diseño multifactorial (2x3x2) tomando en cuenta como variables el metal noble (X1) a utilizar, con dos niveles: paladio y plata, las concentraciones en las que se añadió el precursor de las nanopartículas (X2), nitrato de plata y Hexacloropaldato potásico, con tres niveles (1mM, 5mM, 10mM) y el pH (X3) al que se sintetizaron los nanocompuestos, con dos niveles: el pH original del extracto que estuvo entre 5-6 y el pH ajustado inicialmente a 12 y posteriormente se optimizó a pH 8.

3.8. Degradación de Fármacos

3.8.1. Curva de calibración para lecturas cuantitativas de fármacos en HPLC

Para obtener la curva de calibración en el HPLC se utilizaron cinco estándares, los que fueron preparados a partir de una solución madre del estándar secundario del fármaco Sigma Aldrich en el disolvente correspondiente [50 metanol:50 agua para DIC (Farmacopea, INAME) y 100% metanol para CBZ (García G. G., 2008), con una concentración inicial de 1 mg/mL. Las soluciones estándares fueron aforadas a 10mL con el mismo disolvente obteniendo concentraciones de 0,01; 0,025; 0,05; 0,10; 0,15 mg/mL. Las curvas de calibración se realizaron para cada corrida en el programa Excel 2013.

3.8.2. Ensayos de degradación en simulador solar y luz solar natural

Para los ensayos de degradación de los fármacos se utilizó únicamente una concentración teórica de 0,05 mg/mL del fármaco a partir de tabletas, las que fueron obtenidas en una farmacia local. Para la preparación de la solución madre con el fármaco se siguió el proceso recomendado por la farmacopea para Diclofenaco y para la Carbamazepina se utilizó el método de García y Jaramillo (García G. G., 2008). Para su elaboración, se molió una tableta de dosis establecida: 50mg de DIC y 200mg de CBZ, luego se disolvió el polvo en el disolvente: [50 metanol:50 agua para DIC (Farmacopea, INAME) y 100% metanol para CBZ (García G. G., 2008)]. Inicialmente, se quería trabajar con tres concentraciones para cada fármaco (0,15; 0,1; 0,05 mg/mL) pero se optó por elegir la menor concentración eliminando así una variable, se utilizó la de menor de concentración puesto que el los efluentes de una estación depuradora de aguas residuales se observan concentraciones demasiado bajas. Para la elaboración del agua sintética contaminada

con el fármaco de concentración 0.05mg/mL, se tomó una alícuota y se la aforó con agua destilada (Tabla 5) :

Tabla 5

Pesos utilizados en la elaboración del agua sintética.

Solucion Madre	Volumen	Tableta	Concentración
Carbamazepina	50mL	200 mg CBZ	4mg/mL
Diclofenaco Sodico	10mL	50mg DIC	5mg/mL

De estas soluciones madre, se tomaron distintas alícuotas para obtener las muestras de trabajo con un volumen final de 100mL con las siguientes concentraciones (Tabla 6).

Tabla 6

Concentración de cada fármaco en el agua sintética.

CBZ		DIC	
Volumen alícuota (mL)	Concentración (mg/mL)	Volumen alícuota (mL)	Concentración (mg/mL)
1,25	0,05	1	0,05

Para los ensayos del fármaco en contacto con el NCs se realizó la liofilización de los NCs, luego este polvo se re-suspendió a fin de obtener la solución de trabajo con la misma concentración para ambos NCs elegidos de 0,2 mg/mL.

Posteriormente se colocó 1mL de la solución de 0,05 mg/mL de cada fármaco en viales con distintos volúmenes de NCs y se aforó a 1,5mL con agua destilada. Las muestras se pusieron bajo el simulador solar o luz solar por 4h, (Tabla 7) :

Tabla 7

Condiciones experimentales.

Muestra	Ncs	Volumen de Ncs	Condicion Luz	Tiempo
CBZ	Ag/rGO	0,15mL	Simulador solar	4h
		0,25mL	Luz solar	4h
		0,50mL		
DIC	Pd/rGO	0,15mL	Simulador solar	4h
		0,25mL	Luz solar	4h
		0,50mL		

Y se procedió a realizar el análisis en HPLC de blancos (aforadas a 1.5mL) para obtener las concentraciones reales con las que se trabajó utilizando la curva de calibración.

3.8.3. Estandarización del método de separación del nanocompósito y la muestra

Se realizaron pruebas para separar el nanocompósitos de la muestra que es inyectada en el HPLC para determinar la degradación del fármaco. Este pre tratamiento es necesario ya que se requiere que la muestra no tenga sólidos en suspensión, basura, o turbidez; aun cuando si el nanocompósitos se disuelve totalmente en la muestra puede causar interferencia o daños a la columna cromatográfica, por lo que es menester retirarlo de la muestra una vez se haya culminado el tratamiento.

Al tener un tamaño nanométrico se optó por la centrifugación del material a 14000 rpm para recuperar así la mayor cantidad del nanocompósito y se realizó por 10 minutos.

3.8.4. Preparación de la muestra

Las muestras obtenidas fueron trasvasadas a viales distintos para su lectura en el equipo VWR-HITACHI, ELITE La chrom, sin preparación adicional.

3.8.5. Lectura en HPLC

El HPLC se preparó lavando la columna con acetonitrilo: agua en relación 90:10 por 1 hora. Posteriormente se hizo pasar la fase móvil por 30 minutos y se verificó la estabilidad de la línea de base.

Las muestras se inyectan en el HPLC en volúmenes de 20 μ L. Las muestras pasan por un desgasificador, y son transportadas con la ayuda de una bomba cuaternaria a través de la columna C18 Hypersil Gold de 150x4,6 mm de diámetro y con tamaño de partícula de 5 μ .

Se comprobó el tiempo de corrida con una corrida solitaria, determinando que éste es 8 min para DIC y CBZ. Luego se calculó el volumen de fase móvil para la cantidad de muestras de cada ensayo. La fase móvil utilizada para estos análisis estuvo compuesta de X Metanol ; Y Agua en relación 70:30 para DIC, y en el caso de la CBZ X Agua ; Y Metanol; Z Acetonitrilo en una relación 50:25:25 para optimizar la separación de los compuestos de la muestra, se filtró y desmasificó por sonicación. Cada fármaco tiene su rango de lectura y esto fue tomado en cuenta en el análisis de HPLC de acuerdo a la FARMACOPEA el pico del DIC se debe observar a 215 nm a una temperatura de 30°C y un flujo de 1mL/min en un tiempo de 5 minutos, en el caso de la CBZ el pico se observa a 280nm a una temperatura de 25°C y un flujo de 1mL/min a los 4 minutos (G.Garcia, et al. 2007).

3.9. Análisis estadístico de la degradación de los fármacos y eficiencia fotocatalítica de los nanocompuestos.

En los ensayos de degradación, se realizó un diseño multifactorial (2X3X2). Agua sintética con dos fármacos distintos, carbamazepina y diclofenaco, fue puesta en contacto con los nanocompuestos (X1), con dos niveles: Ag-rGO o Pd-rGO, obtenidos en la etapa de síntesis, se utilizaron tres niveles para la variable volumen (X2): 0,15mL; 0,25mL; 0,50mL. Y se mantuvieron bajo condiciones de irradiación (X3) con dos niveles: irradiación de un simulador solar y luz solar, manteniendo las muestras a temperatura ambiente y evaluando los patrones de degradación mediante HPLC.

Estos ensayos arrojaron la respuesta como porcentaje de remoción, por lo que se realizaron ANOVA para cada caso (DIC y CBZ) y se tomaron los factores para realizar tablas de contingencia y la prueba de Duncan, en el programa estadístico Infostat, donde se obtuvieron los p_valores para las interacciones: Tipo de NC, Volumen de NC y tipo de luz, y Excel.

4. CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Preparación del Óxido de Grafeno

Cálculos de rendimiento:

(4 gramos de GO/3 gramos de grafito) X100 = 133% rendimiento

La solución madre de trabajo (concentración = 250ug/mL) tuvo el color café característico (figura 7), En cambio, la solución de GO sintetizada tuvo un aspecto ámbar (figura 8).

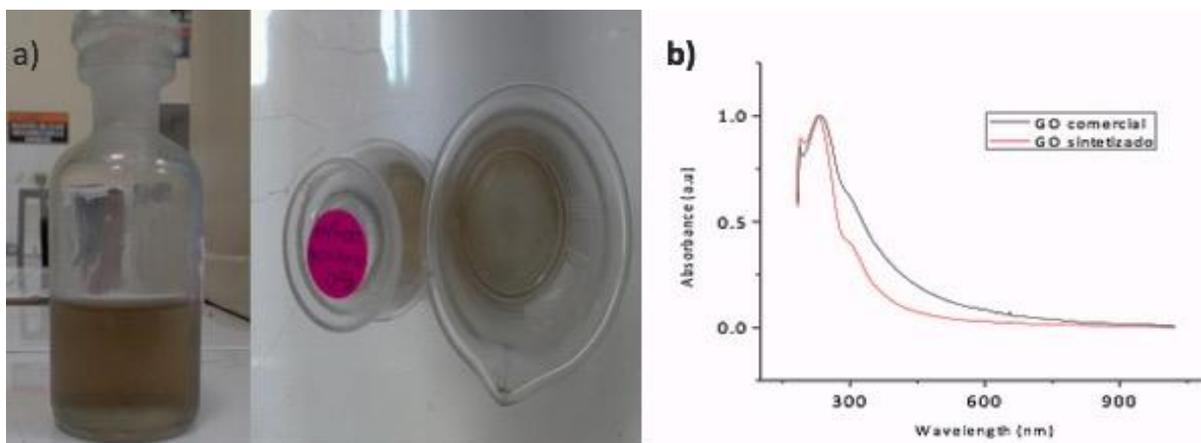


Figura 7. a) Óxido de Grafeno comercial 250ug/mL, b) Espectro UV-vis comparativo entre GO comercial y GO sintetizado en solución acuosa a pH neutro.

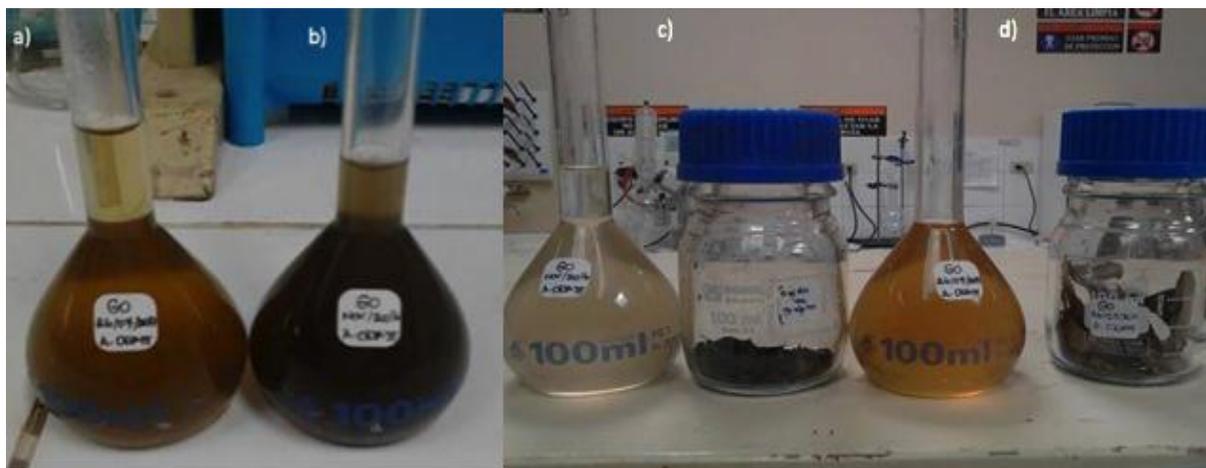


Figura 8. Óxido de Grafeno sintetizado: a) GO2 sintetizado en Julio 2017, b) GO1 sintetizado en Noviembre 2016, c) GO1 después de ser filtrada, d) GO2 después de ser filtrada.

En este trabajo se prepararon dos lotes de GO (GO1 y GO2), éstos fueron sintetizados con una diferencia de tiempo de 8 meses. El primer lote sufrió modificaciones por reacciones con el medio ambiente. Se observan distintos tonos de color café, asociados al grado de reducción del GO, es decir a la cantidad de enlaces oxidados en la superficie, lo que se traduce en una reducción de la solubilidad, como se puede ver en la figura 8. El GO1 (Fig. 8b), inicialmente tuvo la misma apariencia que GO2 (Fig. 8a), presenta un color más oscuro antes de ser filtrado, por lo que un mínimo porcentaje puede ser considerado como GO (por su solubilidad), el resto puede tratarse de óxido de grafeno reducido o bien grafeno. Según (Astudillo, 2016) la diferencia en coloración y solubilidad está asociado con el tiempo de síntesis en cada fase, cambios en la temperatura de reacción o hasta incluso por la agitación en el proceso. Por esta marcada diferencia, en los siguientes análisis se utiliza únicamente GO2.

4.2. Extracto de cochinilla

Los resultados del análisis de polifenoles se indican en la Tabla 8.

Tabla 8

Resultados de prueba de Folin- Ciocalteu.

Código	Concentración mg/L
NCAr1 (cochinilla macerada en agua)	10029,72
NCAr2	10425,82
NCAr3	10431,28
NCAsmr1 (cochinilla en agua sin macerar)	8742,92
NCAsmr2	8298,75
NCAsm3	8506,49
NCmr1 (cochinilla macerada en metanol:agua)	1263,27
NCmr2	8624,86
NCmr3	7853,89
NCMsmr1 (Cochinilla en metanol:agua)	5023,01
NCMsmr2	4763,91
NCMsmr3	4710,74

En la tabla 8 se observa que la mejor opción de extracción de la cochinilla es utilizando como solvente el agua destilada y dejándola macerar por 24h. El extracto acuoso demostró tener una mayor cantidad de agentes reductores en este caso polifenoles . De acuerdo a bibliografía científica se indica que estos compuestos están en forma de glicósidos de antraquinonas en lugar de agliconas (Varon, 2007) es decir, que tienen un azúcar en su estructura por lo que son solubles en compuestos polares, ya que el agua es más polar que el metanol, de manera que el agua es mejor solvente para la extracción de los compuestos que tiene la cochinilla como son el ácido carmínico y el ácido kermésico.

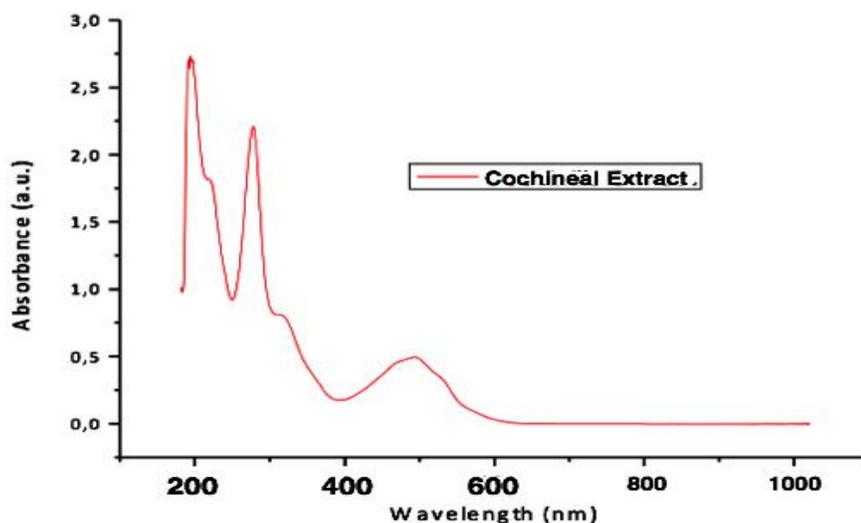


Figura 9. Espectro UV-VIS del extracto de cochinilla (*D. coccus*) a pH 5.

El análisis mediante espectroscopía UV-VIS permite observar la absorción de los componentes del extracto en una longitud de onda de 500-550 nm (Fig. 9). Messaoud y colaboradores, 2015 reportan la curva representativa en el rango visible del tinte de cochinilla como el obtenido en la Figura 9 (Messaoud, 2015).

Las moléculas causantes del color son aquellas que absorben luz en una longitud de onda específica. En el caso de la cochinilla, el color rojo que exhibe el pigmento es por la absorción de fotones de las antraquinonas glicosidadas como el ácido carmínico y ácido kermésico, en la región de 415 a 560 nm (Velarde, 1996). Las bandas en los rangos de 200 a 300 nm corresponden a compuestos orgánicos en trazas como el isopreno (Madrid Sani, 2017).

El estudio de estabilidad del extracto fue realizado durante dos meses (fig. 10). Se determinó que el parámetro principal a controlar era el pH del extracto. El pH natural del extracto acuoso fresco fue entre 5-6 y se fue modificando en el transcurso del tiempo, ya que depende del

solvente en el que se encuentra, en este caso agua. Se verificó que existe una relación proporcional entre la cantidad de agua del extracto y el tiempo transcurrido, ya que inicialmente se separó una alícuota de 3mL para hacer las mediciones de estabilidad y se guardó el resto 67 mL en una botella ámbar. Esto puede observarse de mejor manera en los espectros Uv-vis de la figura 11a. El espectro se desplaza hacia la derecha cuando se tiene un mayor contenido de agua y su pH alcanza un valor 7 (Velarde, 1996) cambiando también su color y consistencia en el transcurso de los días, mientras que el de la alícuota se mantuvo constante pH 5.

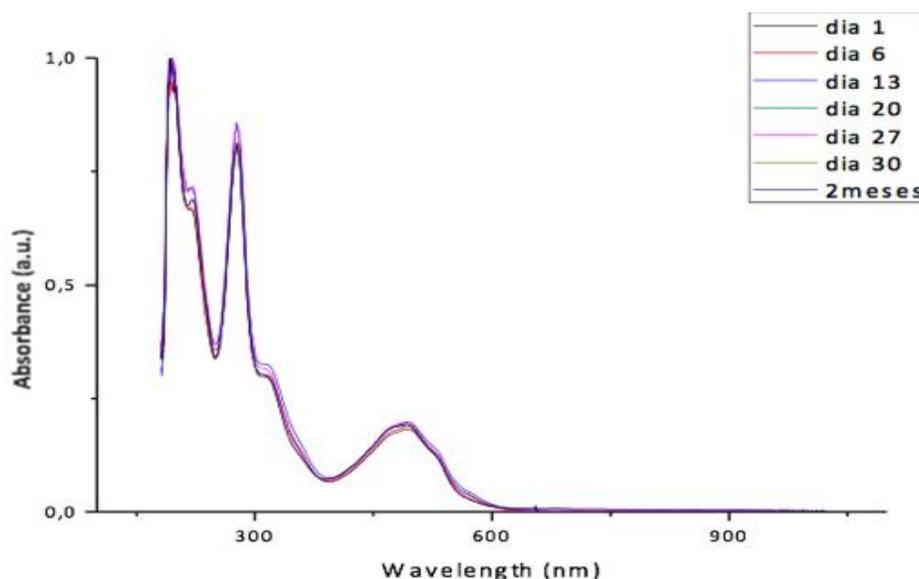


Figura 10. Espectro Uv vis del extracto de cochinilla a pH 5 en el transcurso de 2 meses.

