



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES**

**SISTEMA EN CONTINUO DE OZONACIÓN-
FITORREMEDIACIÓN PARA TRATAMIENTO DE AGUA
RESIDUAL DE LA INDUSTRIA TEXTIL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA

JAZMIN AYDEE REYES PÉREZ

DIRECTORA DE TESIS

DRA. GABRIELA ROA MORALES

CO-DIRECTORAS

DRA. ARACELI AMAYA CHÁVEZ

DRA. PATRICIA BALDERAS HERNÁNDEZ



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO 28 DE NOVIEMBRE DE 2022

EL PRESENTE TRABAJO SE DESARROLLO EN LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, DENTRO DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES, EN EL ÁREA DE CALIDAD AMBIENTAL, EN LA LÍNEA DE PREVENCIÓN, CONTROL Y EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN; EN LAS INSTALACIONES DEL CENTRO CONJUNTO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA SUSTENTABLE UAEM-UNAM (CCIQS) EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL I.

AGRADEZCO A LAS AUTORIDADES, ACADÉMICOS Y COLABORADORES POR LAS FACILIDADES BRINDADAS, ASÍ COMO AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) POR EL APOYO ECONÓMICO DE LA BECA NÚMERO 700495

EL PRESENTE TRABAJO FUE REGISTRADO CON EL TÍTULO **SISTEMA EN CONTINUO DE OZONACIÓN-FITORREMEDIACIÓN PARA TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA TEXTIL** ANTE LA SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO CON EL NÚMERO DCAAM-0321.

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	4
RESUMEN	6
ABSTRAC.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
CAPÍTULO 1. Marco Teórico y Antecedentes	10
1.1 Contaminación del agua.....	11
1.2 Monitoreo de la calidad del agua en México	13
1.3 La industria textil	17
1.3.1 Colorantes textiles	21
1.3.2. Colorantes índigos.....	26
1.4 Sistemas de tratamiento	29
1.5 Procesos de oxidación avanzada.....	34
1.5.1 Ozonación.....	36
1.5.2 Reacciones Fenton.....	42
1.6 Bioreducción de nanopartículas metálicas.....	45
1.7 Fitorremediación	48
1.7.1 Mecanismos de fitorremediación.	50
1.7.2 Mecanismos de defensa de las plantas	53
1.7.3. <i>Myriophyllum aquaticum</i>	55
CAPÍTULO 2. Justificación, Hipótesis y Objetivos	58
2.1 Justificación	59
2.2 Hipótesis	60
2.3 Objetivos.....	60
CAPÍTULO 3. Materiales y Métodos	61
3.1 Diagrama de flujo de los materiales y métodos	62
3.1.1 Bioreducción de partículas bimetálicas Fe/Cu	63
3.1.2 Caracterización de las partículas bimetálicas y del catalizador	65
3.1.3 Establecimiento de condiciones óptimas en reactor de ozonación	65
3.1.4 Fitorremediación con <i>Myriophyllum aquaticum</i>	66
3.1.5 Aplicación del sistema acoplado ozonación -fitorremediación	68

CAPÍTULO 4. Resultados	69
4.1 Capítulo publicado	71
4.2 Artículo enviado	122
4.3. Resultados no publicados.....	123
4.4 Discusión General.....	138
4.5 Conclusiones Generales	139
ANEXOS	156

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de clasificación para la caracterización de la calidad del agua (CONAGUA, 2014).....	15
Tabla 2. Límites máximos permisibles de contaminantes en aguas residuales de la industria textil (NOM-014-ECOL-1993).....	16
Tabla 3. Procesos involucrados en el procesamiento textil y los principales contaminantes generados en cada paso (modificada de Madhav et al., 2018; Singh et al., 2018).	19
Tabla 4. Clasificación de colorantes por grupo cromóforo (modificada de Benkhaya et al., 2020).	22
Tabla 5. Clasificación de colorantes por su solubilidad en agua y tipos de fibras en que se aplican (Benkhaya et al., 2020; Holkar et al., 2016; Sharma et al., 2021).....	24
Tabla 6. Tratamientos probados para evaluar la remoción de colorantes índigo carmín (elaboración propia).....	31
Tabla 7. Clasificación de los procesos de oxidación avanzada (modificada de Maravos-Aramyan y M.;, 2017)	35
Tabla 8. Principales grupos de sustitución (elaboración propia).....	38
Tabla 9. Investigaciones sobre ozonación catalítica heterogénea utilizando catalizadores mono y bimetálicos (elaboración propia).	41
Tabla 10. Mecanismos de la fitorremediación (elaboración propia).	51
Tabla 11. Investigaciones sobre fitorremediación implementada a diversos colorantes (elaboración propia).....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Industrias responsables de la presencia de colorantes en el ambiente (Chowdhury <i>et al.</i> , 2020).....	18
Figura 2. Estructura química de los tintes índigo donde R representa las diferentes posiciones que pueden ocupar los principales grupos funcionales (modificada de Chowdhury <i>et al.</i> , 2020; Volkov <i>et al.</i> , 2020).....	27
Figura 3. Estructura química del colorante índigo carmín (De León-Condés <i>et al.</i> , 2019).	28
Figura 4. Métodos de remoción de colorantes (modificada de Bhardwaj and Bharadvaja, 2021).....	30
Figura 5. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales en México (CONAGUA, 2018).....	33
Figura 6. Formas de resonancia de las moléculas de ozono (Shahidi, Roy and Azzouz, 2015).	36
Figura 7. Diferentes procesos para la síntesis de NP's (modificada de Pal, Rai and Pandey, 2019).....	45
Figura 8. Protocolo experimental para obtener NP's utilizando rutas verdes, mezclando el extracto vegetal y la solución mono o bimetálica.....	46
Figura 9. Diagrama de flujo metodológico.....	62
Figura 10. Espectro IR-TF de las partículas Fe-Cu preparadas con extracto de Eucalipto.	123
Figura 11. Espectro IR-TF de la pumita natural (PN) y pumita modificada con partículas Fe-Cu (PMP/Fe-Cu).....	124
Figura 12. Micrografías SEM-EDS de la PMP/Fe-Cu antes del tratamiento de ozonación a) 300X; b) 450X; c)100µm; d) composición elemental del material.....	125
Figura 13. Micrografías SEM-EDS de la PMP/Fe-Cu después del tratamiento de ozonación a) 200X; b) 600X; c)100µm; d) composición elemental del material.....	126
Figura 14. Remoción de índigo carmín a) con ozono solo para valores de pH de 3.0, 5.0 y 7.0; b) con ozono más catalizador bimetálico PMP/Cu-Fe (0.5 g /L).	127
Figura 15. Espectro UV-Vis donde se observa la formación del isatin, principal subproducto de la degradación del IC, a) agua tratada con ozono y b) ozono más 500 mg de PMP/Fe-Cu con pH 7.	128
Figura 16. Espectros UV-Vis iniciales y finales del proceso de degradación del índigo carmín con: a) ozono solo; b) ozono con PMP/Fe-Cu.....	129
Figura 17. a) Monitoreo de remoción de subproductos en tratamientos de fitorremediación; b) Monitoreo de pH de los tratamientos de fitorremediación, Blanco con <i>M. aquaticum</i> y Tratamientos con <i>M. aquaticum</i>	134
Figura 18. Comparación de determinación de clorofilas y carotenos, ente el tratamiento de fitorremediación y el blanco de plantas.....	135
Figura 19. Voltamperograma cíclico obtenido para el colorante IC () antes y () después del tratamiento por ozonación	136
Figura 20. Voltamperograma cíclico de la fitorremediación.....	137

ABREVIATURAS

ONU	Organización de las Naciones Unidas
CONAGUA	Comisión Nacional del Agua
EPA	Agencia de protección ambiental de Estados Unidos
DBO ₅	Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días
DQO	Demanda Química de Oxígeno
COT	Carbón Orgánico Total
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SDT	Sólidos Disueltos Totales
IC	Índigo carmín
NPs	Nanopartículas
POAs	Procesos de oxidación avanzada
M	Molar
mM	milimolar
mg	miligramos
mL	mililitros
mg/L	miligramos por litro
g	gramos
L	litros
µm	micrómetros
T	toneladas
s	segundos
eV	electronvoltios
V	volts
E°	potencial estándar
min	minutos
h	hora
t	tiempo

C. I.	índice de color
ROS	Especies reactivas de oxígeno
UV-Vis	Espectrofotometría UV-Visible
FT-IR	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier
SEM-EDS	Microscopia electrónica de barrido con espectroscopia de dispersión de energía
TCR	Tasa de crecimiento relativo
Ca+b	clorofilas totales
Cx+c	carotenos
VC	Voltamperometría cíclica

RESUMEN

La presente investigación muestra los resultados obtenidos del sistema de tratamiento acoplado ozonación – fitorremediación para la remoción del colorante índigo carmín en soluciones estándar. La ozonación es uno de los procesos de oxidación avanzada más prometedores para su aplicación en efluentes industriales, uno de los aspectos que se busca mejorar es la mineralización de los compuestos orgánicos, para lo cual se desarrolló un catalizador bimetalico (Fe-Cu) soportado en piedra pómez. La preparación del catalizador se realizó mediante reducción verde probando tres especies vegetales con propiedades antioxidantes conocidas, la presencia de la resonancia del plasmón superficial identificado mediante espectrofotometría UV-Visible permitió definir la especie a utilizar, el eucalipto, la presencia de diversas moléculas reductoras en el extracto vegetal actúan como reductores y proveen estabilidad a las partículas evitando así su aglomeración lo que también permitió su incorporación al soporte utilizado, corroborado con micrografías electrónicas de barrido, el catalizador obtenido se identificó como PMP/Fe-Cu.

El proceso de ozonación se evaluó en un reactor de vidrio en columna de flujo ascendente para tres valores de pH (3, 5 y 7) sin y con catalizador, para los últimos se adicionaron 500 mg de catalizador PMP/Fe-Cu, la remoción de color para todos los tratamientos fue de 95 % en los primeros 14 y 16 minutos respectivamente, sin embargo al analizar los espectros UV-Vis obtenidos se identificó que en los tratamientos con catalizador también hubo una disminución en la concentración de isatin ácido sulfónico, principal subproducto de degradación del índigo carmín, lo cual sugiere la generación de radicales HO• mediante la vía indirecta de reacción del ozono con el agua y el catalizador bimetalico, que al ser no selectivos promueven la degradación del subproducto. La mineralización se determinó con COT obteniendo porcentajes de 86.27, 92.29 y 92.31 % para los pH's 3, 5 y 7 respectivamente. Con el tratamiento de ozonación a pH 7 se obtuvo agua tratada que se llevó a fitorremediación con *M. aquaticum* a una dilución de 50 %, en la cual se monitoreo la remoción del isatin ácido sulfónico que fue de 22 % con respecto al grupo control durante 17 días, tanto la tasa de crecimiento relativo (TCR) como la determinación de clorofilas de los organismos utilizados antes y después del tratamiento indican que la planta es apta para su implementación en fitorremediación siendo eficiente en la remoción de subproductos, mejorando la calidad del agua sin sufrir daños fisiológicos.

ABSTRAC

This research shows the results obtained from the coupled ozonation - phytoremediation treatment system for the removal of indigo carmine dye in standard solutions. Ozonation is one of the most promising advanced oxidation processes for its application in industrial effluents, one of the aspects that is sought to improve is the mineralization of organic compounds, for which a bimetallic catalyst (Fe-Cu) supported on pumice. The preparation of the catalyst was carried out by green reduction testing three plant species with known antioxidant properties, the presence of surface plasmon resonance identified by UV-Visible spectrophotometry allowed defining the species to be used, eucalyptus, the presence of various reducing molecules in the plant extract act as reducers and provide stability to the particles, thus preventing their agglomeration, which also allowed their incorporation into the support used, corroborated with scanning electron micrographs, the catalyst obtained was named PMP/Fe-Cu.

The ozonation process was evaluated in a glass reactor in an upflow column for three pH values (3, 5 and 7) without and with catalyst, for the latter 500 mg of PMP/Fe-Cu catalyst were added, the removal of color for all treatments was 95% in the first 14 and 16 minutes respectively, however, when analyzing the UV-Vis spectra obtained, it was identified that in the treatments with catalyst there was also a decrease in the concentration of isatin sulfonic acid, the main degradation byproduct of indigo carmine, which suggests the generation of HO• radicals through the indirect reaction pathway of ozone with water and the bimetallic catalyst, which, being non-selective, promote the degradation of the byproduct. Mineralization was determined with COT obtaining percentages of 86.27, 92.29 and 92.31 % for pH's 3, 5 and 7 respectively. With the ozonation treatment at pH 7, treated water was obtained that was taken to phytoremediation with *M. aquaticum* at a dilution of 50 %, in which the removal of isatin sulfonic acid was monitored, which was 22 % with respect to the control group during 17 days, both the relative growth rate (RGR) and the determination of chlorophylls of the organisms used before and after treatment indicate that the plant is suitable for implementation in phytoremediation, being efficient in the removal of by-products, improving water quality. without suffering physiological damage.

INTRODUCCIÓN

*“Al final, conservaremos sólo aquello que amemos,
amaremos sólo aquello que entendamos
y entenderemos sólo lo que se nos enseñe”.* Baba Dioum

La ozonación es uno de los procesos de oxidación avanzada más prometedores para la degradación de compuestos orgánicos recalcitrantes, su fácil manejo y adaptación a plantas de tratamiento ya establecidas lo sitúan como una tecnología que puede combatir satisfactoriamente los altos niveles de contaminación presentes en las aguas residuales, sin embargo, la principal desventaja asociada a su aplicación está relacionada con sus altos costos e incompleta mineralización, es por eso que las investigaciones se centran en el desarrollo de catalizadores que mejoren la mineralización de los compuestos en el efluente a la par que reduzcan los costos de operación. Los catalizadores bimetalicos tamaño micro y nanométrico han demostrado experimentalmente ser altamente eficientes en este aspecto, por lo que el reto es encontrar un soporte adecuado, así como un método de preparación que garantice la eficacia y eficiencia del catalizador.

La obtención de catalizadores micro y nanométricos mediante rutas verdes es un área en desarrollo, la factibilidad del proceso y la disponibilidad de organismos ha dirigido las investigaciones hacia el uso de plantas como agentes reductores, múltiples investigaciones destacan la facilidad del proceso de reducción y a pesar de que no es sencillo determinar que compuestos fitoquímicos son los encargados de la reducción se han obtenido resultados satisfactorios en múltiples aplicaciones tales como antibacterianas, cosméticas, electrónicas y catalíticas, las investigaciones señalan que para obtener características específicas de las partículas es necesario determinar las condiciones de pH, concentración de la sal metálica, así como cantidad del extracto vegetal requerido y temperatura para una vez obtenidas poder caracterizarlas mediante técnicas analíticas complementarias.

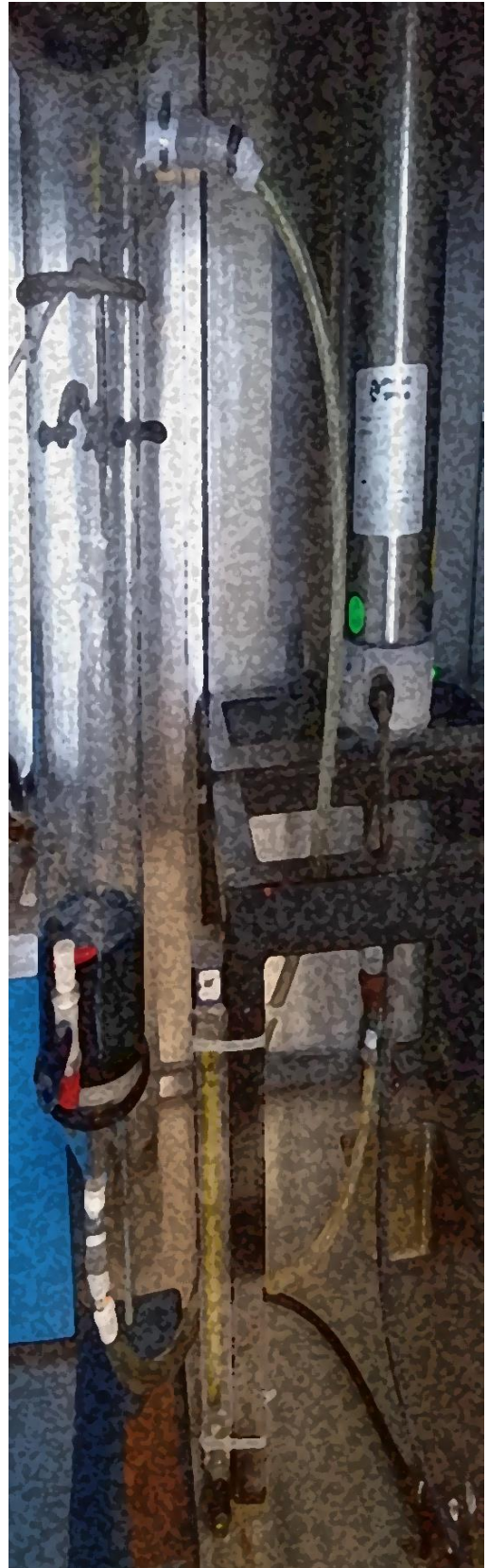
El uso de plantas no se limita al proceso de reducción para obtención de partículas, también son eficientes remediadoras de sitios contaminados tanto con compuestos orgánicos como inorgánicos, el uso de plantas como medio de tratamiento es conocido como fitorremediación y

acoplada con otros procesos permite obtener efluentes con mejores condiciones para ser reutilizados en actividades diversas, la fitorremediación para aguas residuales se lleva a cabo con especies de macrofitas acuáticas las cuales absorben los contaminantes a través de sus raíces y mediante sus procesos metabólicos los transforman en especies químicas menos tóxicas o los mineralizan por completo.

La presente investigación se desarrolló con la finalidad de remover el color de soluciones estándar usando al colorante índigo carmín como molécula modelo, adicionando un catalizador con partículas bimetalicas Fe-Cu soportadas en piedra pómez generado por bioreducción con infusiones de eucalipto, el proceso se realizó en batch acoplándolo a fitorremediación con *M. aquaticum*.

CAPÍTULO 1.

Marco Teórico y Antecedentes



1.1 Contaminación del agua

El agua es uno de los recursos naturales más importantes disponibles en cualquier estructura económica, es el medio de vida y desarrollo de cualquier sociedad, no es posible imaginar la existencia de vida en la superficie de la tierra sin su presencia. El agua significa agricultura, alimento, bebida y energía, basta decir que representa alrededor del 75% de la composición del cuerpo humano y cerca del 90% de la composición de las plantas, es un elemento necesario en las necesidades de la vida, y cuando una persona avanza, sus necesidades de agua aumentan (Hassan Al-Taai, 2021).

El uso del agua ha ido aumentando en todo el mundo aproximadamente un 1% por año desde la década de 1980, este aumento constante se ha debido principalmente a la creciente demanda en los países en desarrollo y en las economías emergentes, impulsado por una combinación de crecimiento poblacional, desarrollo socioeconómico y patrones de consumo en evolución. La agricultura (incluida la irrigación, la ganadería y la acuicultura) es el mayor consumidor de agua, representa el 69% de las extracciones anuales de agua a nivel global. La industria (incluyendo la generación de energía) representa el 19%, y los hogares el 12% (Organización de las Naciones Unidas para la Cultura las Ciencias y la Educación., 2019).

Se espera que la demanda global de agua continúe aumentando a un ritmo similar hasta 2050, hasta un aumento del 20 al 30% por encima del nivel actual, aunque las proyecciones específicas pueden variar un poco, el análisis actual sugiere que gran parte de este crecimiento se atribuirá a los aumentos en la demanda de los sectores industrial y doméstico (Organización de las Naciones Unidas para la Cultura las Ciencias y la Educación., 2019).

La contaminación es el cambio negativo que le ocurre a uno de los componentes ambientales, comienza con cambios en la energía, los niveles de radiación y cambios biológicos, físicos y químicos no deseados en la biosfera, en la que viven todas las demás criaturas vivientes. Estos cambios pueden afectar directa o indirectamente el equilibrio ecológico a través de los alimentos, el aire, el agua y diversos productos agrícolas. También se le conoce como el cambio cuantitativo y cualitativo que le sucede a uno o más elementos del medio ambiente, que

perjudicaría la vida del organismo y debilitar la capacidad de los ecosistemas para continuar su producción (Hassan Al-Taai, 2021).

Todos los días las aguas del mundo reciben 2 millones de toneladas de aguas residuales y otros efluentes. El problema se agrava en los países en desarrollo, donde más del 90 % de los residuos sin procesar y el 70 % de los desechos industriales sin tratar se vierten en aguas superficiales (Connor y Koncagül, 2015).

La contaminación de los cuerpos de agua ocurre cuando estos reciben efluentes con contenido indeseable que se dispersa en todo el sistema acuático modificando su calidad, por lo que las principales fuentes de contaminación del agua se dividen en: i) fuentes naturales, incluyen efluentes térmicos y ácidos de áreas volcánicas, no muy comunes en la tierra; ii) fuentes domésticas que son aguas residuales y desechos de lavandería generados en casas, departamentos y otras viviendas. En áreas rurales y suburbanas, los desechos domésticos se manejan en la residencia individual y entran al ambiente a través del suelo, ya sea parcialmente tratados o sin tratamiento. En las zonas urbanas, los desechos domésticos son colectados en tuberías de aguas residuales y transferidos a la ubicación de control, ya sea para tratamiento o para descarga en un cuerpo de agua, sin embargo las aguas residuales urbanas, al ser manejadas por agencias gubernamentales bien establecidas pueden controlarse más efectivamente; iii) fuentes industriales, éstas varían ampliamente de una industria a otra y de un lugar a otro, algunas generan efluentes residuales que pueden ser tratados con métodos similares a los utilizados para los desechos municipales pero otras en cambio generan residuos con baja materia orgánica biodegradable y altos contenidos de compuestos químicos tóxicos, como metales, ácidos o bases, utilizados en plantas químicas, instalaciones mineras y fábricas textiles (Alrumman, El-kott and Keshk, 2016).

En México las regiones hidrológicas fuertemente contaminadas son la VIII Lerma-Santiago-Pacífico, XIII Aguas del Valle de México y algunas partes de la cuenca del río Balsas, se encuentran en los núcleos urbanos, sobre todo asociados a las zonas industriales (CONAGUA, 2020).

El Programa Nacional Hídrico (2020) señala que el problema del insuficiente tratamiento del agua residual municipal se suma al de las aguas residuales no municipales (industriales, lixiviados de rellenos sanitarios) y agrícolas, donde las plantas de tratamiento de aguas son ineficientes, grandes consumidoras de electricidad y no cuentan con el mantenimiento adecuado para dar cumplimiento a las normativas. De acuerdo con datos de CONAGUA al 2018 había 819 plantas abandonadas o sin operar, lo que representa el 24% de las plantas de tratamiento de aguas residuales a nivel nacional.

1.2 Monitoreo de la calidad del agua en México

De acuerdo con la ONU (2019) para determinar la calidad del agua se requiere una caracterización física y química de las muestras de agua comparadas con normas y estándares de calidad, de modo que se pueda identificar si el agua es idónea para los requerimientos de calidad asociados a un uso determinado, por ejemplo, el consumo humano, y en su caso, los eventuales procesos de depuración requeridos para la remoción de elementos indeseables o riesgosos.

En México la evaluación de la calidad del agua por la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), se lleva a cabo utilizando tres indicadores: la Demanda Bioquímica de Oxígeno a cinco días (DBO_5), la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y los Sólidos Suspendidos Totales (SST). La DBO_5 y la DQO son indicativas de la cantidad de materia orgánica presente en los cuerpos de agua provenientes principalmente de las descargas de aguas residuales tanto de origen municipal como industrial (CONAGUA, 2018).

La DBO_5 es proporcional a la cantidad de materia orgánica biodegradable en tanto que la DQO lo es de la cantidad total de materia orgánica. El incremento de la concentración de estos parámetros incide en la disminución del contenido de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua lo cual tiene importantes consecuencias: i. hace que el curso de agua sea parcial o completamente anaeróbico, y esto conduce al desarrollo de olores, sabores y materiales tóxicos en el agua. ii. Cuando el agua se vuelve anaeróbica, muchos animales, como los peces, mueren y sus restos se pudren y agregan más malos olores y materia orgánica al agua. iii. La

descomposición de materiales orgánicos ocurre mucho más lentamente en ausencia de oxígeno; por lo tanto, el proceso de depuración en el curso de agua es lento y puede acumularse un sedimento espeso y rico en materia orgánica en el fondo del curso de agua. iv. Ciertos animales indeseables, como los gusanos de sangre rojos (larvas de quironómidos), se desarrollan en grandes cantidades en aguas sin oxígeno (Alrumman, El-kott and Keshk, 2016).

Por otro lado, el aumento de los valores de la DQO indica presencia de sustancias provenientes de descargas no municipales conteniendo materia orgánica no biodegradable (CONAGUA, 2018).

De manera general los resultados de DQO suelen ser más altos que los valores DBO_5 , y la relación entre ellos variará según las características de las aguas residuales, esta relación se ha utilizado comúnmente como un indicador de la capacidad de biodegradación, denominado "índice de biodegradabilidad", en este sentido es primordial conocer este índice antes de elegir la tecnología a utilizar, ya que esta elección influirá significativamente en la calidad del efluente de la planta (Zaher and Hammam, 2014).

Si DBO_5 / DQO es > 0.6 entonces es bastante biodegradable, por lo que puede ser tratada sin dificultades por algún método biológico. Si la relación DBO_5 / DQO está entre 0.3 y 0.6, el método será moderadamente lento, por lo que es recomendable un tratamiento biológico que considere un periodo de adaptación. Si $DBO_5 / DQO < 0.3$, la biodegradación es mínima, por lo tanto, no puede ser tratada biológicamente y habrá que elegir entre otros métodos (Zaher and Hammam, 2014; Dahamsheh and Wedyan, 2017).

Los SST miden la cantidad de sólidos sedimentables, sólidos y materia orgánica en suspensión y/o coloidal, tienen su origen en las aguas residuales y la erosión del suelo, pueden clasificarse como suspendidos o filtrables dependiendo del filtro estándar. El incremento de los niveles de SST hace que un cuerpo de agua pierda la capacidad de soportar la diversidad de la vida acuática (CONAGUA, 2014; Alrumman, El-kott and Keshk, 2016).

Estos parámetros permiten reconocer gradientes que van desde una condición relativamente natural o sin influencia de la actividad humana, hasta el agua que muestra indicios o aportaciones importantes de descargas de aguas residuales municipales y no municipales, tal como se describe en la tabla 1, así como áreas con deforestación severa (CONAGUA, 2014).

Tabla 1. Criterios de clasificación para la caracterización de la calidad del agua (CONAGUA, 2014).

Criterio			Clasificación	Color
$DBO_5 \leq 3$	$DQO \leq 10$	$SST \leq 25$	EXCELENTE	Azul
$3 < DBO_5 \leq 6$	$10 < DQO \leq 20$	$25 < SST \leq 75$	BUENA CALIDAD	Verde
$6 < DBO_5 \leq 30$	$20 < DQO \leq 40$	$75 < SST \leq 150$	ACEPTABLE	Amarillo
$30 < DBO_5 \leq 120$	$40 < DQO \leq 200$	$150 < SST \leq 400$	CONTAMINADA	Naranja
$DBO_5 > 120$	$DQO > 200$	$SST > 400$	FUERTEMENTE CONTAMINADA	Rojo

De acuerdo con datos de CONAGUA reportados en el libro Estadísticas del Agua en México 2018 en cuanto a la calidad del agua, de un total de 5,028 puntos muestreados para la DBO_5 un 53.6 % mostró calidad excelente, un 12.9 % tuvo buena calidad y 23 % fue de calidad aceptable, lo que da un 89.5 % de sitios con calidad aceptable o superior. El restante 10.5 % estuvo por debajo de lo aceptable, con un 7.0% contaminado y 3.5% fuertemente contaminado. Para la DQO un 18.5 % muestra condiciones excelentes, 19.1 % de buena calidad, 28.9 % aceptable, lo que representa un 66.5 % de sitios con calidad aceptable o mejor. Por el contrario, un 27.5 % de sitios están contaminados y un 6.0 % altamente contaminados, dando un 33.5% de sitios con calidad por debajo de lo aceptable.

Los sitios con mayores niveles de DBO_5 y DQO se encuentran en los mayores núcleos urbanos del país, sobre todo en el centro y occidente, en la región hidrológica VIII y XIII que corresponden a las aguas del Lerma-Santiago-Pacífico y del Valle de México (CONAGUA, 2020)

Para los SST el 93.4% de los sitios muestreados resultaron con calidad aceptable o superior, un 58.1 % con calidad excelente, 28.4 % con buena calidad y 8.3 % con calidad aceptable. El 5.2% restante estuvo por debajo de la calidad aceptable, con 3.9 % contaminado y 1.3 % fuertemente contaminado correspondiendo estos últimos a zonas agrícolas principalmente (CONAGUA, 2018).

Las aguas residuales de la industria textil son sumamente variables de país a país y de fabrica a fabrica, estas variaciones dependen de diversos factores tales como el proceso, equipo utilizado,

tipo de producto, la temporada y tendencias en moda, de manera general se ha identificado que las características pueden considerarse como elevadas en términos de DQO de 150 a 12,000 mg/L, DBO₅ de 80 a 6,000 mg/L y SST entre 2,900 y 3,100 mg/L, presentado índices de biodegradabilidad (DBO₅/DQO) entre 0.06 y 0.35, lo que puede tener un efecto adverso sobre el tratamiento, teniendo en cuenta que una relación DBO₅ / DQO menor a 0.4 indica baja biodegradabilidad por lo que los tratamientos biológicos para aguas residuales textiles resultan insatisfactorios (Ghaly *et al.*, 2014; Bilinska, Gmurek and Ledakowicz, 2016; Yaseen and Scholz, 2019).

Hasta el año 1996 estaba vigente en México la Norma Oficial Mexicana NOM-014-ECOL-1993, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores, provenientes de la industria textil y que contemplaba parámetros importantes para la calidad del agua como la DQO, DBO₅ y Sólidos Suspendidos Totales (Tabla 2).

Tabla 2. Límites máximos permisibles de contaminantes en aguas residuales de la industria textil (NOM-014-ECOL-1993).

PARÁMETROS	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	
	PROMEDIO DIARIO	INSTANTÁNEO
<i>pH (unidades de pH)</i>	6 – 9	6 – 9
<i>Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)</i>	100	120
<i>Demanda química de oxígeno (mg/L)</i>	200	240
<i>Sólidos sedimentables (mg/L)</i>	1.0	1.2
<i>Grasas y aceites</i>	20	30
<i>Sólidos suspendidos totales (mL/L)</i>	100	120
<i>Cromo total (mg/L)</i>	1.0	1.2
<i>Sulfuros (mg/L)</i>	0.2	0.4
<i>Fenoles (mg/L)</i>	0.1	0.2

En 1996 debido a la entrada en vigor de las normas oficiales aplicadas para la determinación de la calidad del agua residual descargada tanto en cuerpos de agua nacionales como al alcantarillado municipal, la norma antes descrita fue derogada, considerando ahora solo los parámetros establecidos en las normas oficiales 001 y 002- SEMARNAT.

La Norma Oficial Mexicana. NOM- 001- SEMARNAT-2021. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, fue actualizada recientemente en el año 2021 agregando parámetros como la DQO y el COT para la calidad del agua, ambos son muy importantes pues arrojan información más clara sobre el grado de contaminación y los tipos de contaminantes presentes en el efluente, los rangos que considera la norma son entre 60- 210 mg/L y entre 15 -53 mg/L respectivamente.

Norma Oficial Mexicana. NOM- 002- SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, entre los contaminantes que considera esta norma destacan: grasas y aceites, sólidos sedimentables, metales como: arsénico, cromo hexavalente, cadmio, mercurio, plomo entre otros.

Por otro lado, es importante considerar la normatividad en materia del reúso de agua tratada, lo cual es abordado en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. Y la Norma Oficial Mexicana NOM - 014 - CONAGUA - 2003, que establece los requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada.

La presente investigación aborda la problemática del agua residual industrial en el giro textil, particularmente el teñido y lavado de la mezclilla.

1.3 La industria textil

La industria textil consume aproximadamente 10,000 T de colorantes al año, libera la mayor cantidad de aguas residuales con colorantes contribuyendo con más del 50% de efluentes teñidos en todo el mundo (Fig. 1), según lo reportado por Katheresan et al.(2018) produce alrededor de 100 T de efluentes teñidos por año, la mayor cantidad de aguas residuales teñidas que puede generar una sola industria, sin embargo, otros investigadores reportan un estimado de 280,000 T de descargas textiles teñidas al año, el impacto que generan en los ecosistemas aún a bajas concentraciones está relacionado con la capacidad que tienen de reducir la penetración de la luz

y a su vez la capacidad de diversas especies de producir alimento y oxígeno al generar condiciones anaeróbicas (Hussain and Wahab, 2018; Chaturvedi *et al.*, 2021).

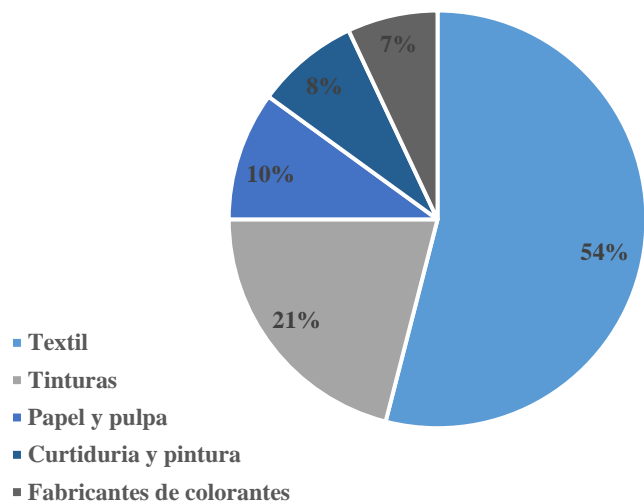


Figura 1. Industrias responsables de la presencia de colorantes en el ambiente (Chowdhury *et al.*, 2020).

La industria textil se clasifica de acuerdo con el tipo de fibra que produce, siendo tres categorías principales según el origen de esta: 1) fibras de celulosa obtenidas de plantas (algodón, rayón, lino, ramio, cáñamo), 2) fibras de proteína proveniente de animales (lana, angora, mohair, cachemira y seda) y 3) fibras sintéticas producidas artificialmente (poliéster, nylon, spandex, acetato, acrílico, ingeo y polipropileno) (Yaseen and Scholz, 2019).

La producción de las fibras incluye dos principales procesos: secos y húmedos, el primero produce mayoritariamente residuos sólidos, mientras que el segundo al constar de múltiples etapas (blanqueo, mercerización, teñido, estampado y acabado) genera principalmente cantidades considerables de agua residual (Tabla 3), además entre sus contaminantes más abundantes se encuentran los residuos de los colorantes que, caracterizados por su compleja estructura, elevado peso molecular y baja biodegradabilidad causan severas consecuencias al ambiente (Madhav *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2019; Yaseen and Scholz, 2019).

Tabla 3. Procesos involucrados en el procesamiento textil y los principales contaminantes generados en cada paso (modificada de Madhav *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2019).

No. de paso	Proceso	Contaminantes de agua residual	Características del efluente
1	Descolado	Encolantes, enzimas, almidón, ceras, amoníaco, lubricantes	Alta DBO, altos SST y pH neutro
2	Fregado	NaOH, residuos de desinfectantes e insecticidas, tensoactivos, detergentes, grasas, pectina, aceites, cera, lubricantes, solventes, enzimas.	Alta DBO, altos SST, alta alcalinidad y temperatura
3	Blanqueamiento	Peróxido de hidrógeno, silicato de sodio, estabilizadores orgánicos, halógenos orgánicos adsorbibles.	Alta DBO, altos SST, alta alcalinidad
4	Mercerizado	pH alto, NaOH y otras sales.	
5	Teñido	Metales pesados; sales, tensoactivos, color, sulfuro, formaldehído, orgánicos de procesamiento	Colorantes residuales, alta DBO y DQO, sólidos y agua residual alcalina o neutra
6	Estampado	Urea, solvente, color, metales.	
7	Acabado	Resinas, ceras, compuestos clorados, acetato, estearato, solventes usados, suavizantes	

De acuerdo con la clasificación sugerida por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de Norte América (EPA), los residuos textiles se clasifican en cuatro categorías: por su dispersión, la dificultad para ser tratados, el alto volumen, y por la toxicidad de los desechos peligrosos que generan (Dasgupta *et al.*, 2015).

El impacto ambiental generado por la industria textil en materia de agua es mayor que en cualquier otra industria a nivel global y la mayoría del agua residual vertida está altamente contaminada, se calcula que los productos textiles de tamaño medio consumen aproximadamente de 150-300 L/kg/día, datos reportados por el Banco Mundial indican que los procesos de teñido y acabado son los principales generadores de agua residual dentro de todo el proceso textil contribuyendo hasta con el 90 % del total generado, por lo que aporta un aproximado entre el 17 – 20 % del agua residual del total que aportan las distintas industrias, alcanzando con esto el 5° lugar entre las más contaminantes a nivel mundial (Wu *et al.*, 2016; Pavithra *et al.*, 2019).

Hay tres contaminantes principales que se encuentran en el efluente textil, que incluyen:

Color: Es uno de los principales problemas en la industria textil, es fácilmente visible para los ojos humanos incluso a una concentración muy baja (1 mg/L). La mayoría de los colorantes son estables, no degradables y no son afectados por la luz, la aportación principal se produce durante la etapa de teñido debido a la pérdida de colorante durante el proceso, el porcentaje de colorante perdido dependerá del proceso de teñido, así como del tipo de colorante utilizado, variando desde un 2 % para colorantes básicos hasta un 50 % para ciertos colorantes reactivos (Mondal, Baksi and Bose, 2017; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

De acuerdo con la revisión realizada por Yaseen y Scholz (2019), las concentraciones de color reportadas varían desde los 50 mg/L hasta una carga total de 7000 mg/L, estas concentraciones tan heterogéneas pueden deberse al tipo de colorante utilizado, así como a los procesos específicos de cada fábrica, por otro lado, Ghaly et al. (2014) refieren que la concentración de color en las descargas domésticas está en un rango de 10 – 250 mg/L.

Sólidos: El uso de sales de sodio inorgánicas (NaCl y Na_2SO_4) en los procesos anteriores aumenta directamente el nivel total de sólidos disueltos (TDS) en el efluente que forma la fracción principal de sólidos totales (TS) y no se puede eliminar mediante el tratamiento convencional, además la presencia de estos componentes en el agua residual dificulta su tratamiento (Mondal, Baksi and Bose, 2017).

Metales tóxicos: La presencia de metales tóxicos en las aguas residuales textiles es otro problema importante. Los metales pueden venir como impurezas con los productos químicos (como sosa cáustica, carbonato de sodio y sales) utilizados durante el procesamiento o pueden estar presentes en los productos de colorante (como los fijadores metalizados). Entre los metales más comunes encontrados en los efluentes textiles se encuentran el arsénico, cadmio, cromo, cobalto, cobre, hierro, zinc, mercurio y plomo (Mondal, Baksi and Bose, 2017; Yaseen and Scholz, 2019; Behera *et al.*, 2021).

1.3.1 Colorantes textiles

El primer uso conocido de un colorante orgánico fue hace aproximadamente 4,000 años, cuando se encontró el colorante azul índigo en las envolturas de momias en las tumbas egipcias (Benkhaya, El Harfi and El Harfi, 2017).

Los colorantes naturales son todos aquellos derivados de fuentes naturales como plantas, animales y minerales, en su mayoría deben aplicarse sobre textiles con la ayuda de mordientes, como una sal metálica, que tiene afinidad tanto por la materia colorante como por la fibra. Sin embargo, presentan algunas desventajas como una reducida gama de colores, pérdida de brillo y baja resistencia a la decoloración debido a la exposición a la luz solar y el lavado lo que ha limitado su aplicabilidad. Por el contrario, los compuestos aromáticos derivados por síntesis química, conocidos como colorantes sintéticos proporcionan una amplia gama de colores, sólidos y brillantes (Tahir, Yasmin and Khan, 2016; Benkhaya, El Harfi and El Harfi, 2017).

Hoy día hay más de 100,000 colorantes disponibles en el mercado con más de 7×10^7 T de colorantes producidos anualmente en todo el mundo. Estos tintes son ampliamente utilizados en una serie de industrias, como la textil, alimenticia, cosméticos y la impresión en papel, siendo la industria textil el mayor consumidor de colorantes, del total producido cerca del 10% es descargado al ambiente cada año (Benkhaya, El Harfi and El Harfi, 2017; Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

Los colorantes, son compuestos orgánicos con tres grupos esenciales en sus moléculas: el cromóforo, el auxocromo y la matriz. El sitio activo del colorante es el cromóforo, consta de grupos atómicos y tiene diferentes grupos funcionales, donde los más comunes son nitro ($-\text{NO}_2$), azo ($-\text{N}=\text{N}-$), nitroso ($-\text{N}=\text{O}$), tiocarbonilo ($-\text{C}=\text{S}$), carbonilo ($-\text{C}=\text{O}$), así como los alquenos ($-\text{C}=\text{C}-$). La absorción de ondas electromagnéticas por parte del cromóforo se debe a la excitación de los electrones de una molécula. La molécula que los contiene se vuelve cromogénica (Dasgupta *et al.*, 2015; Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

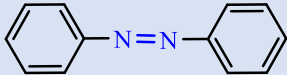
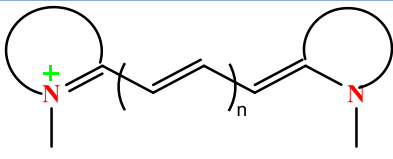
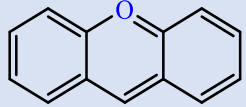
La molécula cromogénica tiene posibilidades de teñido solo por la adición de otros grupos de átomos llamados "auxocromos". Estos grupos auxocromos permiten la fijación de los colorantes, pueden modificar el tono del colorante y disminuye la solubilidad en agua, ya sea

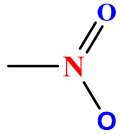
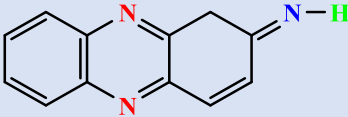
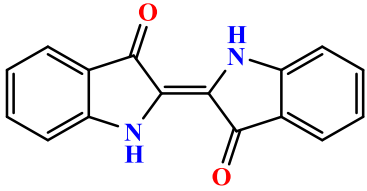
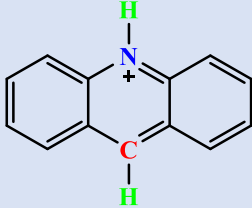
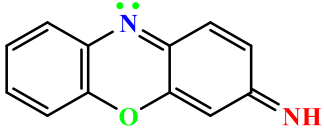
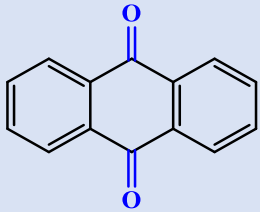
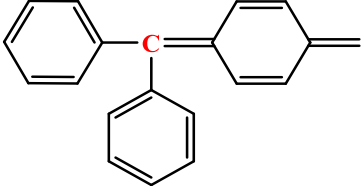
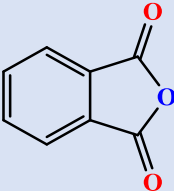
donando o eliminando electrones, pueden ser ácidos (COOH y SO₃) o básicos (OH, NH₂, NHR y NR₂). El resto de los átomos de la molécula corresponden a la matriz, la tercera parte del colorante. Los tintes textiles contienen grupos funcionales, como grupos carboxílicos, amina y azo, que no se pueden tratar fácilmente con métodos convencionales (Dasgupta *et al.*, 2015; Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

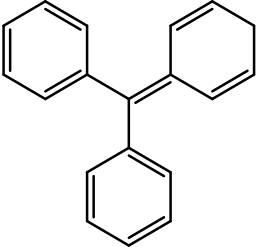
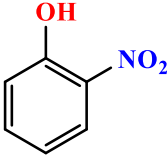
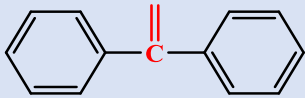
En general, los colorantes consisten en un ensamblaje de grupos cromóforos, auxocromos y estructuras aromáticas conjugadas (anillos de benceno, antraceno, perileno, etc.). Cuando aumenta el número de núcleos aromáticos, aumenta la conjugación de los dobles enlaces. La energía de los enlaces π disminuye mientras que la actividad de los electrones aumenta y produce un desplazamiento hacia longitudes de onda largas. De manera similar, cuando un grupo auxocromo donador de electrones (amino, hidroxilo, alcoxi, etc.) se coloca en un sistema aromático conjugado, este grupo se une a la conjugación del sistema π , puede haber hiperconjugación y la molécula absorbe en grandes longitudes de onda y da colores más oscuros (Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020).

De acuerdo con la revisión de Benkhaya et al. (2020), los colorantes textiles se pueden clasificar por la estructura de su grupo cromóforo, por su color y método de aplicación, dependiendo de su grupo cromóforo se clasifican como se muestra en la tabla 4. A cada colorante se le asigna un índice de color (C.I.), compuesto por un nombre genérico y un número de constitución química.

Tabla 4. Clasificación de colorantes por grupo cromóforo (modificada de Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020).

Clase	Grupo cromóforo
Azo	
Cianina	
Xanteno	

Nitro	
Quiniona-imina	
Indigoide	
Acridina	
Oxazina	
Antraquinona	
Triarilmetano	
Ftaleína	

Trifenilmetano	
Nitroso	—N=O
Nitro	
Diarilmetano	

De esta diversidad de colorantes los pertenecientes a la clase azo aromáticos son los más utilizados constituyendo ente el 60 y 70 % del total de colorantes producidos a nivel mundial, además se sabe que entre el 60 y 70 % de estos son carcinógenos, tóxicos y no biodegradables, pueden generar degradación ambiental y varios trastornos en humanos, plantas y animales (Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Sharma, Sharma and Soni, 2021; Shindhal *et al.*, 2021).

Sharma et al. (2021) sugiere una clasificación de los colorantes dependiendo de su solubilidad en agua dividiéndose en solubles e insolubles, cada uno de estos presenta características particulares por lo que su utilización en la industria textil difiere dependiendo de las telas en las que se apliquen (tabla 5).

Tabla 5. Clasificación de colorantes por su solubilidad en agua y tipos de fibras en que se aplican (Holkar *et al.*, 2016; modificada de Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

Tipo	Colorante	Fibras utilizadas	Ejemplo.
Solubles	Ácidos	Fibras hidrófilas como lana, algodón y nailon.	Colorantes azoicos, triarilmetano y de antraquinona
	Básicos	Nailon, pero también en algunos sustratos de poliéster modificado.	Naranja básico 37 y Rojo básico 1
	Reactivos	Algodón y con pequeños porcentajes de seda y lana	Remazol, Proción MX y Cibacron F

	Directos	Aplicado sobre rayón, lino, fibras celulósicas y también se puede utilizar para teñir lana y seda.	Rojo congo, Amarillo directo 50 y Marrón directo 116
Insolubles	A la tina	Fibras celulósicas	Índigo blanco, Púrpura tyrian e Índigo carmín
	Sulfurados	Fibras celulósicas	Azul azufre 15, Verde azufre 3
	Dispersos	Poliéster o acetato de celulosa.	Naranja disperso 30, Amarillo disperso 13, Violeta disperso 1
	Pigmentos	Compuestos coloreados sin un grupo funcional	Orgánicos a partir de derivados benzoicos, inorgánicos de derivados metálicos.

Los colorantes en el ambiente

El principal contribuyente al deterioro de la calidad del agua que persiste en la naturaleza por un período ilimitado es la industria textil. Las industrias de teñido de textiles pueden crear texturas deslumbrantes e impactantes tonos dinámicos, sin embargo, los efluentes textiles son responsables de un impacto indeseable en el medio ambiente sobre todo en los ecosistemas acuáticos. Durante el proceso de teñido, se liberan al medio ambiente una cantidad notable de colorantes sintéticos debido a la falta de afinidad por las superficies a teñir (Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

Los efluentes son muy coloridos debido a los tintes alcalinos de uso frecuente y se caracterizan por una alta salinidad y ecotoxicidad, en particular con respecto a la contaminación del agua y los gases residuales emitidos por esta. Los colorantes pueden degradarse parcialmente o transformarse en el agua y sedimentarse en los ríos que reciben aguas residuales tratadas. Además, los colorantes y sus productos de descomposición son mutagénicos, teratogénicos y cancerígenos, alrededor del 40 % contienen cloro ligado orgánicamente. Muchos son difíciles de decolorar debido a su compleja estructura, alta resistencia térmica, fotoestabilidad y origen sintético (Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020; Bhardwaj and Bharadvaja, 2021; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

La presencia de cantidades extremadamente modestas de tintes textiles liberados por las industrias textiles en ambientes acuáticos es profundamente obvia e influye genuinamente en la calidad y transparencia de los cuerpos de agua, dañando rápidamente el medio ambiente acuático, varios estudios están disponibles sobre el efecto nocivo de aguas residuales coloreadas en animales, plantas y microorganismos (Singh *et al.*, 2019).

El problema natural más prominente con los colorantes es su absorción y reflejo de la luz solar en el agua. Obstruyen la penetración de la luz lo que genera una reducción en la concentración de oxígeno debida a una menor fotosíntesis (Bhardwaj and Bharadvaja, 2021).

La información sobre la toxicidad de los colorantes en los ecosistemas acuáticos es escasa, por lo que es necesario revisar y calcular la toxicidad del colorante textil en los organismos de los ecosistemas acuáticos asociados a los vertidos de la industria textil. Además, se deberían examinar el impacto sobre los productores primarios como las microalgas, el fitoplancton y las especies sumergidas, pues a través de la cadena alimentaria, pueden llegar a los órganos humanos provocando una serie de patologías desde dermatitis hasta trastornos del sistema nervioso central. (Lellis *et al.*, 2019; Sharma, Sharma and Soni, 2021).

1.3.2. Colorantes índigos

Los colorantes a la tina o índigo representan una de las familias más numerosas de colorantes orgánicos comercializados para la coloración de textiles, papel, cuero, plástico y aplicaciones especializadas como alimentos, medicamentos, cosméticos y producciones fotoquímicas, son conocidos por presentar la mejor solidez del color, excelentes propiedades de solidez a la luz y humedad. Son principalmente solubles en agua caliente y algunos son solubles en presencia de un poco Na_2CO_3 . Son ampliamente usados en fibras celulósicas debido a su afinidad por estas (Ghaly *et al.*, 2014; Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020).

Todos los colorantes índigos incluyen un doble enlace central (que conecta los dos sistemas de anillos de indol heterocíclicos), junto con los átomos de nitrógeno heterocíclicos y los grupos carbonilo. Para conocer el grado de conjugación electrónica, el índigo muestra una importante capacidad de cambio batocrómica de energía entre el orbital molecular ocupado más alto (HOMO) y el orbital molecular desocupado más bajo (LUMO). Esto proporciona la coloración

azul-púrpura de estas moléculas cuando se encuentran en un disolvente polar (Volkov *et al.*, 2020).

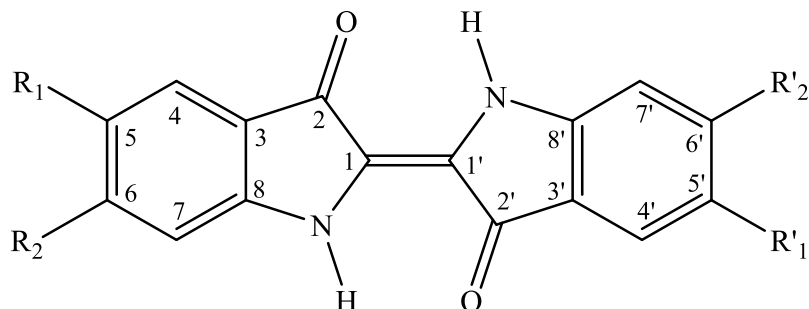


Figura 2. Estructura química de los tintes índigo donde R representa las diferentes posiciones que pueden ocupar los principales grupos funcionales (modificada de Chowdhury *et al.*, 2020; Volkov *et al.*, 2020).

Los derivados del índigo, en su mayoría halogenados (especialmente los sustituyentes bromo) proporcionan otras clases de colorantes a la tina que incluyen: indigoide y tioindigoide, antraquinona (indantrona, flavantrona, pirenato, acilaminoantraquinona, antrimida, dibenzathrona y carbazol) (Benkhaya, El Harfi and El Harfi, 2017; Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020).

El índigo es el colorante más antiguo que se conoce, originalmente fue extraído de plantas como *Indigofera tinctoria* e *Indigofera suffruticosa* en India, *Polygonum tinctorium* en China y Japón, y *Strobilanthes flaccidifolius* o *Strobilanthes cusia* en Vietnam y Sur de China, actualmente se produce principalmente por síntesis química siendo uno de los más producidos en el mundo y con una gran variedad de usos, anualmente se producen 50,000 T de este tinte, de las que más del 95 % se utiliza para teñir alrededor de 3,000 millones de metros lineales de tejido denim y más de 4,000 millones de prendas cada año (Mendoza-Avila, Chauhan and Vazquez-Duhalt, 2020).

El índigo o indigotina, con fórmula química $C_{16}H_{10}N_2O_2$, es un polvo cristalino azul oscuro con un peso molecular de 262.27 g/mol, un punto de fusión alto entre 390-392 °C, su solubilidad en agua es <2 mg/L, no es soluble en alcohol o éter debido a las fuerzas intermoleculares fuertes causadas por los puentes de hidrógeno, es soluble en cloroformo, nitrobenzono o ácido sulfúrico concentrado, la reacción del índigo con ácido sulfúrico produce índigo carmín (figura 2), los

valores de pKa para el índigo son pK_1 8.0 y para pK_2 12.7. En estado sólido forma un polímero en el cual cada molécula de índigo se une a cuatro moléculas a su alrededor. En los solventes no polares, se presenta como un monómero, mientras en solventes polares ocurre la asociación intermolecular y la solución es azul (Torres-Blancas *et al.*, 2015).

El índigo carmín (IC) (sal disódica de 5,5'- índigo disulfónico) es uno de los colorantes más populares que se obtiene de forma natural de las hojas de la planta *Indigofera tinctoria* L., su fórmula molecular es $C_{16}H_8O_8N_2S_2Na_2$ y el peso molecular es 466.36 g/mol, es un componente sólido, de color azul oscuro, con una solubilidad en agua de 10 g/L y una densidad que oscila entre 0.4 y 0.6. Su estructura química presenta dos grupos importantes: el $NaSO_3$, que le atribuye la propiedad de hidrosoluble y el grupo cromóforo (un sistema conjugado de enlace $C=C$ sustituido por dos grupos NH y dos grupos $C=O$), lo que le da al compuesto su color, su pka es de 12.6 por lo que su estructura no cambia a valores de pH más bajos. El IC es ampliamente utilizado como contraste en diagnósticos médicos, pero su uso más frecuente ocurre en la industria textil, se necesitan en promedio de 3 a 12 g de colorante para teñir un par de pantalones de mezclilla azul, se ha encontrado en concentraciones al nivel de mg/L en el medio ambiente (Secula, Crețescu and Petrescu, 2011; Genázio Pereira *et al.*, 2017; Chowdhury *et al.*, 2020; Adel, Ahmed and Mohamed, 2021).