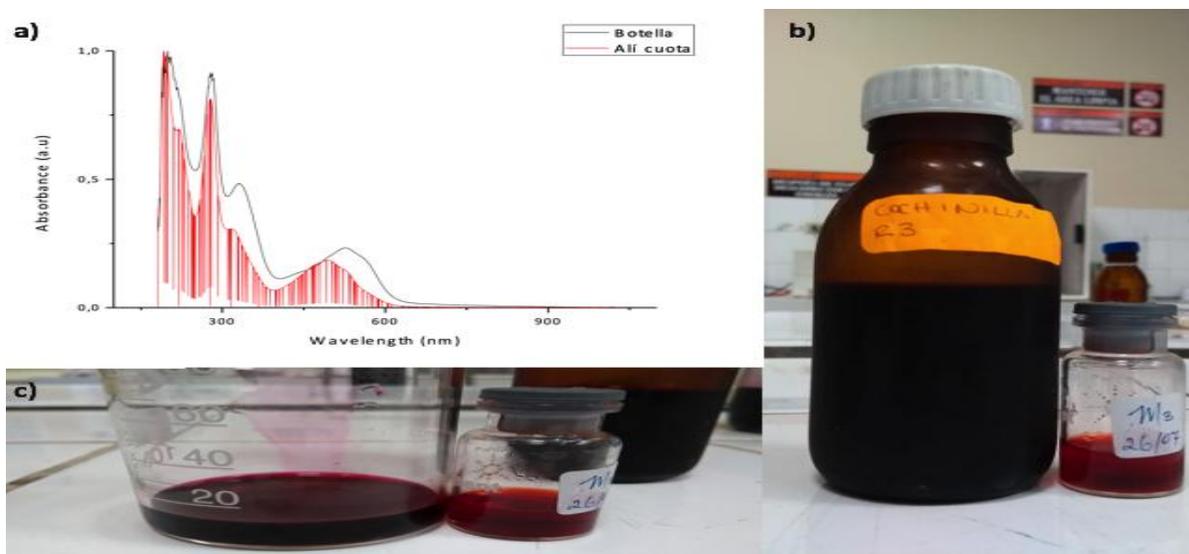


Figura 11. Imágenes del extracto de cochinilla 2 meses después de su extracción a) Espectros Uv-vis del extracto acuoso de cochinilla en un volumen de 67mL y 3mL, b) volumen 67mL y alícuota de 3mL de la misma extracción, c) comparación de color a simple vista.

En el estudio se realizaron varias extracciones de cochinilla y se determinó que también la concentración y el método de extracción juegan un papel importante en la estabilidad del extracto; entre mayor sea la concentración del polvo de cochinilla en el extracto, el pH se mantiene por mayor tiempo en el rango ácido (pH 5) y la cochinilla se mantendrá fresca. La concentración del agente reductor juega un papel importantísimo en la síntesis de los nanocompuestos, siendo contraproducente utilizar una alta concentración del extracto por la cantidad de materia orgánica que este posee, ya que se obtendrían aglomeraciones de nanopartículas recubiertas con materia orgánica, y óxido de grafeno reducido, que es insoluble (Luna, 1999), por la rapidez de la reducción ocasionada por su alto potencial redox. Inicialmente se trabajó con una concentración de 10g en 100 mL, y modificando el pH a 12. Según Lucioni, (Lucioni, 2014) la concentración del

precursor debe ser proporcional al potencial redox del agente reductor, bajo estas condiciones se obtuvieron resultados bastante buenos para la concentración más alta de nitrato de plata que se probó 10mM obteniéndose nanopartículas de 40nm sobre óxido de grafeno altamente reducido. Con concentraciones menores de la sal precursora se observó la precipitación del nanocompuesto, y al analizar las muestras en el espectrofotómetro Uv-vis, se observaron curvas desfavorables. Con base a esta experimentación previa se eligió el extracto con una concentración de 15mg/mL aun cuando no se mantuviera estable en el tiempo y además se determinó que el cambio de pH era reversible.

C1 : 5 mL GO, 1 mL Ag+, 4 mL CE
B2: 3 mL GO, 1 mL Ag+, 6 mL CE
B3: 4 mLGO, 1 mL Ag+, 5 mL CE
*** : 3 mLGO, 2 mL Ag+, 5 mL CE**

E1: 3 mL GO, 3 mL Ag+, 4 mL CE
E3: 5 mL GO, 2 mL Ag+, 3 mL CE
D5: 4 mL GO, 2 mL Ag+, 4 mL CE

A4: 5 mL GO, 3mL Ag+, 2 mL CE
A5: 4 mL GO, 4mL Ag+, 2 mL CE
B4: 5 mL GO, 4 mL Ag+, 1 mL CE

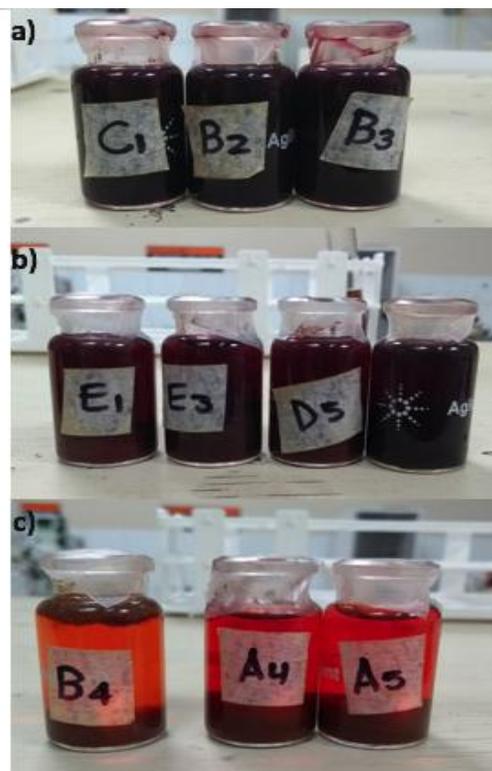


Figura 12. Distintos volúmenes probados para determinar relación de trabajo entre los tres reactantes en la síntesis de nanocompuestos de plata.

Estos resultados (Fig.12) se aplicaron también para el caso de la síntesis de nanocompuestos de paladio.

Para la síntesis de los NCs se eligió un pH ligeramente alcalino de manera que la formación de nanopartículas sobre el GO no fuera brusca. Se ajustó el extracto a pH 8, ya que según Lucioni, el efecto del pH en la síntesis es un factor de suma importancia en la nucleación y crecimiento de las nanopartículas, esto se debe a que el agente estabilizante tiene una mayor cantidad de O^- , los que secuestran a la nanopartícula formada, pues la capacidad quelante está en función al pH, esta propiedad se observó en la síntesis (Figuras 13 y 14) cuando se utilizó el pH más bajo para el proceso, el pH 5 demostró no tener la suficiente actividad RÉDOX para formar los nanocompuestos en contraste con el pH 12, en el que los NCs se formaron con altas concentraciones de nanopartículas siendo perceptible la aglomeración por la formación de dos picos en la curva.

4.3. Síntesis y Caracterización de Nanocompuestos.

Como resultados de los ensayos heurísticos con tres concentraciones se determinó que: para Ag^+ con extracto a pH5 (Fig. 13), no hubo formación de Ag-NCs en el lapso de 24h y para Ag^+ con extracto a pH12 (Fig. 14) se obtuvieron buenos resultados iniciales, pero no satisfactorios comparados con los espectros Uv- vis (Fig. 14) y las microfotografías en STEM (Fig. 15).

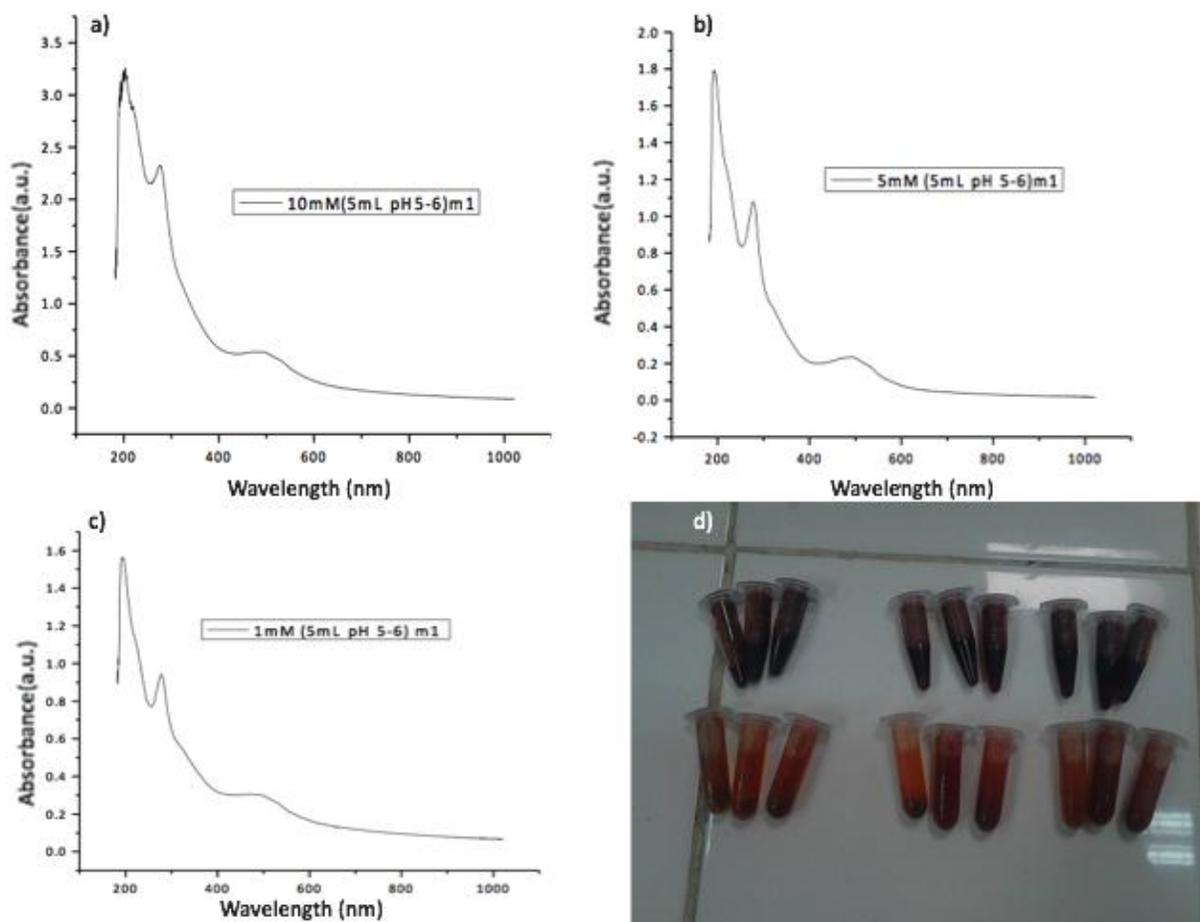


Figura 13. Espectros UV-vis de ensayos para síntesis nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido: a) 10 mM de AgNO₃, b) 5 mM de AgNO₃, c) 1 mM de AgNO₃, d) alícuotas prelavado y post lavado del producto de la síntesis a pH5.

Los espectros de Uv- vis resultantes de la síntesis de Ag-NC a pH 5 muestran la reducción del GO a rGO, y una banda mínima, en cuanto a intensidad, de nanopartículas de plata en ~500nm. Esto sugiere que no hubo una buena formación de nanopartículas y que éstas están fuera del tamaño nano. Según Morales y colaboradores en 2009, no se obtienen resultados óptimos con

anchos de banda muy grandes, ya que tienen una dispersión de tamaños de partículas mayor al 30% (Morales, 2009).

La calidad de los nanocompuestos obtenidos se determinaron mediante un screening inicial de espectrofotometría y por simple observación, estos resultados cualitativos se tabulan en la Tabla 9.

Tabla 9

Datos cualitativos sobre los NCs de plata obtenidos a pH5 después de realizar los lavados.

Metal	Concentración (mM)	pH	Repetición	Coloración	Precipitado	Solubilidad	Formación del NC
Ag	10	5	M1	Café rojizo	Si	nula	No
			M2	Café rojizo	Si	nula	No
			M3	Café rojizo	Si	nula	No
Ag	5	5	M1	Rojo	Si	nula	No
			M2	Rojo	Si	nula	No
			M3	Rojo	Si	nula	No
Ag	1	5	M1	Rojo transparente	Si	nula	No
			M2	Rojo transparente	Si	nula	No
			M3	Rojo transparente	Si	nula	No

Según se puede observar en la tabla 9, la síntesis a pH 5 no es eficiente, ya que la formación y solubilidad de los NCs de plata fue mínima.

Los resultados de la síntesis de Ag-NCs a pH 12, se pueden observar en los espectros de absorción UV-vis de la figura 13. El pH 12 y la temperatura a la que se realizaron los ensayos fueron factores que producían una síntesis altamente eficiente en la formación de nanopartículas resultando en una sobreproducción de las mismas (Zanella, 2012). Se observa la formación de hombros en las bandas de las nanopartículas de plata, de manera que resultados no fueron

favorables. En estos ensayos se obtuvieron nanopartículas poli dispersas y posiblemente éstas no se depositaron totalmente sobre la capa de óxido de grafeno reducido.

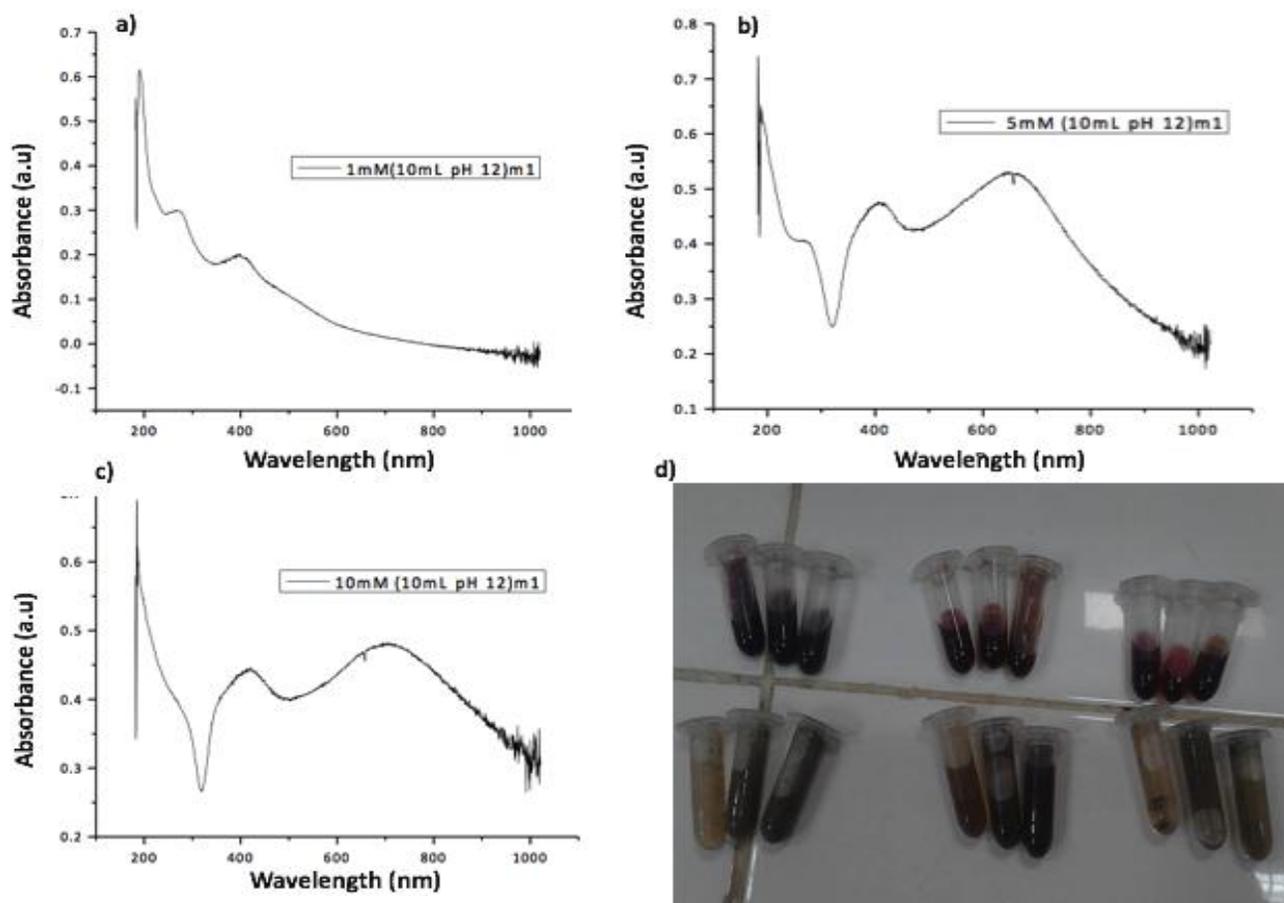


Figura 14. Ensayos para síntesis nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido a) 1 mM de AgNO₃, b) 5 mM de AgNO₃, c) 10 mM de AgNO₃, d) alícuotas prelavado y post lavado del producto de la síntesis a pH.

La tabla 10 muestra los resultados del NC sintetizado a pH 12.

Tabla 10

Resultados cualitativos sobre los NCs de plata obtenidos a pH 12 después de realizar los lavados.

Metal	Concentración (mM)	pH	Repetición	Coloración	Precipitados	Solubilidad	Formación del NC
Ag	10	12	M1	Café grisasea	No	si	si
			M2	Café grisasea	No	si	si
			M3	Café grisasea	No	si	si
Ag	5	12	M1	Café	No	si	si
			M2	Café	No	si	si
			M3	Café	No	si	si
Ag	1	12	M1	Café transparente	Si	nula	no
			M2	Café transparente	Si	nula	no
			M3	Café transparente	Si	nula	no

Además con estos resultados se descartaron las concentraciones de precursor de 1mM para la síntesis, ya que la formación del NC de plata finalizaba en precipitados.