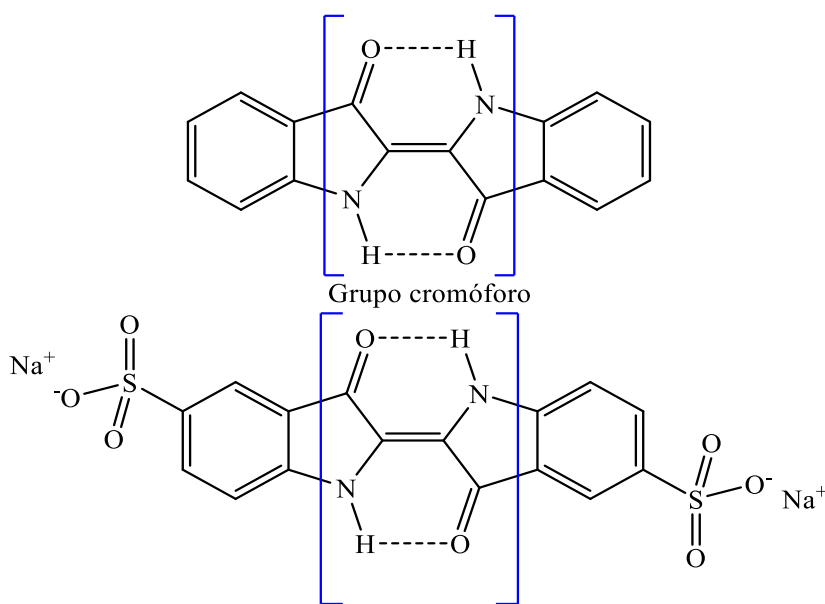


Figura 3. Estructura química del colorante índigo carmín (De León-Condés *et al.*, 2019).

El IC es persistente en el ambiente, sus oxidaciones y reducciones parciales pueden generar productos secundarios tóxicos, además es resistente a la acción de agentes químicos, luz, calor y es poco degradable, es altamente tóxico para los humanos y puede causar tumores en el lugar de aplicación cuando se administra por vía intravenosa, así como hipertensión severa, enfermedades cardiovasculares y problemas respiratorios. Cuando entra en contacto con la piel causa irritación y en contacto con los ojos puede causar lesiones permanentes en la córnea y la conjuntiva (Genázio Pereira *et al.*, 2017; Chowdhury *et al.*, 2020).

Además, puede causar irritación gastrointestinal con náuseas, vómitos y diarrea. El consumo de este colorante también puede ser fatal, ya que presenta propiedades cancerígenas, ocasiona toxicidad aguda de órganos relacionados con la reproducción, el desarrollo y el sistema neurológico (Genázio Pereira *et al.*, 2017; Chowdhury *et al.*, 2020).

El tratamiento de los efluentes textiles crudos es muy difícil, debido a sus composiciones inherentemente heterogéneas, débilmente biodegradables y tóxicas (Benkhaya, M' rabet and El Harfi, 2020).

1.4 Sistemas de tratamiento

El proceso de tratamiento de aguas residuales industriales teñidas se clasifica principalmente en tres tipos: (i) tratamientos biológicos, (ii) químicos y (iii) físicos. El tratamiento general de aguas residuales incluye el tratamiento preliminar, primario, secundario y el terciario para tratar los efluentes de la industria (Shindhal *et al.*, 2021). Las tecnologías de tratamiento físico-químico como los procesos de filtración por membrana, el intercambio iónico y la adsorción por carbón activado solo transfieren los contaminantes de una fase a otra formando grandes cantidades de lodos lo que limita la mineralización de los contaminantes (Mondal, Baksi and Bose, 2017).

Los métodos físicos de eliminación de colorantes suelen ser sencillos, se logran comúnmente mediante el mecanismo de transferencia de masa. los más convencionales son adsorción, intercambio iónico, irradiación, filtración por membrana, nanofiltración o ultrafiltración y ósmosis inversa (Fig. 4), sus desventajas principales están relacionadas con el costo del

adsorbente y la energía necesaria para llevar a cabo el proceso (Katheresan, Kansedo and Lau, 2018).

Los métodos de eliminación de colorantes químicos son métodos que utilizan la química o sus teorías para lograr la eliminación del color. Los métodos convencionales son los procesos de oxidación avanzada, la destrucción electroquímica, la reacción de Fenton, la oxidación, la ozonación, la irradiación fotoquímica y ultravioleta (Katheresan, Kansedo and Lau, 2018).

Los métodos biológicos consisten en la acción natural de los procesos enzimáticos de plantas y microorganismos para la decoloración de los efluentes.

Métodos como la foto degradación, los procesos de oxidación avanzada y ozonación han sido ampliamente usados para el tratamiento de efluentes teñidos de diversas industrias como la textil, alimentaria, de procesos, farmacéutica y cosmética (Bhardwaj and Bharadvaja, 2021).

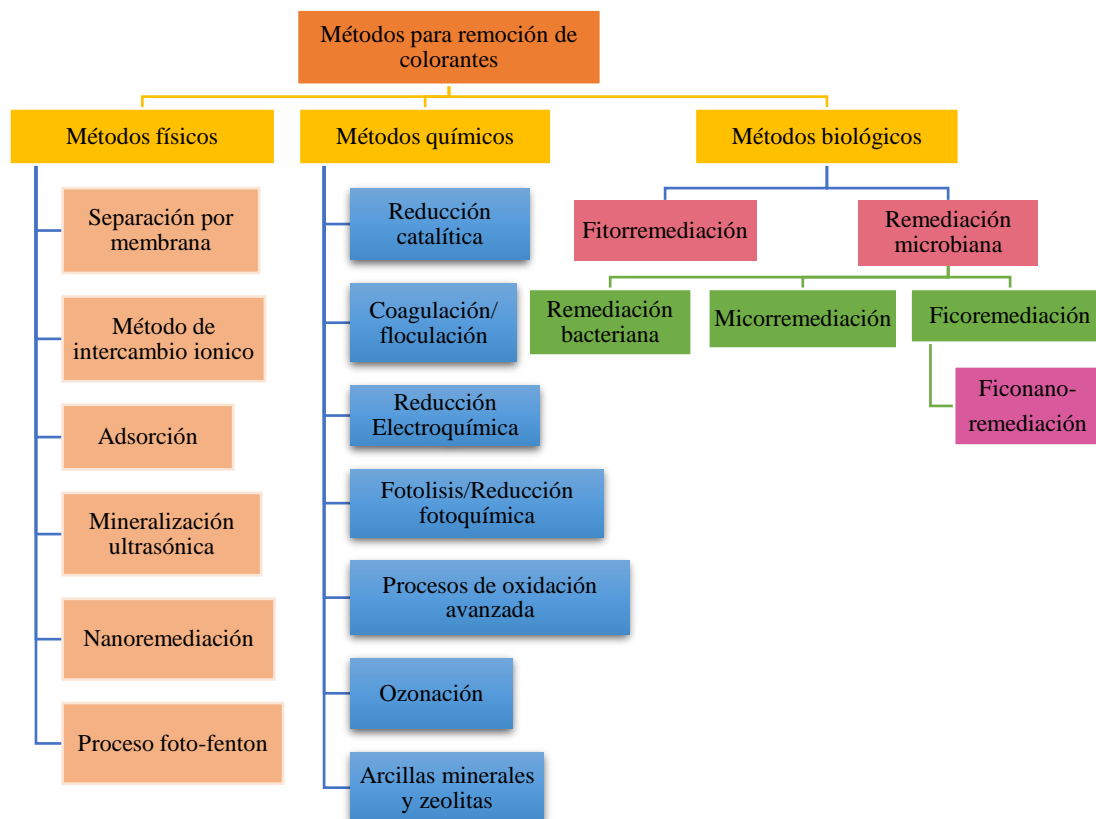


Figura 4. Métodos de remoción de colorantes (modificada de Bhardwaj and Bharadvaja, 2021).

En la literatura existe un amplio número de estudios realizados para evaluar la remoción del IC, entre estos métodos destacan, la adsorción, los tratamientos electroquímicos, fotocátalisis entre otras (tabla 6), muchos de estos tratamientos han mostrado eficiencias elevadas, pues en su mayoría superan el 80 % de remoción de color, por lo que la elección entre el amplio abanico de posibilidades dependerá de otros factores como costos energéticos, tiempo de tratamiento y subproductos generados durante el proceso.

Tabla 6. Tratamientos probados para evaluar la remoción de colorantes índigo carmín (elaboración propia).

Tratamiento	Material usado	Condiciones óptimas de operación	Eficiencia de remoción	Autor
Adsorción	Nanopartículas de ferrita de magnesio	pH= 4.0 [IC]= NR Volumen= NR Cantidad de MgFe ₂ O ₄ = 0.1 g Tiempo de contacto= 60 min	Color: 96 % Estable por cuatro ciclos.	(Adel, Ahmed and Mohamed, 2021)
	Biomasa de <i>Grevillea robusta</i>	pH= 6.0 [IC]= 20 mg/L Volumen = 100 mL Cantidad de biomasa= 8 g Tiempo de contacto=40 min	Color: 97.27 %	(Venkata <i>et al.</i> , 2019)
	Chitosan solo y con carbón activado (CH y CH/AC)	pH= 3.0 [IC]= 50 mg/L Volumen = 50 mL Cantidad de CH/AC = 0.01 g Tiempo de contacto=30 min	Color: 98.86 % en 1er ciclo. 94.34 % en tercer ciclo	(Fatombi <i>et al.</i> , 2019)
Electrocoagulación	Electrodos de Fe con 4 cm de separación entre ellos	pH= 5.86 [IC]= 20. 01 Volumen = 500 mL Densidad de corriente= 13.31 mA/cm ² Tiempo de reacción= 115.8 min	Color= 81 %	(Tanyol, Yildirim and Alparslan, 2021)

	Electrodos elaborados a partir de residuos metálicos	pH= 6.9 [IC]= 0.002 % Volumen = 20 mL Voltaje= 5 V Tiempo de reacción= 80 min	Color= 92 %	(Oliveira <i>et al.</i> , 2020)
Fotocatálisis	Nanopartículas de ZnO sobre fibras de fique	pH= NR [IC]= 50 mg/L Volumen = 20 mL Cantidad adicionada de ZnO/fique = 0.1 g Tiempo de reacción= 180 min	Color: 90 %	(Llano <i>et al.</i> , 2020)
	Dióxido de Titanio puro	pH= 2 [I]= 10 mg/L Volumen = 1L [TiO ₂]= 1.5g/L Tiempo de reacción= 210 min	Color: 100 %	(Okcu, Tunacan and Dikmen, 2019)
Ozonación	Persulfato de sodio activado por Fe ²⁺ (PS)	pH= 7.3 [IC]= 200 mg/L [O ₃]= 2.5 mg/L [Fe ²⁺]= [PS]= 0.8 mM Tiempo de reacción= 60 min	Color: 96.9%	(Zhao <i>et al.</i> , 2020)
	Partículas bimetálicas de Fe-Cu	pH = 3.0 [IC] =500 mg/L [O ₃] ₀ = 0.0 05 g/L [catalizador]= 1000 mg/L Tiempo de reacción 60 min	Color: 97 % COT: 92 %	(Torres-Blancas <i>et al.</i> , 2017)
Fenton	Foto-Fenton Fe ²⁺ , H ₂ O ₂ y Lámpara UV	pH= 3 [IC]= 50 mg/L Volumen = 1.5 L Relación H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 6/1 Tiempo de reacción= 60 min	COT: 75 %	(Ramos <i>et al.</i> , 2020)
	Fotocatalítico/Foto-Fenton con nanotubos de TiO ₂ como foto-ánodo	pH= 3.0 [IC]= 0.260 mM Volumen = 150 mL	Color: 100 %	(Oriol <i>et al.</i> , 2019)

		Relación $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 0.25$ mM de Fe y H_2O_2 generado <i>in situ</i> $j = 3 \text{ mA/cm}^2$	A un tiempo de reacción de 35 min COT: 79.8 % después de 300 min de reacción	
--	--	--	---	--

De acuerdo con CONAGUA (2019) México cuenta con 2,540 plantas de tratamiento de aguas residuales municipales y 3,144 de aguas residuales industriales. En el Estado de México se cuenta con 279 plantas distribuidas en tan solo 57 municipios, el 68 restante no cuenta con el servicio de tratamiento, mientras que la industria establecida en el estado cuenta con alrededor de 287 plantas. El INEGI reporta que al 2017 en todo el territorio Mexicano solo el 34% de los municipios cuenta con el servicio de tratamiento de aguas y de acuerdo con CONAGUA el método de tratamiento más utilizado para los efluentes industriales es el proceso de lodos activados (Fig. 5), el cual es considerado un método económico, sin embargo, presenta algunas desventajas en cuanto a bajas eficiencias de remoción de contaminantes y en el caso de las aguas que presentan color presenta un incremento en la formación de lodos residuales lo que reduce la mineralización de los contaminantes (CONAGUA, 2019).

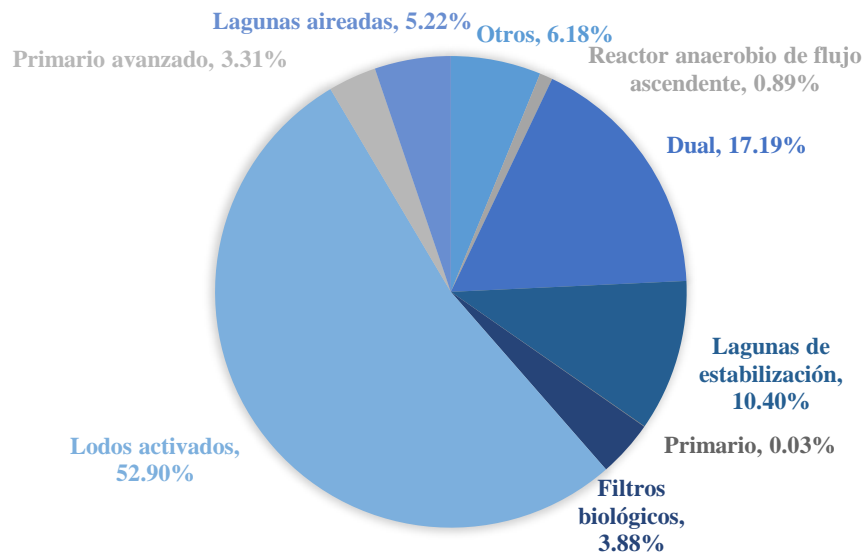


Figura 5. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales en México (CONAGUA, 2018).

Todo tipo de agua contaminada con colorantes no puede ser tratada con una sola tecnología, para identificar la combinación de tecnologías más adecuada es necesario basarse en la naturaleza del colorante, impurezas y composición del agua residual (Bharathiraja *et al.*, 2018). Singh *et al.* (2019) sugieren que dos o tres métodos combinados logran una máxima remoción de color.

1.5 Procesos de oxidación avanzada

Los procesos de oxidación avanzada (POA's) están basados en la generación *in situ* de oxidantes fuertes para la degradación de compuestos orgánicos, los procesos basados en el radical hidroxilo (HO^\bullet) representan la mayoría de POA's disponibles, aunque recientemente esta noción se amplió al radical sulfato ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) y cloro. Se sabe que estos radicales destruyen compuestos orgánicos recalcitrantes que no se eliminan en los procesos de oxidación convencionales por lo que su principal ventaja sobre esos procesos de tratamiento es su pronunciada naturaleza destructiva y la rápida mineralización de contaminantes orgánicos presentes en las aguas residuales, por otro lado los mecanismos de formación de los radicales dependen de los parámetros específicos de cada proceso y pueden verse afectados por el diseño del sistema y la calidad del agua (Miklos *et al.*, 2018; Donkadokula *et al.*, 2020).

Hay varias maneras en que puede ocurrir la degradación de los contaminantes orgánicos durante la oxidación: (i) un cambio estructural en el compuesto original con la misma fórmula molecular, (ii) cambio estructural en el compuesto original para producir otros compuestos que pueden ser más o menos tóxicos y (iii) la mineralización de carbono orgánico a CO_2 (Ghaly *et al.*, 2014; Mondal, Baksi and Bose, 2017).

Los POA's se consideran tecnologías de generación baja o nula de residuos ya que destruyen estructuras complejas usando especies químicas de vida corta con un alto poder de oxidación; el radical hidroxilo (HO^\bullet) es el más poderoso radical oxidante con un potencial redox de 2.80 eV, ataca la mayor parte de las moléculas orgánicas con constantes de velocidad normalmente del orden de 10^6 - $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, reacciona 10^6 - 10^{12} veces más rápido que el ozono dependiendo del

sustrato a degradar, puede ser generado por energía química, eléctrica, mecánica o de radiación (Ghaly *et al.*, 2014; Asghar, Raman and Daud, 2015; Matavos-Aramyan and Moussavi, 2017).

Los procesos de oxidación avanzada se pueden clasificar en homogéneos o heterogéneos. Los procesos homogéneos se pueden subdividir en procesos que usan energía y procesos que no usan energía (tabla 7). El objetivo de la depuración de aguas residuales mediante POA's es la mineralización de los contaminantes a dióxido de carbono, agua e inorgánicos o, al menos, su transformación en productos inocuos. La gran cantidad de tecnologías propuestas y combinaciones de procesos plantean un enorme desafío para una evaluación crítica de los POA's en relación con sus costos operativos (consumo de energía, entrada de productos químicos), sostenibilidad (uso de recursos, huella de carbono) y viabilidad general (huella física y formación de subproductos de oxidación) (Matavos-Aramyan and Moussavi, 2017; Miklos *et al.*, 2018).

Tabla 7. Clasificación de los procesos de oxidación avanzada (modificado de Matavos-Aramyan and Moussavi, 2017).

Tipo de proceso		Ejemplo
Heterogéneos		
Con uso de energía	TiO ₂ /ZnO/CdS + UV	
Sin uso de energía	Ozonación catalítica Ozonación fotocatalítica Fotocatálisis heterogénea H ₂ O ₂ + nano-hierro cero valente H ₂ O ₂ + nano- hierro cero valente inmovilizado	
Homogéneos		
Con uso de energía	Radiación ultravioleta	UV/H ₂ O ₂ +Fe ²⁺ O ₃ +UV O ₃ +UV+H ₂ O ₂
	Energía ultrasónica	US/H ₂ O ₂ +Fe ²⁺ US/O ₃
	Energía eléctrica	Electro-Fenton

		Oxidación electroquímica Oxidación anódica
	Energía eléctrica/ultrasónica	Sono- Electro-Fenton
	Energía eléctrica/ultravioleta	Foto-Electro-Fenton
	Energía ultrasónica/ultravioleta	Sono-Foto-Fenton
Sin uso de energía	Medio alcalino	O ₃ en medio alcalino
	Sistemas combinados	O ₃ /H ₂ O ₂
	Sistemas catalizados	H ₂ O ₂ /catalizador

Entre los diferentes POA's en los últimos años la ozonación ha destacado como un proceso prometedor en cuanto al tratamiento de aguas residuales con infinidad de contaminantes.

1.5.1 Ozonación

Las moléculas de ozono exhiben una elevada capacidad oxidante con un potencial redox de 2.07 eV, presenta una vida media que va de unos pocos segundos a unos minutos, por ejemplo en pH 7 a 10 la molécula tiene una vida media típica entre 15 y 25 minutos, la reactividad del ozono surge de la estructura de sus dos formas de resonancia (Fig. 6), lo que explica la alta probabilidad de que se lleven a cabo diferentes tipos de reacciones químicas tales como ataques de cicloadición, electrofílicos y nucleofílicos (Shahidi, Roy and Azzouz, 2015; Wang and Chen, 2020).

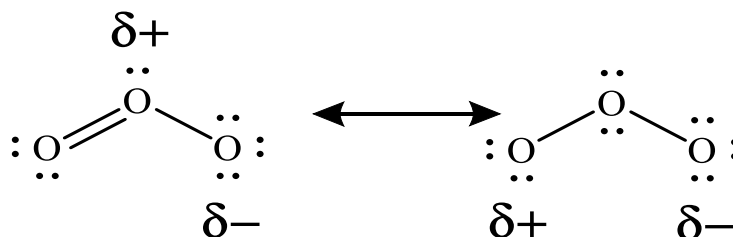


Figura 6. Formas de resonancia de las moléculas de ozono (Shahidi, Roy and Azzouz, 2015).

Entre las ventajas que presenta el uso del ozono pueden considerarse que su aplicación no requiere agregar otros reactivos químicos, su operación es sencilla, no genera lodos al final del proceso, presenta una vida media corta y al descomponerse produce O₂ sin subproductos en todo el proceso, al degradar compuestos orgánicos tóxicos incrementa la biodegradabilidad del efluente. Estas ventajas sugieren que la implementación de ozonación puede ser viable en plantas de tratamiento ya establecidas para el tratamiento de todo tipo de efluentes, sin embargo, una desventaja del ozono se presenta debido a que reacciona de manera muy lenta con algunos contaminantes tales como compuestos nitro aromáticos por lo que la reacción es incompleta y puede generar productos intermedios tóxicos (Wijannarong *et al.*, 2013; Abdedayem, Guiza and Quederni, 2015; Hu *et al.*, 2015; Punzi *et al.*, 2015).

La oxidación de compuestos orgánicos en presencia de ozono tiene lugar a través de dos vías, (1) ozonación directa por moléculas de ozono e (2) indirecta mediante la generación de radicales libres como el HO• altamente oxidantes inducidos por la descomposición del ozono en el agua (Ec.1). (Chaturvedi *et al.*, 2021).



La vía directa tiene una cinética de reacción muy lenta y es selectiva principalmente para hidrocarburos insaturados (como alquenos, alquinos) y compuestos aromáticos que tienen grupos donantes de electrones (-OH, -CHO, etcétera). Se ve favorecida en ambientes ácidos (pH bajo) o en presencia de captadores de radicales (como HCO₃⁻, CO₃⁻, ácido acético, alcohol terciario o cloruros) que inhiben la generación de radicales hidroxilo (Chaturvedi *et al.*, 2021). Pueden ocurrir cuatro mecanismos:

ℵ Reacción de oxidación -reducción: Desde el hecho de que el ozono tiene potencial estándar redox alto, este puede reaccionar con numerosos contaminantes vía reacciones oxido-reducción donde el principal proceso es la transferencia de electrones.

Reacción de ciclo adición: Generalmente ocurre entre un compuesto insaturado (con un doble enlace C=C o enlaces π) y un compuesto electrofílico formando un nuevo compuesto.

Estas reacciones pueden ser de diferentes tipos (Wang and Chen, 2020).

1. Formación de ozono primario o anillo de cinco miembros.

2. Generación de zwitterion
 3. Diferentes rutas de reacción de zwitterion y formación de productos finales, cetonas, ácidos, aldehídos.
- ⌘ Reacciones de sustitución electrofílica: en algunos casos el ozono ataca como agente electrofílico la posición nucleofílica de las sustancias orgánicas y sustituye una parte en la molécula orgánica. El grupo funcional (-OH, -NO₂ y -Cl) tienen influencia significativa sobre la reactividad del anillo aromático en el ozono.
- El desarrollo de las reacciones de sustitución dependerá de las propiedades del grupo de sustitución tabla 8. Los grupos desactivadores facilitarán la sustitución de H de la posición *meta* mientras que los grupos activadores promoverán la sustitución en las posiciones *ortho* y *para* (Wang and Chen, 2020).

Tabla 8. Principales grupos de sustitución (elaboración propia).

Grupos de sustitución		
Activadores	Fuertes	-OH, -O-, -NH ₂ , -NHR, -NR
	Medios	-OR, -NHCOR
	Débiles	-C ₆ H ₅ ,
Desactivadores	Fuertes	-NO ₂ , -NR ₃ ,
	Medios	-C≡N, -CHO, -COOH
	Débiles	-F, -Cl, -Br, -I

- ⌘ Reacciones nucleofílicas: Debido a su estructura resonante, la molécula de ozono tiene carga negativa en uno de sus átomos de oxígeno terminales lo que le confiere propiedades nucleofílicas con lo que puede reaccionar con posiciones electrofílicas de otras moléculas, especialmente cuando presentan enlaces carbonilo o enlaces dobles o triples nitrógeno, carbono (Wang and Chen, 2020).

Pese a que en valores de pH ácidos las moléculas de ozono pueden degradar fácilmente los contaminantes orgánicos aromáticos mediante la destrucción del anillo aromático para formar

productos intermedios de cadena corta como ácidos carboxílicos, aldehídos y cetonas, estos compuestos intermedios son resistentes al ataque de ozono por lo tanto suelen acumularse en la solución, siendo la ozonación directa insuficiente para lograr una alta eficiencia de degradación (Hu *et al.*, 2015; Torres-Blancas *et al.*, 2015; Ghuge and Saroha, 2018a).

La vía indirecta alcanza altas eficiencias de degradación debido a que durante la descomposición del ozono se forman varias especies radicalarias como el HO• ($E^\circ = 2.80 \text{ V}$) que tiene una mayor capacidad de oxidación, no es de naturaleza selectiva y puede mineralizar todo tipo de compuestos orgánicos. La formación de HO• es predominante en valores de pH alcalino o en presencia de un promotor radical (como H₂O₂) que favorezca su generación, la principal limitante de esta vía es la corta vida de los radicales hidroxilo (Torres-Blancas *et al.*, 2015; Ghuge and Saroha, 2018a; Wang and Chen, 2020; Chaturvedi *et al.*, 2021).

La ozonación en combinación con peróxido de hidrogeno, luz UV o algún catalizador incrementaría la generación de radicales HO•, con lo cual se mejoraría la eficiencia de degradación reduciendo costos y tiempos operacionales, debido a esto en la actualidad las investigaciones están enfocadas en el desarrollo de catalizadores con o sin compuestos metálicos (Abdedayem, Guiza and Ouederni, 2015; Ghuge and Saroha, 2018c).

Ozonación catalítica

En la ozonación catalítica, el catalizador promueve la descomposición del ozono en su superficie para producir radicales HO•, además facilita la adsorción y la reacción de los compuestos orgánicos y del ozono en su superficie incrementando así la degradación de estos. Los radicales HO• generados pueden degradar todo tipo de contaminantes orgánicos y sus intermediarios formados durante el tratamiento hasta productos como dióxido de carbono y agua (Wu *et al.*, 2016; Ghuge and Saroha, 2018a; El Hassani *et al.*, 2019).

La ozonación catalítica es especialmente utilizada para la eliminación de compuestos orgánicos refractarios, se clasifica en homogénea y heterogénea con base en el tipo de catalizador utilizado durante el proceso. En la catálisis homogénea se utilizan metales de transición que son usados para descomponer el ozono, mientras que en la catálisis heterogénea se emplea un catalizador sólido para la descomposición del ozono (Ghuge and Saroha, 2018a)

La catálisis heterogénea es la más conveniente para el tratamiento de agua, esta acelera la descomposición del ozono en radicales HO•, generando principalmente cinco fenómenos fisicoquímicos superficiales. 1) El ozono de la fase gaseosa se transfiere a la fase líquida; 2) difusión de la materia orgánica disuelta y el ozono hacia la superficie del catalizador; 3) adsorción de la materia orgánica disuelta y el ozono en el sitio activo del catalizador, 4) una reacción química en la superficie del catalizador y, finalmente, 5) la desorción de productos (Nakhate *et al.*, 2019).

La eficiencia del catalizador heterogéneo depende de sus propiedades de textura, superficie, volumen de poro, porosidad y resistencia mecánica, además del pH inicial de la solución y la estructura química de los reactantes (Abdedayem, Guiza and Ouederni, 2015).

Las ventajas de usar catalizadores soportados en materiales porosos incluyen que el agente activo puede mantenerse en un estado disperso y estable, la reacción de oxidación ocurre en la superficie del soporte con lo que la energía de activación de la reacción se puede reducir; entonces el tiempo de residencia para completar la reacción puede acortarse y, en consecuencia, los costos de inversión y operación pueden reducirse (Abdedayem, Guiza and Ouederni, 2015).

Catalizadores bimetálicos

Los catalizadores bimetálicos se están haciendo populares en la catálisis heterogénea moderna, sin embargo, aún existen pocos estudios reportados de ozonación catalítica que emplean catalizadores bimetálicos, los dos metales en el catalizador bimetálico son capaces de interacciones mutuas generando una actividad catalítica más alta que el catalizador monometálico. La impregnación de los dos metales en el soporte mesoporoso depende principalmente del tipo de método de impregnación, estructura del soporte y tipo de metal precursor usado (Ghuge and Saroha, 2018b).

Los materiales mesoporosos han sido utilizados en diversas aplicaciones como adsorción, separación, catálisis y nanotecnología, también se han utilizado como materiales para desarrollar sensores en campos médicos y afines, en catálisis, la gran superficie de los materiales mesoporosos proporciona sitios más activos para que ocurran las reacciones catalíticas, por lo tanto, mejora la eficiencia de la reacción (Ghuge and Saroha, 2018b).