La figura 15 muestra el espectro UV-vis obtenido con una muestra de Ag-NCs preparada a pH 12. Se observa que la intensidad de banda de las nanopartículas es alta, pero este resultado no es totalmente satisfactorio, por la presencia de un hombro que nace desde los 500 nm, siendo una representación de nanopartículas mayores a los 40nm (Morales, 2009), confirmándose esta hipótesis con la imagen de STEM (Fig. 16).

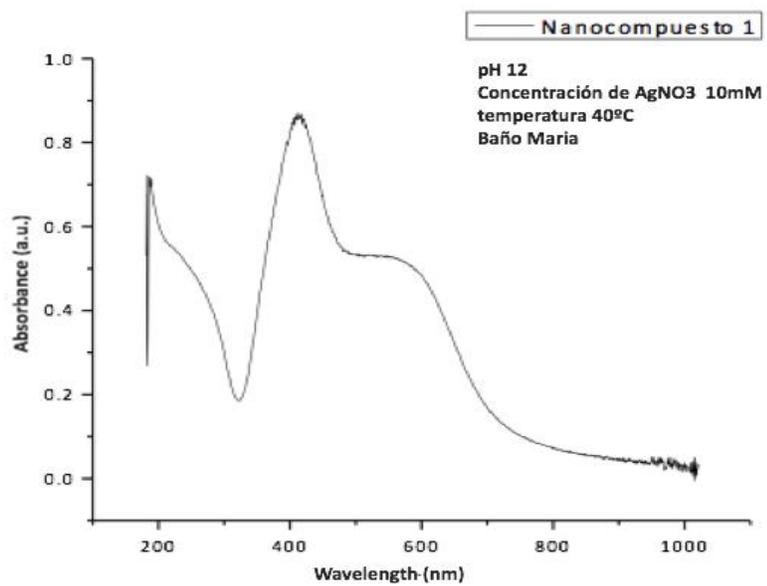


Figura 15. Nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido a pH12 .

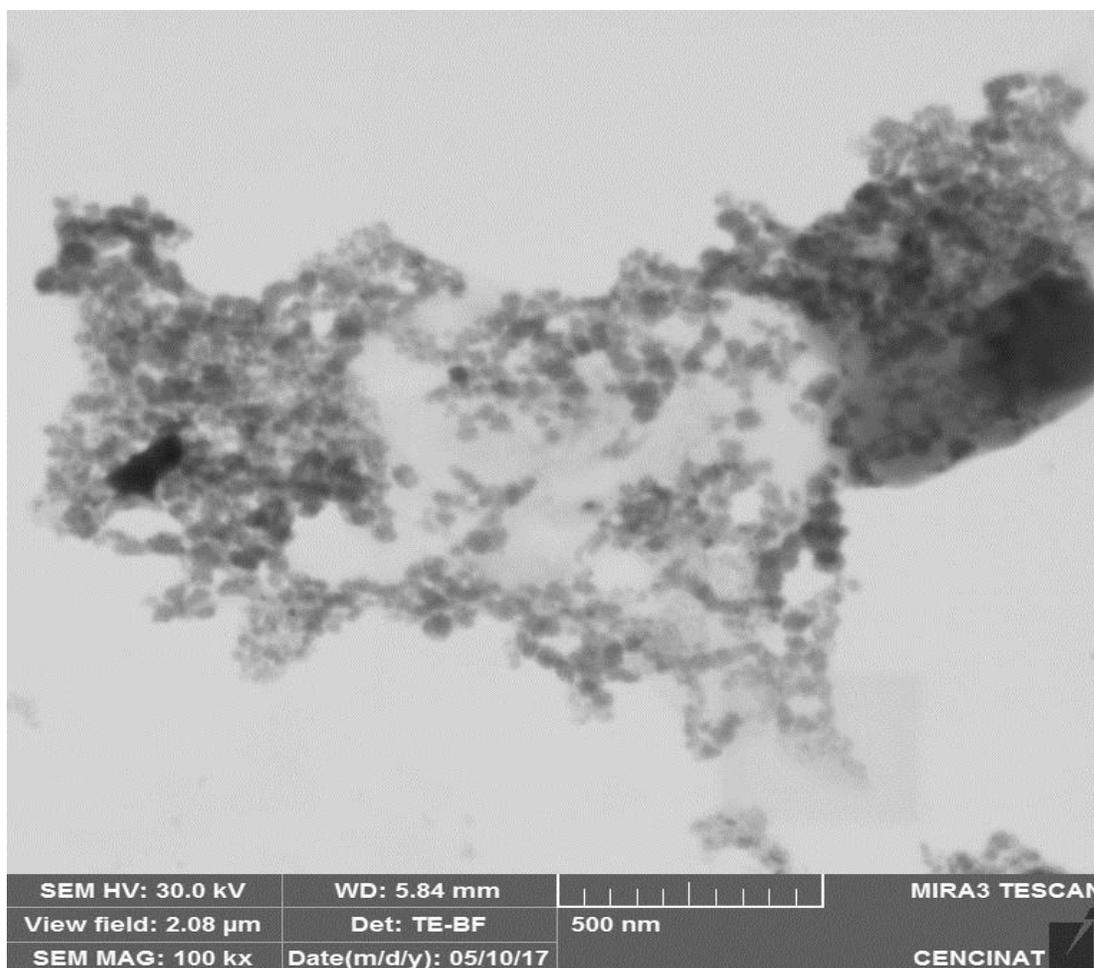


Figura 16. Imágenes STEM de Nanocompuesto de plata y óxido de grafeno reducido en la primera prueba exitosa pH12.

La dispersión sobre las láminas de rGO que tuvieron las nanopartículas de plata, en los ensayos a pH 12 y baño María a 40°C, fueron insatisfactorios y se determinó que el método debía mejorarse. Según Monge, se ha demostrado que a mayor temperatura la reacción se vuelve más rápida y origina una mayor formación de núcleos que producen un número excesivo de nanopartículas (Monge, 2014). Siendo la temperatura un parámetro crítico para controlar la formación de los Ag-NCs se procedió a realizar cambios en las condiciones de trabajo, a fin de reducir la velocidad de reacción de síntesis. El resto de procesos de preparación de los NCs se realizaron a temperatura de aproximadamente 25°C. Los resultados de UV-vis indican que a esta

temperatura la nucleación es lo suficientemente rápida, obteniéndose por lo general nanopartículas mono dispersas. Las bandas de absorción de las nanopartículas de Ag están en el intervalo de 380-450 nm (Fig. 17), no se ensanchan en el transcurso de los días, que es un indicio de la no existencia de nanopartículas poli dispersas sobre el soporte de rGO (Madrid Sani, 2017).

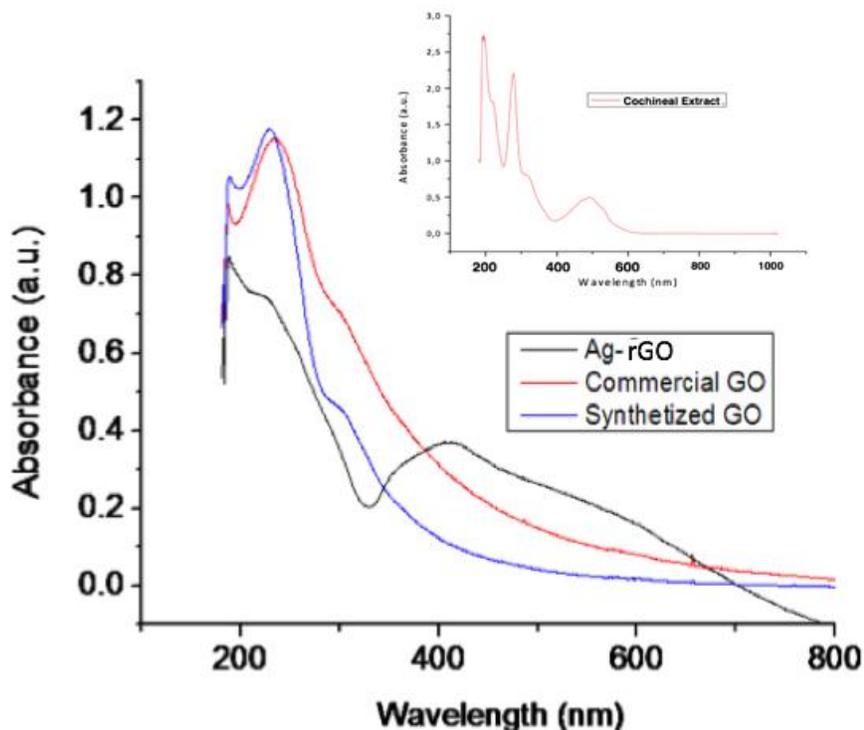


Figura 17. Espectro UV-vis del NC de plata comparado con los espectros del óxido de grafeno comercial en rojo y la curva del óxido de grafeno sintetizado en azul.

La síntesis de los NCs con paladio, fue desarrollada siguiendo el mismo procedimiento de los Ag-NCs. Se obtuvieron resultados no satisfactorios, ya que se produjeron precipitados después del lavado (Fig. 18). En consecuencia, para este procedimiento se cambió de pH 12 a pH 8 y se redujo la concentración del extracto al momento de estandarizar el proceso de extracción (Corzo Lucioni, 2012). Se realizaron nuevas pruebas con el extracto a pH 8 para producir los nanocompuestos en las mismas condiciones. La concentración más alta y la concentración media

presentaron poca estabilidad, por lo que se optó por trabajar únicamente con la concentración más baja de Hexacloropaldato de potasio 1mM.

Tabla 11

Datos cualitativos sobre los NCs de paladio obtenidos a pH12 después de realizar los lavados.

Metal	Concentración (mM)	pH	Repetición	Coloración	Precipitados	Solubilidad	Formación del NC
Pd	10	12	M1	Amarillo trasnparente	Si	nula	no
			M2	Amarillo trasnparente	Si	nula	no
			M3	Amarillo trasnparente	Si	nula	no
Pd	5	12	M1	Amarillo trasnparente	Si	nula	no
			M2	Amarillo trasnparente	Si	nula	no
			M3	Amarillo trasnparente	Si	nula	no
Pd	1	12	M1	Rojo transparente	Si	nula	no
			M2	Rojo transparente	Si	nula	no
			M3	Rojo trasnparente	Si	nula	no



Figura 18. Ensayos de síntesis de nanocompuestos de paladio y óxido de grafeno reducido, post lavado del producto a pH12.

En la tabla 12 se observan los resultados cualitativos obtenidos de los ensayos a pH 8 para los nanocompuestos de paladio:

Tabla 12

Datos cualitativos sobre los NCs de paladio obtenidos a pH8 después de los lavados.

Metal	Concentración (mM)	pH	Repetición	Coloración	Precipitados	Solubilidad	Formación del NC
Pd	10	8	M1	Rojo transparente	Si	media	si
			M2	Rojo transparente	Si	media	Si
			M3	Rojo transparente	Si	media	Si
Pd	5	8	M1	Rojo transparente	Si	media	Si
			M2	Rojo transparente	Si	media	Si
			M3	Rojo transparente	No	media	Si
Pd	1	8	M1	Morado	No	si	Si
			M2	Morado	No	si	Si
			M3	Morado	Si	si	Si

Según se observa en la tabla 12, se obtuvieron mejores nanocompuestos de paladio con la menor concentración de precursor (1mM). Para el Ag-NC bajo las mismas condiciones de pH y

temperatura se trabajó únicamente con la concentración de 10mM de nitrato de plata. En estos ensayos se obtuvieron los siguientes curvas UV-vis (Fig. 19 y 20).

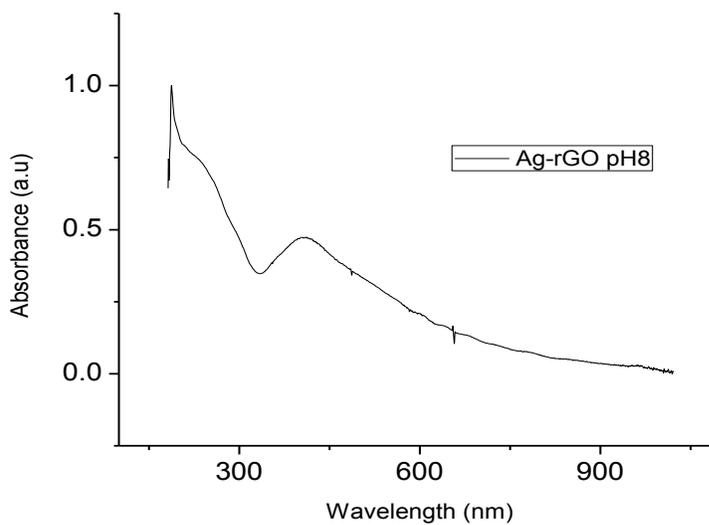


Figura 19. Espectro Uv-vis de absorción de Ag-NCs con una solución de AgNO_3 10 mM.

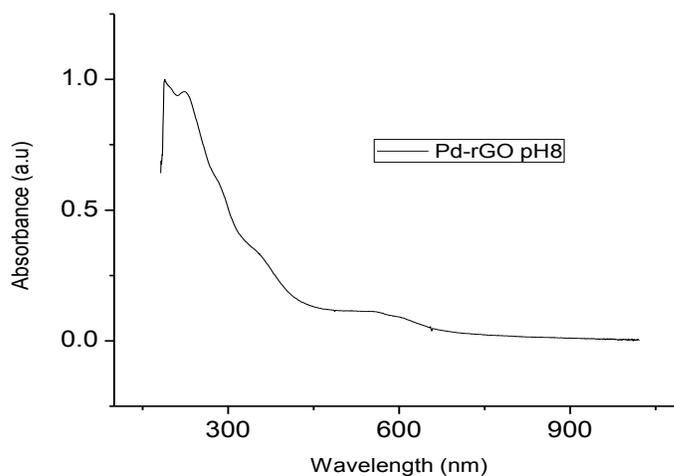


Figura 20. Espectro Uv-vis de absorción de Pd-NCs con una solución de K_2PdCl_6 1 mM.

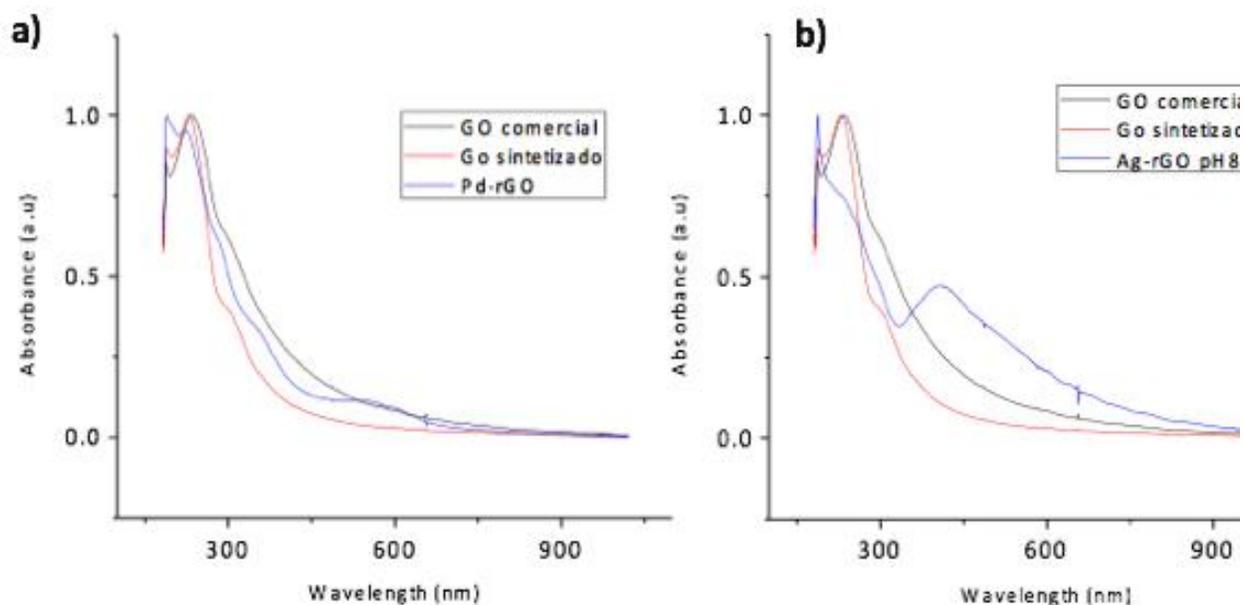


Figura 21. Espectro Uv-vis de absorción de Ncs sintetizados a pH8 comparados con GO comercial (negro) y sintetizado (rojo): a) Pd-NCs y b) Ag-NCs ambas en color azul.

En la figura 21b se observa la banda predominante en la formación de las AgNPs con una longitud de onda de 408 nm aproximadamente (Morales, 2009), como se ha explicado previamente las bandas en el rango visible se deben a la absorción por resonancia del plasmón de superficie (SPR), pues éste absorbe la luz en dicha longitud de onda. La figura 21a muestra que en el caso de las nanopartículas de paladio, la absorción es nula en el rango visible por lo que no se evidencia un pico o banda máxima, ya que el Pd no tiene una banda de resonancia del SPR en el intervalo de 300 a 900 nm, esto es característico de suspensiones de paladio coloidal (Guarnizo Franco, 2016).

Además en la figura 21 se observa la reducción del óxido de grafeno a óxido de grafeno reducido ya que el hombro característico del GO a 300 nm se desplaza y disminuye al punto de no ser evidente en cada nanocompósito.

Con respecto a la estabilidad de los nanocompuestos preparados a pH8 para ambos metales (Fig. 22). Se observó que los nanocompuestos mantienen su estabilidad durante 15 días después de la síntesis, pues los espectros Uv-vis no presentan variación en ancho de banda ni en su posición (Madrid Sani, 2017).

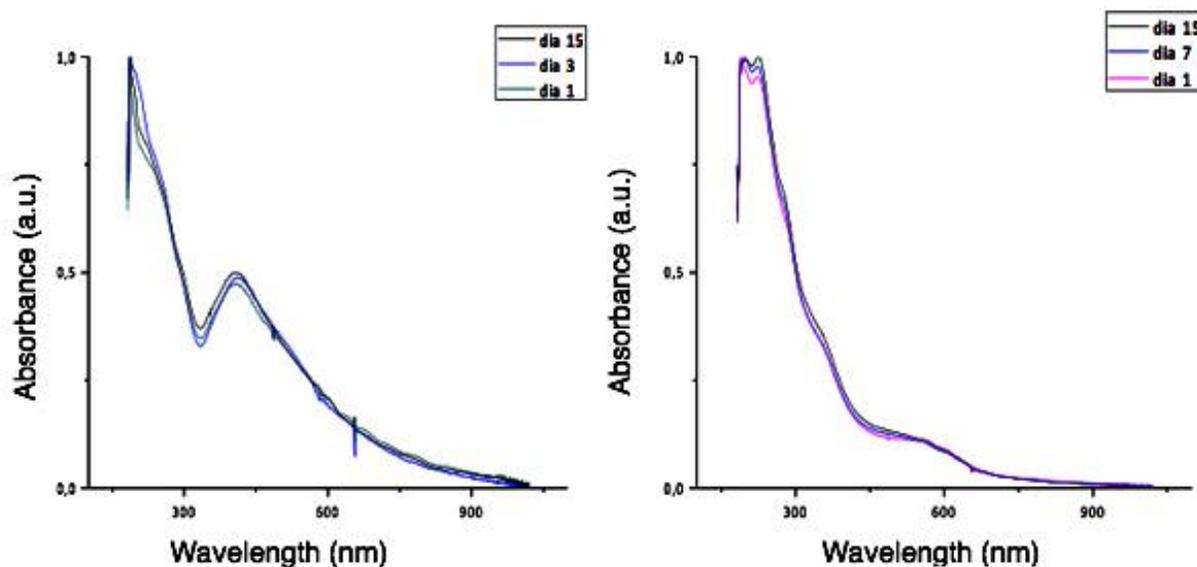


Figura 22. Espectro Uv-vis de ensayos de estabilidad hasta 15 días después de la síntesis nanocompuestos post lavado del producto con el método a pH8 .

4.3.1. Análisis Estadístico de la Síntesis de Nanocompuestos.

El análisis estadístico de la síntesis de nanocompuestos fue realizado en base a un diseño factorial 2X3X2. Al ser datos categóricos se obtuvieron tablas de contingencia para determinar correlación de variables por medio de una prueba de chi-cuadrado. Para las interacciones entre las variables categóricas tipo de NC y Concentración de precursor (Tablas 26-29 del Anexo Estadístico) el p-valor es >0.9999 , la hipótesis nula se acepta, entonces estas variables son independientes para el procesos de síntesis; de igual manera para las variables categóricas Concentración de precursor y pH_i. En el caso de las variables Tipo de NC y pH_i en cuanto al

p_valor 0.0094, es menor que 0.05, por lo que se considera a estos factores dependientes en la síntesis de nanocompuestos considerando un nivel de confianza de 95% (Zanella, 2012).

4.3.2. Caracterización por microscopía electrónica.

La microscopía electrónica de barrido en modo de transmisión (STEM), permitió conocer la morfología de las nanopartículas sobre la superficie del rGO. Estas imágenes corroboran la formación del NC para el paladio, así como también de la homogeneidad que existe entre cada muestra, como se puede apreciar en la figura 23.

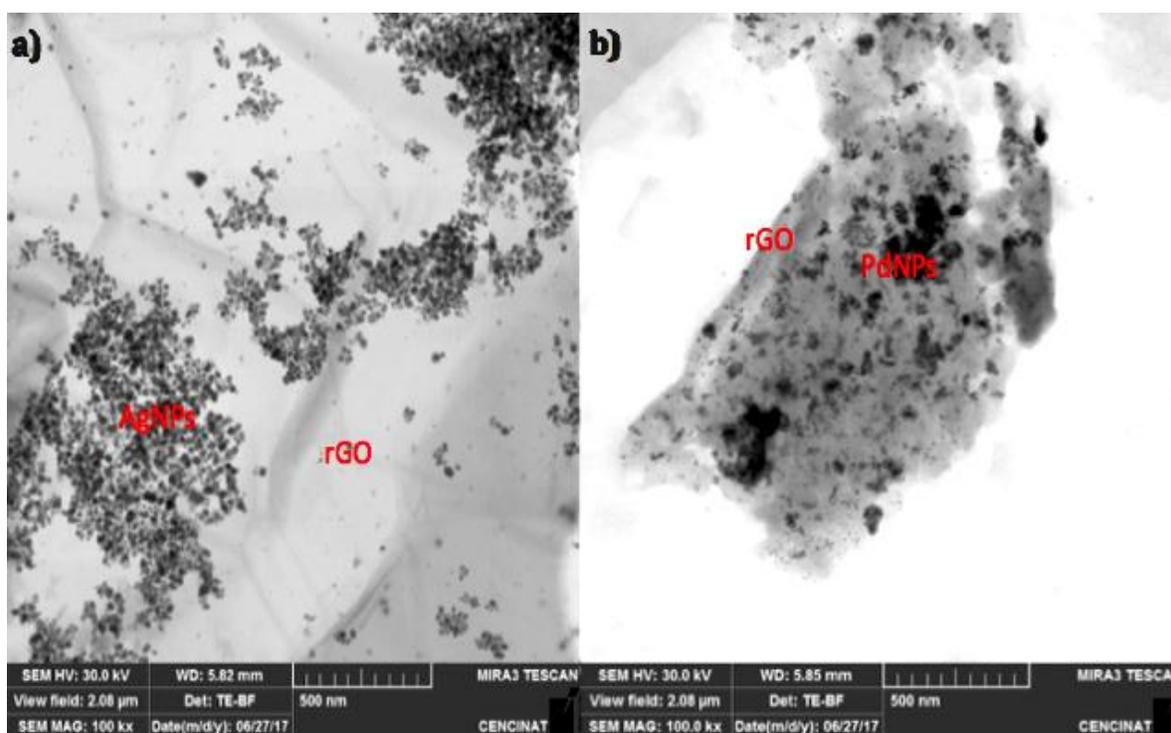


Figura 23. Imágenes de STEM de los nanocompuestos a) Ag-rGO, b) Pd-rGO.

Las nanopartículas de plata (Fig. 23a) y las nanopartículas de paladio (Fig. 23b) son esféricas y se depositan uniformemente como puntos oscuros sobre las láminas de óxido de grafeno reducido. A pesar de la gran cantidad de nanopartículas, éstas aparecen estabilizadas, como resultado de las innumerables interacciones con CE y rGO (Zhang, 2011). Los resultados

obtenidos en STEM, muestran una distribución homogénea (Liu, 2011) de NPs sobre el soporte para los dos nanocompuestos. A pesar de esto se puede ver que para ambos nanocompuestos, hay una ligera aglomeración en el soporte formando partículas alargadas o con mayor tamaño.

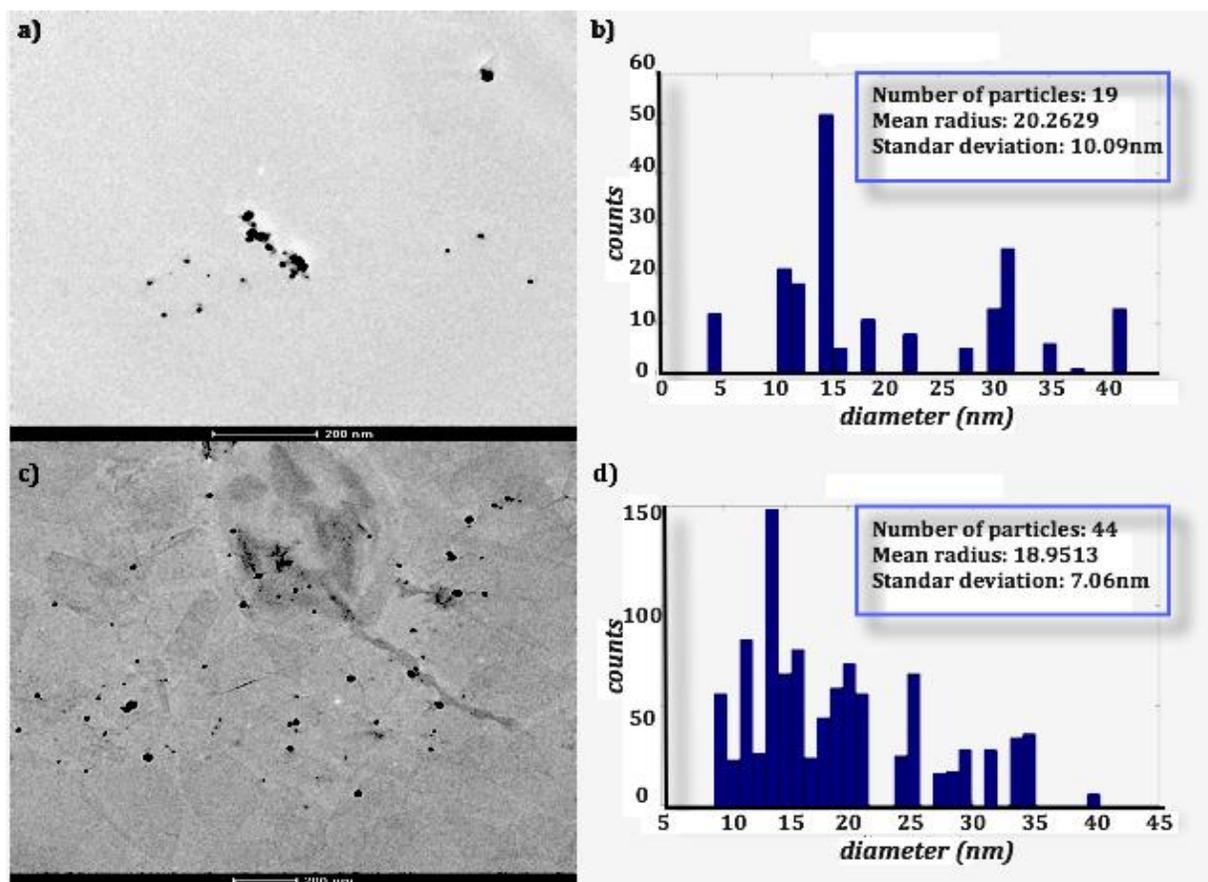


Figura 24. a) Imagen TEM del nanocompuesto Ag-rGO, b) tamaño medio del nanocompuesto Ag-rGO, c) nanocompuesto Pd-rGO de imagen TEM y d) tamaño medio del nanocompuesto Pd-rGO.

Como respaldo a los resultados anteriores, la Fig. 24 muestra imágenes TEM de nanocompuestos con poca aglomeración de nanopartículas. Además, las imágenes TEM confirmaron que las NP formadas son esféricas, con un tamaño de partícula en promedio de 20,6 nm para la plata (figura 24a) y 18,9 nm (figura 24b) para las nanopartículas de paladio, respectivamente. Se observa que las aglomeraciones de nanopartículas, llegan a medir hasta 40nm y que gracias a las

concentraciones utilizadas de precursor, las nanopartículas son mono dispersas. El tamaño y la forma de las nanopartículas también están influenciados por la concentración de la solución del precursor utilizada (Das, 2011). Se puede determinar que estas aglomeraciones son el resultado de la pérdida de potencial de reducción que sufre la cochinilla en el proceso de reducir el GO y el ion metálico a la vez, ya que en la investigación de Siamaki y colaboradores se comparan el Grafeno y GO, y sus resultados muestran que para los nanocompuestos de grafeno y paladio, las nanopartículas tuvieron menor tamaño y menos aglomeraciones que en el caso en el que utilizó GO como material de soporte (Ramakrishnan Azhagu Raj, 2017)

4.3.3. Análisis de Difracción de rayos X (XRD)

El estudio XRD se realizó para analizar la estructura de fase y la composición de los nanocompuestos. La Fig. 25 muestra un pico pequeño a $10,5^\circ$ para el nanocompuesto Ag-rGO. Por lo tanto, los grupos funcionales de oxígeno del GO se eliminaron de manera efectiva y el GO se redujo a rGO. Además, el difractograma del nanocompuesto Ag-rGO muestra una serie de picos de difracción típicos con valores de 2θ de aproximadamente 38.1 , 44.3 , 64.5 y 77.5 , que pueden asignarse a los planos cristalográficos (111), (200), (220) y (311), respectivamente a la cara cúbica centrada (fcc) del metal plateado (ICSD no: 98-005- 3761) (Kavinkumar, 2016). Además, la Fig. 26 muestra el difractograma del nanocompuesto Pd-rGO, donde el pico XRD a 10.5° es evidente, esto indica la oxidación del grafito en GO (Qusti, 2014) y corresponde a los grupos oxigenados aún atrapados en la red de hojas de rGO. La comparación de ambos picos de XRD a 10.5° para los n nanocompuestos Ag-rGO y Pd-rGO revela que la reducción de GO es incompleta para la preparación del nanocompuesto Pd-rGO. La reducción de paladio necesita más potencial estándar, $E_0 = 1.879V$ ($PdCl_6^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons PdCl_4^{2-} + 2Cl^-$; $E_0 = 1.288V$ y $PdCl_4^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons$

$\text{Pd}^0 + 4\text{Cl}^-$; $E_0 = 0.591\text{V}$) en comparación con la plata, $E_0 = 0.7996\text{V}$ ($\text{Ag}^{1+} + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}^0$)

(Vanysek, 1998). En consecuencia, los grupos de oxígeno se eliminan de manera menos eficiente de la matriz de GO en el nanocompuesto Pd-rGO aumentando el pico de XRD. La Fig. 26 también muestra las posiciones y las intensidades relativas de los picos de difracción en $2\theta = 40.5$, 44.5 , 64.8 y 83.0 , que están relacionadas con (111), (200), (220) y (311) reflexiones de Bragg centradas en la estructura de la cara cúbica (fcc) de Pd (JCPDS n. ° 46-1043), respectivamente (Sun, 2014).

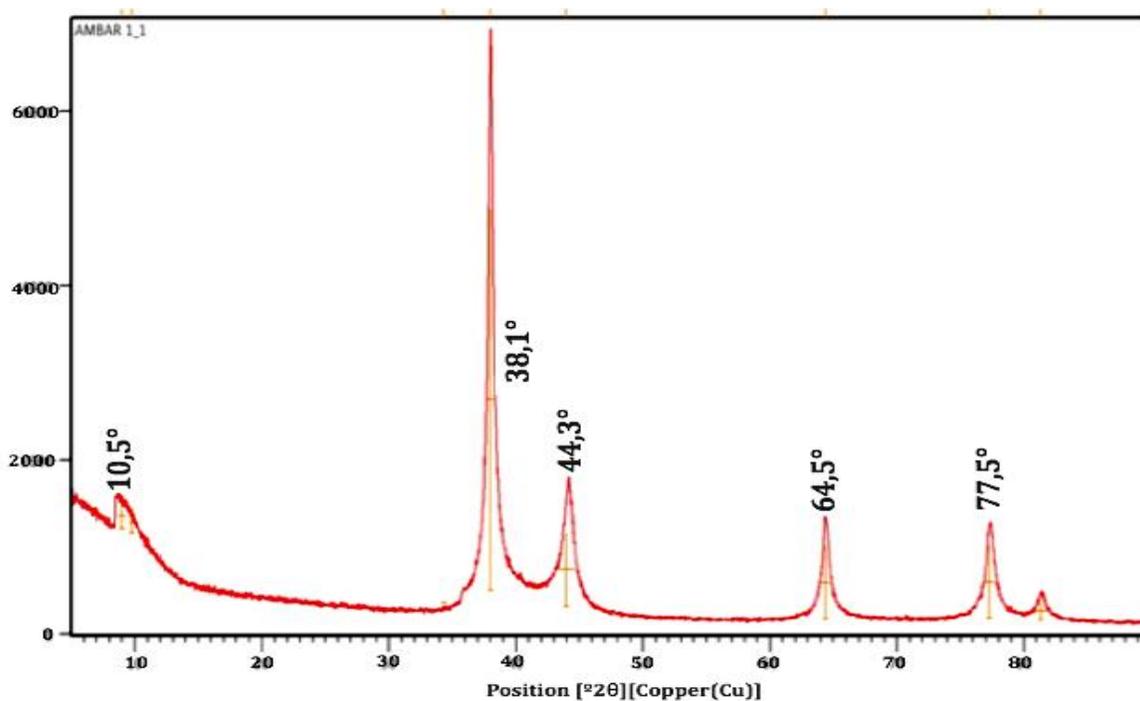


Figura 25. Difractograma XRD de nanocompuesto de Ag-rGO.

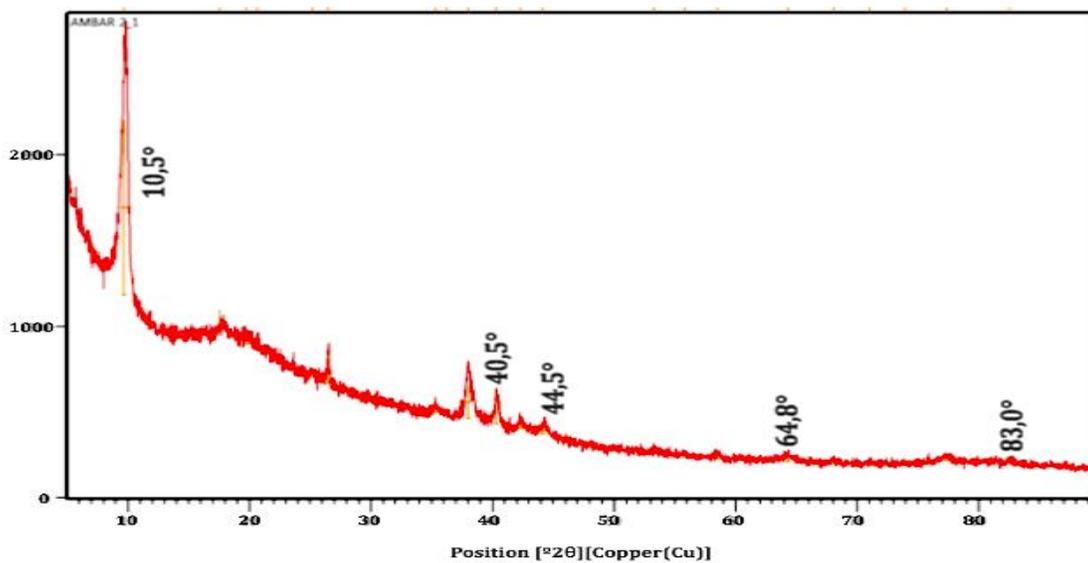


Figura 26. Difractograma XRD de nanocompuesto de Pd-rGO.