La interacción de la superficie del soporte tanto con el precursor del metal como con el solvente durante el proceso de impregnación influye mucho en la absorción y dispersión del metal en el catalizador, la estructura porosa controla la disponibilidad de sitios activos de superficie y por lo tanto el grado de dispersión en el catalizador, el tamaño de poro juega un papel crucial en la distribución durante la preparación del catalizador. Por lo tanto, la elección del catalizador es crítica para el proceso de ozonización catalítica heterogénea. Entre los catalizadores más estudiados se incluyen óxidos metálicos, hidroxí-óxido metálicos, piedra pómez y algunos materiales novedosos como silicatos metálicos y bio-carbón (Abdedayem, Guiza and Ouederni, 2015; Liu *et al.*, 2017).

Piedra pómez (Pumita)

La piedra pómez es una roca volcánica procedente de lava volcánica solidificada y se puede encontrar en muchos lugares en todo el mundo, tiene una alta porosidad y poco peso, normalmente flota en el agua o se hunde lentamente, tiene un alto contenido de sílice (generalmente 60-75% SiO₂), su dureza es de aproximadamente 5-6 según la escala de Mohs, la superficie de sílice comprende grupos silanol (Si-O-H) que se extienden sobre la matriz de la sílice, este grupo es muy activo, puede reaccionar con muchos compuestos orgánicos polares y varios grupos funcionales. Varios investigadores han utilizado piedra pómez para eliminar grasas, materia orgánica, fósforo y dióxido de azufre (Heibati *et al.*, 2015).

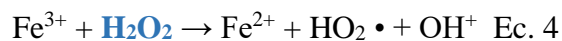
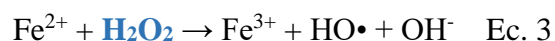
Tabla 9. Investigaciones sobre ozonación catalítica heterogénea utilizando catalizadores mono y bimetalicos.

Catalizador	Contaminante	Condiciones experimentales	Eficiencias	Autor, año
Catalizador mesoporoso bimetalico Ru-Cu/SBA-15	Colorante Azo RO4	[RO4] ₀ =100 mg/L [O ₃] ₀ = 0.9 mg/L [catalizador] ₀ = 5 g/m ³ pH = 9.0	Degradación de RO4= 100 % DQO= 70.4 % Tiempo de reacción 60 min	(Ghuge and Saroha, 2018b)
Nano partículas cero valentes de Fe (nZVI)	Efluente textil	[O ₃] ₀ = 0.1 g/h [catalizador] ₀ = 0.7 g/L pH = 6.3	Remoción de color= 73.5 % DQO= 87 % Toxicidad= 93 % Mejora el IB= 134.6 %	(Malik <i>et al.</i> , 2018)

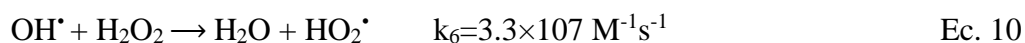
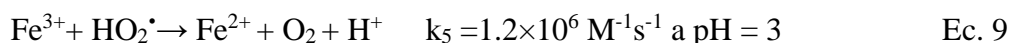
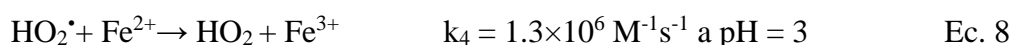
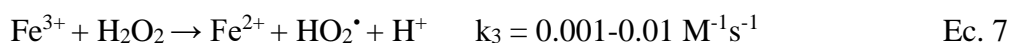
Polímero de silicato con cobre y zinc (ZCSP)	p-cloronitrobenceno (pCNB)	[pCNB] ₀ = 100 µg/L [O ₃] ₀ = 0.6 mg/L [catalizador] ₀ = 300 mg/L pH = 7.0 ± 0.1	Degradación de pCNB = 99.3 % COT = 51.2 % Estable por 4 ciclos	(Liu <i>et al.</i> , 2017)
Partículas bimetalicas de Fe-Cu	Índigo carmín (IC)	[IC] ₀ = 500 mg/L [O ₃] ₀ = 0.05 g/L [catalizador] ₀ = 1000 mg/L pH = 3.0	Degradación de IC = 97 % COT = 92 % Tiempo de reacción 60 min	(Torres-Blancas <i>et al.</i> , 2017)
Fe/Pumita	p-cloronitrobenceno (p-CNB)	[p-CNB] ₀ = 100 µg/L [O ₃] ₀ = 0.9 mg/L [catalizador] ₀ = 0.5 g/L pH = 6.0	Degradación de p-CNB = 90.8 % Estable por 5 ciclos Tiempo de reacción 15 min	(Yuan <i>et al.</i> , 2016)
Partículas de Fe en Pimienta dioica	Índigo carmín [IC]	[IC] ₀ = 1000 mg/L [catalizador] ₀ = 1000 mg/L pH = 3.0	Remoción de COT = 76 % Tiempo de reacción de 60 min	(Torres-Blancas <i>et al.</i> , 2015)
Pumita natural (PN)	p-cloronitrobenceno (p-CNB)	[p-CNB] ₀ = 100 µg/L [O ₃] ₀ = 0.6 mg/L [catalizador] ₀ = 1 g/L pH = 6.86	Degradación de p-CNB = 84 % COT = 31.4 % Estable por 10 ciclos Tiempo de reacción 20 min.	(Yuan <i>et al.</i> , 2012)

1.5.2 Reacciones Fenton

En la reacción del ozono con agua (Ec.2) se produce peróxido de hidrogeno (H₂O₂) *in situ* el cual como es sabido es el reactivo necesario para llevar a cabo la reacción tipo Fenton (Ec 3 y 4).



La reacción Fenton clásica genera radicales HO• altamente oxidantes mediante una secuencia de reacción compleja que inicia con la activación del H₂O₂ por los ferrosos (Fe²⁺) (Ec. 5- 11):



En presencia de un sustrato orgánico (R-H), el radical hidroxilo extrae un átomo de hidrógeno del R-H y se genera un radical orgánico (R•), que posteriormente sufre una serie de transformaciones químicas para formar diversos productos de oxidación. En ausencia de cualquier barrido competitivo de cualquiera de los radicales HO• o R•, el uso de un exceso de concentración de Fe²⁺ y H₂O₂ debería, en principio, convertir completamente todos los compuestos orgánicos en CO₂ y agua. Sin embargo, la reactividad no específica y mejorada de HO• hacia sustratos tanto orgánicos como inorgánicos resulta en varios procesos competitivos que afectan negativamente el proceso de oxidación orgánica (Bokare and Choi, 2014).

Con el objetivo de incrementar la eficiencia de oxidación del proceso Fenton, se han investigado diversas modificaciones que en conjunto se denominan "Fenton-like", como:

ℵ Fotofenton, combina el H₂O₂ con radiación ultravioleta/solar para aumentar la generación de radicales HO• e incrementar la degradación de los contaminantes orgánicos.

ℵ Electro - Fenton, reducción electroquímica del O₂, incrementa la eficiencia del proceso mediante la generación *in situ* de H₂O₂.

∞ Sono - Fenton, el proceso promueve la disociación del oxígeno molecular y agua optimizando la generación de HO• y la producción de H₂O₂ *in situ*.

Aun cuando el ion Fe²⁺ tiene una alta eficiencia, su principal desventaja está relacionada con la dependencia al pH que presenta, lo que implica la adición de sustancias acidificantes y neutralizantes pre y postratamiento lo que incrementa los costos, aunado a la elevada producción de lodos.

Dadas estas circunstancias las investigaciones se dirigen hacia la búsqueda de nuevos catalizadores Fenton, que también sean económicamente factibles y prácticamente aceptables. En este sentido y con el objetivo de alcanzar una transferencia de electrones eficiente de H₂O₂, los catalizadores deben exhibir estados de oxidación múltiples ya que las especies catalíticamente activas con un estado de oxidación específico pueden ser fácilmente regeneradas a partir de una forma inactiva por un ciclo redox-simple. Para lograr este objetivo, los dos estados activos e inactivos redox deben ser estables durante un amplio intervalo de pH para prevenir la precipitación de las especies catalíticas (Bokare and Choi, 2014).

El cobre es uno de los elementos que ha mostrado características redox muy parecidas al hierro, pues reacciona fácilmente con H₂O₂, tanto en estado de oxidación monovalente (Cu⁺) como divalente (Cu²⁺), ecuaciones 12 y 13 (Bokare and Choi, 2014; Matavos-Aramyan and Moussavi, 2017).



Los productos intermedios formados por estos procesos son generalmente más biodegradables que sus precursores por lo tanto pueden ser más fácilmente removidos por tratamientos biológicos por lo que una vez que el efluente textil haya sido tratado por medio de los procesos oxidativos antes mencionados y considerando que existan residuos metálicos en el efluente se plantea la aplicación de fitorremediación como método de pulimiento con la finalidad de remover la mayor cantidad de contaminantes como sea posible.

1.6 Bioreducción de nanopartículas metálicas

Para la síntesis de nanopartículas (NPs) existe una amplia variedad de rutas que han sido aplicadas, entre estas están las rutas físicas, químicas y biológicas. Los métodos químicos utilizados son costosos, además de incorporar el uso de sustancias químicas tóxicas y peligrosas que representan diversos riesgos para el ambiente. La síntesis biológica es segura, biocompatible, amigable con el ambiente, permite la síntesis de nanopartículas usando plantas y microorganismos para aplicaciones biomédicas (Jadoun *et al.*, 2020).

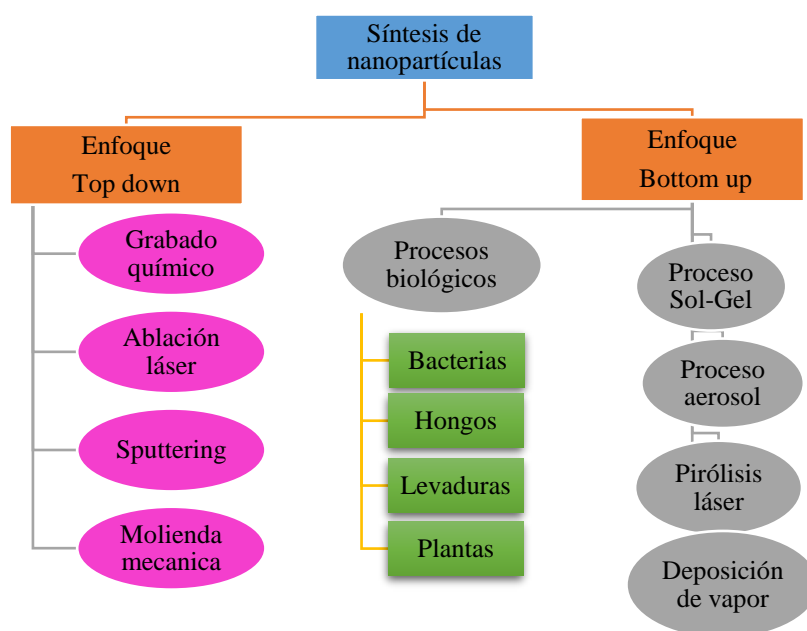


Figura 7. Diferentes procesos para la síntesis de NPs (modificada de Pal, Rai and Pandey, 2019).

Entre los métodos disponibles de síntesis de nanopartículas para metales y óxidos de metal, la utilización de extractos vegetales es un proceso bastante sencillo y fácil para producir nanopartículas a gran escala en relación con la síntesis mediada por bacterias y/o hongos, la disponibilidad de materia vegetal ha permitido que partes de las plantas como hojas, tallos, flores, frutos, raíces sean usadas en los procesos de síntesis debido también a que sus extractos contienen fitoquímicos que actúan como agentes reductores y estabilizantes, estos pueden ser cetonas, aldehídos, flavonas, amidas, terpenoides, ácidos carboxílicos, fenoles, y ácidos ascórbicos (Singh *et al.*, 2018; Jadoun *et al.*, 2020).

La síntesis de nanopartículas realizada por rutas fisicoquímicas o biológicas se clasifican en dos clases discretas (Fig. 7):

- 1) El enfoque de arriba hacia abajo o Top down donde la ruptura de materiales a granel a partículas finas es conducida por técnicas como ablación-láser, evaporación-condensación u otros métodos físicos.
- 2) El enfoque de abajo hacia arriba Bottom up los átomos se ensamblan en núcleos y luego crecen a NPs, los métodos químicos y biológicos utilizan este enfoque. Las metodologías de síntesis verde basadas en precursores biológicos dependen de varios parámetros de reacción como el disolvente, la temperatura, la presión y las condiciones de pH (ácido, básico o neutro).

La utilización de biomasa o extractos de plantas es considerada la más factible, entre sus ventajas se cuentan la disponibilidad de especies vegetales, es un proceso seguro de manejar, económico, simple, presenta una tasa de síntesis rápida, se obtienen nanopartículas estables, ya que se tiene mejor control sobre su tamaño y forma, es el más adecuado para realizar una síntesis a gran escala, además de ser amigable con el ambiente. El protocolo experimental está bien establecido, varios autores coinciden en los pasos presentados en la figura 8 (Vijayaraghavan and Ashokkumar, 2017).

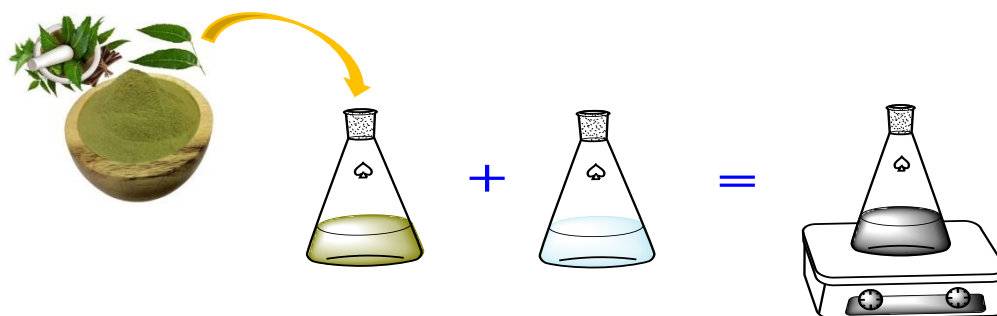


Figura 8. Protocolo experimental para obtener NP's utilizando rutas verdes, mezclando el extracto vegetal y la solución mono o bimetálica.

Los parámetros que influyen en las características de las NPs generadas por bio-reducción son:

Influencia del pH

La variación en el pH afecta la velocidad de síntesis y la morfología de las NPs. La capacidad de protección y estabilización depende de la carga de las biomoléculas, lo que podría ser afectado por el pH. Se ha observado que a pH ácidos se forman menos NPs lo que podría indicar que el pH ácido inactiva las biomoléculas suprimiendo la síntesis de NPs, por lo que a pH superiores a 6 se promueve la síntesis debido a la disponibilidad de los grupos funcionales que participan en el proceso como los grupos carbonilo e hidroxilo. Por otro lado, se ha observado que durante el proceso de síntesis el pH del medio disminuye debido a la liberación de iones H^+ de las especies presentes en el extracto vegetal al oxidarse en presencia de los iones metálicos (Vijayaraghavan and Ashokkumar, 2017; Nagar and Devra, 2018).

Temperatura

La temperatura aumenta la tasa de conversión de los iones metálicos. Se ha observado que, en el sistema de reacción, el efecto de la temperatura es mayor sobre la tasa de nucleación que sobre la tasa de crecimiento, sin embargo, es importante realizar diversas pruebas para encontrar la temperatura idónea, pues temperaturas muy altas pueden generar elevada actividad en la superficie de los núcleos y en consecuencia estos se vuelven coloidales y aglomerados resultando en partículas de mayor tamaño (Nagar and Devra, 2018).

Concentración de la sal precursora

El tamaño de las NPs metálicas depende en gran medida de la concentración de la sal precursora, se ha observado por ejemplo para partículas de cobre que al incrementar la concentración de $6 \times 10^{-3} \text{ M}$ a $7.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ el tamaño de las NPs disminuye, pero al incrementarla sobre ese rango el tamaño aumenta, al aumentar la concentración de la sal precursora se incrementa la generación de núcleos obteniéndose partículas de menor tamaño sin embargo, cuando la concentración de la sal es excesivo se genera un excesivo número de núcleos que se aglomeran produciendo partículas de mayor tamaño (Nagar and Devra, 2018).

Composición del extracto vegetal

Los extractos de hojas de plantas se consideran una fuente excelente para la síntesis de nanopartículas de metal y de óxido de metal, juegan un papel doble al actuar como agente reductor y estabilizador en el proceso de síntesis, la composición del extracto es un factor importante en la síntesis de NPs, por lo que es importante considerar que diferentes plantas comprenden diferentes niveles de concentración de fitoquímicos (Singh *et al.*, 2018).

Los principales fitoquímicos presentes en las plantas son flavonas, terpenoides, azúcares, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos y amidas, que son responsables de la bioreducción de nanopartículas. Los flavonoides contienen grupos hidroxilo capaces de reducir los iones metálicos, varios estudios reportan la presencia de flavonoides en el proceso de reducción por ejemplo la quercetina (P. P. S. and S. F. Y., 2012; Singh *et al.*, 2018).

1.7 Fitorremediación

La fitorremediación es una tecnología estética, económica y de bajo consumo de energía que utiliza plantas verdes con el fin de restaurar, desintoxicar y recuperar áreas contaminadas con niveles bajos, medios o altos de contaminación. La utilización de plantas para remediar sitios depende en gran medida de la capacidad de supervivencia de la planta en un ambiente de estrés. Durante la fitorremediación, las plantas absorben los contaminantes del suelo y los mineralizan, evitando así la contaminación horizontal de las aguas subterráneas y manteniendo la seguridad del ecosistema (Odoh *et al.*, 2019).

Las plantas pueden absorber contaminantes que persisten en el ambiente a través del sistema de raíces que, al proporcionar una mayor área de superficie, facilitan la movilización, limpieza o desintoxicación de contaminantes dentro de las plantas a través de varios mecanismos, es decir, eliminación, contención y degradación. Tales propiedades de la planta se han utilizado para la eliminación efectiva de desechos incluyendo metales, compuestos fenólicos, colorantes azoicos y colorantes diversos, también otros contaminantes orgánicos e inorgánicos (Tahir, Yasmin and Khan, 2016).

La eficiencia y mecanismos de absorción del contaminante están muy influenciados por la especie vegetal y sus características, las interacciones en la zona de la raíz, las propiedades químicas del contaminante, su biodisponibilidad, efectos de la agregación de agentes quelantes y las condiciones ambientales, es por esto que la selección de macrofitas candidatas para usar en la fitorremediación es el factor clave para el éxito del proceso, es esencial elegir la macrofita que tenga una alta capacidad de absorción de contaminantes, adaptable a las condiciones de aguas residuales, que tenga una tasa de crecimiento rápido y que sea de fácil manejo (Ting *et al.*, 2018; Odoh *et al.*, 2019).

Una gran cantidad de plantas verdes que incluyen hierbas, arbustos y árboles han sido reportadas como dotadas de magníficas habilidades para la restauración y recuperación de ambientes contaminados. Estas especies pueden actuar como excluyentes, acumuladoras e hiperacumuladoras. Las excluyentes acumulan contaminantes en sus raíces, limitando su transporte y entrada a las partes aéreas tales como brotes. Las acumuladoras concentran y transforman los contaminantes en formas inertes en sus tejidos aéreos, mientras que las hiperacumuladoras son capaces de acumular cantidades extraordinariamente mayores de contaminantes en comparación con otras especies de plantas (Tahir, Yasmin and Khan, 2016; Ting *et al.*, 2018).

Para la implementación de un sistema acuático de fitorremediación se deben tener ciertas consideraciones como: (1) identificación e implementación de sistemas eficientes de plantas acuáticas; (2) absorción de nutrientes disueltos que incluyen N, P y metales por las plantas en crecimiento; y (3) cosecha y uso de la biomasa vegetal producida a partir del sistema de remediación. Para asegurar una densidad óptima de la planta, es importante realizar una cosecha de biomasa adulta en el cuerpo de agua ya que, de lo contrario, el tejido de la planta muerta se descompondrá y posteriormente se liberarán los nutrientes almacenados regresando al ambiente (Ting *et al.*, 2018).

1.7.1 Mecanismos de fitorremediación.

De acuerdo con la técnica y área donde vaya a aplicarse el proceso de fitorremediación, Susarla *et al.* (2002) sugieren los siguientes tipos que se pueden aplicar, y explican las condiciones en que se recomiendan:

Fitorremediación *in situ*. Implica la colocación de plantas vivas en la superficie de aguas, suelos o sedimentos contaminados, o en suelos o sedimentos que están en contacto con aguas superficiales contaminadas para el propósito de la remediación. El mecanismo consiste en la captación y acumulación del contaminante. Las plantas deben ser cosechadas y removidas del sitio después de la remediación para su disposición o recuperación de los contaminantes. Una condicionante es que el contaminante debe ser biodisponible para las raíces. Este mecanismo es el menos costoso.

Fitorremediación *in vivo*. Útil para sitios donde los contaminantes no son accesibles para las plantas tales como acuíferos profundos. Los contaminantes son extraídos por medios mecánicos, transferidos a un área de tratamiento temporal donde se seleccionan las plantas óptimas para la fitorremediación. Después del tratamiento, el suelo o agua limpia pueden ser regresadas a su lugar de origen y las plantas pueden ser cosechadas y dispuestas si es necesario. El tratamiento puede llevarse a cabo en el mismo sitio o en otro lugar.

Fitorremediación *in vitro*. Se utilizan componentes de plantas vivas como la extracción de enzimas. En teoría, puede ser aplicado *in situ* bajo algunas circunstancias, por ejemplo, aplicando extractos de plantas en aguas contaminadas, o a través de un poro impregnado de la enzima en una pluma de agua contaminada. Este considerado el método más costoso.

De igual manera la aplicación de procesos de fitorremediación utiliza diversos mecanismos dependiendo del medio a tratar y los contaminantes que esté presente, estos se detallan en la tabla 10.

Tabla 10. Mecanismos de la fitorremediación (elaboración propia con información de Bharathiraja *et al.*, 2018).

Mecanismo	Proceso	Contaminantes
Rizofiltración	Ocurre en las raíces de las plantas para absorber también contaminantes almacenados de una matriz acuosa de crecimiento.	Metales, desechos industriales y agrícolas.
Fitoestabilización	implica la inmovilización de contaminantes en el suelo mediada por plantas mediante la absorción por las raíces o la precipitación de contaminantes dentro de las raíces de las plantas; por lo tanto, la reducción de la biodisponibilidad de los contaminantes se produce con la migración controlada de contaminantes de la erosión del agua, la dispersión del suelo y la lixiviación.	Metales y compuestos orgánicos hidrofóbicos.
Fitoextracción o Fitoacumulación	Consiste en la absorción y almacenamiento de contaminantes tóxicos en sus raíces, tallos y hojas.	Metales.
Fitovolatilización	Comprende la captación de contaminantes de la matriz de crecimiento de las plantas y la posterior descarga de contaminantes volatilizados a la atmósfera.	Herbicidas, compuestos aromáticos, alifáticos clorados, nutrientes.
Fitotransformación	incluye la absorción, el almacenamiento y la descomposición de contaminantes con la ayuda de enzimas secretadas por el tejido vegetal.	Herbicidas, compuestos aromáticos, alifáticos clorados, nutrientes.
Rizodegradación o Fitoestimulación	Utiliza microorganismos simbióticos del suelo presentes en la rizosfera y degrada contaminantes.	Compuestos orgánicos.

La fitorremediación presenta muchas ventajas para la descontaminación debido a su bajo costo, pues no requiere equipos costosos, es fácil de implementar y que no requiere personal altamente calificado para su manejo, se puede utilizar sin perturbar el sitio contaminado y a través de esta tecnología se puede lograr una solución permanente para los sitios que se contaminan continuamente (Bharathiraja *et al.*, 2018), en la tabla 11 se resumen diversas investigaciones que han implementado este proceso para la eliminación de colorantes.

Tabla 11. Investigaciones sobre fitorremediación implementada para diversos colorantes (elaboración propia).

Especie	Contaminante	Condiciones experimentales	Eficiencias	Autor, año
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms y <i>Pistia stratiotes</i> L.	CI Direct Blue 201 (DB 201)	Volumen: 1 L Biomasa: 4 y 10 plantas respectivamente. Concentración: 50 mg/L	Color= 100 % DQO= ND	(Ekanayake <i>et al.</i> , 2021)
<i>P. stratiotes</i> L, <i>S. adnata</i> Desv, y <i>H. verticillata</i> (L.f) Royle	Efluente textil + Rojo reactivo	Volumen: 5 L Biomasa: 250 g. Concentración: ND	Color= 73 - 86 % DQO= 37 %	(Ahila <i>et al.</i> , 2021)
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	Colorantes aniónicos y catiónicos.	Volumen: 2.5 L Biomasa: 96 - 100 g. Concentración: 10 mg/L	Color= 79-90.8% catiónicos, 33.3 - 62.8 % aniónicos. DQO= ND	(Sharma <i>et al.</i> , 2020)
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms y <i>Salvinia natans</i> Linnaeus	Negro de eriocromo T	Volumen: 1 L Biomasa: ND. Concentración: 50 - 500 mg/L	Color= 33 y 71.5 %. DQO= ND	(Rápó <i>et al.</i> , 2020)
<i>Lemna minor</i>	Azul de metileno	Volumen: 50 mL Biomasa: ND. Concentración: 50 mg/L	Color= 80.56 ± 0.44%. DQO= ND	(Imron <i>et al.</i> , 2019)
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	Efluente textil (proceso de teñido y lavado)	Volumen: 50 mL Biomasa: 8, 10 y 12 plantas Concentración: 20, 30 y 60 %	Color= 77 y 83 %. DQO= > 50%	(Safauldeen, Hasan and Abdullah, 2019)
<i>Salvinia molesta</i>	Mezcla de 4 colorantes	Volumen: 500 mL Biomasa: 60 g Concentración: 100 mg/L	Color= 81 % DQO= 69 %	(Chandanshive <i>et al.</i> , 2016)
<i>I. aquatica</i>	Efluente textil	Volumen: 510 L Biomasa: 75 % Concentración: valor ADMI	Color= 94 % DQO= 84 %	(Rane <i>et al.</i> , 2016)

<i>Tecoma stans</i> var. <i>angustata</i>	Verde brillante	Volumen: 71 mL Biomasa: 3 g Concentración: de 8.5 a 45 mg/L	Color= 100 % DQO= 99 %	(Rani and Abraham, 2016)
<i>B. dactyloides</i>	Efluente textil	Volumen: 100 mL Biomasa: ND Concentración: ND	Color= ND DQO= 85 a 95 %	(Vijayalakshmidivi and Muthukumar, 2014)
<i>P. grandiflora</i> y <i>G. grandiflora</i>	Mezcla de 5 colorantes	Volumen: 10 mL Biomasa: 2 plántulas Concentración: 50 mg/L	Color= de 76 a 96 % DQO= de 58 a 73 %	(Watharkar and Jadhav, 2014)
<i>G. pulchella</i>	Scarlet RR/mix	Volumen: 100 mL a 30 L Biomasa: 6.5 g/ planta Concentración: 50 valor ADMI	Color= de 78 a 100 % DQO= 70%	(Kabra, Khandare and Govindwar, 2013)
<i>P. grandiflora</i>	Reactive Blue 172	Volumen: 100 mL Biomasa: 2 a 10 organismos Concentración: de 20 a 100 mg/L	Color= de 38 a 98% DQO= de 25 a 70%	(Khandare <i>et al.</i> , 2011)
<i>B. malcolmii</i>	Mezcla de 5 colorantes	Volumen: 100 mL Biomasa: 8.03 g Concentración: de 20 a 100 mg/L	Color= de 42 a 96% DQO= ND	(Kagalkar <i>et al.</i> , 2009)

1.7.2 Mecanismos de defensa de las plantas

Una consecuencia inevitable del metabolismo aeróbico es la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS incluyen radicales libres como el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radicales hidroxilos (HO^{\bullet}), así como moléculas no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete (1O_2), y así sucesivamente (Xie *et al.*, 2019; Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

En las plantas, las ROS siempre se forman por la inevitable fuga de electrones sobre el O_2 de las actividades de transporte de electrones en cloroplastos, mitocondria y membranas

plasmáticas o como un subproducto de diversas rutas metabólicas localizadas en diferentes compartimentos celulares. Las tensiones ambientales tales como la sequía, la salinidad, el enfriamiento, la toxicidad de los metales y la radiación UV-B, así como el ataque de patógenos conducen a una mayor generación de ROS en las plantas debido a la alteración de la homeostasis celular. Todos los ROS son extremadamente dañinos para los organismos en altas concentraciones. Por otro lado, en niveles bajos, las ROS funcionan como moléculas de transducción de señales, que ayudan a las plantas a mantener sus procesos celulares normales (Sharma *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2019).