4.3.4. Voltametría Cíclica

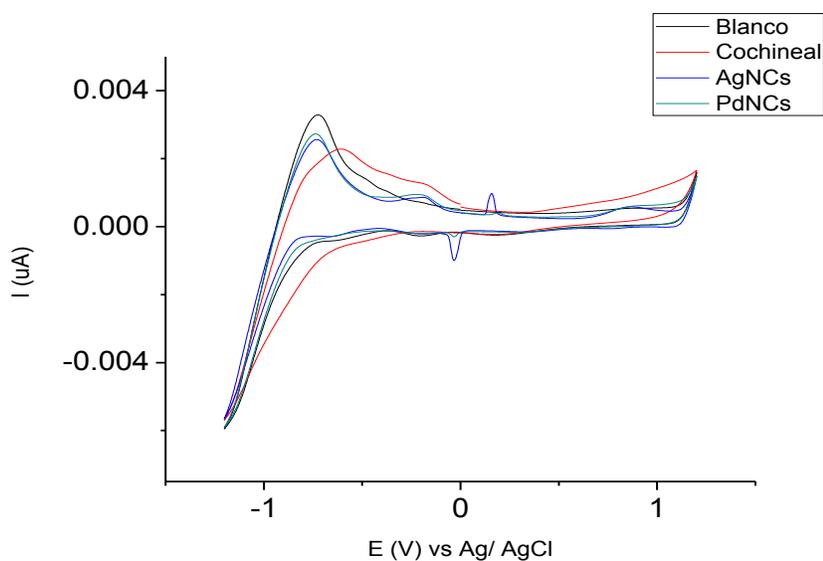


Figura 27. Voltamperograma representa el comportamiento de los Nanocompuestos en color azul para Ag-rGO y en color verde para Pd-rGO, además se observa el potencial RÉDOX del extracto de cochinilla en rojo.

Después de la síntesis de los nanocompuestos, la respuesta electroquímica de los mismos fue analizada por Voltametría Cíclica (Fig. 27). El rGO sin dopar no pudo ser analizado por la constitución del electrodo de trabajo. Las bandas pronunciadas a nivel de 0,15 eV son características de los metales en el caso de una reducción incompleta, el voltamperograma muestra dos picos representativos, indicando la presencia de los metales (Baeza, 2011). Ambas curvas tienen la misma tendencia, lo que indica que la composición del material es similar de igual manera las propiedades de cada nanocompuesto, excepto la concentración de nanopartículas sobre el soporte de acuerdo a la intensidad en los picos demostrando que la plata 10mM se redujo en menor proporción que el paladio 1mM (González García, 2010). Se puede observar también que para el caso del extracto de cochinilla en el escaneo anódico o área de oxidación (lado derecho desde el cero Figura 27) existe una inflexión hacia arriba respecto al blanco KCl, por el contrario en el escaneo catódico representado por el área de reducción (lado izquierdo desde el cero Figura 27), su curva incrementa mostrando hombros, determinándose así que su potencial de reducción es alto (Kumar et al., 2015).

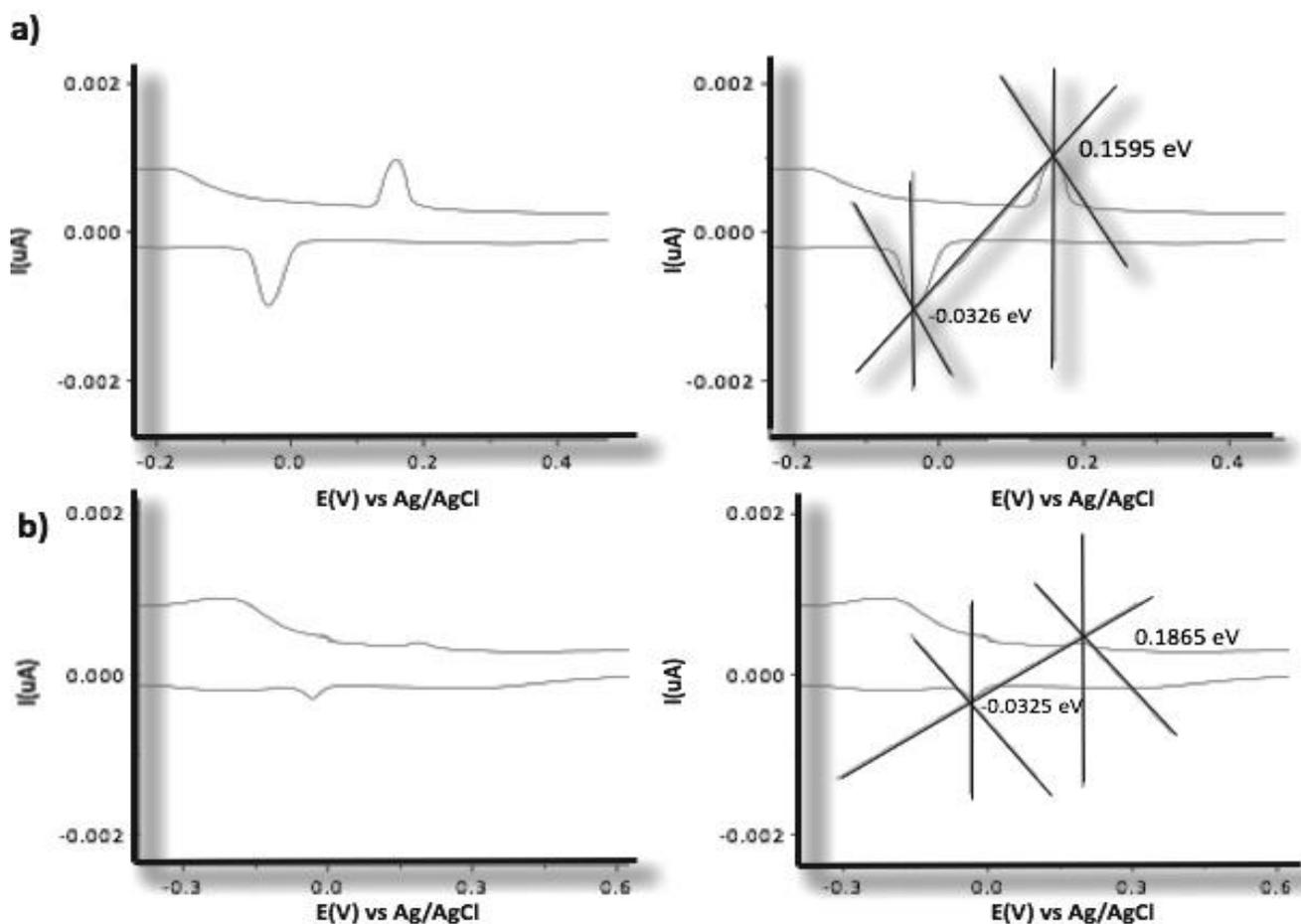


Figura 28. Voltamperograma de cada Nanocompósito a) Ag-rGO b) Pd-rGO.

En la figura 28 se observan las posiciones de los picos metálicos para cada nanocompósito, los picos aparecen en posiciones cercanas en ambos casos, para Ag-rGO son: -0,0326 eV y 0,1595 eV, en el caso de Pd-rGO estos picos aparecen más pequeños en: -0,0325 eV y 0,1865 eV, se cree que los menores picos están relacionados con una mayor concentración de las nanopartículas de paladio en contraste con la baja reducción que tiene la plata es decir una concentración menor de AgNPs. Se observa que en el caso del paladio el pico en -0,0325 es más pronunciado puede interpretarse como que el paladio se está reduciendo en mayor proporción de aquello que se oxida sobre el electrodo de carbono, mientras que la plata tiene un reacción redox equivalente para

ambos picos. Además se observa que la curva no es simétrica lo que indica que no es un compuesto puro en el cual se puedan realizar las mediciones del LUMO real (Bolaños, 2014) (Obaco, 2017).

La brecha de energía (E_g) de los nanocompuestos Ag-rGO y Pd-rGO se estimaron utilizando técnicas ópticas y electroquímicas (Micaroni, 2002). Cuanto menor sea la anchura de esta banda, mayor será la conducción de electrones del semiconductor (Owczarczyk, 2013). En base a las mediciones, fue posible construir la tabla 13. El espectro de UV-vis para AgNCs (Fig. 19) indica a 404.23 nm la formación de un pico representando las nanopartículas de plata y, por lo tanto, las propiedades semiconductoras del material de GO se han cambiado ligeramente (Fig. 21), con una extensión del espectro hacia la absorción en el rango visible (300nm-900nm). En la figura 20 se observa únicamente el rGO ya que el paladio no tiene pico representativo en la zona visible del espectro. El nivel HOMO para el semiconductor extrínseco AgNCs, compuesto de rGO + Ag⁰ + trazas de cochinilla, es de alrededor de 5,06 eV, y la barrera de energía está entre ~ 1.88 y 2.13 eV para la inyección de electrones. Si éste se compara con el nivel de HOMO para PdNCs, compuesto de rGO + Pd⁰ + trazas de cochinilla, que está en 5,07 eV, con brecha de energía 1.93 eV se nota que es un valor cercano entre los dos materiales compuestos. Por otro lado, el nivel LUMO está alrededor de 2.93 eV para AgNCs y 3.14 eV para PdNCs, lo que sugiere que los nanocompuestos son semiconductores del tipo n (cátodos), pues estos valores son más cercanos al nivel de Fermi (Marín-Pérez, 2014)

Además se calculó la energía de transición de los metales en el nanocompuesto obteniéndose para PdNC 1,16 eV y para AgNC 0,75 eV, estos datos fueron obtenidos al realizar la resta entre las energías obtenidas de las inflexiones en la curva $(\alpha h\nu)^2$ vs. $h\nu$ representadas en las gráficas de Tauc (FIG. 29 y 30), esta distancia depende del material y depende de la profundidad

de la capa de agotamiento y de la longitud de difusión de los portadores de carga (Murphy, 2007), esta distancia es un poco mayor a la del metal puro (Biswal, 2011).

Los orbitales HOMO y LUMO en un sistema extendido se definen como la banda de conducción y la banda de valencia, por lo tanto, se espera que estos cambios de energía en LUMO y HOMO del óxido de grafeno reducido, provocados por los metales preciosos, modifiquen las propiedades redox y promuevan la fotocatalisis heterogénea. Según (Astudillo, 2016) el rGO tiene el mismo band gap nulo que el grafeno es decir posee una energía de 0 eV, por otro lado según Hsu y colaboradores en 2013 (Hsu, 2013), enuncian que el GO sintetizado por el método de Hummers reporta valores de bandas entre 2,9 y 4,4 eV, esto se debe a las irregularidades en su estructura laminar; por lo tanto se cree que el GO sintetizado con un band gap de 4,25 eV (Fig. 29c y 30c) en el presente estudio posee irregularidades de superficie y por esta razón su band gap es grande, además el grado de reducción total del rGO y los metales nobles es incompleta y las impurezas del proceso de síntesis con cochinilla provocan que el band gap obtenido sea superior al esperado. El rGO hace las veces de soporte semiconductor capturando más fotones gracias a que los metales de las nanopartículas de plata y paladio absorben la luz que normalmente se pierde, de esta manera se excitan a los electrones en las nanopartículas, creando ondas de electrones llamadas plasmones. El movimiento de los plasmones genera un depósito de energía dentro del nanocompósito, que de otro modo se perdería (Wang, 2010) Según estudios realizados en TiO_2 , se ha determinado que el band gap de la fase anatasa es de 3,2 eV mientras que el band gap del rutilo es de 3,0 eV, es decir, la longitud de onda que excita un electrón en la estructura anatasa es menor, encontrándose en el rango de la luz ultra violeta y, por lo tanto, se requiere más energía para fotoactivar la anatasa en comparación al rutilo, ya que los fotones del rango UV son más energéticos. En el caso de los nanocompuestos sintetizados en este trabajo la energía de

fotoactivación para Ag-rGO ~ 2.13 eV y para Pd-rGO ~ 1.93 , que son menores que aquella de la anatasa y se puede interpretar como que fotones de más baja energía pueden activar los nanocompuestos. Sin embargo, para la anatasa no implica que el desempeño fotocatalítico sea ineficiente, ya que de las dos fases del TiO_2 , la fase anatasa tiene mayor actividad fotocatalítica, es decir provocaría la formación de una mayor gama de especies reactivas de oxígeno (ROS) que el rutilo, esto se debe a la posición de la brecha energética más negativa para el caso de la anatasa. Por el contrario, ambos nanocompuestos sintetizados poseen band gaps elevados, de manera que no se los podría utilizar con la mayor parte visible del espectro de la luz solar (1,5-3,0 eV).

Tabla 13

Valores obtenidos para los nanocompuestos, mediante Voltametría Cíclica.

Muestra	HOMO	GAP	LUMO	Longitud de onda (nm)
PdNCs	-5,07 eV	1,93	-3,14	303,17
AgNCs	-5,06 eV	2,13	-2,93	404,23

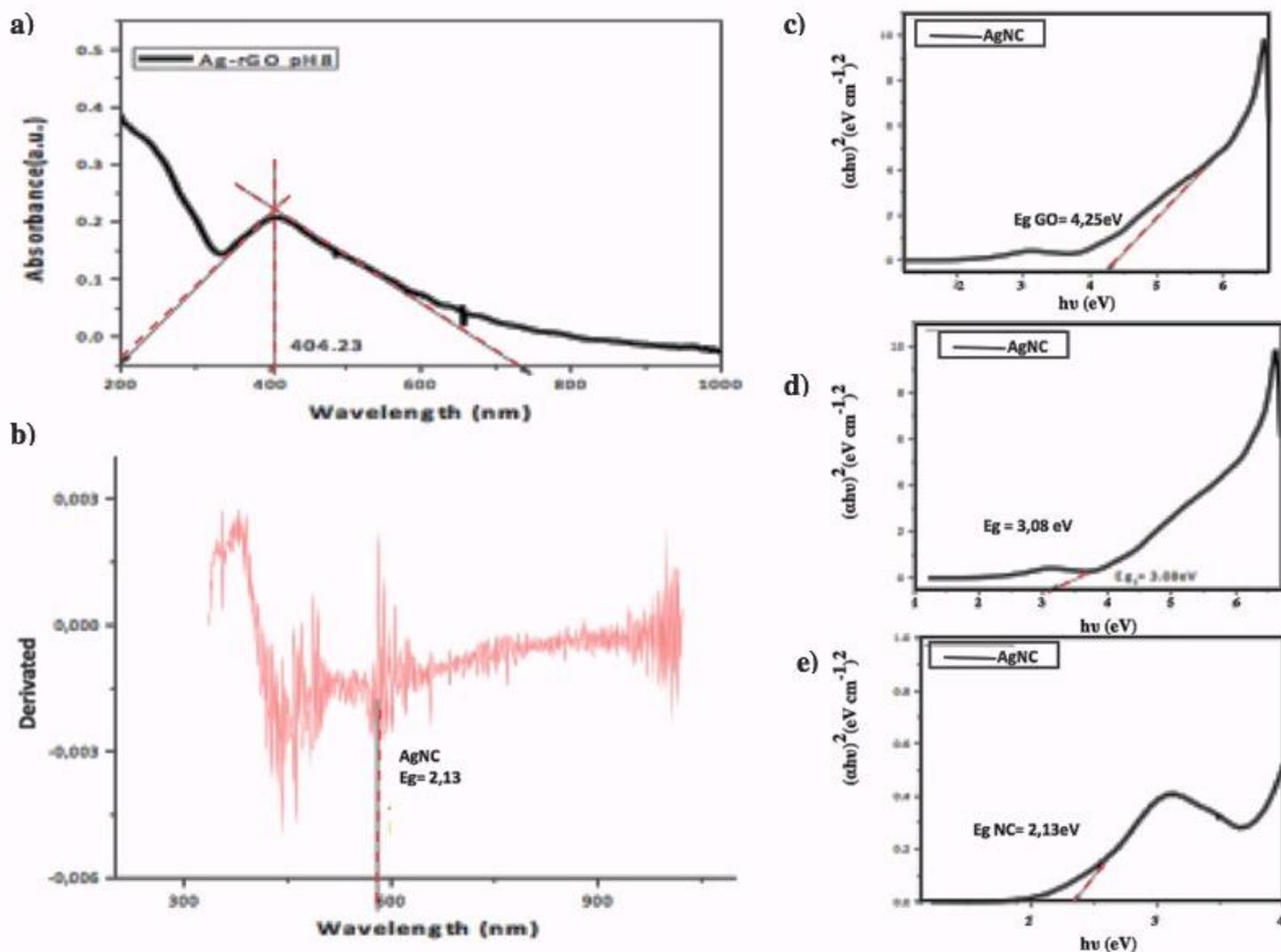


Figura 29. Determinación de band gap del AgNC: a) pico representativo en el espectro de la formación del nancompósito, b) derivada del espectro UV-Vis band gap del nancompósito 2.13 eV. Gráfica de Tauc: c) band gap de GO 4.25 eV, d) band gap #1 Ag 3.08 eV y e) band gap NC 2,13 eV.

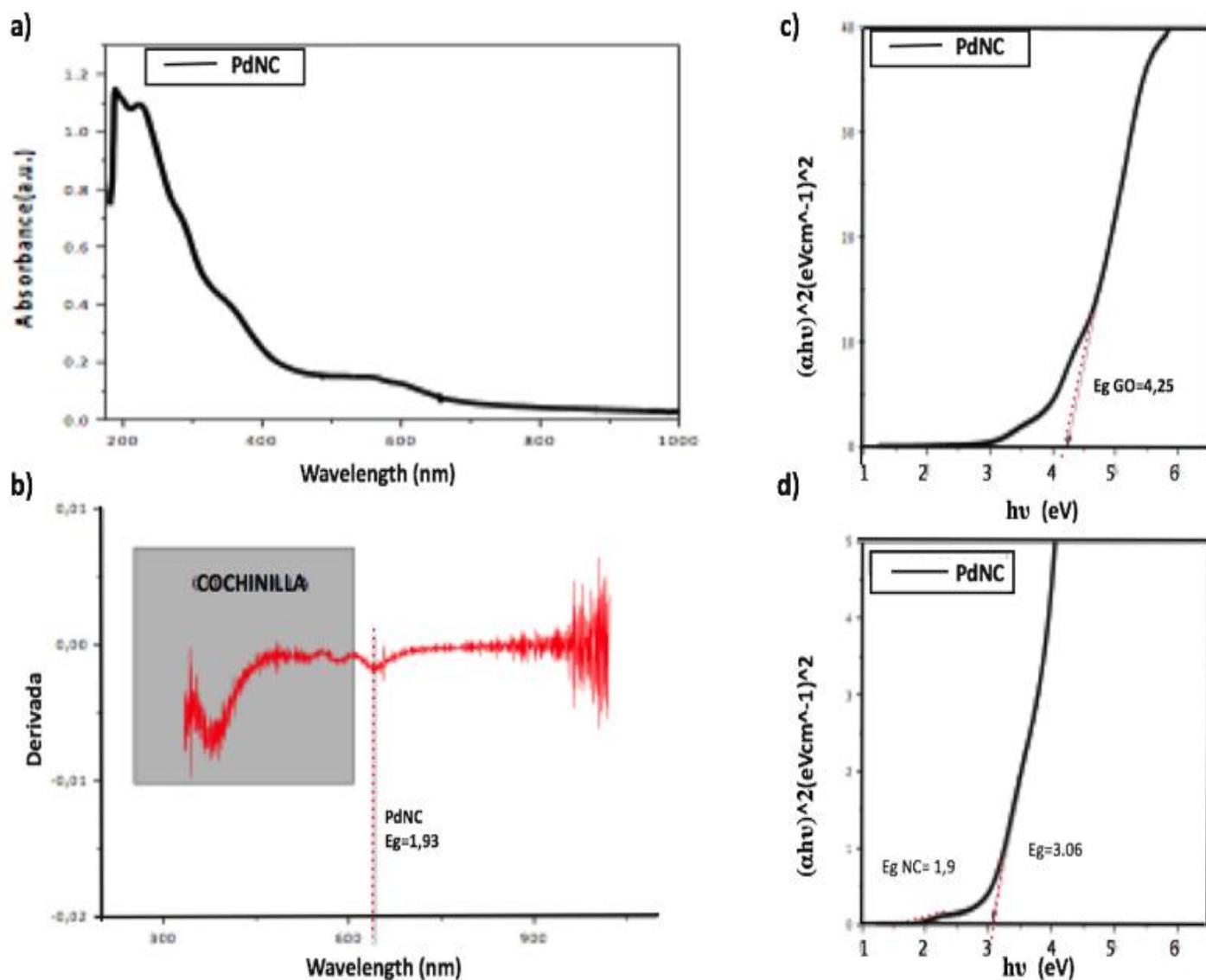


Figura 30. Determinación de band gap del PdNC: a) pico representativo en el espectro de la formación del nancompósito, b) derivada del espectro UV vis, band gap de NC 1,93 eV. Gráfica de Tauc: c) band gap GO 4,25 eV , d) band gap #1 Pd 2,33 eV y band gap #2 Pd 1.9 eV.

Se requiere de materiales avanzados con band gaps menores al TiO₂, para mejorar su eficiencia como fotocatalizador. Existen variados aspectos que afectan la actividad foto catalítica, comenzando por la estructura cristalina, el tamaño de partícula, los defectos dentro de la

estructura, área superficial, entre otros (Carrasco, 2016). Además, se debe tener en cuenta que la energía de luz proporcionada al fotocatalizador debe ser igual o mayor al ancho de band gap (Almerida, 2012), esto implica que para la eliminación de fármacos como la CBZ utilizando los NCs sintetizados en este trabajo, no se tendría mucho éxito, pues se requiere mayor utilización del total del espectro de luz visible, lo cual no es posible en las condiciones ambientales de la temporada en la que se realizó el estudio.

4.4. Degradación de los fármacos

4.4.1. Degradación de DIC

Tabla 14

Análisis cuantitativo de los blancos.

Muestra	Área	Concentración
B1	6353150	0,035
B2	6527979	0,035
B3	8559962	0,042
B4	8030713	0,040
B5	7957934	0,040
B6	6071305	0,034
Promedio		0,038

Se obtuvo una concentración promedio de 0,038 mg/mL en la muestra de trabajo.



Figura 31. Tratamiento para DIC con simulador solar.



Figura 32. Tratamiento para DIC con luz solar.

Para los ensayos con simulador de luz se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 15

Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con simulador solar para DIC.

Datos obtenidos ensayos lámpara

Tratamiento	Área	Concentración final	%remoción
AG-NC V1m1	6329214	0,034	8,19
AG-NC V1m2	516835	0,015	59,85
AG-NC V1m3	6332042	0,034	8,16
AG-NC V2m1	472541	0,015	60,24
AG-NC V2m2	7112664	0,037	1,22
AG-NC	575042	0,015	59,33

CONTINUA

V2m3			
AG-NC	5402176	0,031	16,43
V3m1			
AG-NC	5416195	0,031	16,30
V3m2			
AG-NC	5420119	0,031	16,27
V3m3			
PD-NC V1m1	6313851	0,034	8,32
PD-NC V1m2	6060668	0,034	10,57
PD-NC V1m3	6341932	0,034	8,07
PD-NC V2m1	3435084	0,025	33,91
PD-NC V2m2	6239888	0,034	8,98
PD-NC V2m3	6010021	0,033	11,02
PD-NC V3m1	5482995	0,032	15,71
PD-NC V3m2	5696644	0,032	13,81
PD-NC V3m3	729847	0,016	57,96

Se observa que la radiación del simulador no produjo los efectos deseados, y no muestra ninguna tendencia con respecto al cambio de volumen de los NCs.

Para los ensayos con luz natural se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 16*Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con luz natural para DIC.*

Datos obtenidos ensayos sol			
Tratamiento	Área	Concentración	%remoción
AG-NC V1m1	71668	0,014	63,81
AG-NC V1m2	583655	0,015	59,26
AG-NC V1m3	74224	0,014	63,79
AG-NC V2m1	74346	0,014	63,78
AG-NC V2m2	74570	0,014	63,78
AG-NC V2m3	80480	0,014	63,73
AG-NC V3m1	76043	0,014	63,77
AG-NC V3m2	81643	0,014	63,72
AG-NC V3m3	82529	0,014	63,71
PD-NC V1m1	141284	0,014	63,19
PD-NC V1m2	151442	0,014	63,10
PD-NC V1m3	128056	0,014	63,31
PD-NC V2m1	114122	0,014	63,43
PD-NC V2m2	98165	0,014	63,57
PD-NC V2m3	99777	0,014	63,56
PD-NC V3m1	112174	0,014	63,45
PD-NC V3m2	113497	0,014	63,44
PD-NC V3m3	112369	0,014	63,45

Se observa que en los tratamientos con luz solar se obtienen mejores resultados de degradación. De igual manera el incremento de volumen de los NCs no provoca diferencia significativa en la remoción del fármaco.

4.4.2. Ensayo cinético de remoción de DIC con luz solar

Tabla 17

Resultados del análisis de cinética de degradación para DIC con Pd-rGO.

Pd-rGO	
Tiempo (min)	Concentración
0	0,067371803
15	0,037685625
30	0,021506071
45	0,009559578
60	0,00463894
120	0,000514689
180	-0,00046253
240	-0,000558904

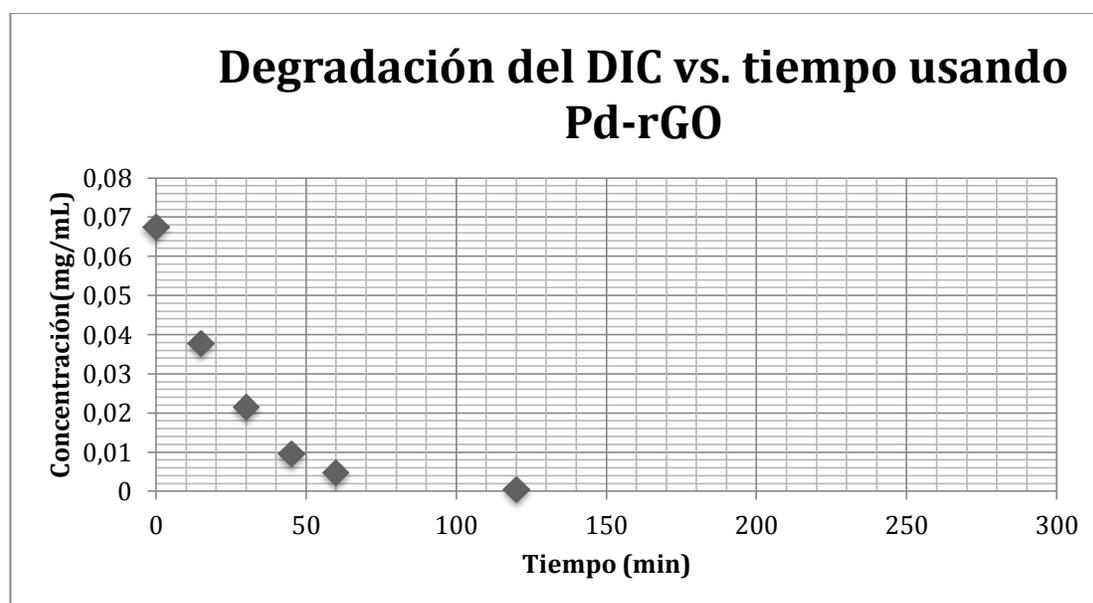


Figura 33. Curva de tendencia de la cinética de degradación para DIC con Pd-rGO.

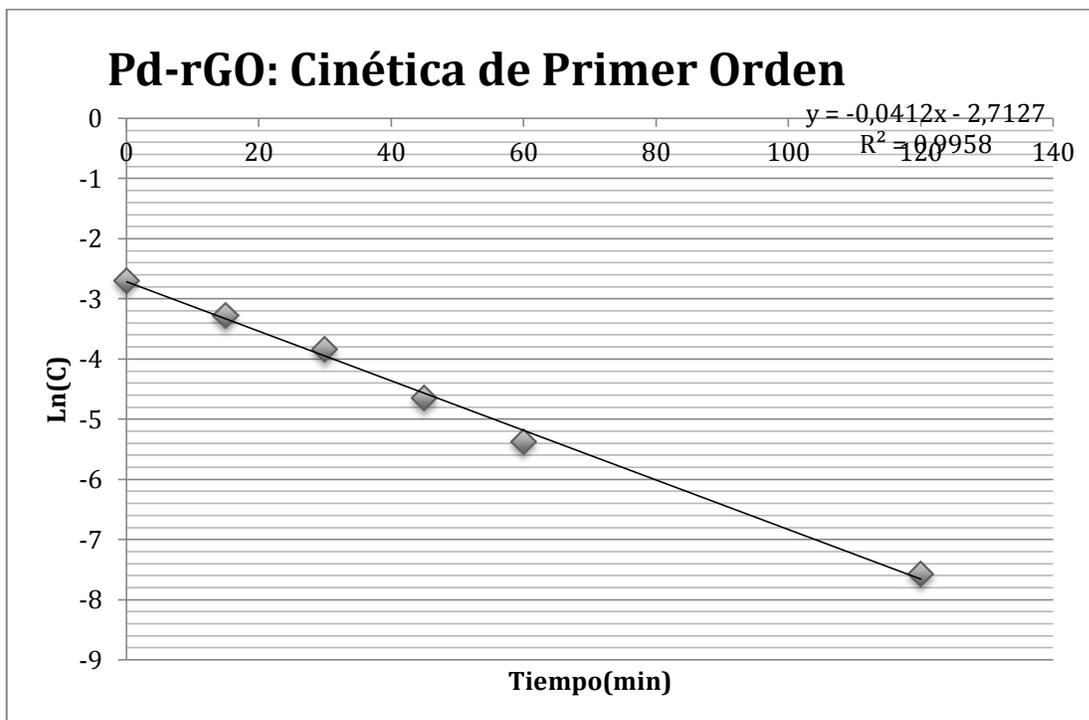


Figura 34. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para DIC con Pd-rGO.

Tabla 18

Resultados del análisis de cinética de degradación para DIC con Ag-rGO.

Ag-rGO	
Tiempo (min)	Concentración
0	0,068885128
15	0,035285065
30	0,015871777
45	0,007125857
60	0,004440837
120	0,00053507
180	-0,000511235
240	-0,000568922

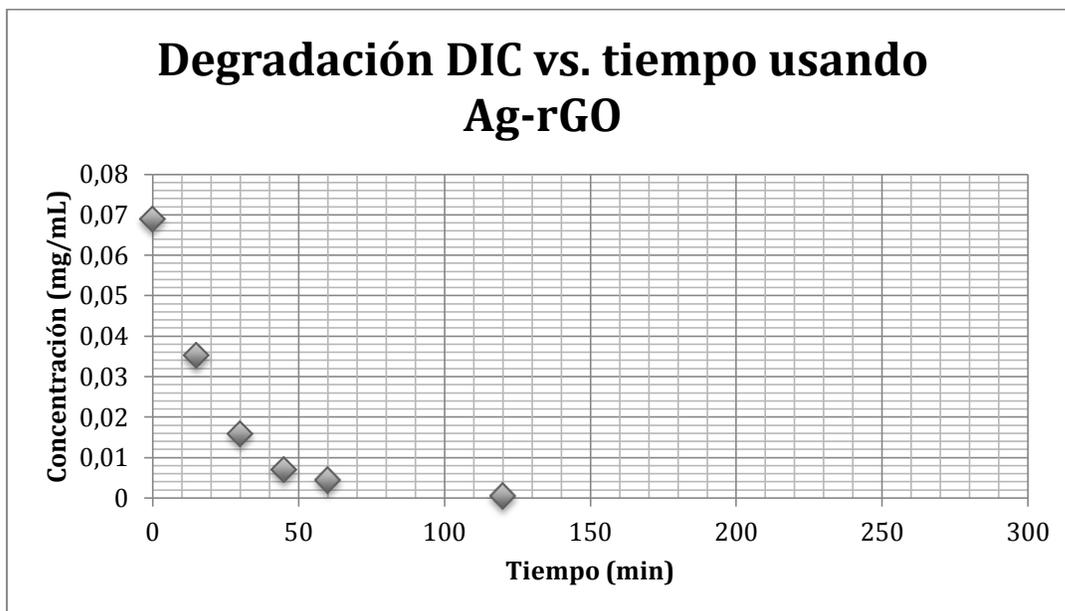


Figura 35. Curva de tendencia de la cinética de degradación para DIC con Ag-rGO.

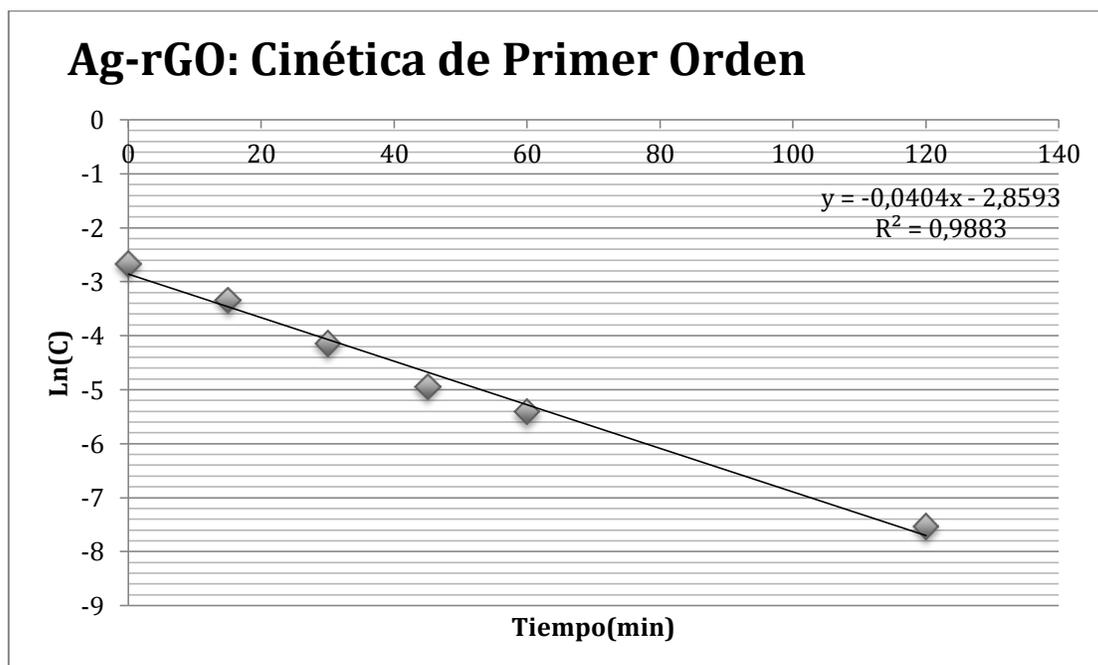


Figura 36. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para DIC con Ag-rGO.

Se observa en las curvas de la cinética de degradación que la reacción es de primer orden (Izquierdo, 2004)(Figuras 33-36) para DIC, además ambos nanocompuestos reducen la

concentración de DIC casi en su totalidad, como se puede comprobar en los datos estadísticos, que el tipo de nanocompósito no aporta una diferencia significativa, siendo el sol el factor relevante para el funcionamiento de los nanocompuestos como fotocatalizador. En condiciones favorables de luz solar, según CONELEC la Insolación Global máxima en Enero del 2017 fue 5523Wh/m²/día, en la provincia de Pichincha fue de aproximadamente de 4000 Wh/m²/día dato referencial para Enero 2018 (Electricidad-CONELEC., 2017).

También en este ensayo se comprobó nuevamente que es esencial que el tratamiento se dé con radiación solar, ya que la muestra de agua con diclofenaco en contacto con el nanocompósito colocada en sombra a tiempo cero y hasta 33 horas, no produce ninguna degradación del DIC.

4.4.3. Degradación de CBZ

Tabla 19

Análisis cuantitativo de los blancos.

Blancos	Área	Concentración real
m1	12921085	0,07
m2	12590781	0,06
m3	12921085	0,07
m4	12590781	0,06
m5	12921085	0,07
m6	12590781	0,06
Promedio		0,06

Se obtuvo una concentración promedio de 0,06 mg/mL en la muestra de trabajo.

Tabla 20

Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con simulador solar para CBZ.

Datos obtenidos ensayos lámpara			
Tratamiento	Área	Concentración	%remoción
AG-NC V1m1	6458972	0,033	49
AG-NC V1m2	6449024	0,033	49
AG-NC V1m3	6438767	0,033	49
AG-NC V2m1	6476101	0,033	49
AG-NC V2m2	6467074	0,033	49

AG-NC V2m3	6442752	0,033	49
AG-NC V3m1	6593218	0,034	48
AG-NC V3m2	6552344	0,034	48
AG-NC V3m3	6607605	0,034	47
PD-NC V1m1	6432566	0,033	49
PD-NC V1m2	6451189	0,033	49
PD-NC V1m3	6432398	0,033	49
PD-NC V2m1	6493474	0,033	48
PD-NC V2m2	6339107	0,033	50
PD-NC V2m3	6402983	0,033	49
PD-NC V3m1	6573449	0,034	48
PD-NC V3m2	6540220	0,034	48
PD-NC V3m3	6535463	0,034	48

Tabla 21

Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con luz natural para CBZ.