Cuando el nivel de ROS excede los mecanismos de defensa, se dice que una célula está en un estado de "estrés oxidativo" su creación puede ser iniciado por la enzima responsable de la producción de ROS en el apoplasto y la membrana plasmática, la NADPH oxidasa. La producción de ROS durante las tensiones ambientales puede plantear una amenaza para las células al causar peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas, daño a ácidos nucleicos, inhibición enzimática, activación de la ruta de la muerte celular programada (PCD), llevando a la muerte de las células (Sharma *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2019).

A pesar de su actividad destructiva, los ROS están bien descritos como segundos mensajeros en una variedad de procesos celulares que incluyen tolerancia al estrés ambiental. Debido a los roles multifuncionales de las ROS, es necesario que las células controlen sus niveles estrechamente, por un lado, para evitar cualquier lesión oxidativa y por otro para no eliminarlos por completo. La recolección o desintoxicación del exceso de ROS se logra mediante un sistema eficiente que comprende antioxidantes no enzimáticos, así como antioxidantes enzimáticos. Los antioxidantes enzimáticos incluyen superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), guayacol peroxidasa (GPX), enzimas de ascorbato-glutatión (AsA-GSH) ciclo como ascorbato peroxidasa (APX), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), dehidroascorbato reductasa (DHAR) y glutatión reductasa (GR). El Ascorbato (AsA), glutatión (GSH), carotenoides, tocoferoles y fenólicos sirven como potentes antioxidantes no enzimáticos dentro de la célula (Sharma *et al.*, 2012).

Varias investigaciones han reportado un aumento en actividades de las enzimas del sistema antioxidante de defensa en plantas para combatir el estrés oxidativo inducido por diversas

tensiones ambientales. El mantenimiento de una alta capacidad antioxidante para secuestrar los ROS tóxicos ha sido vinculado a una mayor tolerancia de las plantas a estas tensiones ambientales (Sharma *et al.*, 2012).

1.7.3. *Myriophyllum aquaticum*

El género *Myriophyllum* (Haloragaceae) incluye alrededor de 60 especies de macrofitas sumergidas, entre ellas *M. aquaticum*, *M. brasiliense*, *M. spicatum* y *M. verticillatum* con una distribución cosmopolita en lagos, estanques, arroyos y canales de agua dulce (Decou *et al.*, 2019).

Myriophyllum aquaticum (Vell.) Verdc., es una especie de rápido crecimiento, particularmente en regiones cálidas, puede reproducirse vegetativamente, cuenta con un sistema de raíces relativamente pequeño pero suficiente para absorber todos los nutrientes necesarios para un crecimiento rápido de hasta 1 cm d⁻¹. *Myriophyllum aquaticum* es una planta perenne herbácea heterófila de América del Sur, tiene dos formas de hojas distintas que pueden crecer en la misma planta o, más comúnmente, la forma de crecimiento será dictada por las condiciones de crecimiento (Wersal and Madsen, 2013).

Las hojas emergentes son como plumas y de color verde grisáceo, rígidas y crecen en espirales alrededor del brote emergente, las hojas sumergidas son típicamente de color naranja a rojo, carecen tanto de estomas como de una cutícula de hoja, y crecen en espirales alrededor de los brotes sumergidos. Las diferencias anatómicas y morfológicas en la forma sumergida y emergente de *M. aquaticum* pueden deberse a adaptaciones fisiológicas a las condiciones de los distintos entornos (Wersal and Madsen, 2013).

Basado en su rápido crecimiento y buena adaptabilidad al ambiente, el uso de especies de *Myriophyllum* para varios tratamientos de aguas residuales ha incrementado tal como se muestra en la tabla 12.

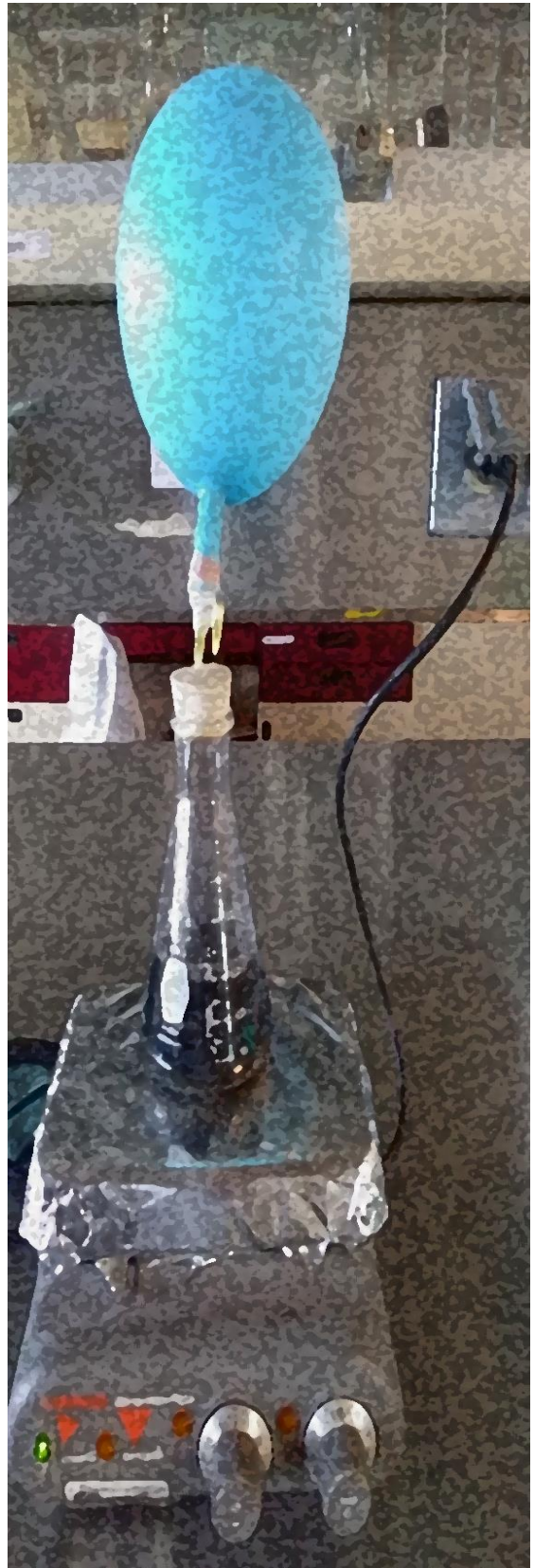
Tabla 12. Estudios de fitorremediación utilizando a *M. aquaticum* con diversos contaminantes.

Contaminante	Condiciones de operación	Resultados	Autor
Cadmio	Concentración: 0, 10, 20, 40, 80 y 160 mg/L de Cd Biomasa: 18 plantas Volumen: 7 L	<i>M. aquaticum</i> es capaz de tolerar concentraciones de 40 mg/L de Cd sin mostrar daño, con un BCF de 449.25.	(H. Guo <i>et al.</i> , 2020)
Tetraciclina (TC) y cobre (Cu)	Concentración TC: 100, 1,000 y 10,000 µg/L Concentración Cu: 300, 3,00 y 30,000 µg/L Biomasa: 0.5 kg (~20 plantas)	Bajas concentraciones de Cu (< 1000 µg/L) promueven la remoción de las TC, altas concentraciones de Cu (> 1000 µg/L) la impiden.	(X. Guo <i>et al.</i> , 2020)
Fósforo (aguas residuales porcinas)	Concentración: 33, 66 y 100% Biomasa: 3 unidades de humedal Volumen: 15 L DQO _i : 1142.5 mg/L PT: 1.86 g/Kg	PT = 70.1- 89.4 % Velocidad constante de remoción = 12.1–22.3 m/año	(Luo <i>et al.</i> , 2017)
Nitrógeno (aguas residuales porcinas)	Concentración: 50 y 100% Biomasa: 100 brotes (90 g) Volumen: 15 L DQO _i : 1142.5 mg/L NT: 1.86 g/Kg	Velocidad constante de remoción = 157,8 mg N m ² / d.	(Liu <i>et al.</i> , 2016)
Agua de río contaminada	Biomasa: 10 plantas de 20 cm de longitud Volumen: 47 L DBO _{5i} : 71.82 ± 7.36 mg/L DQO _i : 101.61 ± 0.15 mg/L	DBO ₅ = 67.7 % DQO = 66.2 % Tiempo de remoción= 15 días	(Souza <i>et al.</i> , 2013)
Mezcla de agua industrial pretratada con electrocoagulación	Concentración: 50, 75 y 100% Biomasa: 6 plantas 69.7 ± 1.8 g Volumen: 12 L DQO _i : 1000 y 425 mg/L	DQO= 50 y 52 % Rel. clorofilas a/b= 3.09± 0.21 Tiempo de remoción = 8 días	(Cano-Rodríguez <i>et al.</i> , 2010)

La presente investigación pretende acoplar los sistemas antes descritos con la intención de que en conjunto se optimicen los tiempos de cada tratamiento mejorando la degradación de los contaminantes para obtener un efluente con una calidad aceptable de acuerdo con los parámetros marcados por la CONAGUA y además reducir los costos totales de operación.

CAPÍTULO 2.

Justificación, Hipótesis y Objetivos



2.1 Justificación

De acuerdo con la agenda del agua 2030 el principal problema que enfrenta el país en materia de agua es la calidad de ésta, debido a la falta de infraestructura para el tratamiento de las aguas residuales, sobre todo en las Regiones Hidrológico Administrativas (RHA) VIII Lerma- Santiago-Pacífico y XIII Aguas del Valle de México.

El Programa Nacional Hídrico 2020- 2024 reporta que las plantas de tratamiento de aguas residuales en México son ineficientes, grandes consumidoras de electricidad y no cuentan con el mantenimiento adecuado para dar cumplimiento a las normativas vigentes. Al 2018 había 819 plantas abandonadas o sin operar, las que representaban el 24% de las plantas de tratamiento de aguas residuales a nivel nacional. Aunado a esto, los sistemas de recolección de las aguas residuales del país son insuficientes y están deteriorados.

Debido a que la situación de contaminación del agua es un problema global las investigaciones están probando sistemas de tratamiento acoplados donde se pueda incluir un proceso de oxidación avanzada, que dependiendo de las características del efluente pueda incrementar su biodegradabilidad preparándolo, para un tratamiento biológico (Wang *et al.*, 2020).

En el proceso de ozonación las investigaciones se están enfocando en el desarrollo de catalizadores bimetalicos nanométricos que incrementen la eficiencia del proceso, disminuyendo los tiempos y costos de operación, debido a la generación de especies radicalarias no selectivas como el HO^\bullet que incrementa la biodegradabilidad del efluente lo que permite que pueda ser acoplado con un proceso biológico tal como la fitorremediación que a través de los mecanismos enzimáticos de las plantas es posible remover los subproductos orgánicos e inorgánicos remanentes.

La presente investigación plantea la implementación de un tratamiento de oxidación avanzada en combinación con fitorremediación aplicándolos agua de la industria textil de forma controlada (soluciones de concentración conocida), con la finalidad de reducir los costos de operación e incrementando la eficiencia de remoción de los contaminantes, ya que estos se pueden implementar en plantas tratadoras de aguas residuales ya existentes, principalmente con

lodos activados y podrían mejorar significativamente la calidad del efluente tratado reduciendo el impacto negativo a los ecosistemas.

2.2 Hipótesis

Al implementar un sistema acoplado de ozonación catalítica con partículas bimetálicas de Fe-Cu y fitorremediación se mejorará la remoción del color y de la DQO de aguas residuales de concentración conocida en un 90%.

2.3 Objetivos

Objetivo general

Optimizar un sistema acoplado de ozonación catalítica con partículas bimetálicas Fe-Cu y fitorremediación para agua residual industrial textil.

Objetivos particulares:

- * Sintetizar y caracterizar partículas bimetálicas de Fe-Cu soportadas en pumita mediante un método verde.
- * Establecer condiciones óptimas en un reactor vidriado de flujo vertical para ozonación catalítica con el catalizador elaborado, para soluciones estándar utilizando como molécula modelo al colorante índigo carmín.
- * Establecer condiciones óptimas en un sistema de fitorremediación, tratando el efluente obtenido del proceso óptimo previo.
- * Evaluar las características finales del agua tratada después del proceso de fitorremediación.
- * Caracterizar el estado de salud de las plantas utilizadas mediante pigmentos fotosintéticos.

CAPÍTULO 3.

Materiales y Métodos



3.1 Diagrama de flujo de los materiales y métodos

Cada uno de los objetivos particulares está relacionado con las actividades descritas en la metodología propuesta, esquematizada en la figura 9, cada actividad se detalla más adelante.

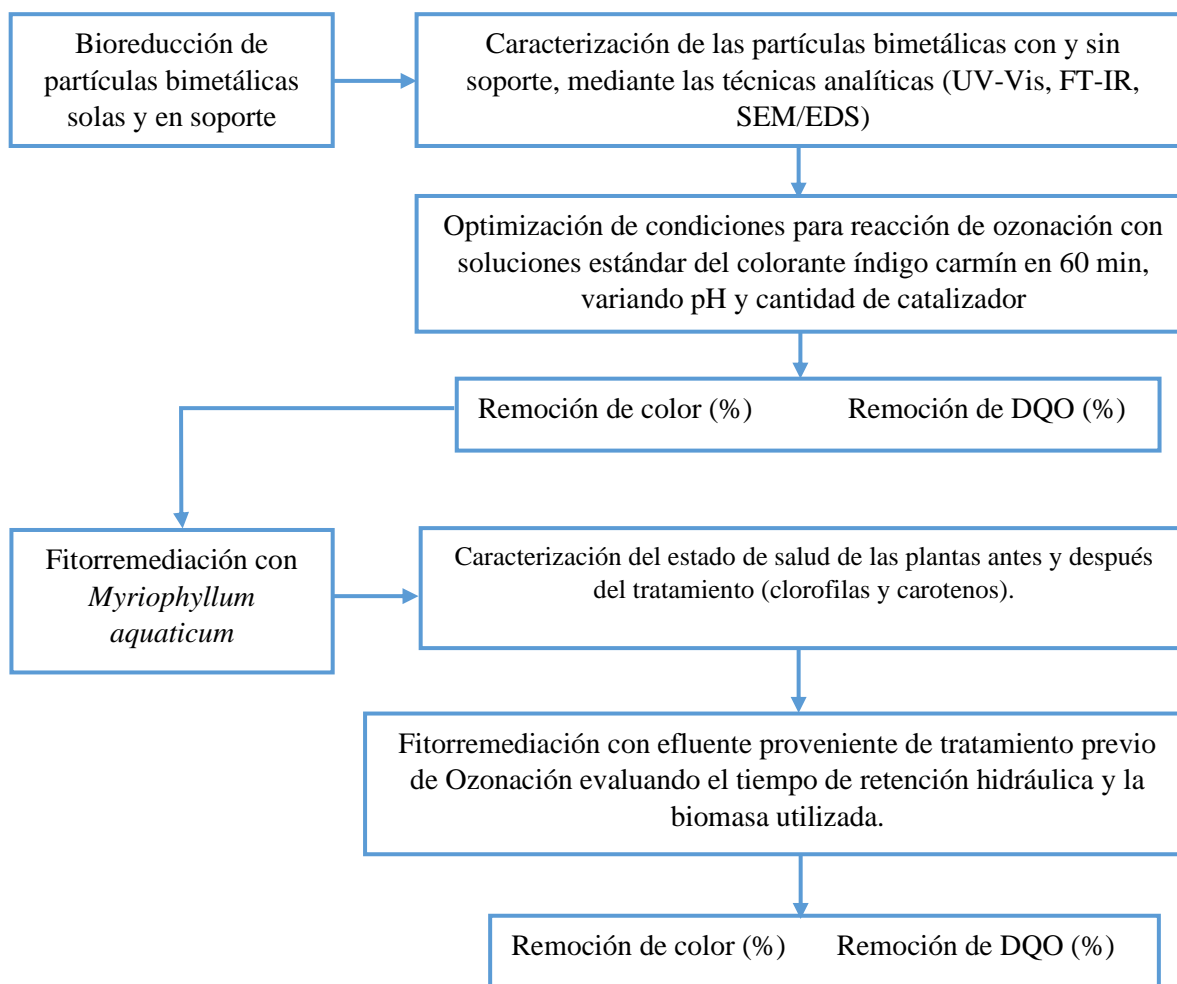


Figura 9. Diagrama de flujo metodológico.

3.1.1 Bio-reducción de partículas bimetálicas Fe-Cu

Para la bio-reducción de partículas bimetálicas de Fe-Cu, se realizaron los siguientes pasos:

1. Preparación de la infusión de eucalipto.

Se adquirieron ramas de eucalipto en el mercado local de Metepec, Estado de México, se llevaron a laboratorio, se separaron las hojas y se lavaron con abundante agua potable para remover suciedad y polvo.

Una vez lavadas se colocaron en una bolsa de papel y se pusieron a secar en una estufa a 100° C por 24 h hasta que estuvieron completamente secas, se pulverizaron macerándose con mortero y pistilo obteniendo un polvo fino, este se almacenó en un recipiente hermético para uso posterior.

Para preparar la infusión se pesaron 20 g de polvo de hojas y se adicionaron en vaso de precipitados de 250 mL, posteriormente al vaso se agregaron 170 mL de agua destilada, se colocó el vaso en parrilla a temperatura y agitación constante y se dejó hervir cronometrando 10 min. Al finalizar se retiró de la parrilla y se filtró para eliminar la biomasa, se recuperaron aproximadamente 110 mL de infusión, para la reacción de reducción se utilizaron 100 mL de infusión. Se dejó enfriar a temperatura ambiente para la reacción de reducción

Nota: Es preferible realizar la reacción de reducción el mismo día que se prepara la infusión pues si se almacena por mucho tiempo disminuye su efectividad.

2. Reacción de reducción.

Las reacciones de reducción se realizaron en dos modalidades, A) partículas bimetálicas Fe-Cu sin soporte y B) partículas bimetálicas Fe-Cu sobre pumita.

A) Partículas bimetálicas Fe-Cu

Se prepararon 100 mL de una solución bimetálica con $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a una concentración 0.03 M cada una, se agregó la solución en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, manteniendo en agitación durante 20 min., al final se adiciono la infusión de eucalipto

manteniendo la proporción en volumen 1:1, inmediatamente se selló con tapón de goma (el tapón se debe preparar previamente con un globo con nitrógeno y aguja de purga).

Se dejó la aguja de purga durante 10 min, posteriormente se dejó solo la aguja con el globo de nitrógeno, la reacción se conservó en agitación constante durante 2 horas. Al final se dejó en reposo durante 24 h para que las partículas se precipiten en el matraz.

Se removió el sobrenadante y se filtró con embudo Büchner y papel filtro 4 μm , es importante procurar que las partículas se acumulen en la misma zona del papel filtro, para poder removerlas después, se enjuagó con agua destilada. Posteriormente se removió el papel filtro del embudo y se colocó en una caja Petri, se secó en estufa a 70 °C por 48 h.

Con una espátula se removieron las partículas del papel filtro 4 μm y se recuperaron en la caja Petri, se maceraron cuidadosamente hasta pulverizar y se almacenó en un recipiente hermético (tubo Eppendorf) rotulado.

A. Reducción de partículas bimetálicas Fe-Cu con soporte.

Para la reducción de las partículas con soporte se realizan las siguientes modificaciones:

Preparación del soporte:

Se trituro la piedra pómez (pumita) y se tamizó para obtener bloques de tamaño de 1000 μ (18 meshes), se lavaron con abundante agua potable hasta reducir la turbidez a 10 UFA, se secaron a 70 °C por 48 h y se almacenaron para su uso posterior.

Se pesaron 15 g de pumita y se agregaron en 50 mL de HCl 1 M durante 24 h, luego se desechó el HCl y se enjuagaron los bloques con agua destilada, al menos 10 enjuagues, en el último se dejan en reposo por 30 min, se elimina el agua y se colocan a 70 °C por 48 h previo a la reducción.

Reacción de reducción con soporte

Se prepararon 50 mL de solución bimetálica a una concentración 0.03 M de las sales de Fe y Cu, se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se dejó en agitación constante durante 20

min, se adicionaron 15 g de pumita y se redujo la intensidad de la agitación manteniéndola constante por 24 hr.

Se adiciono la infusión de eucalipto manteniendo la proporción en volumen 1:1, inmediatamente se selló con el tapón de goma (preparado previamente).

Se dejo la aguja de purga durante 10 min, se retiró manteniendo solo la aguja con el globo de nitrógeno, la reacción se conservó en agitación suave durante 2 h. Finalmente se eliminó la agitación dejando en reposo durante 24 h (la reacción continua).

Se filtró en embudo Büchner con papel filtro 4 μm , se removió el papel filtro del embudo y se colocó en una caja Petri, se enjuagó con agua destilada y se dejó secar en estufa a 70 °C por 48 h. Se almacenaron los bloques de pumita modificada en un recipiente hermético rotulado y se almacenaron para su uso posterior.

3.1.2 Caracterización de las partículas bimetálicas y del catalizador

El catalizador obtenido en el procedimiento anterior se caracterizó determinando los siguientes parámetros:

Espectro de la resonancia del plasmón superficial (RPS) característico de las nanopartículas metálicas reducidas por métodos biológicos mediante espectrofotometría UV-Visible (De León-Condés *et al.*, 2019), utilizando el espectrofotómetro Perkin- Elmer Lambda 25 y el espectrofotómetro HACH DR 5000

Morfología y características topológicas del material soporte, distribución de las partículas sobre el soporte, así como composición elemental mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM-EDS) con el microscopio JEOL JSM-6510LV.

Presencia de grupos funcionales de los extractos vegetales y del material soporte por Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (IR-FT) con Espectrómetro IR-FT modelo Tensor 27, Bruker.

3.1.3 Establecimiento de condiciones óptimas en reactor de ozonación

El proceso de Ozonación se llevó a cabo en un reactor vidriado cierre hermético de flujo vertical ascendente, el ozono fue inyectado al reactor por la parte inferior de este, regulando la

velocidad de flujo con ayuda de un flujómetro Cole Palmer, el ozono residual sale del reactor por la parte superior y es dirigido hacia el destructor de ozono Pacific Ocean Technology modelo No. d41202. El ozono es generado en el laboratorio mediante un generador Pacific Ocean Technology modelo No. LAB212, el cual produce una concentración promedio de ozono de 5 ± 0.5 mg/L de manera constante.

En este proceso se evaluó la eficiencia de remoción del color utilizando el catalizador (Pumita Modificada con Partículas Fe-Cu) PMP/Fe-Cu, para tres diferentes valores de pH, 3, 5 y 7. Las condiciones de operación para los experimentos fueron, volumen 500 mL, velocidad de flujo de ozono 150 mL/min, concentración de índigo carmín 500 mg/L, y tiempo de reacción 60 min. Las pruebas se realizaron por triplicado.

La eficiencia se determinó tanto para la remoción de color como para la remoción de la DQO de acuerdo con las ecuaciones Ec. 14 y Ec. 15.

$$\% \text{ Remoción de color} = \frac{[IC]_0 - [IC]_t}{[IC]_0} * 100 \quad \text{Ec. 14}$$

$$\% \text{ Remoción de DQO} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} * 100 \quad \text{Ec. 15}$$

3.1.4 Fitorremediación con *Myriophyllum aquaticum*

Colecta y adecuación al laboratorio de las plantas a utilizar

Se realizó la colecta de ejemplares de la macrofitas *M. aquaticum* en la presa Ignacio Ramírez en el municipio de Almoloya de Juárez, se transportaron a laboratorio donde se lavaron con abundante agua potable, se colocaron en tinas con agua potable para su aclimatación más medio nutritivo Hoagland para crecimiento vegetal. *Myriophyllum aquaticum* fue seleccionada debido a que es una macrofitas acuática de rápido crecimiento, genera abundante biomasa y ha mostrado tolerancia a diversos contaminantes orgánicos e inorgánicos y se ha utilizado en procesos acoplados con éxito (Cano-Rodríguez *et al.*, 2014; Romero-Hernández *et al.*, 2017; Rosales-Landeros *et al.*, 2018).

Caracterización de salud de las plantas

La caracterización de salud de las plantas consistió en la medición de los principales pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenos). Para la obtención de los valores de clorofila a, b y carotenos se siguió el método reportado por Yang et al. (1998) (ver anexo 1).

Ensayo de tolerancia

Se realizó un ensayo de tolerancia con soluciones estándar de índigo carmín a concentraciones de 50 y 100 mg/L, constituido por cinco bloques de prueba con tres sistemas cada uno en recipientes plásticos con capacidad para dos litros, previamente lavados. Se marco con tinta indeleble el nivel del volumen tratado para realizar la recuperación de volumen perdido por evapotranspiración y muestreo, para la recuperación se utilizó agua destilada.

El volumen de los tratamientos fue de 1.5 L, los bloques se distribuyeron de la siguiente manera, 2 bloques de control color para la concentración baja y alta respectivamente, 1 bloque control de plantas sin colorante y 2 bloques de fitorremediación uno para la concentración baja y otro para la concentración alta, además se agregaron a todos los tratamientos 3 mL/L de medio nutritivo Hoagland al inicio del experimento. El experimento tuvo una duración de 15 y 29 días para las distintas concentraciones, el pH fue monitoreado cada tercer día desde la colocación de los tratamientos hasta el final de estos con el potenciómetro portátil de CONDUCTRONIC PH10.

Se utilizaron dos organismos de *Myriophyllum aquaticum* para cada tratamiento de fitorremediación con un peso promedio de 6.86 ± 0.48 g. Como preparación para los tratamientos de fitorremediación las plantas fueron seleccionadas tres días antes del montaje de los tratamientos y separadas del resto en otro recipiente, se registraron sus datos de peso y talla, las plantas fueron colocadas en papel absorbente para eliminar el exceso de agua y poder tomar los datos de peso y talla, al final se les asignó un número de identificación colocando un anillo de cinta adhesiva en la parte aérea del ejemplar.

Con los datos registrados se calculó la tasa de crecimiento relativo (TCR) de acuerdo con la ecuación 16 donde W_i se refiere al peso inicial y W_f al peso final del tratamiento con el colorante

IC (Al-Baldawi *et al.*, 2020), con estos datos se obtuvo además el índice de tolerancia definida como la habilidad de la planta para crecer en presencia de una concentración dada de algún contaminante orgánico, fue determinada con la ecuación 17.

$$TCR (\text{día}^{-1}) = \frac{[\ln W_f - \ln W_i]}{\text{día}} \quad \text{Ec. 16}$$

$$IT = \frac{\text{Biomasa fresca de las plantas expuestas}}{\text{Biomasa fresca de las plantas control}} \quad \text{Ec. 17}$$

3.1.5 Aplicación del sistema acoplado ozonación -fitorremediación

El agua obtenida del proceso de ozonación se dejó en reposo durante 48 h siguiendo la recomendación de Rosales-Landeros *et al.* (2017), posteriormente se diluyó al 50 % para el montaje de los tratamientos de fitorremediación, se montaron dos controles, uno de plantas sin el agua tratada, otro de agua tratada sin plantas, el monitoreo del agua se realizó tomando una muestra de 500 μL cada tercer día a partir del día de montaje (denominado día 0) durante 17 días, la cual se leyó mediante espectrofotometría UV-Vis monitoreando el máximo de absorbancia a una longitud de onda de 245 nm que corresponde al Isatin ácido sulfónico subproducto del índigo carmín. El agua perdida por evapotranspiración y muestreo se recuperó con agua destilada.

La caracterización de las soluciones estándar preparadas se realizó determinando los siguientes parámetros físicos y químicos:

Color: Mediante Espectroscopia UV- Vis utilizando el Espectrofotómetro Perkin- Elmer Lambda 25.

pH: Aplicando la NMX-AA-008-SCFI-2011 Análisis de agua - determinación del pH -método de prueba.

DQO: NMX-AA-030/2-SCFI-2011 método del tubo sellado a pequeña escala.

Voltamperometría Cíclica (VC): Utilizando el potenciostato Autolab con una celda electroquímica integrada por tres electrodos, electrodos de trabajo de pasta de carbono (EPC), electrodo de Ag/AgCl de referencia y una barra de grafito como contraelectrodo.

CAPÍTULO 4. Resultados



En el apartado 4.1 se presenta la carta de aceptación del primer producto de la investigación con los resultados obtenidos de la primera fase del proyecto que consistió en la obtención del catalizador nanométrico por medio de reducción verde, una vez que se obtuvieron las partículas bimetalicas Fe-Cu sintetizadas con extracto de eucalipto se probó su actividad catalítica con soluciones estándar de IC en reacciones Fenton-like obteniendo porcentajes de remoción superiores al 90 %, de manera complementaria se realizó una amplia revisión bibliográfica sobre el uso de plantas como agentes reductores para la obtención de nanopartículas metálicas y sus aplicaciones ambientales, médicas y catalíticas, el capítulo fue publicado en el Handbook T-XII CIERMMI Women in Science: Agricultural Science and Biotechnology indizado en ISBN 978-607-8695-55-3, se obtuvo el galardón “Lic. María Elena Mora Gutiérrez” al mejor capítulo de la convocatoria CIERMMI Mujeres en la Ciencia 2021.

En el apartado 4.2 se muestra el artículo enviado para publicación el cual fue enviado a la revista Journal of Environmental Sciences, este es un trabajo experimental donde se evaluó el efecto de un catalizador elaborado a partir de pumita modificada con partículas de cobre mediante una reducción química utilizando como agente reductor al borohidruro de sodio, el catalizador fue utilizado en ozonación para tratamiento de agua residual del proceso de lavado de mezclilla, el proceso se acoplo con fitorremediación utilizando a *M. aquaticum*, los resultados de remoción total de color y DQO superaron el 95 %.

Finalmente, en el apartado 4.3 se muestran los resultados no publicados sobre el catalizador elaborado mediante reducción verde, para lo cual se utilizó pumita como soporte de las partículas bimetalicas Fe-Cu, el catalizador fue probado en ozonación con diferentes valores de pH y 500 mg de catalizador Fe-Cu, el tratamiento con una mayor mineralización obtenida mediante COT se utilizó para acoplarlo con fitorremediación con *M. aquaticum*.

4.1 Capítulo publicado



San Juan del Río, Qro., Martes 03 de Agosto de 2021.

Distinguida: REYES-PÉREZ, Jazmin A., ROA-MORALES Gabriela, AMAYA-CHÁVEZ Araceli & BALDERAS-HERNANDEZ, Patricia.

*Universidad Autónoma del Estado de México, (UAEMex), Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEM-UNAM.
Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.*

Por medio de la presente me es grato hacer de su conocimiento que su investigación postulada en la convocatoria de **CIERMMI, MUJEREN EN LA CIENCIA 2021** con el título:

CÓDIGO	TÍTULO
MnlC-016	<i>"BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y SUS APLICACIONES."</i>

Es **ACEPTADO PARA PUBLICACIÓN**, en uno de los tomos de los Handbook's Collections de CIERMMI, MUJERES EN LA CIENCIA que edita la empresa ECORFAN MÉXICO S.C, se le invita cordialmente a realizar las correcciones indicadas en el dictamen "*Peer Review Report*" y preparar su capítulo en extenso de conformidad con el formato del Handbook Template, la fecha para enviar su capítulo corregido y demás documentos de publicación inicia a partir de la fecha de la presente carta de aceptación y culminará el día **VIERNES 03 DE SEPTIEMBRE DE 2021**.

La publicación del capítulo se realizará, si y solo si, el **EXTENSO CORREGIDO** cumple con los trámites de formato y administrativos indicados por el comité organizador del CIERMMI 2021, sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un saludo cordial y expresarle nuestro reconocimiento y gratitud por participar en la tercera edición de la convocatoria de **CIERMMI, MUJERES EN LA CIENCIA 2021**.

ATENTAMENTE



ING. LUIS EDUARDO CRUZ CARPIO
COORDINADOR GENERAL DE
CIERMMI, MUJERES EN LA CIENCIA.

cierqro@gmail.com
cierqro2@gmail.com / Tel. 427 264 1296 - 427 272 2991.

www.cierqueretaro.org.mx

Biosíntesis de Nanopartículas Metálicas y sus Aplicaciones

Biosynthesis of Metallic Nanoparticles and their Applications

REYES-PÉREZ, Jazmin A.¹, ROA-MORALES Gabriela ^{1*}, AMAYA-CHÁVEZ Araceli², BALDERAS-HERNÁNDEZ, Patricia¹

¹Universidad Autónoma del Estado de México, (UAEMex), Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEM-UNAM, Carretera Toluca-Atlacomulco, Km 14.5, Toluca, MEX, México. 50200.

²Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón, Colonia Universidad, Toluca de Lerdo, MEX, México. 50120

International Identification of Science - Technology and Innovation

ID 1^{er} Autor: ORC ID 0000-0002-5341-1829 y CVU 1^{er} Autor: Becario-PNPC 700495

ID 1^{er} Coautor: ORC ID 0000-0001-7355-2568 y CVU 1^{er} Coautor: SNI-CONACYT 121592

ID 2^{do} Coautor: ORC ID 0000-0001-9798-0882 y CVU 2^{do} Coautor: SNI-CONACYT 201356

ID 3^{er} Coautor: ORC ID 0000-0001-6214-6599 y CVU 3^{er} Coautor: SNI-CONACYT 120896

(Indicar Fecha de Envío: 06, 18, 2021); Aceptado (Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

Citación: J. A. Reyes-Pérez, G. Roa-Morales, A. Amaya-Chávez, P. Balderas-Hernández.

Correo institucional: groam@uaemex.mx

Primera letra (EN MAYUSCULAS) del Nombre Editores. Apellidos (eds.) *Título del Handbook [Times New Roman No.10]*, Temas Selectos del área que corresponde ©ECORFAN- Filial, Año.

Abstract

The development of nano-sized materials increasingly requires the implementation of synthesis methods that are friendly to the environment and that have the ability to implement them in medical, therapeutic, pharmacological, food and environmental areas. As such, green methods have been gaining ground in recent years. Within these processes, there is a huge range of species belonging to different groups (such as bacteria, algae, yeasts, fungi, and plants) with the necessary qualities to generate metallic NPs with particular size and shape characteristics, within which plants stand out. This is due to the simplicity of the process as well as their easy scaling. Additionally, the studies carried out indicate the parameters to be considered in order to carry out a good bioreduction process and obtain both monometallic and highly functional bimetallic nanoparticles. It should be noted that in addition to the economic and ecological advantages of the nature of these methods, the biological molecules that participate as reducing agents also provide stability to the NPs, in some cases conferring superior qualities in catalytic and clinical applications.

Resumen

El desarrollo de materiales nanométricos requiere cada vez más la implementación de métodos de síntesis amigables con el ambiente y que tengan la capacidad de implementarlos en los ámbitos médico, terapéutico, farmacológico, alimentario y medioambiental. Como tal, los métodos ecológicos han ido ganando terreno en los últimos años. Dentro de estos procesos, existe una amplia gama de especies pertenecientes a diferentes grupos (como bacterias, algas, levaduras, hongos y plantas) con las cualidades necesarias para generar NP metálicas con características particulares de tamaño y forma, dentro de las cuales destacan las plantas. Esto se debe a la simplicidad del proceso, así como a su fácil escalado. Además, los estudios realizados indican los parámetros a considerar para llevar a cabo un buen proceso de biorreducción y obtener nanopartículas tanto monometálicas como bimetalicas altamente funcionales. Cabe señalar que además de las ventajas económicas y ecológicas de la naturaleza de estos métodos, las moléculas biológicas que participan como agentes reductores también brindan estabilidad a las NP, en algunos casos confiriendo cualidades superiores en aplicaciones catalíticas y clínicas.

Key words: Bioreduction, vegetal extract, phytochemicals, catalyst.

1. Introduction

Nanotechnology is a fascinating multi-disciplined field that involves the design and engineering of functional systems on the molecular scale. It can be defined as the art and the science of the manipulation of matter at the nanoscale to create new and unique materials. Its main characteristic is a dimensional structure smaller than 100 nm, which is important in the fields of materials science, medical and life sciences, and physical and chemical sciences (Nayantara & Kaur, 2018; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017). They mainly present themselves in characteristics such as catalytic reactivity, thermal conductivity, nonlinear optical behavior, and chemical stability, owing to their high surface-area-to-volume (Agarwal et al., 2017).

The development of metallic nanoparticles has been integrated in diverse areas such as medicine, chemistry, engineering, and biology, as well as participating in industries such as cosmetics, food, pharmaceuticals. It is equally involved in the development of new technologies for the detection, cleaning, and prevention of contamination. It is estimated that the global market of nanoparticles in biotechnology and pharmaceuticals grew by up to \$79.8 billion in 2019, and that it will continue growing by around 22% annually (Nayantara & Kaur, 2018; Scaria et al., 2020).

The synthesis and assembly of nanoparticles through biological routes allows the development of clean, non-toxic, and environmentally acceptable procedures involving organisms that vary from bacterias to bigger plants. The three main aspects of bioreduction related with the principles of green chemistry are: 1) the choice of non-toxic solvents for the reduction reaction, as distilled water is generally used in green synthesis. This is done to avoid the use of toxic organic solvents which are usual in chemical synthesis such as ethanol, dimethylformamide, ethylene glycol, toluene, and chloroform, owing to the use of hydrophobic stabilizing agents. 2) environmentally benign reducing agents and non-harmful stabilizing agents which form part of the biomolecules of the used organisms. Many of these have the capacity to act as reducers and stabilizers in a simultaneous manner, substituting the use of chemical compounds such as sodium borohydride, hydrazine, and elemental hydrogen as reducing agents and the use of natural or synthetic polymers such as rubber, chitosan, cellulose, and copolymer micelles as stabilizers. In this sense the recovery that the biomolecules provide on the surface of the NPs makes them biocompatible, opening the possibility of applications in biomedicine and related fields (Gan & Li, 2012; Nayantara & Kaur, 2018; D. Sharma et al., 2019).

1.1 Basic Approaches

The synthesis methods for nanoparticles are commonly classified by two main categories: 1) from top to bottom or 'Top down'. 2) from bottom to top or 'Bottom up' (Carrillo-Inungaray et al., 2018).

The 'Top down' approach is based on mechanical size reduction methods, gradually breaking down the volume of the material into structures on the nanoscale, using lithographic techniques such as: grinding, milling, sputtering, and thermic or laser ablation (Agarwal et al., 2017; Chinnasamy et al., 2018; Gan & Li, 2012; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

The 'Bottom up' approach is based on assembly through smaller entities in the nanoscale range (10-100 nm) such as atoms or molecules. Based mainly on chemical and biological methods, this approach increases the possibility of producing more chemically homogenous metallic particles with less defects (Agarwal et al., 2017; Chinnasamy et al., 2018; Gan & Li, 2012; Narayanan & Sakthivel, 2010b; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Nanoparticles have physical, chemical, electronic, electric, mechanical, magnetic, thermic, dielectric, optic and biological properties and characteristics. These are generated by the reduction of their dimension regarding their atomic surface, surface energy, the reduction of

imperfections and spatial confinement, which are in summary size, shape, and crystalline structure (Anu et al., 2020; Narayanan & Sakthivel, 2010).

2. Methods to obtain nanoparticles

In accordance with the approach that is chosen for obtaining metallic nanoparticles, physical or chemical methods were used. As was previously mentioned, the ‘Top down’ approach is mostly related to physical methods, whilst the ‘Bottom up’ approach is mainly related to distinct chemical methods.

2.1 Physical methods

Physical methods include laser ablation, evaporation-condensation, ball milling, plasma arcs, and mechano-chemical synthesis, among others (Jamkhande et al., 2019).

Laser ablation

This is a technique that produces colloidal nanoparticles in a variety of solvents, taking place in a vacuum chamber in the presence of certain inert gases. The solid material sits under a thin layer and is exposed to irradiation with a pulsed laser, mainly the Nd: YAG laser (yttrium-aluminium-garnet doped with neodymium) to an output of 106 μm , and their Ti: Sapphire harmony laser (sapphire doped with titanium). The irradiation of material through lasers leads to the fragmentation of solid material in the shape of nanoparticles, which stay in the liquid that surrounds the target and produce a colloidal solution. The duration and energy of the pulse laser determine the relative quantity of atoms and particles that form. Parameters, such as the duration of the laser pulse, the wavelength, the ablation time, the laser fluidity, and the average effective surrounding liquid with or without surfactant, influence the efficiency of the ablation and the characteristics of the formed particles (Jamkhande et al., 2019; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

It is a relatively simple and efficient technique for obtaining large quantities of nanometric particles in the form of a suspension. Their properties can change in accordance with the used laser and the nature of the suspension. Another important advantage is the absence of chemical reagents in the solutions (Jamkhande et al., 2019; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Evaporation-condensation

This is generally performed using a tubular oven at atmospheric pressure. The source or original material collects in a container centered in the oven which evaporates in a carrier gas. However, the synthesis of nanoparticles using a tube oven at atmospheric pressure has some disadvantages: for example, the tube oven occupies a large space, consumes a large amount of energy whilst elevating the environmental temperature around the original material and requires a lot of time to achieve thermal stability (Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

High-energy ball milling

This is a mechanical technique that can be affected by certain variables in the process. It is classified between low energy and high energy milling, depending on the induced mechanical energy to the powder mix. The nanometric particles are produced through a process of high-energy ball milling, and this method is mainly used for the synthesis of intermetallic nanoparticles. The procedure consists of placing a large amount of the powder of the material you wish to reduce into a container together with various heavy balls. A high mechanical energy is applied to the powdered material with the help of a high-speed rotating ball (Jamkhande et al., 2019).

The reduction of the particle size can be carried out using different high energy mills: those with attrition balls, planetary balls, vibrating balls, and low energy rotation. In each of these methods, the high energy heavy balls move freely, and can roll above the surface of the chamber that contains the ground material in a series of parallel layers. Alternatively, they can also fall freely and impact the powder. These high impact collisions reduce the material without generating chemical changes (Jamkhande et al., 2019; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Plasma arc technique

The high temperatures associated with the formation of the arc or plasma are used to effectively separate the atomic species of the prime matter. These are quickly recombined outside of the plasma to form nanometric sized particles (Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

2.2 Chemical methods

Chemical methods include chemical reduction, microemulsion, thermal decomposition, sol-gel, solvothermal, and electrochemical deposition.

Chemical reduction

Ionic salt is reduced in an appropriate way in the presence of a surfactant using different reducing agents. The formed metal nanoparticles are stabilized using trisodium citrate (TSC) or sodium lauryl sulfate (SLS). On occasion a stabilizing agent is used together with a reducing agent. The most common reducing agents are Sodium borohydride (NaBH_4), Potassium bitartrate ($\text{KC}_4\text{H}_5\text{O}_6$), glucose, ethylene glycol, ethanol, sodium citrate, hydrazine hydrate, ascorbate, and elemental hydrogen (Jamkhande et al., 2019; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Microemulsion process

This takes place in the aqueous nuclei of inverse micelles that are dispersed in an organic solvent and stabilized with a surfactant. The dimensions of these aqueous nuclei are in the nano regime and, as such, are referred to as nanoreactors. The product obtained through the reaction is homogeneous. This is one of the versatile and reproducible methods that allow the control of

particle properties such as: size, morphology, geometry, homogeneity, and surface area (Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Thermal decomposition

This is one of the most common chemical techniques for producing stable monodisperse suspensions with the ability of self-assembly. The nucleation occurs when the metal precursor is added to a heated solution in the presence of a surfactant. Meanwhile the growth phase takes place at a higher reaction temperature. The composition and size of the formed particles depend on parameters such as the reaction time, temperature, and the length of the surfactant molecule (Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Sol-gel technique

This technique involves one of the following: 1) a mixture of preformed metallic colloids (oxides) in a sol which contains the shaping type of the matrix followed by the formation of gel; 2) the direct mix of metal/metal oxide or nanoparticles inside a sol made of pre-hydrolysed silica or 3) the complexation of metal with silone and the reduction of the metal before hydrolysis. In this method, a network formation is introduced using colloidal suspension (sol) and gelatin to form a network in a continuous liquid phase (gel). Initially, a homogenous solution of one or more selected alkoxide is prepared. A catalyst is added in order to start a reaction at a controlled pH. The formation of sol-gel involves four main steps: hydrolysis, condensation, particle growth, and particle build-up (Jamkhande et al., 2019).

Solvothermal method

This is used for the preparation of nano-phases in the presence of water or other organic chemicals such as methanol, ethanol, and polyol and solvents. The reaction is produced in a container at a pressure that allows the solvent (water and alcohol) to heat up above their boiling temperature. The crystallisation kinetic (formation of crystals) can be increased by one or two orders of magnitude through the employment of reactions assisted by microwaves (solvothermy by microwaves) (Jamkhande et al., 2019).

Electrochemical deposition

Electricity is used as a controlling force. The method consists of passing an electrical current between two electrodes separated by an electrolyte, and the synthesis of nanoparticles is produced in the electrode / electrolyte interface. The size of the particles can be controlled by changing the current density (Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

When done well, the chemical and physical processes offer greater control over the size and shape of the obtained nanoparticles. Generally, their disadvantages lie in the use of toxic chemicals on their surfaces, the use of non-polar solvents, expensive equipment that requires a high consumption of energy, and the low capacity for scaling in production.

3. Bioreduction of metallic ions and approach on green chemistry

Owing to the impact of nanomaterial synthesis on the environment generated by the use of physical and chemical methods, it has been sought to develop more environmentally friendly means of synthesis that are also consistent with the principles of green chemistry. This is why biological methods involving the reduction of metallic ions using extracts or live biological mass have been investigated, such as sources of reducers, equally so with those that are intracellular and extracellular (Agarwal et al., 2017; Carrillo-Inungaray et al., 2018; Kharissova et al., 2013; Nasrollahzadeh et al., 2020).

The intracellular processes take place within the cell. No previous treatment is required because the process is based on metabolic pathways that are probably responsible for synthesis, such as photosynthesis, respiration, and nitrogen fixation (A. Sharma et al., 2015). Diatom algae from the genera *Chaetoceros sp.*, *Skeletonema sp.*, and *Thalassiosira sp.* are among the most used microorganisms (Mishra et al., 2020).

Extracellular processes are referred to as the processes that take place outside the cells, mainly supported by the exudates of cellular metabolism that comprise metabolites, ions, pigments, many proteins (enzymes) and non-protein entities such as DNA, RNA, microbial subproducts (hormones, antioxidants) and lipids (Khanna et al., 2019).

Biosynthesis methods surpass other classic procedures thanks to their advantages - the wide availability of biological entities, ecological procedures, cost-effectiveness and easy scaling (Jamkhande et al., 2019; Kuppusamy et al., 2016). Bacteria, fungi, yeasts, algae, and plants are among the different organisms that are used.

3.1 Bacteria

Prokaryotes have gained attention as a means of synthesis for metallic NPs owing to their abundance in the atmosphere and their capacity to adopt extreme conditions. Their advantages relate to their rapid multiplication - some well-known species are easy to grow and manipulate. However, regarding their disadvantages, it stands out that the detection of suitable microbes is a process that requires a lot of time. A careful control of both the cultivation method and the whole process is necessary in order to avoid contamination. This is combined with the lack of control regarding the size and shape of the NPs and the associated cost of the means used to grow bacteria (Agarwal et al., 2017; Jamkhande et al., 2019). Saravanan et al. (2021) report investigations with the genera *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, and *Klebsiella* used for the reduction of Ag, Au, ZnO, Cu and Cd NPs. On the other hand, Yusof et al. (2020) used cellular biomass and supernatant from *Lactobacillus plantarum* in order to obtain ZnO NPs ranging between 191.8-291.1 nm in size. Joshi et al. (2018) used *Geobacter sulfurreducens* with the goal of obtaining Fe NPs with magnetic properties. The process produced a mineral phase of Fe(II) with similar characteristics to magnetite, due to which the authors suggested that these nanoparticles could be used for the cleaning of soils contaminated with other metals. For obtaining Au NPs, *Rhodospseudomonas*

capsulata (He et al., 2007), *Deinococcus radiodurans* (Li et al., 2016), *Shewanella oneidensis* y *Shewanella xiamenensis* (Wu & Ng, 2017) have been tried.

3.2 Fungi

The extracellular synthesis of NPs through fungi is very useful owing to the great scale of production and the economic viability. In this case, the enzymes and proteins secreted by the fungi work as reducing agents, allowing the synthesis through metallic salts. The fungi variants are chosen over bacteria owing to their greater tolerance and bioaccumulation of metals, as well as their capacity to reduce great quantities of NPs (Agarwal et al., 2017; Jamkhande et al., 2019; Singh et al., 2018). *Aspergillus* is among the commonly implemented genera, Ninganagouda et al. (2013) used the species *A. flavus* for the extracellular reduction of Ag, from which they evaluated its antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*, with effective results. *A. niger* has also been used for the reduction ZnO (Kalpana et al., 2018), as well as *A. fumigatus* for the biosynthesis of CuO (Ghareib et al., 2019). In both cases, the objective was to use the obtained NPs for photocatalytic processes in the removal of ZnO, as well as evaluating its catalytic activity in organic synthesis (Shamsuzzaman et al., 2017). In this sense, through their study, Ovais et al. (2018) emphasize some works in which various genera have been used for the reduction of NPs. In the case of intracellular biosynthesis, *Aureobasidium*, *Fusarium*, and *Rhizopus* have been used for gold and silver NPs; for the extracellular processes, the *Candida* and *Aspergillus* genera have been worked with for the reduction of Ag, ZnO, and Co.

3.3 Algae

Algae are photosynthetic organisms that vary from unicellular types (*Chlorella*) to multicellular types (kelps). They lack basic vegetal structures like roots and leaves and are classified according to the pigment present inside them, such as the red pigment in Rhodophyta, the brown pigment in Phaeophyta, and the green pigment in Chlorophyta (Agarwal et al., 2017). They are considered to be potential sources of a broad group of secondary metabolites, proteins, and pigments with which they can serve as nano factories of metallic nanoparticles (Khanna et al., 2019). Some implemented species are *Macrocystis pyrifera* for the reduction of CuO NPs (Arya-Castro et al., 2021), *Botryococcus braunii* in obtaining Cu, Ag, Pt and Pd NPs (Arya et al., 2018, 2020), *Chlamydomonas reinhardtii* for Cu NPs (Žvab et al., 2021), whilst Salem & Funda (2020) report in their evaluation that species from the genera *Chlorella*, *Phaeodactylum*, *Sargassum* and *Shewanella* have been used for the reduction of Au, Cd, and Pt NPs.

4. Biosynthesis of nanoparticles of metallic ions using plants

Compared with the synthesis of nanoparticles mediated by microorganisms, the use of plants presents diverse advantages owing to the rich biodiversity and easy availability of vegetative organisms that have been explored for the synthesis of nanomaterials (Kuppusamy et al., 2016). They also represent less biological risks during production and eliminate the laborious process

of cell cultivation, which has led to plants being considered the better option to reduce metallic ions, as well as being ideal candidates for the production on a great scale. This is in addition to producing stable NPs which are variable in both size and shape (Agarwal et al., 2017; Gan & Li, 2012; Nasrollahzadeh et al., 2020).

The metallic ions are biologically reduced to zero-valent metals or particles of metal oxide due to the phytochemicals present in the plant extracts constituted by their primary and secondary metabolites. They participate in a constant way in the redox reaction of their metabolic pathways, and act as reducing agents and stabilizers, minimizing the agglomeration and oxidation of nanoparticles. In addition, the process is generally carried out aqueously, thus dispensing with other organic solvents, and as such reducing the generation of toxic waste (Agarwal et al., 2017; Gan & Li, 2012; Jamkhande et al., 2019; Nasrollahzadeh et al., 2020). In accordance with Agarwal et al. (2017), pigments, terpenoids, flavonoids, alkaloids, carbonyls, amide groups, amines, phenols, vitamins, and amino acids are among the main reducing groups, whilst the groups that work as stabilizers are carboxylic, phenolic acid, and ascorbic acid.

4.1 Phytochemicals present in vegetal extract

Flavonoids, terpene, sugars, and secondary metabolites are among the main phytochemicals responsible for the reduction of metallic ions. Some examples are shown in figure 1 (Singh et al., 2018).

Flavonoids are a wide group of polyphenolic compounds that are soluble in water. They comprise various classes such as flavonols, isoflavonols, anthocyanins, chalcones, flavones and flavonoids, with the capacity to actively chelate metallic ions and reduce them to nanoparticles. It has been proposed that they are the main component of the aqueous extract in most plants (Gan & Li, 2012). Flavonoids contain various functional groups capable of forming NPs. It has been postulated that the tautomeric transformation of flavonoids, from the -enol shape to the -ceto shape can release an atom of reactive hydrogen capable of reducing to metallic iron. For example, quercetin is a flavonoid with very strong chelating activity, owing to its ability to chelate in three different positions involving carbonyl and hydroxyl group in the C3 and C5 positions, and the catechol group in the C3' and C4' locations (Makarov et al., 2014; Singh et al., 2018).

Terpenoids are a group of diverse organic polymers, made up of units of five carbon isoprenes with strong antioxidant activity. They are commonly found in essential oils from diverse medicinal plants (Makarov et al., 2014). The sugars present in the vegetal extract have also been shown to be responsible for the formation of NPs. Monosaccharides such as glucose and fructose can act like antioxidants when they have suffered a tautomeric transformation from ketone to aldehyde. The reducing capacity of disaccharides and polysaccharides depends on the capacity on whichever of their individual components in order to adopt a form of open chain within an oligomer and providing the metallic ion access to an aldehyde group (Makarov et al., 2014; Singh et al., 2018).

In addition, amino acids and proteins have also shown the capacity to reduce. Firstly, it has been observed that this varies between different amino acids. For example, in tyrosine, the hydroxyl groups are responsible for the reduction, whilst for glutamine and asparagine, it's the carbonyl groups. In the case of proteins, their reducing capacity and even their size, shape, and quantity of NPs will depend on the sequence of amino acids that composes them, and the access that the metallic ion has to the molecule's reducing location (Makarov et al., 2014).

All these phytochemicals are found distributed throughout the body of the plant, which is to say in roots, stems, leaves, flowers, fruits, and seeds. This has allowed all organs to be used for the bioreduction of many metals, as can be seen in table 1 (Agarwal et al., 2017).