Datos obtenidos ensayos sol

Tratamiento	Área	Concentración	%remoción
AG-NC V1m1	6400713	0,033	49
AG-NC V1m2	6422639	0,033	49
AG-NC V1m3	6401402	0,033	49
AG-NC V2m1	6435420	0,033	49
AG-NC V2m2	6391853	0,033	49
AG-NC V2m3	6418133	0,033	49
AG-NC V3m1	6548529	0,034	48
AG-NC V3m2	6429733	0,033	49
AG-NC V3m3	6397436	0,033	49
PD-NC V1m1	6424717	0,033	49
PD-NC V1m2	6432964	0,033	49
PD-NC V1m3	6446919	0,033	49
PD-NC V2m1	6488172	0,033	48
PD-NC V2m2	6379432	0,033	49
PD-NC V2m3	6519974	0,034	48
PD-NC V3m1	6682656	0,034	47
PD-NC V3m2	6539409	0,034	48
PD-NC V3m3	6606611	0,034	47

Para la CBZ en agua, tratada con Pd-NCs, la radiación del simulador solar (tabla 20) y la radiación del sol (tabla 21) no tienen diferencia significativa en la degradación y los resultados

son similares entre sí. Sin embargo, la disminución en la concentración del fármaco puede ser atribuida a la capacidad de adsorción de energía del óxido de grafeno reducido. De acuerdo con la investigación de Cai et al., se remueve CBZ con el 95% de eficiencia usando el óxido de grafeno en polvo después de las 24 horas (Cai, 2014), ya que puede existir reacciones hidrofóbicas entre la estructura de carbono que tiene el óxido de grafeno y la estructura aromática de la CBZ.

4.4.4. Mejoramiento de condiciones experimentales en la degradación de la CBZ

Se eliminó el factor fuente de luz, se agregó agitación y se probaron distintas presentaciones de los NCs, los resultados para las presentaciones “polvo” y “original” se observan de forma clara en el anexo estadístico.



Ensayos sin agitación

Ensayos con agitación

Figura 37. Ensayos screening para mejorar condiciones de remoción.

Tabla 22*Resultados del análisis cuantitativo de los blancos.*

B1	13549901	0,069
B2	13549911	0,069
B3	13550901	0,069
B4	13549801	0,069
B5	13449901	0,069
B6	13551901	0,069
Promedio		0,069

Tabla 23*Resultados del análisis cuantitativo del tratamiento con luz natural modificado para CBZ.***Datos obtenidos ensayos sol**

Tratamientos	Área	Concentración	%remoción
AG-NC L	5799798	0,031	56
AG-NC LA	5764861	0,031	56
PD-NC L	5851121	0,031	55
PD-NC LA	5920595	0,031	55

Se utilizó la misma solución de NCs en ensayos con agitación, incrementándose de esta forma la cantidad de oxígeno disuelto en el agua contaminada. De hecho el porcentaje de degradación de la CBZ fue mejor comparado con los ensayos anteriores. No obstante, la agitación no mostró elevar el nivel de remoción en los ensayos usando el NC liofilizado y luego hidratado.

Se observa que existe un cambio de coloración de los nanocompuestos (Fig. 38) en el transcurso de los ensayos, lo que implica la reducción del nanocompuesto. Por este motivo se cree que disminuye la eficiencia de remoción, ya que la energía solar está siendo utilizada para la reducción del NC y el proceso puede tardar más tiempo (Sánchez, 2015).

Según Appavoo y colaboradores, el porcentaje de rGO afecta al traspaso de la luz por la muestra, dando como resultado una disminución en la actividad foto catalítica y por tanto una menor eficiencia de remoción por fotólisis (Appavoo, 2014). Además, se observa que cuando es mayor la cantidad de luz solar que llega a la muestra, existe un ligero incremento en la

temperatura y por tanto mejora la remoción del fármaco, ya que la cantidad de energía que entrega la luz solar para romper los enlaces de la molécula de CBZ es mayor. Según Solís utilizando un foto-reactor y TiO_2 como fotocatalizador durante 3 horas y en bajas concentraciones de CBZ, se ha logrado degradar la CBZ hasta en un 97% gracias a la cantidad de energía solar acumulada y a la alta reactividad de los ROS formados con TiO_2 (Solís, 2013). De acuerdo con estos datos se puede determinar que la acción foto catalítica de los NCs sobre CBZ es casi nula, comparándola con su absorción del fármaco, aun cuando este proceso da resultados en tiempos de exposición prolongados.

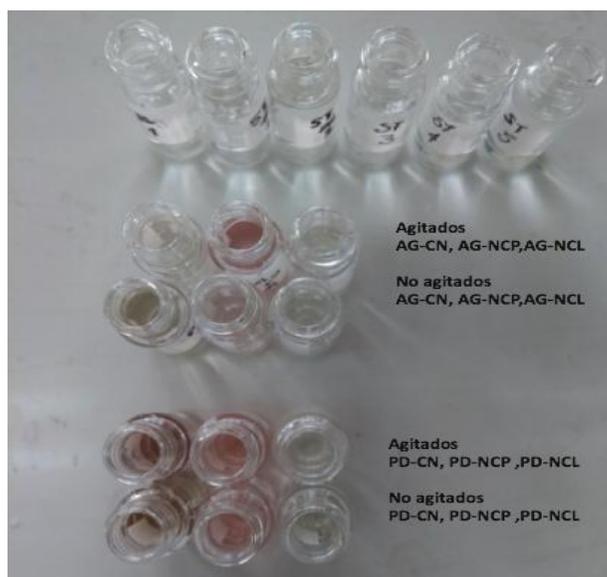


Figura 38. Muestras de CBZ procesadas para ser analizadas en HPLC.

4.4.5. Ensayo de cinética de remoción de CBZ con luz solar

Tabla 24

Resultados del análisis de cinética de degradación para DIC con PD-rGO.

Pd-rGO

Tiempo (min)	Concentración
0	0,029567744
15	0,024425938
30	0,022555519
45	0,01856676
60	0,014534105
120	0,013872388
180	0,011615797
240	0,010769473

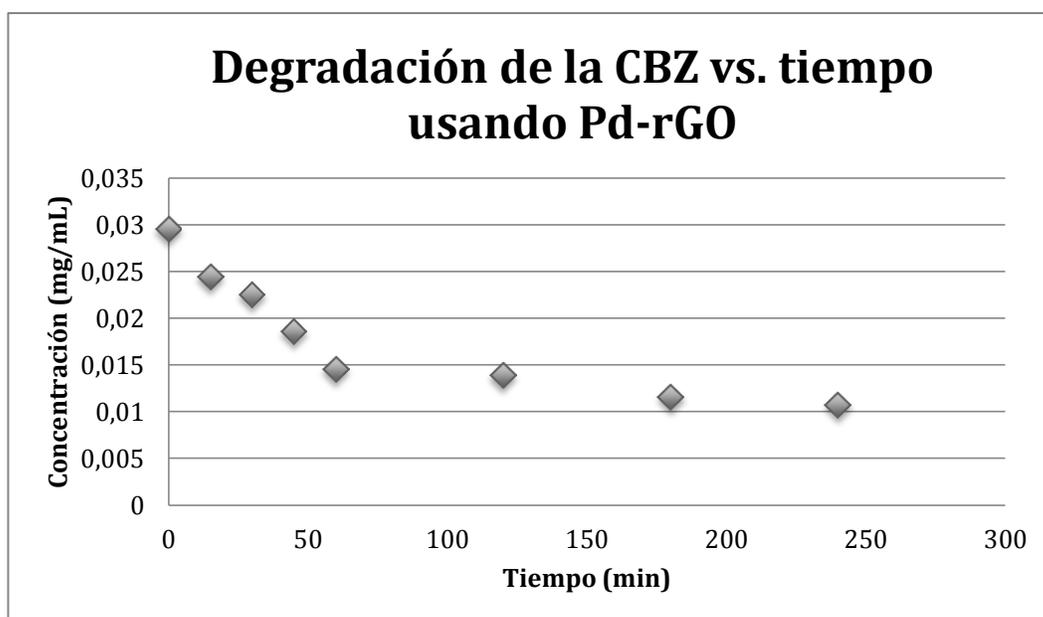


Figura 39. Curva de tendencia de la cinética de degradación para CBZ con Pd-rGO.

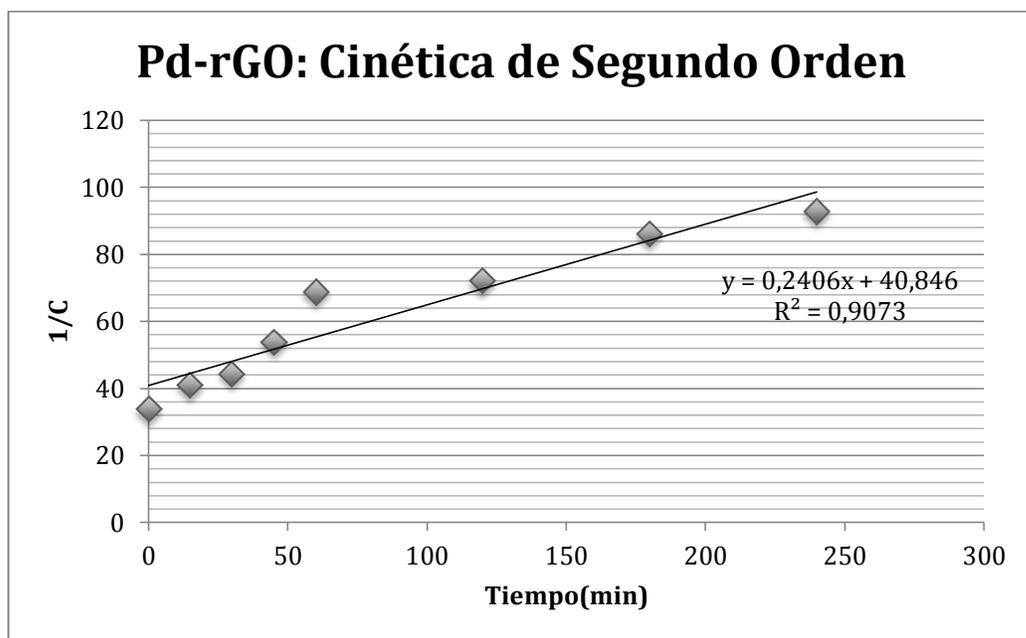


Figura 40. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para CBZ con Pd-rGO.

Tabla 25

Resultados del análisis de cinética de degradación para CBZ con Ag-rGO.

Ag-rGO

Tiempo (min)	Concentración
0	0,028930369
15	0,026627694
30	0,022074308
45	0,019616932
60	0,016754868
120	0,015087928
180	0,014299311
240	0,012352464

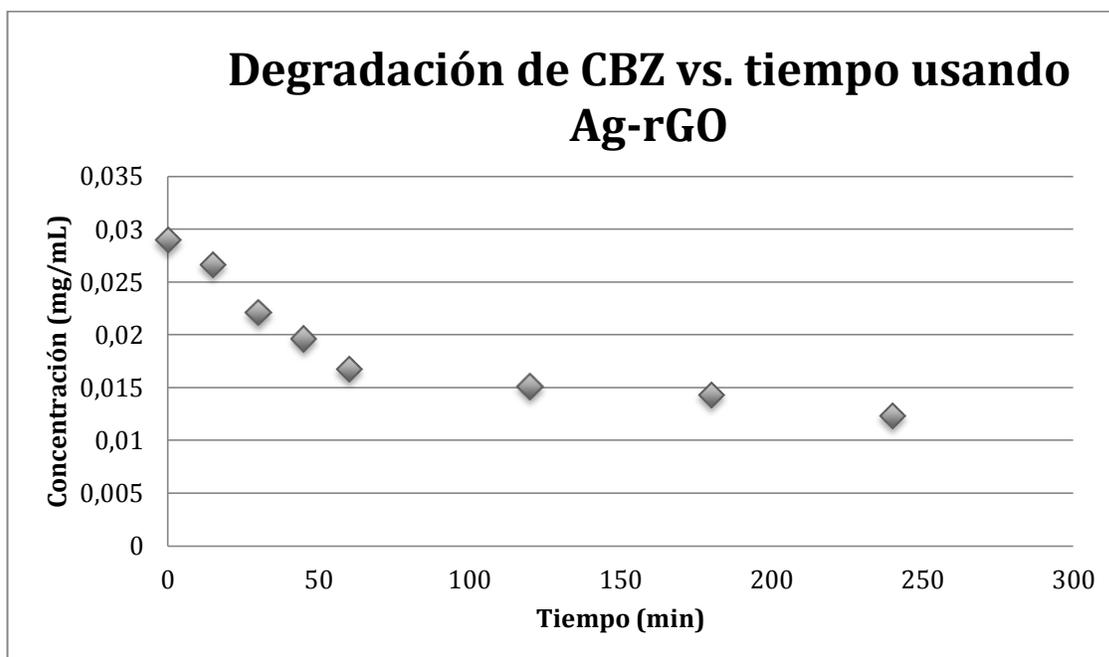


Figura 41. Curva de tendencia de la cinética de degradación para CBZ con Ag-rGO.

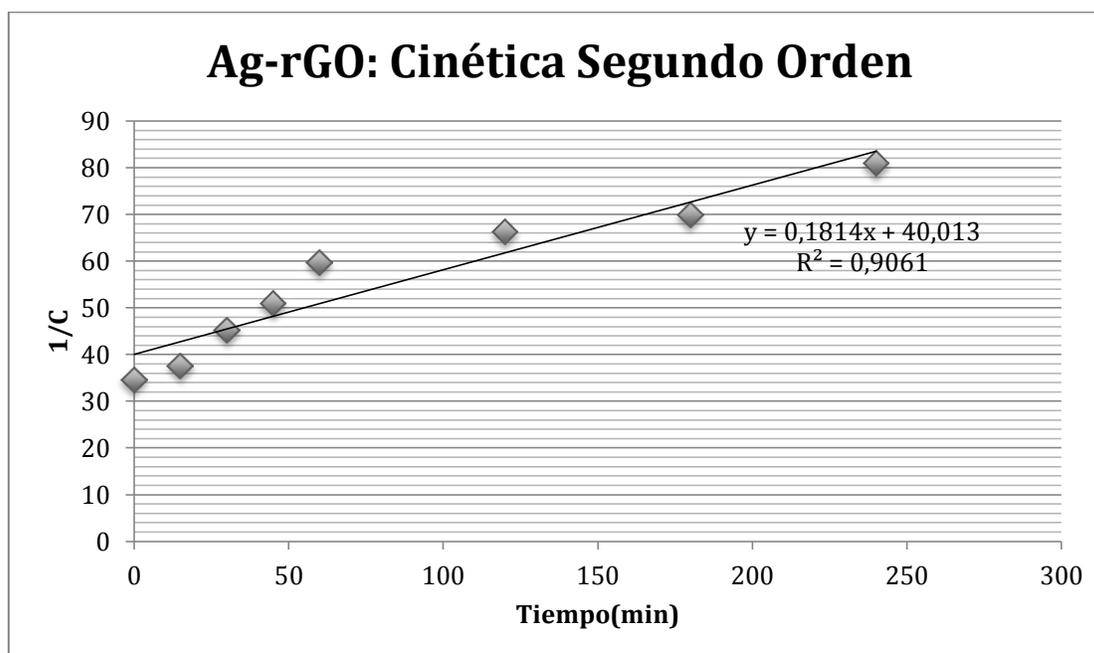


Figura 42. Regresión lineal de la curva de cinética de degradación para CBZ con Ag-rGO.

Se observa en los ensayos de cinética que la reacción de degradación de la CBZ es de orden 2 (Figuras 39-42) (Izquierdo, 2004). Además se aprecia que la CBZ es un compuesto

altamente estable por su estructura aromática, pues existe una absorción del compuesto en el NC en la primera hora (Cai, 2014), luego de esto la remoción empieza a disminuir, ya que la absorción del nanocompósito se satura probablemente debido a la lenta difusión en los poros, dada por el área de superficie del rGO dopada con nanopartículas y las interacciones electrostáticas entre sorbato y sorbente, son dos factores importantes que rigen la tasa de absorción (Cai, 2014).

4.4.6. Análisis Estadístico de la degradación de los Fármacos DIC y CBZ.

El ANOVA (Tabla 30.1) para DIC muestra que el p_valor para el tipo de luz es <0.0001 , menor que 0.05, lo que indica que el tipo de luz es el factor más relevante en la degradación de DIC y esto puede verse más claramente en las figuras 43-56 del Anexo estadístico, donde el tratamiento con la luz solar proporciona una mayor remoción del fármaco. De igual manera en la prueba de Duncan (Tablas 30.2-8) se observa que el factor “luz solar” tiene una actividad significativa en la remoción de DIC (Fig. 45-46), y en sus interacciones también muestran una clara tendencia de degradación de DIC con la radiación solar. Esto se atribuye a la cantidad de energía donada desde esta fuente de luz (Solís, 2013). En la tabla de contingencia (Tabla 31.1-2) con prueba de chi-cuadrado se obtienen el p_valor es >0.9999 , por lo que la hipótesis nula se acepta, entonces las variables analizadas son independientes para el procesos de degradación de DIC.

Por otro lado el ANOVA para CBZ (Tabla 39.1) muestra que el p_valor para el volumen de NC es <0.0001 , menor que 0.05, lo que indica que el volumen de NC es el factor más relevante en la degradación de CBZ. De igual manera en la prueba de Duncan (Tablas 43.2-8) se observa una mejor remoción a menores volúmenes de NC debido a que existe menor concentración de rGO, dando un mayor paso de luz y una mejor fotólisis (Appavoo, 2014).

Para las tablas de contingencia (Tabla 44.1-2) sobre el modelo general el p-valor es >0.9999 , la hipótesis nula se acepta, de manera que estas variables son independientes para el proceso de degradación de la CBZ. De igual manera se muestran las tablas 48-56 y figuras 71-83 para el análisis de los datos del screening. Se observa que la presentación del NC y por lo tanto su concentración tiene importancia en la reacción foto catalítica siendo afectada en grandes concentraciones.

5. CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- En la investigación se obtuvieron nanocompuestos de plata y de paladio, mediante la aplicación de un método de química verde, empleando extracto de cochinilla como agente reductor. Como precursores metálicos se utilizaron el nitrato de plata (AgNO_3) y el Hexacloropaldato potásico (K_2PdCl_6) y como soporte polimérico se utilizó el óxido de grafeno, obtenido mediante la oxidación del grafito. Por otra parte, se determinó que en la síntesis de los nanocompuestos, el pH del extracto de cochinilla fue el factor más importante, según el análisis estadístico de las variables estudiadas.
- La caracterización de los NCs se realizó empleando cinco técnicas: 1) espectroscopía UV-Vis, presentando una longitud de onda de 408 nm para AgNCs y para PdNCs no se observó ningún pico representativo; 2) STEM, con el que se obtuvieron micrografías de la morfología de los NCs; 3) TEM, con el que se obtuvo un tamaño promedio de 20.6nm para Ag-NPs y 18.9nm para Pd-NPs sobre la lámina de óxido de grafeno reducido; 4) XRD, el nanocompuesto Ag-rGO muestra una serie de picos de difracción típicos de una estructura cristalográfica cúbica centrada en la cara (fcc). De igual manera el Pd-rGO exhibe una estructura cúbica centrada en la cara (fcc). Los difractogramas de los nanocompuestos Ag-rGO y Pd-rGO muestran picos a 10.5° ; sin embargo el pico del nanocompuesto Pd-rGO es más intenso, por lo que se cree que la reducción del GO es incompleta. La estabilidad de los nanocompuestos se probó por 15 días, demostrándose que ambos son estables hasta la actualidad. Los resultados electroquímicos registran

diferentes bandas en las curvas rédox, que son característicos de los metales en -0.03 y 0.15 eV para AgNCs y en -0.03 y 0.18 eV para el PdNCs.