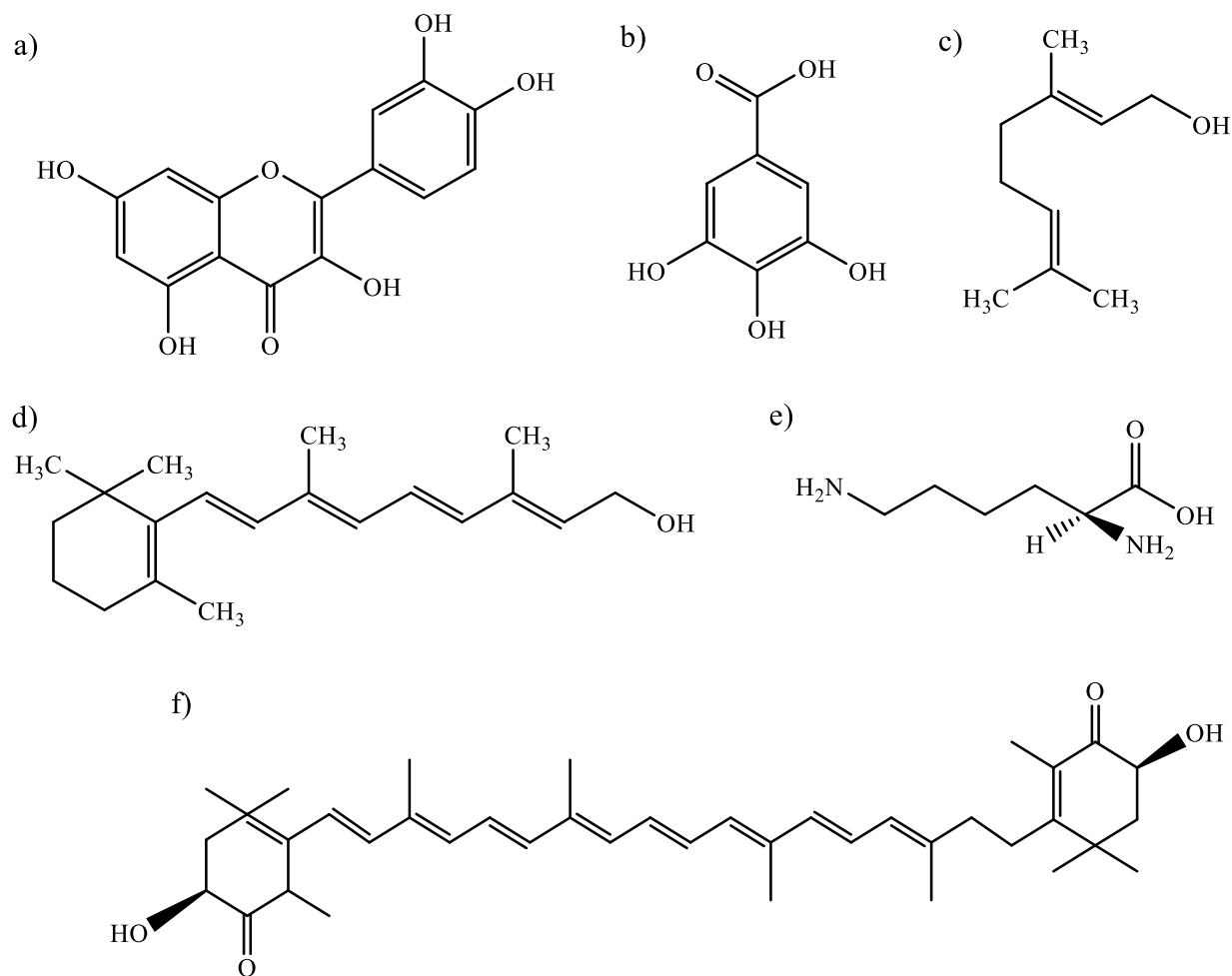


Figure 1. Examples of phytochemicals present in plants: a) Quercetin (flavonoid); b) Gallic acid (phenolic compound); c) Geraniol (terpenoid); d) Retinol (vitamin); e) L-lysine (amino acid); f) Carotenoid (pigment).

4.2 Proposed mechanisms

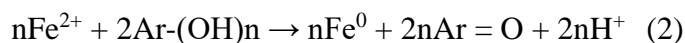
The elucidation of the exact mechanisms associated with the reduction of nanoparticles can be complicated - it is still not fully understood. However, some authors present certain proposals that can shed light on these mechanisms (Asghar et al., 2018).

Asghar et al. (2018) cite a possible general reaction mechanism for metallic ions in contact with phytochemicals present in vegetal extracts which could be considered for the reduction of a metal determined in equation 1:



...where n is the number of oxidized groups for the metallic ion, M represents the metallic ion, and Ar represents the aromatic groups. The formation of NPs is confirmed by a change in pH in the solution, which decreases at the end of the reaction.

For example, Devatha et al. (2016) propose a reduction mechanism for Fe^{2+} , where they indicate that the presence of polyphenolic groups directly reduces the iron ions to zerovalent iron. This is explained through stoichiometric equation 2, where Ar represents the phenyl groups:



Ahmad et al. (2018) report that they identified the presence of protocatechuic acid (polyphenolic compound) in the palm oil that they used for the reduction of trivalent gold in their analysis of FTIR. They mention that owing to the fact this compound was reported previously as one of the most abundant of this material, it was taken as a model compound that reacts with trivalent gold ions to oxidize by giving electrons to Au^{3+} in order to reduce them to gold atoms, as is shown in figure 2.

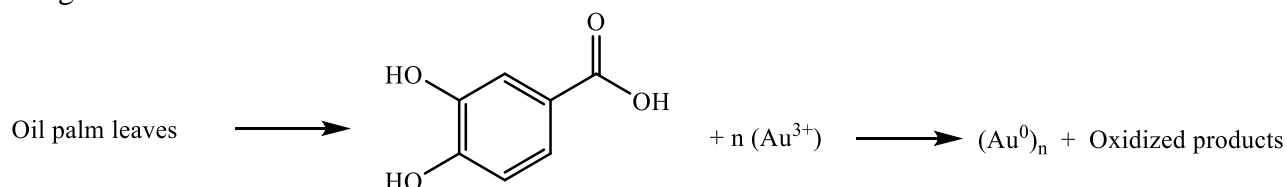


Figure 2. Reduction mechanism for Au^{3+} with oil palm leaves (modified from Ahmad et al., 2018).

In the same way, possible mechanisms for bimetallic nanoparticles that intervene in the reduction process have been suggested. Such is the case for Olajire & Mohammed (2020), who carried out a green synthesis of Pd/Au using *Ananas comosus* leaves as a reducing agent. They indicate that the analysis of the FTIR spectrum evidence that reduction of the ion mix is predominantly carried out by O-H groups of polyphenolic compounds, one of the isolated bioactive compounds of the leaf extract. For this reason, they propose a reaction mechanism between the polyphenolic compound and the mixture of palladium/gold ions (Pd^{2+} - Au^{3+}), where the electrons are given by the polyphenolic compound to the vacant d orbital of the mixture of palladium/gold ions, and later they are converted into a palladium atom (Pd^0) - gold atom (Au^0) (Fig 3). It is observed that through the mechanism, the π electrons of the polyphenol aromatic

ring can transfer electrons to the vacant d orbital of the palladium-gold ions and convert them into free atoms.

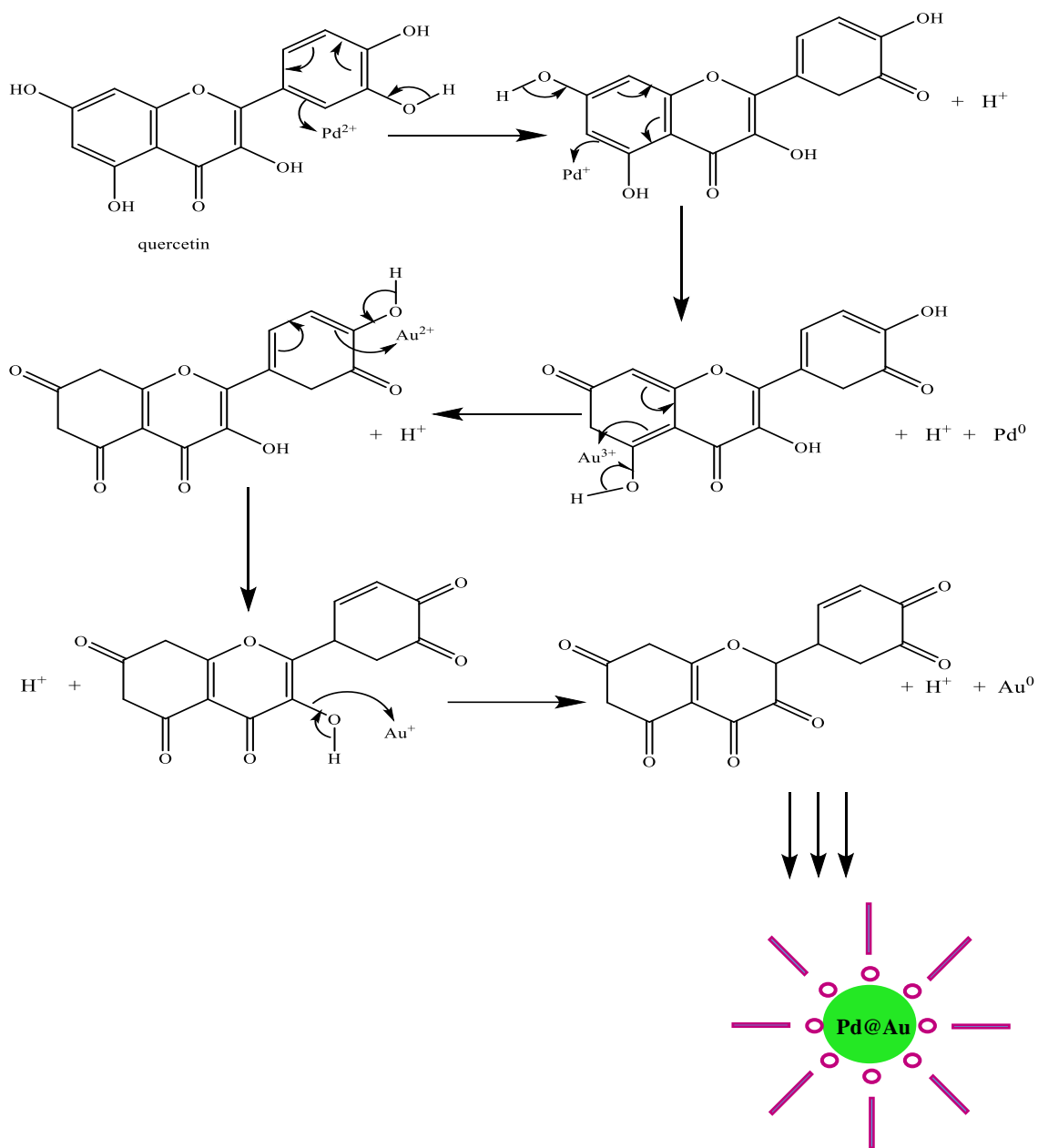


Figure 3. Proposed mechanism for bioreduction of the ions mixture Pd^{2+} y Au^{3+} a Pd y Au with polyphenolic compounds in *A. comosus* (modified from Olajire & Mohammed, 2020).

Metal	Reducing agent	Plant organ	Chemical species obtained	Form	Average diameter (nm)	UV-Vis (λ_{max}) nm	Functional groups	Applications	Author, year.
Ag	<i>Artemisia annua</i> L.	Leaves	Ag ⁰	Spherical	49.4 - 88	400- 500	ND	Antibacterial activity	(Aghajanyan <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Azadirachta indica</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	34	436- 446	N-H amines C=O alkyl groups	Antibacterial activity	(Ahmed <i>et al.</i> , 2016)
	<i>Salvia officinalis</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	40	439- 446	C-O, C-OC- flavonoids and terpenoids C=O, O-H, N-H phenolic compounds, flavonoids, proteins and saponins.	Dye removal	(Albeladi, Malik and Al-Thabaiti, 2020)
	<i>Commiphora myrrh</i>	Resin	Ag ⁰	Spherical	22	445	O-H, C-H phenolic compounds.	Antibacterial activity	(Alwhibi <i>et al.</i> , 2020)
	Green tea	Leaves	Ag ⁰	Spherical	10 -20	ND	O-H, C-H y C-O-H phenolic compounds.	Antibacterial activity	(Asghar <i>et al.</i> , 2018)
	Black tea								
	<i>Lippia citriodora</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	14	430	C-O, O-H, C=C phenolic compounds.	Medical activity	(Cruz <i>et al.</i> , 2010)
	<i>Acalypha wilkesiana</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	10 -26	450	O-H, C-H, C=C phenols, terpenoids, saponins and flavonoids.	Antibacterial activity	(Dada <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Vitex sp.</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	86	ND	C-H, O-H, C-O-C polyphenols	Antibacterial activity	(Deeksha <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Clitorea ternatea</i>	Flowers	Ag ⁰	Cubical	18 -50	400- 450	C-CH phenols and anthocyanins C=O y OH phenolic compounds.	Antibacterial activity	(Fatimah <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Acanthe phylum bracteatum</i>	ND	Ag ⁰	Spherical	40	425	ND	ND	(Forough and Farhadi, 2010)
	Persian manna								
	<i>Nelumbo nucifera</i>	Flowers	Ag ⁰	ND	90	450	N-H, C-C, C-O aromatic groups, alcohol	ND	(Hitesh and Lata, 2018)
	<i>Anthurium andraeanum</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	12- 46	419	ND	Antibacterial activity	(Korkmaz, 2020)
	<i>Ocimum sanctum</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	3- 20	436	O-H alcohols, polyphenols, carboxylic acids. C-N aromatic amines N-H primary amines	ND	(Mallikarjuna <i>et al.</i> , 2011)
<i>Prunus domestica</i>	Fruit	Ag ⁰	Spherical	50	380- 450	C-N, N-H amines C-H, O-H carboxylic acids and aldehydes	ND	(Mohaghegh <i>et al.</i> , 2020)	
<i>Catharanthus roseus</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	48- 67	440	ND	Antibacterial activity	(Mukunthan <i>et al.</i> , 2011)	

Metal	Reducing agent	Plant organ	Chemical species obtained	Form	Average diameter (nm)	UV-Vis (λ_{max}) nm	Functional groups	Applications	Author, year.
Au	<i>Allium sativum</i> L.	Slice	Ag ⁰	Spherical	8.19	447- 451	OH, C-H, C-N, N-H phenolic compounds, flavonoids, proteins, sugars.	Antioxidant and cytotoxic activity.	(Selvan <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Camellia sinensis</i> L.	Leaves			8.37				
		Rhizome			6.13				
	<i>Curcuma longa</i> L.	Grain	Ag ⁰	Spherical	29.6	350- 450	-NH ₂ , -OH proteins, C=O terpenoids or other aromatic groups.	Catalytic activity	(Sherin <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Terminalia bellerica</i>								
	<i>Olea europaea</i>	Fruit	Ag ⁰	Spherical	11.6- 20.7	436	O-H, N-H, CO-O-CO alcohols, phenols and proteins.	Antimicrobial activity	(Umair, Vikranth and Meenambiga, 2020)
	<i>Phyllostachys aurea</i>	Leaves	Ag ⁰	Spherical	13 ± 3.5	420- 450	ND	Antibacterial activity	(Yasin, Liu and Yao, 2013)
	<i>Elaeis guineensis</i>	Leaves	Au ⁰	Spherical	27.89 ± 14.59	500- 550	O-H polyphenolic compounds, C=O y N-H proteins and carboxylic acids	ND	(Ahmad <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Jasminum auriculatum</i>	Leaves	Au ⁰	Spherical	8 - 37	547	C-N, C-O phenolic compounds and amines.	Catalytic and antibacterial activity	(Balasubramanian, Kala and Pushparaj, 2020)
							O-H, C=O, N-H flavonoids, terpenoids, alkaloids and polyalcohols.		
	<i>Citrullis lanatus</i>	Fruit	Au ⁰	Spherical, hexagonal, and triangular	100- 200	560	ND	Antibacterial activity	(Chamsa-ard <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Vitis vinifera</i> L.	Fruit	Au ⁰	Spherical	57.1 ± 16.4	550.6	C=O, C=C, O-H phenolic compounds, carboxylic acids.	ND	(Dzimitrowicz <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Gnidia glauca</i>	Flowers	Au ⁰	Spherical, triangular and prism	5- 20	540	O-H, C=C, N-H, phenols, alcohols	Catalytic activity	(Ghosh <i>et al.</i> , 2012)
	<i>Coleus amboinicus</i>	Leaves	Au ⁰	Spherical, triangular, and hexagonal	20.5 ± 11.45	536	C-N Aromatic amines, C-OH secondary alcohols	ND	(Narayanan and Sakthivel, 2010)
<i>Camellia sinensis</i>	Leaves	Au ⁰	Spherical, triangular y hexagonal	18	536 529 (24 h)	Confirm the presence of polyphenols	Metal ion sensor	(Silva-De Hoyos <i>et al.</i> , 2019)	
<i>Citrus paradisi</i>	Fruit	Au ⁰	Spherical Triangular and hexagonal	10- 90 75- 325	540- 568	O-H, C-H, C=O, C-O-C polysaccharides	Metal ion sensor	(Silva-De Hoyos <i>et al.</i> , 2020)	
<i>Gymnocladus assamicus</i>	Scabbard	Au ⁰	Hexagonal, pentagonal and triangular	13.31 ± 2.5	526	ND	Catalytic activity	(Tamuly, Hazarika and Bordoloi, 2013)	

Metal	Reducing agent	Plant organ	Chemical species obtained	Form	Average diameter (nm)	UV-Vis (λ_{max}) nm	Functional groups	Applications	Author, year.
Fe	<i>Aegle marmelos</i> , <i>Eugenia jambolan</i> <i>Annona muricata</i>	Fruits	Au ⁰	Cubical	18 16 28	519 523 526	C=O, N-H, O-H, aromatic compounds.	Anticancer activity	(Vijayakumar, 2019)
	<i>Muntingia calabura</i> L.	Leaves	Au ⁰	ND	36.93	543.5	O-H, C=O flavonoids, tannins, terpenoids, C-N, C-H proteins.	ND	(Wahab <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Leaves	Au ⁰	Spherical	32- 45	552	C=O, O-H carbohydrates, tannins, flavonoids, phenolic acids.	Catalytic activity	(Zayed and Eisa, 2014)
	Neem	Leaves	Fe ₃ O ₄ y α -Fe	Spherical	Micro/nano	320- 325	C=C alkene groups	ND	(Afsheen <i>et al.</i> , 2018)
	Mango	Leaves	Fe ₃ O ₄ y α -Fe	Spherical		470- 475	-PH phosphines.		
	Rose	Leaves	Fe ₂ O ₃ , Fe ₃ O ₄ y	Spherical			N-H secondary amines.		
	Clove	Buds	α -Fe	Spherical			C-O-C, C=O polysaccharides, nucleic acids, and proteins		
	Carom	Seeds	Fe ₂ O ₃ , Fe ₃ O ₄ y α -Fe	Spherical					
	Green tea	Leaves	α -Fe ₂ O ₃	Spherical	40 -80	570	ND	Photocatalytic activity	(Ahmmad <i>et al.</i> , 2015)
	Green tea	Leaves	Fe ⁰	Spherical	42- 60	ND	C-OH, C=C, C-O-C flavonoids.	Antibacterial activity	(Asghar <i>et al.</i> , 2018)
	Black tea								
	Green tea	Leaves	FeO	Quasi-spherical	25.5 \pm 0.6	270	ND	Dye removal	(De León-Condés <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Magnifera indica</i>	Leaves	Fe ⁰	Spherical	100- 150	216- 256	O-H, C-H, C-H ₂ phenolic and	Domestic wastewater treatment	(Devatha, Thalla and Katte, 2016)
	<i>Murraya koenigii</i>	Leaves	Fe ⁰	Spherical	100- 150	256- 277	aliphatic compounds		
	<i>Azadiracta indica</i>		Fe ⁰	Spherical	96- 110	296- 325			
	<i>Magnolia champaca</i>		Fe ⁰	Spherical	99- 129	259- 282			
	Green tea	Leaves	α -Fe, Fe ₂ O ₃ , Fe ₃ O ₄ y	Spherical	40- 50	500- 700	ND	Dye removal	(Huang <i>et al.</i> , 2014)
	Oolong tea		FeOOH						
	Black tea								
	<i>Moringa oleifera</i> (MOS) (MOL)	Seeds Leaves	Fe ⁰	Spherical	2.6- 6.2 3.4- 7.4	210- 240	O-H, N-H, C-O, C-H, C= proteins and fatty acids	Nitrate removal and antibacterial activity	(Katata-Seru <i>et al.</i> , 2018)
<i>Eucalyptus sp.</i>	Leaves	FeNPs RGO/FeNPs	Spherical	4- 7	330- 450 270 y 330-450	C-O, C-C, C=O graphene groups, characteristic groups of eucalyptus were identified.	Adsorbent activity	(Weng <i>et al.</i> , 2018)	

Metal	Reducing agent	Plant organ	Chemical species obtained	Form	Average diameter (nm)	UV-Vis (λ_{max}) nm	Functional groups	Applications	Author, year.
Cu	Green tea Black tea	Leaves	Cu ⁰	Spherical	26- 40	ND	C-H, O-H flavonoids, and phenolic compounds	Antibacterial activity	(Asghar <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Punica granatum</i>	Fruit shell	CuO	Spherical	10- 100	282	-OH, C-O-C phenolic groups O-H, N-H phenolic groups and alcohols,	Insecticide	(Ghidan, Al-antary and Awwad, 2016)
	<i>Azadirachta indica</i>	Flowers	Cu ⁰	Spherical	44.9	560	C=C, C=O, C-OH, C-N proteins. N-H, C=O, C-OH terpenes, proteins.	Antibacterial activity	(Gopalakrishnan and Muniraj, 2019)
	<i>Eucalyptus globulus</i> L.	Leaves	Cu ⁰	Triangular	60- 75	ND	ND	Antifungal activity (Phytopathogens)	(Iliger <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Mentha piperita</i>	Leaves	Cu ⁰	Cluster	36- 50				
	<i>Ziziphus spina-christi</i>	Fruit	Cu ²⁺ y Cu ⁺	Spherical	5- 20	551	C-H, -NH, -OH, C=O phenols, alcohols, carboxylic groups.	Dye removal and antibacterial activity	(Khani <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Abies spectabilis</i>	Aerial parts	CuO	Spherical	50	403	C-O-C, C-O, C=O y OH	Anti-inflammatory and contraceptive activity	(Liu <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Azadirachta indica</i>	Leaves	Cu ⁰	Cubical	48	560	O-H phenolic groups C-N aromatic amines C-H Aldehydes	ND	(Nagar and Devra, 2018)
	<i>Syzygium aromaticum</i>	Buds	Cu ⁰	Spherical	15	580	C-H, C-N secondary amines, -C=C-, C=O proteins.	Antimicrobial activity	(Rajesh <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Calotropis procera</i>	Leaves	CuO	Cylindrical	40	292 y 355	O-H adsorbed on the NPs	ND	(Reddy, 2017)
	<i>Bauhinia tomentosa</i>	Leaves	CuO	Spherical	22- 40	384	C-H, C=O, N-O, C-O phenolic groups, tannins, and proteins.	Antibacterial activity	(Sharmila <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Achras sapota</i> Linn.	Fruit	Cu ⁰	Spherical	20 -40	603	OH, C-H, -C=C aromatic groups.	Cytotoxic activity	(Thakore <i>et al.</i> , 2019)
	Zn	<i>Delonix regia</i>	Leaves	ZnO	Hexagonal and different superstructures	20	312	C=C, C-N, C-O amino acids, heterocyclic compounds.	Antibacterial activity, with anticancer potential.
<i>Medicago sativa</i>		Leaves	Zn ⁰	Hexagonal	2- 5.6	335	ND	ND	(Canizal <i>et al.</i> , 2006)
<i>Costus Igneus</i>		Leaves	ZnO	Spherical	31	210 -230	ND	ND	(Chinnasamy <i>et al.</i> , 2018)
<i>Jatropha sp.</i>		Latex	ZnO	Hexagonal	100	310- 365	ND	Semiconductor	(Geetha, Nagabhushana and Shivananjaiah, 2016)
<i>Nyctanthes arbor-tristis</i>		Flowers	ZnO	Hexagonal	12-32	365- 369	N-H, C=O, C-N, C-H aromatic groups, amines and alkynes.	Antifungal activity	(Jamdagni, Khatri and Rana, 2018)
<i>Moringa oleifera</i>		Leaves	ZnO	Spherical	6- 10	350- 380	O-H, NH ₂ , H ₃ CO, C-H, OH- C=O bioactive compounds.	Electrochemical activity	(Matinise <i>et al.</i> , 2017)
<i>Lycopersicon esculentum</i>		Fruits shell	ZnO	Polyhedral	9.7 ± 3	ND	Aromatic rings.	Photocatalytic activity	(Nava <i>et al.</i> , 2017)

Metal	Reducing agent	Plant organ	Chemical species obtained	Form	Average diameter (nm)	UV-Vis (λ_{max}) nm	Functional groups	Applications	Author, year.
	<i>Citrus sinensis</i> <i>Citrus paradisi</i> <i>Citrus aurantifolia</i> <i>Passiflora caerulea</i>	Leaves	ZnO	Spherical	70	380	OH, C=C, C=O, C-N polyphenols, proteins, C-O, C-N, C-H amino acids, N-H amide groups.	Antimicrobial activity	(Santhoshkumar, Kumar and Rajeshkumar, 2017)
	<i>Eucalyptus globulus</i>	Leaves	ZnO	Spherical	11.6	361	O-H polyphenols, C-O carboxylic acids.	Photocatalytic activity	(Siripireddy and Mandal, 2017)
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Roots	ZnO	Spherical and irregular	33.14- 99.03	316	C-H, N-H aliphatic amines and amides, -CH aromatic groups.	Antioxidant activity	(Tetty and Shin, 2019)
	<i>Atalantia monophylla</i>	Leaves	ZnO	Spherical	30	352	C-O, C-H, -OH proteins, N=O, N-O, C-N aromatic amines.	Antimicrobial activity	(Vijayakumar <i>et al.</i> , 2018)

Table 1. Bioreduction of metallic particles using plants (*own elaboration*)

5. Influential parameters for obtaining nanoparticles

Different factors such as pH, temperature, concentration of metal salts, or the quantity of vegetal extract, play an important role in the control of nucleation, formation, and stabilization of NPs. Changes in these parameters can induce changes in the size and shape, as well as preventing the agglomeration of NPs (Khanna et al., 2019; Rai & Yadav, 2013).

5.1 Concentration of metallic ions

In the optimization studies of Ghosh et al. (2012), for the reduction of Au with *Gnidia glauca* flowers, they found that a concentration of 0.7 mM facilitates the synthesis best in comparison to other concentrations. They tried variations from 0.1 mM to 5 mM and found that although the synthesis speed increases with the concentration up to a value of 1 mM, in higher concentrations a reduction reaction is no longer observed. As such they conclude that this parameter plays an important role in the process. Ahmed et al. (2016) carried out green synthesis of silver nanoparticles through silver nitrate. For its optimization, they evaluated the concentration of the metallic salt from 1mM to 5mM, in accordance with the absorption spectrums obtained through UV-vis. As the concentration increases, so too does the absorption of the band locate at 445 nm. Jamdagni et al. (2018) used different concentrations of zinc acetate in order to optimize the synthesis of ZnO NPs with *Nyctanthes arbor-tristis*. They observed that an increase in the concentration of 0.0025 M to 0.01 M generates an increase in the absorption accompanied by a constriction of the band. Upon increasing to 0.02 M, a decrease in and broadening of the band absorption are generated. The investigators concluded that the increase in ion concentration beyond the threshold value leads to a decrease in nanoparticle synthesis.

In accordance with that reported by Chinnasamy et al. (2018), for the synthesis of ZnO nanoparticles with insulin plants. Through an ANOVA analysis, they found that the concentration of the metallic salt, in the case of zinc nitrate, has a greater contribution in determining the size of NPs compared to other considered parameters, such as reaction time, temperature, and quantity of vegetal extract. In this sense the studies carried out by Nagar & Devra (2018) on the optimum concentration of Cu salts indicate that upon increasing the concentration from 6mM to 7.5mM, the size of the NPs decreases. This is, according to the authors, due to the fact that the generation of NPs occurs in two steps - firstly, the nuclei are generated, and then the NPs grow. Increasing the concentration allowed the fast generation of nuclei that grew slowly, obtaining smaller nanoparticles. However, upon adding an excessive concentration of precursor salt, the high generation of nuclei will, as a result, give a greater agglomeration, increasing the final size of the NPs.

Dada et al. (2019) carried out the optimization of the synthesis process for obtaining Ag NPs with *Acalypha wilkesiana*, varying the molar concentration of the metallic salt. They found that in higher concentrations, the increase in size of the particles increases the intensity of the spectrum of the plasmon. Gopalakrishnan & Muniraj (2019) did something similar with the green reduction of copper with *Azadirachta indica* (Neem flower) trying concentrations of metal salts from 1mM to 10 mM. The optimal condition, determined by the maximum absorbance

intensity of the SPR was 2mM - with higher concentrations the absorbance band begins to decrease.

5.2 Vegetal Extract

The formation of nanoparticles occurs through ionic or electrostatic interactions between the complex metals and functional groups at the surface of the biomass. It has been observed that many phytochemicals in plants are involved as reducing or protective agents during the formation of nanoparticles, and that their concentrations are critical to the way in which the process is directed (Gan & Li, 2012).

The surface chemical is one of the main factors that not only determines the activity of NPs but also plays an important role in its stability. Phenolic compounds that cover biogenic metallic nanoparticles confer them greater stability in comparison with other used reducing agents. In general, phytochemicals are adsorbed on the surface of the particles through various mechanisms. The assemblage pattern on the surface of the metal depends on various intermolecular interactions between the adsorbed molecules and the surface of the metal (Amini, 2019). It is believed that one of the adsorption mechanisms is attributable to the presence of π electrons and carbonyl groups in the molecular structures of phytochemicals (Gan & Li, 2012).