- La degradación de carbamazepina y diclofenaco utilizando nanocompuestos de paladio y plata sintetizados con extracto de cochinilla es prometedora. La remoción máxima promedio de diclofenaco sódico fue del 63,39% con luz solar natural y PdNCs y 63,26% con solar natural y AgNCs. Mientras que con la aplicación del simulador solar se logró 18,71 % (PdNCs) y 27,33% (AgNCs). Para carbamazepina fue 48,89% con luz solar natural y AgNCs y 48,22% con las mismas condiciones de luz y PdNCs. Mientras que con el simulador solar no hubo variación significativa 48,56% y 48,67% para AgNCs y PdNCs respectivamente; por lo que se concluye que con la aplicación de radiación solar prolongada se obtiene una mejor remoción del diclofenaco, en cambio para la carbamazepina se debe realizar nuevos estudios. La degradación efectiva de los fármacos diclofenaco sódico y carbamazepina sugiere que la luz solar tiene una energía mayor que el simulador solar, y por tanto es un efecto significativo en la reacción de fotocátalisis para la remoción de los fármacos. Además, por los resultados obtenidos, se determinó que ambos nanocompuestos son similares en su actividad degradadora para los fármacos estudiados, aun cuando la concentración de nanopartículas de paladio fue diez veces menor. De manera que la remoción obtenida en este estudio con nanocompuestos Ag-rGO y Pd-rGO son realmente buenos. La cinética de degradación para el diclofenaco con ambos nanocompuestos se ajusta a una de primer orden mientras que para la carbamazepina es de segundo orden.

5.2. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos, se recomienda:

- Mejorar el método de síntesis de los nanocompuestos para aumentar su reactividad.
- Aumentar la concentración final de nanopartículas de paladio sobre el soporte, de tal manera que alcance una actividad foto catalítica mejor.
- Realizar ensayos con menor concentración del contaminante CBZ para determinar si es un factor relevante en la remoción.
- Realizar ensayos para la degradación de CBZ cambiando los siguientes factores: Volumen de NCs, tiempo de contacto con los NCs y tiempo de exposición a la luz solar.
- Realizar ensayos con nanocompuestos combinados de plata, paladio y óxido de grafeno reducido.
- Analizar distintos pH para la reacción de remoción.

Investigar la reactividad de los nanocompuestos en un foto-reactor a escala piloto.

6. CAPÍTULO 6: BIBLIOGRAFÍA

- ACOFARMA. (2008). *Ficha de Datos de Seguridad Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006 (REACH)*. From <http://www.acofarma.com/admin/uploads/download/1542-c9f8b5aca57bf9852f8b90c05a7abc8a24ceb201/main/files/Carbamacepina.pdf>
- Almerida, L. E. (2012). Estudio de la degradación foto catalítica del herbicida Paraquat con los óxidos BiNbO₄ y Bi₂Mo₃O₁₂. *Revista Científica UDO Agrícola* , 12 (4), 973-980.
- Astudillo, D. R. (2016). *Síntesis de óxido de grafeno reducido y aminado químicamente y su influencia en las propiedades eléctricas y mecánicas de nanocompuestos a base de caucho natural*. Tesis, Universidad de Chile, Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica, Santiago.
- Acuna Porras, C. (2015). *Características magnéticas y morfológicas del grafeno y nanotubos de carbono decorados con nanopartículas magnéticas*. Tesis, Universidad de los Andes Colombia, Bogotá.
- Alfaro, J. D. (2012). Protocolo para la gestión verde en laboratorios de química con fines académicos. . *Pensamiento Actual* . , 12 (18), 47-58.
- Appavoo, I. A. (2014). *Response surface modeling of Carbamazepine (CBZ) removal by Graphene-P25 nanocomposites/UVA process using central composite design*. (Vol. 57). (P. Information, Ed.) Board.
- Baeza, A. &. (2011). *Principios de electroquímica analítica*. . UNAM.
- Biswal, N. D. (2011). Efficient hydrogen production by composite photocatalyst CdS-ZnS/Zirconium-titanium phosphate (ZTP) under visible light illumination. . *International journal of hydrogen energy* , 36 (21), 13452-13460.
- Bolaños, K. L. (2014). Optimización de la técnica de voltamperometría de adsorción (Adsv) en la determinación de amaranth sobre electrodos serigrafados de carbono: Efecto de surfactantes en la sensibilidad. . *Revista de la Sociedad Química del Perú* , 80 (2), 115-123.
- Obaco, C. G. (2017). *Desarrollo de electrodo basado en cobre-quitosano-cobre como sensor electroquímico para medición de dco en aguas residuales*. UTMACH Ecuador, Unidad Académica de Ciencias Químicas Y De La Salud. Machala: Universidad Técnica de Machala.
- Bozzi, A. P. (2007). Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. *Food Chemistry* , 103 (1), 22-30.
- Briseño-Garzón, A. &. (2008). *Contenido de ácido carmínico en hembras de grana cochinilla de diferentes edades*. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo. de México. México. .
- Cai, N. &.-C. (2014). Sorption of carbamazepine by commercial graphene oxides: a comparative study with granular activated carbon and multiwalled carbon nanotubes. . *Journal of colloid and interface science* . , 426, 152-161.
- Camacho Polo, J. D. (2013). *Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial*. Doctoral dissertation, Universidad de Cartagena, Cartagena.
- Carbajo, J. (2013). *Aplicación de la fotocatalisis solar a la degradación de contaminantes orgánicos en fase acuosa con catalizadores nano estructurados de TiO₂*. Tesis Doctoral, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC)., Madrid.
- Carrasco Marín, F. M. (2014). *Desarrollo y aplicaciones de materiales avanzados de carbón*. . Universidad Internacional de Andalucía. .

- Carrasco, J. F. (2016). *Estudio de la actividad foto catalítica de tio2-quitosano y su aplicación en el rango de luz visible*. . Memoria para título de Ingeniero Civil Químico. , UNIVERSIDAD DE CHILE , DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA.
- Electricidad-CONELC., C. N. (2017). *Atlas Solar del Ecuador con Fines de Generación Eléctrica*. (Q. CONELC, Editor) Retrieved 25 de 04 de 2018 from <<http://energia.org.ec/cie/wp-content/uploads/2017/09/AtlasSolar.pdf>>
- Corzo Lucioni, A. (2012). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H [AuCl₄]. . *Revista de la Sociedad Química del Perú*. , 78 (2), 79-90.
- Lucioni, A. C. (2014). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción del [AuCl₄]. *Revista Científica INGETECNO* , 1 (1), 35.
- Daniel, M.-C. y. (2004). Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology. *Catalysis and nanotechnology*. , 104, 293-346.
- Das, M. R. (2011). Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous suspension of graphene oxide sheets and its antimicrobial activity. . *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. , 83 (1), 16-22.
- El Bakkali, B. (2016). *Catalizadores heterogéneos basados en polioxometalatos: aplicaciones en reacciones de interés industrial y medioambiental*. Tesis Doctoral, Universidad de Alicante España, Departamento de Química Inorgánica.
- FEUM. (2016). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos- Fármacos*. Retrieved 26 de 04 de 2018 from FEUM Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos .Fármacos. Secretaria de Salud.: <http://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/126.pdf>
- Galey, M. C. (2013). *Desarrollo de materiales avanzados basados en nanotubos de carbono y grafeno: nanocomposites poliméricos reforzados y nanohíbridos catalíticos*. Universidad de Zaragoza. CSIC - Instituto de Carboquímica (ICB).
- Gan, T. J. (2010). Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current medical research and opinion*. , 26 (7), 1715-1731.
- García Martínez, V. (2013). *Estudio de la estabilidad del óxido de grafeno con el tiempo*. Tesis Masterado, Universidad de Oviedo, Máster Universitario en Ciencia y Tecnología de Materiales, Oviedo.
- García, I. N. (2015). *Síntesis verde de nanopartículas para la eliminación de colorantes en medios acuosos* . Universidad de Coruña.
- García, G. G. (2008). Estandarización de un método analítico por cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación de carbamazepina en tabletas. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal* .
- Gómez Hernández, B. (2013). *Extracción y acetilación de los componentes de la grana cochinilla (Dactylopius coccus Costa)*. Tesis, Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo , Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería.
- González García, I. A. (2010). *Medidor de Voltametría cíclica para dispositivos de transmitancia controlable* . Bachelor's thesis, UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR, INGENIERÍA TÉCNICA INDUSTRIAL: ELECTRÓNICA INDUSTRIAL, Madrid .
- Velarde, E. G. (1996). EL COLOR Y SU CONSTITUCION QUIMICA. *Revista Química* , 10 (2).
- Grieve, K. M. (2000). Synthesis and electronic properties of semiconductor nanoparticles/quantum dots. . *Current Opinion in Colloid andInterface Science*. , 5, 168-172.

- Guarnizo Franco, A. (2016). *Síntesis y propiedades catalíticas de nanopartículas de paladio depositadas sobre nanopartículas de magnetita*. Tesis Doctorado, Universitat de Barcelona, Departament de Química Inorgànica i Orgànica, Barcelona.
- Springer. (2008). *Nanocatalysis*. (U. L. Heiz, Ed.)
- Hsu, H. C. (2013). Graphene oxide as a promising photocatalyst for CO₂ to methanol conversion. *Nanoscale*, 5(1), 262-268. . *Nanoscale* , 5 (1), 262-268.
- Izquierdo, J. F. (2004). *Cinética de las reacciones químicas*. . Edicions Universitat Barcelona. .
- Jeon, E. K., Seo, E., Lee, E., Lee, W., Um, M. K., & Kim, B. S. (2013). Mussel-inspired greensynthesis of silver nanoparticles on graphene oxide nano sheets for enhanced catalytic applications. . *Chemical Communications* , 49, 3392-3394 .
- Kavinkumar, T. &. (2016). Uniform decoration of silver nanoparticle on exfoliated graphene oxide sheets and its ammonia gas detection. . *Ceramics International*. , 42 (1), 1769-1776.
- Kumar, B. S. (2016). Journal of Cluster Science. *Green synthesis of silver nanoparticles using natural dyes of cochineal*. , 27 (1), 703-713.
- Link, S. W.-S. (1999). Alloy formation of gold_ silver nanoparticles and the dependence of the plasmon absorption on their composition. . *The Journal of Physical Chemistry B* . , 103 (18), 3529-3533.
- Liu, S. T. (2011). A method for the production of reduced graphene oxide using benzylamine as a reducing and stabilizing agent and its subsequent decoration with Ag nanoparticles for enzymeless hydrogen peroxide detection. . *Carbon* , 49 (10), 3158-3164.
- Luna, M. C. (1999). Study of water droplets and films on graphite by noncontact scanning force microscopy. . *The Journal of Physical Chemistry B* , 103 (44), 9576-9581.
- Madrid Sani, A. T. (2017). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata a partir de varios extractos pigmentados de dos plantas para su aplicación en celdas solares híbridas* . Bachelor's thesis,, Universidad de las Fuerzas Armada ESPE. , Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Departamento de Ciencias de la vida y la agricultura.
- Zhang, H. F. (2011). Graphene sheets grafted Ag-AgCl hybrid with enhanced plasmonic photocatalytic activity under visible light. . *Environmental Science & Technology* , 45 (13), 5731-5736.
- Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*. . *Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*. , 5 (1).
- Vanysek, P. (1998). *Handbook of Chemistry and Physics* (88 ed.). (D. R. Lide, Ed.) National Institute of Standards and Technology.
- Varon, J. Á. (2007). Obtención de algunos parámetros de referencia del suelo y del mucílago de aloe vera cultivado en el corregimiento de combia risaralda y en el municipio de montenegro quindió. . *Scientia et technica* , 1 (33).
- Venegas, E. G. (2014). *Determining the toxicity and concentration from carminic acid obtained from grana cochinitilla (Dactylopius coccus Costa) in Villa de Tezontepec Hidalgo, Mexico*. (& d. E., Editor) From Revista Entomología Mexicana: www.entomologia.socmexent.org/revista/entomologia/2009/FTBM/823-827.pdf
- Wang, Y. D. (2010). Excellent visible-light photocatalysis of fluorinated polymeric carbon nitride solids. . *Chemistry of Materials* , 22 (18), 5119-5121.
- Wouters, J. &.-C. (1992). Dye analysis of pre-Columbian Peruvian textiles with high-performance liquid chromatography and diode-array detection. . *Journal of the American Institute for Conservation* , 31 (2), 237-255.
- Castellón, U. J. (2015). *Patent No. Es 2 538 407 a1*. . España.

- Fisher., T. (22 de 08 de 2017). *Alfa*, 2. Retrieved 22 de 04 de 2018 from Ficha de Datos de seguridad. 1907/2006/CE, Artículo 31.: <https://www.alfa.com/es/content/msds/SouthAmerican/J62609.pdf>
- Hernández, M. P. (2013). *Síntesis de Nanopartículas de Plata biológicamente asistida por Opuntia sp. y su incorporación en membranas poliméricas nano fibrosas*. Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Química Aplicada.
- Marín-Pérez, M.-d.-C. (2014). *Polímeros semiconductores pi- conjugados con unidades aceptoras y dadoras de electrones de interés en células fotovoltaicas. Estudio teórico de su estructura molecular y propiedades optoelectrónicas*. Grado en Química, Universidad de Jaén., Química Física y Analítica.
- Marinovich, M. (2009). *Risk Assessment of Products of Nanotechnologies*. Lectura magistral, Università Degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Nano-and Physical Sciences.
- Medintz, I. L. (2005). Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. . *Nature Materials*. , 4, 435-446.
- Messaoud, G. B.-G. (2015). Alginate/sodium caseinate aqueous-core capsules: A pH-responsive matrix. . *Journal of colloid and interface science*. , 440, 1-8.
- Micaroni, L. N. (2002). Considerations about the electrochemical estimation of the ionization potential of conducting polymers. . *Journal of Solid State Electrochemistry*. , 7 (1), 55-59.
- Monge, M. (2014). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. In U. d. Rioja, *Anales de Química* (Vol. 105).
- Morales, J. M. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. . *Revista de la Sociedad Química del Perú*. , 75 (2), 177-184.
- Murphy, A. B. (2007). Band-gap determination from diffuse reflectance measurements of semiconductor films, and application to photoelectrochemical water-splitting. . *Solar Energy Materials and Solar Cells*. , 91 (14), 1326-1337.
- Murray-Smith, R. (2013). *Graphene 101 An Inventor's Guide to Making Graphene*. (Vol. 1).
- Ortega Cifuentes, V. C. (2012). *Comparación del Rendimiento del Ácido Carmínico entre Dos Procesos de Deshidratación de la Cochinilla de Tunas Cultivadas en Guano*. Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Bioquímica Farmacéutica.
- Oshi, H., Sharma, K. N., Sharma, A. K., Prakash, O., & Singh, A. K. (2013). Graphene oxide grafted with Pd₁₇Se₁₅ nano-particles generated from a single source precursor as a recyclable and efficient catalyst for C-O coupling in O-arylation at room temperature. . *Chemical Communications* .
- Ovalle Serrano, S. A., Blanco Tirado, C., & Mariany, C. M. (2013). "Síntesis in situ de nanopartículas de plata sobre fibras de fique" . *Revista Colombiana De Química* , 42, 1-4.
- Gibaja Oviedo, S. . (1998). *Pigmentos naturales quinónicos*. Lima, Perú: UNMSM, Fondo Editorial.
- Owczarczyk, Z. R. (2013). 5, 10-Dihydroindolo [3, 2-b] indole-based copolymers with alternating donor and acceptor moieties for organic photovoltaics. . *Macromolecules*. , 46 (4), 1350-1360.
- Pérez, A. L. (2008). *Compuestos de Paladio soportados en distintos materiales. Aplicación en Catálisis heterogénea*. Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València, Departamento de Química.
- Qusti, A. H. (2014). Photocatalytic synthesis of aniline from nitrobenzene using Ag-reduced graphene oxide nanocomposite . *CERAMICS INTERNATIONAL* , 40 (4), 5539-5546.
- Ramawat, K. G. (2007). *Biotechnology: secondary metabolites. Plants and microbes*. (second edition ed.). (K. G. Ramawat, Ed.) CRC Press.

- Riley, D. (2002). Electrochemistry in nanoparticle science. . *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. , 7 (3-4), 186-192.
- Serna, M. F. (2012). *Identificación y cuantificación de antraquinonas y cromonas en plantas de Aloe vera cultivadas en municipios de Risaralda por cromatografía líquida de alta eficiencia* . Doctoral dissertation, Universidad Tecnológica de Pereira. , Facultad de Tecnologías. Química Industrial. .
- Ramakrishnan Azhagu Raj, M. S. (26 de April de 2017). Microwave-Assisted Synthesis of Nickel Oxide Nanoparticles Using Coriandrum sativum Leaf Extract and Their Structural-Magnetic Catalytic Properties R. (E. Reimhult, Ed.) *Materials* .
- Solís, Y. (2013). *Remoción del compuesto emergente carbamazepina mediante Fotocatálisis Heterogénea con TiO2* . Master dissertation, UNAM, Ingeniería Ambiental .
- Solís, P. (2011). *Modificación superficial de materiales de carbono: Grafito y grafeno* . tesis doctoral, Instituto Nacional del Carbón (INCAR).
- Stoner, S. C. (2007). Historical review of carbamazepine for the treatment of bipolar disorder. . *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. , 27 (1), 68-88.
- Sun, W. L. (2014). Fabrication of highly dispersed palladium/graphene oxide nanocomposites and their catalytic properties for efficient hydrogenation of p-nitrophenol and hydrogen generation. . *International Journal of Hydrogen Energy*. , 39 (17), 9080-9086.
- Sun, J. F. (2015). Green Suzuki-Miyaura coupling reaction catalyzed by palladium nanoparticles supported on graphitic carbon nitride. . *Applied Catalysis B: Environmental*, 165, 661-667 , 165, 661-667.