It is the availability of reducing and protective agents that determines if the metal precursors are able to reduce and eventually lead to the formation of nanoparticles. Thus, the concentration of vegetal biomass used during biosynthesis should not be overlooked, as it determines the grade of reduction and stabilization exercised by the biomolecules, which could affect the resulting size and shape of the nanoparticles (Gan & Li, 2012).

Cruz et al. (2010) evaluated the quantity of added vegetal extract for the reduction of Ag with *L. citriodora* and observed that this influences the formation of NPs. Upon analysing the absorbance spectrums in UV-vis of the SPR, they observed an increase when they increased the quantity of used vegetal extract. However, when carrying out the analysis of the size and shape of the nanoparticles through TEM, they conclude that there is not a change in these characteristics related to the quantity of vegetal extract. Gan & Li (2012) propose in their revision that when the concentration of the vegetal extract increases, so too does the electron density such as charged groups in the reducers. This would limit the free electrons of the metal cluster within a small volume and would increase the surface charges of the metal clusters in a way that makes the resulting surface charges exercise a repulsive force that could lead to a reduction in the size of the particles.

In the green synthesis of silver carried out by Ahmed et al. (2016), for the evaluation of the vegetal extract as a reducing agent, they tried quantities from 1 to 5 mL. They observed through monitoring with UV-vis that upon increasing it to 4 mL, a slight movement from 445 to 448 nm is observed, which in accordance with the authors means there is a change in the size of the particles. In a similar way, Agarwal et al. (2017) relayed that in accordance with the revised documents, when the quantity of vegetal extract is increased, the size of the NPs decreases.

In 2018, Nagar & Devra carried out the green reduction of copper with *A. indica* leaves. In order to obtain the optimal conditions for reduction, they evaluated distinct percentages of vegetal extract from 5% to 25%. They observed that with the lowest percentage, they obtained a weak absorption band of the SPR through UV-vis, whilst at 20%, the band intensity increased, which they suggest is related to the reaction speed. They corroborated this through a graph of the conversion rate versus the vegetal extract percentage - the results indicate that the conversion rate increases with the increase of the extract percentage up to 20%. With higher percentages than this, the speed remains constant, which indicates agglomeration of the NPs. This is due to the excess of present biomolecules that promote a secondary reduction process, which begins on the surface of the performed nuclei, which increases the size of the NPs. Jamdagni et al. (2018) evaluated the influence of the quantity of flower extract from *Nyctanthes arbor-tristis* added to the synthesis of ZnO. They determined that an increase from 0.25 to 1 ml of extract in 50 mL of metal solution improves the absorption and bandwidth, whilst any increase or decrease of this volume generates a decrease in the absorption and bandwidth, and thus decreases the synthesis of NPs. On the other hand, Gopalakrishnan & Muniraj (2019) report in their optimization of the process that they evaluated different volumes of vegetal extract for the reduction of copper through the Neem flower, from 8 to 12 mL. They found the optimum volume was achieved at 10 mL, which signals that the results were based on the maximum absorption intensity of the band of the SPR found at a wavelength of 560 nm.

5.3 pH

Various investigations have shown that the size and shape of biosynthesized nanoparticles can be manipulated by varying the pH of the reaction mixtures (Rai & Yadav, 2013). An important influence of the pH of the reaction is its capacity to change the electric charge of the biomolecules, which could affect its stabilizing capacity and, subsequently, the growth of NPs. This could result in the favorable formation of certain shapes in a particular pH range in a way that could achieve a greater stability (Gan & Y 2012).

Nagar y Devra (2018) evaluated the synthesis of copper through *A. indica*. The authors considered the optimization of different factors to be important for their reduction process, among which was pH. They observed that for acidic values (4.5) the reduction reaction didn't occur, probably due to the inactivation of the involved biomolecules. For a high pH (6.6), small NPs were produced, whilst at higher pHs, the generation of bigger sized NPs was observed, which suggests an agglomeration process. The authors also report that during the synthesis process, the pH decreases owing to the release of H⁺ ions on the part of the species in the extract due to their oxidation in the presence of Cu²⁺ ions. Dada et al. (2019) investigated the effect of the pH on the formation speed of Au NPs and found that it increases when the pH is increased to 9.0. They propose that this is due to the responsible OH groups of the reduction, and that the formation of silver nanoparticles is more favorable in basic means corroborated by the SPR obtained through basic means.

Aghajanyan et al. (2020) evaluated the effect of pH on the synthesis of Au using *Artemisia annua*. They observed that the formation of smaller spherical NPs is favored in neutral and

alkaline pH (7.0, 9.0). They evaluated the values of acidic pH (3.0, 5.0) in the same way, and did not observe the formation of NPs. In a similar way, Gopalakrishnan & Muniraj (2019), in optimizing the pH value for obtaining copper nanoparticles, signal that the most favorable pH was 9.0, having evaluated pH values from 8.0 to 12.0. Jamdagni et al. (2018) also evaluated the optimum pH for the reduction to ZnO. The evaluated values varied from 9.0 to 13.0 - the lowest values did not show the formation of NPs, whilst with 12.0 and 13.0, the characteristic absorption band was observed. However, the band obtained at pH 12.0 was the clearest, and as such this value was considered the most suitable for the reduction.

5.4 Temperature

The temperature is considered to be a crucial factor in the formation of NPs, affecting the process of nucleation and their size. Cruz et al. (2010) report the evaluation of two temperatures used in the reduction of Ag with *L. citriodora* of 25 and 95°C. The results through UV-vis showed that upon increasing the temperature, a displacement in the absorption band of 440 to 420 is given. They also observed that the band of 440 nm obtained at 25°C modifies itself 24 h after the reaction, reaching 420 nm, whilst with the temperature at 95°C, both the intensity and the maximum length of the absorption band remain constant. The analyses with a transmission electron microscope suggest that this decrease in wavelength is related to the distribution of the size of the NPs. For Ghosh et al. (2012), the study of temperature optimization revealed a direct effect on the speed of the reaction kinetic for gold NPs. They observed that low temperatures (0 to 20°C) do not allow synthesis, whilst at average temperatures (30 to 40°C) a moderate synthesis was observed, and at 50°C a maximum speed was found, which supports what was previously reported, which indicates that high temperatures play a key role in improving the speed of the reaction. Nagar & Devra (2018) studied the effect of temperature on the formation of copper NPs and observed that upon increasing the temperature from 60 to 85°C, the rate of conversion increases in a way in which the effect of the temperature on the nucleation speed is greater than that on the speed of growth. However, when the temperature is too high, it promotes the nuclei to be colloidal, and they agglomerate, which is why the optimum temperature is 85°C.

On the other hand, Dada et al. (2019) studied the effect of temperature on the synthesis of silver nanoparticles, for which they varied the temperature from ambient temperature to 100°C. They observed that the increase in temperature generates an increase in the intensity of the band of the plasmon as a result of the bathochromic change, which results in a decrease in average diameter of the NPs. In order to ascertain the effect that was generated in green synthesis, Aghajanyan et al. (2020) used UV-vis spectrophotometry in order to monitor the formation of the surface plasmon resonance (SPR). The spectra evidenced the formation of Ag NPs in a short time between 40 and 60°C, and although they observed the formation of NPs at ambient temperature, this was slower, and the absorption band generated by SPR was not as pronounced as at the higher temperatures. Moreover, Gopalakrishnan & Muniraj (2019) also tested temperatures of 35, 80, and 90°C during the optimization process for obtaining Cu NPs, reporting that 80°C was the best. In the same way, Jamdagni et al. (2018) signaled that the most suitable for the reduction of ZnO with *Nyctanthes arbor-tristis* is 90°C, as they obtained the most prominent and narrow absorption band with only this temperature.

As observed, there are no unique conditions that can apply to each metallic salt, and which generate NPs with specific characteristics. As such, carrying out an optimization process that considers the following ranges as distinct parameters is recommended. Regarding the concentration of metallic salts, it is suggested that the working concentrations be considered to be in the range of 1 to 10 mM mainly in the case of noble metals. In accordance with that revised for other metallic ions, it is possible to increase the range to 0.1 M. It is important to remember that excessive concentrations can limit the reduction, and thus generate agglomeration that can affect the characteristics that are sought in NPs. The salt precursor also proves to be important given that when dealing with a nitrogenous salt, the concentrations can be smaller. In the case of vegetal extract volume, as reported previously, upon increasing this factor, the size of the NPs decreases. As such, the use of percentages higher than 5% is recommended. For the pH, it is recommendable to work between the values of 5.0 and 12.0, given that lower values will not have a reduction process. For the temperature, it is better to work with high temperatures, or those that are at least higher than 50°C and lower than 100°C.

6. Characterization techniques

Once prepared, the metallic nanoparticles conform to diverse characterization techniques in order to determine their size, shape, distribution, morphology, and surface area. The spectroscopic and diffractographic techniques involved include UV-visible spectroscopy (UV-vis), energy dispersion spectroscopy (EDS), x-ray diffraction (XRD), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), x-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and they are used to analyses the chemical composition, structure, and crystalline phase of NPs. On another note, microscopic techniques such as scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), high resolution transmission electron microscopy (HR-TEM), and atomic force microscopy (AFM), are employed in order to determine the size and morphological characteristics of the NPs (Khanna et al., 2019).

NPs	UV-Vis	DRX	EDS	DLS	XPS	IR-TF	SEM	TEM	AFM	TGA	BET	Author, year
Ag	•			•				•				(Aghajanyan et al., 2020)
	•			•		•		•				(Ahmed et al., 2016)
	•	•				•		•		•		(Albeladi et al., 2020)
	•					•		•				(Alwhibi et al., 2020)
	•			•		•	•					(Asghar et al., 2018)
	•	•		•		•		•				(Cruz et al., 2010)
	•			•		•	•	•				(Dada et al., 2019)
	•	•				•	•	•				(Deeksha et al., 2021)
	•	•				•	•	•				(Fatimah et al., 2020)
	•	•		•			•	•				(Forough & Farhadi, 2010)
	•	•					•					(Hitesh & Lata, 2018)
	•	•						•	•			(Korkmaz 2020)
	•	•					•		•			(Mallikarjuna et al., 2011)
	•	•				•	•	•	•			(Mohaghegh et al., 2020)
	•			•				•				(Mukunthan et al., 2011)
	Au	•	•	•			•	•	•			
•		•	•			•	•	•				(Sherin et al., 2020)
•		•	•			•	•	•				(Umai et al., 2020)
•		•	•					•				(Yasin et al., 2013)
•		•	•			•	•	•		•		(Ahmad et al., 20189)
•		•	•			•	•	•				(Dzimitrowicz et al., 2018)
•		•		•		•		•				(Ghosh et al., 2012)

	•	•	•		•	•	•	(Narayanan & Sakthivel, 2010a)
	•	•	•				•	(Tamuly et al., 2013)
	•		•		•		•	(Vijayakumar, 2019)
	•	•			•	•		(Wahab et al., 2018)
	•	•		•	•			(Afsheen et al., 2018)
	•	•			•	•		(Ahmmad et al., 2013)
Fe	•		•		•	•		(Devatha et al., 2016)
	•	•	•				•	(Huang et al., 2014)
	•	•			•			(Katata-Seru et al., 2018)
	•		•				•	(Weng et al., 2018)
	•	•		•	•			(Ghidan et al., 2016)
	•	•			•	•		(Gopalakrishnan & Muniraj, 2020)
		•				•		(Iliger et al., 2021)
Cu	•	•			•	•		(Khani et al., 2018)
	•				•			(Liu et al., 2020)
	•	•	•		•	•		(Nagar & Devra, 2018)
	•	•			•			(Rajesh et al., 2018)
	•	•			•	•		(Reddy, 2017)
	•	•	•		•		•	(Sharmila et al., 2018)
	•	•			•	•		(Begum et al., 2020)
	•	•						(Canizal et al., 2006)
	•	•	•		•	•		(Chinnasamy et al., 2018)
	•	•	•		•	•		(Geetha et al., 2016)
Zn	•	•		•	•			(Jamdagni et al., 2018)
	•	•	•		•			(Matinise et al., 2017)
	•	•	•		•	•		(Santhoshkumar et al., 2017)
	•	•	•	•	•			(Siripireddy & Mandal, 2017)
	•	•	•		•	•		(Tetty & Shin, 2019)
	•	•	•		•	•		(Vijayakumar et al., 2018)

Table 2. Characterization techniques implemented in the study of bio-reduced metallic nanoparticles (*Own elaboration*).

6.1 UV-vis

UV-vis spectrophotometry is employed to confirm the synthesis of NPs (Agarwal et al., 2017). Various investigators agree that one of the first signs of the reduction of metals is the change in color between the solutions before and after the reduction reaction. They mention that this change indicates the formation of nanoparticles, confirmed by the visible surface plasmon resonance (SPR) in the UV-vis absorption spectrum (Asghar et al., 2018; Kuppasamy et al., 2016). As observed in table 2, it is one of the first pieces of evidence that the reaction reduction has taken place. The surface plasmon resonance for each type of particle can be found in the form of characteristics in a specific region of the absorption spectrum in a way that the SPR of silver NPs can be found between 400 to 500 nm, whilst for gold NPs, they are generally found between 500 to 550 nm, as shown in table 1.

SPR gives a spontaneous spectroscopic signal generated by the formation of nanostructures, which is due to the free electrons which emerge due to the conduction and valence bands being very close to each-other. When the oscillating electromagnetic field (in the light) generates a coherent collective oscillation of electrons from the conduction band of the metals during their exposure to the light, it provokes a separation of charge around the surface of the metals (Ahmad et al., 2018; Dada et al., 2019).

6.2 FTIR

Analyses through Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) are relevant for determining the functional groups present in vegetal extracts, which allows the investigation of the underlying synthesis mechanism, and the surface chemical. Usually the ranges used are found between 4000 and 400 cm^{-1} , with a resolution of 4 cm^{-1} , which gives a clear idea of the reducing agents responsible for the covering, reduction, and stabilization of the NPs. The main limiting factor of this technique is found in the superposition grade of the IR absorption bands in the complex biological matrix (Dada et al., 2019; Khanna et al., 2019).

The comparison between the transmittance spectra of the aqueous vegetal extract and the means of reaction offers information on the biomolecules involved in the process (Dada et al., 2019; Khanna et al., 2019). The extracts contain numerous functional groups like C=C (alkenes), C=N (amide) O=H (phenolics and alcohol), N- H (amine), C - H and COO- (carboxylic groups).

6.3 XRD

The purity, crystalline size, geometry, orientation, and phases can be determined through XRD data. Generally, the diffraction patterns are compared with a standard crystallographic database such as JCPDS in order to have the structural information. Using the Debye Scherrer formula (3), an approximation of the particle size is obtained. XRD functions well with the identification of NPs in one or various phases. Additionally, the diffractogram is influenced by amorphous NPs that have varying interatomic longitudes (Khanna et al., 2019).

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (3)$$

...where K is the Scherrer constant ($K = 0.94$), D is the average size of the crystal, β is the total width at half the maximum of the spikes (FWHM) for a Gaussian adjustment, λ corresponds to the wavelength of the used radiation Cu $K\alpha$ ($\lambda = 0.1546 \text{ nm}$), and θ is half of the diffraction angle of the Bragg peak (Rajesh et al., 2018).

6.4 XPS

Typically for the determination of chemical types present in a sample, an analysis through x-ray photoelectron spectroscopy (XPS) is turned to. It can also shed light on the interaction between NPs and their adjacent biomolecules, as well as signaling the presence of secondary or undesired elements that could reduce its efficiency or lead to a secondary reaction and process contamination (Ealia & Saravanakumar, 2017; Khanna et al., 2019).

6.5 SEM/TEM

Scanning electron microscopy (SEM) offers information on particles at the nanoscale and helps to determine the surface morphology and the dispersion of free NPs or those in the matrix. Transmission electron microscopy (TEM) is more commonly used for the size and shape and can also offer information on the number of layers of the material, given that it varies from a low or high increase. However, when both are combined with EDAX or EDS, information is

provided on the elements present. When the precise shape, size, and crystalline structure need to be known, HR-TEM is used (Khanna et al., 2019).

As has been observed, all the implemented characterization techniques provide important and necessary information regarding the characteristics of bio-reduced NPs. Among these techniques, a conclusive tool for said characteristics is transmission electron microscopy. However, it is appropriate to highlight that UV-vis spectrophotometry is the first technique chosen to confirm the presence of NPs in the bio-reduction solution (Powar & Patel, 2019; Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

7. Applications

Metal nanoparticles are of great interest to several disciplines including biotechnology / biomedicine, bioremediation, agriculture, catalysis, biosensors, among others (Rai & Yadav, 2013).

7.1 Monometallic Particles

Silver

According to Dada et al. (2019), of all metal nanoparticles, those of silver have been largely explored by researchers around the world due to their versatility, simplicity of synthesis, adaptability, morphology, and high surface area. One of its main applications resides in the evaluation of their antibacterial activity. In this sense, Yasin et al. (2013) obtained AgNPs with bamboo leaves through bio-reduction, tested against the pathogenic bacteria *E. coli* and *Staphylococcus aureus*; the results indicate that the effectiveness of the NPs applied increases with the concentration used, however, they reported that 20 µg / mL is the minimum concentration that reduces bacterial proliferation.

Korkmaz (2020) evaluated the bactericidal activity of AgNPs obtained by green reduction with *Anthurium andraeanum* against the bacteria: *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella infantis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Bacillus epidermidis*. MIC and MBC tests indicated that the minimum inhibitory concentration against all species was found at 0.125 mg / mL, while the bactericidal effect for all strains was 1 mg / mL except for *S. aureus*. Alwhibi et al. (2020), synthesized AgNPs with *Commiphora myrrha* and tested its antibacterial activity against several gram-negative strains. According with the authors, the antibacterial effectiveness is explained by two pathways, the first is membrane damage through an association / interaction of NPs with biomolecules and DNA, causing the inhibition of cell multiplication, and second by formation of reactive oxygen species through their interaction with enzymes and / or biomolecules generating cell damage or destruction. This same study concerned the anticancer activity of NPs and found that cell viability is reduced by increasing the concentration of nanoparticles used, reaching 30% cell viability with 100 µL of AgNPs.

Silver NPs have also been applied as catalysts, Albeladi et al. (2020), for example carried out the green reduction of Ag with *Salvia officinalis* and evaluated their ability to degrade the Congo

red dye (CR) through a catalytic reduction with sodium borohydride (NaBH₄). It was found that the addition of Ag NPs significantly increase the degradation of the dye up to 82.22 % due to the high availability of active sites on their surface where electron transfer is mediated. Sherin et al. (2020), also tested the catalytic capacity of AgNPs synthesized with *Terminalia bellerica* for the degradation of four organic pollutants (4 nitrophenol, methyl blue, eosin yellow and methyl orange), the results showed good catalytic activity with the dose dependent on ambient conditions.

Gold

Gold nanoparticles are among the most used for medical applications as reported by Amini et al. (2019); their antibacterial activity was tested by Chamsa-ard et al. (2019), against *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*, with NPs obtained by bioreduction with *Citrullis lanatus*; the fruit was split in two parts, the inner red and the outer green; each portion allowed obtaining AuNPs with outstanding antibacterial properties, which is why the authors consider that the AuNPs are potential candidates for incorporation in new types of antibiotics. Also, the authors highlighted the effectiveness of the production technique based on green chemistry and its low cost.

Balasubramanian et al. (2020), obtained AuNPs by green reduction with *Jasminum auriculatum* leaf extract and evaluated their antimicrobial activity against various species of pathogenic bacteria and fungi, the results obtained by the disk diffusion method showed that their efficiency depends on the size and amount of NPs; the authors referred that the probable mechanisms consist of: 1) the damage caused to the cell membrane and the sulfide and phosphate groups of DNA and protein by the interaction with the NPs, and 2) the induction of Reactive oxygen species that can damage the cell membrane, DNA, and lead to cell death.

Balasubramanian et al. (2020), also evaluated the anticancer activity of the AuNPs produced and the results of cytotoxicity against HeLa cancer cells indicate that the inhibition capacity depends on the time and dose administered: the gold nanoparticles suppress the cell viability by 69.28 % with a dose of 200 µg / mL. In this same line, Vijayakumar (2019) prepared AuNPs with extracts of the fruits of *Aegle marmelos*, *Eugenia jambolana* and *Annona muricata*. The results indicate that the inhibition of cell viability depends on the concentration of the administered NPs, but it was also evidenced that the phytochemicals involved in stabilizing these also influence their cytotoxicity, the NPs reduced with *Annona* were 30% more effective than the others with concentrations of 120 µg / mL.

Iron

Iron nanoparticles, Fe₃O₄ and FeOOH (a total of 16 polymorphic structures) attract increasing interest due to the rapid development of their applications (Kharissova et al., 2013), among these Katata-Seru and collaborators (2018) evaluated the antibacterial effectiveness of FeNPs

obtained by green reduction with *Moringa oleifera* leaves and seeds (MOL-FeNPs and MOS-FeNPs) against antibiotics such as ampicillin, gentamicin, erythromycin and vancomycin on gram negative strains; the results show that MOS-FeNPs are more effective than MOL-FeNPs against *E. coli* because they are the smallest NPs. The authors considered that the positive charge of the Fe ions may be responsible for the antibacterial activity through the attraction between the negative charge of the cell membrane of microorganisms.

Huang et al. (2014), obtained FeNPs by bioreduction using green tea, black tea and oolong tea (GT-FeNPs, BT-FeNPs and OT-FeNPs respectively) to apply them in a comparative study aiming to remove malachite green dye (GM); the results indicate that the highest efficiency was obtained with GT-FeNPs (81.6%). The authors suggested that the polyphenol molecules associated with the NPs of Fe which, by inducing its corrosion, allows the release of electrons capable of breaking the $-C = C-$ and $-C = N-$ bonds in the benzene rings. On the other hand, Devatha and collaborators (2016) evaluated the FeNPs obtained by green reduction of with *Mangifera indica* extracts (MI-FeNPs), *Murraya koenigii* (MK-FeNPs), *Azadirachta indica* (AI-FeNPs) and *Magnolia champaca* (MC-FeNPs). For the treatment of domestic wastewater, the results indicate that the best treatment is obtained with AI-FeNPs with a removal efficiency of 98.1%, 84.3% and 82.4% for phosphates, ammoniacal nitrogen and COD respectively, using 1 g / L of NPs. Ouyang et al. (2019), carried out the reduction of Fe with a pure extract of polyphenols, to evaluate its catalytic capacity in the removal of Lincomycin (LCM), for which various systems were tested with NPs (GFe0.25, GFe0.5 and GFe1.0), it was found that with the GFe0.5 the degradation rate of the MCL after 90 min was 93.85% using a dose of 0.01 g / L.

Copper

Copper oxide (CuO) is an important semiconductor metal oxide with a band gap of 1.7 eV that can be obtained by green reduction and be used in the formulation of pesticides, fungicides and antibacterials, such as Ghidan et al. (2016) who evaluated CuO nanoparticles obtained by bioreduction with *Punica granatum* to eliminate the green peach aphid with an 86% efficiency in percentage of mortality, using a 8000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ concentration of NPs. Ilger et al. (2021), on the other hand, evaluated the effect of Cu NPs obtained with *Eucalyptus globulus* L. against the fungus *Colletotrichum capsici*, which causes rotting of chili fruit that affects farmers in India, the results obtained showed that concentrations of 500 ppm and 1000 ppm of NPs inhibit micellar growth completely. In addition they prolong the incubation period by reducing the number and length of the lesions caused by this fungus. Gopalakrishnan and Muniraj (2019) obtained CuNPs with *Azadirachta indica*, tested its antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia* and *Staphylococcus aureus* and obtained a high efficiency against *P. mirabilis* using 40 $\mu\text{g} / \text{mL}$ of NPs.

In the medical area CuONPs have been evaluated as anti-inflammatory and anti-nociceptive in mice as reported by Liu et al. (2020), who obtained CuONPs by bioreduction with *Abies spectabilis*, their results indicate that CuONPs are effective by inhibiting nociceptive and inflammatory responses in mice with administered doses of 15 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ without producing behavioral changes in them, however, more studies are required to understand the exact therapeutic mechanisms. CuNPs have also been evaluated for wastewater treatment: Khani et

al. (2018), reduced copper using *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. To apply the NPs obtained in the adsorption of the crystal violet dye, after optimizing the process, it was found that with the conditions of pH 9.0, dye concentration of 35 µg / mL, stirring time 7.5 min and 80 mg amount of sorbent, the removal efficiency reached 95%.

Zinc

Zinc oxide (ZnO) exists within the earth's crust as a mineral, zincite, however, most of it that is used commercially is obtained from synthetic methods. ZnO is not toxic and is compatible with human skin, making it an acceptable additive for textiles and surfaces that are in direct contact with the skin (Mirzaei & Darroudi, 2017). ZnO NPs have been tested as antimicrobial, Gunalan et al. (2012), performed the bioreduction of ZnO with aloe extract to evaluate its antimicrobial activity compared with NPs prepared by a chemical method, the results obtained for the minimum inhibitory concentration (MIC) suggest that the small NPs prepared by the green method show an improved microbicidal activity due to the greater surface area in relation to volume. The authors observed that ZnO NPs have a selective antimicrobial activity for both the bacteria and fungi evaluated; therefore, they considered that these constitute an effective agent against pathogenic microorganisms. Later, Santhoshkumar et al. (2017) obtained ZnO from green reduction with *Passiflora caerulea* to evaluate its antimicrobial activity against urinary tract pathogens such as *E. coli*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Klebsiella sp.* The results showed that NPs have a dose-dependent effect, having a greater effectiveness for gram- than for gram + bacteria. The authors pointed out that NPs have different mechanisms of action against bacteria due to their structural differences.

In the medical area, Tettey and Shin (2019) synthesized ZnO NPs with *Scutellaria baicalensis* root extract, to evaluate its antioxidant and cytotoxic activity, in terms of antioxidant activity it was observed that it is dependent on the applied dose, namely it increases with increasing dose, in comparison with a standard antioxidant, the effectiveness was low, which the authors explained was not conclusive, thus they recommended more explorations in this regard. Regarding the cytotoxic activity, it was observed that the antiproliferative activity is also dose-dependent when tested against the growth of HeLa cells, the main possible mechanism according to the authors is the generation of free radicals that induce apoptosis in these cells, though they were tested with cells of the immune system and did not show toxicity at concentrations up to 1 mg / mL, which suggests that these NPs generated by green pathways could be promising candidates for the design of agents with a combined antioxidant and anticancer effect.

7.2 Bimetallic particles

Bimetallic nanoparticles differ from monometallic ones in that they contain two metallic ingredients, for their preparation from two precursor salts, two methods can be adopted: 1) co-reduction, which is the simultaneous reduction of two metals and 2) successive reduction in that one metal is reduced over the nuclei of the other. Depending on the method used, nanoparticles will be produced in alloy or in layers (core-shell). Alloys have received increased

attention due to the possibility of setting their properties over a wide range, simply by varying the composition of the alloy (Sumbal et al., 2019; Thakore et al., 2019). Bimetallic nanoparticles are of great interest for their applications in catalysis, electronics, as optical materials and coatings, and various methods have been reported to obtain them, however, reports on green routes to obtain bimetallic NPs are still few (Lagashetty et al., 2019; Schabes-Retchkiman et al., 2006).

Regarding the applications in the medical area, bimetallic NPs have been tested in antibacterial studies such as the one carried out by Al-Haddad et al. (2019), where they implemented the green reduction of bimetallic Cu-Ag particles with extract of *Phoenix dactylifera* leaves, evaluating the antibacterial activity of NPs against gram-positive and gram-negative results indicate that the bimetallic system exhibited good bacterial resistance at very low concentrations with an inhibition zone greater than 20 mm for both strains. Lagashetty et al. (2019), obtained Ag-Au bimetallic NPs by green reduction with Piper betle against *Bacillus subtilis* and *Klebsiella planticola* strains: the results indicate that NPs are more effective for *B. subtilis*. Merugu et al. (2020), used *Borassus flabellifer* for the reduction of bimetallic NPs Ag / Cu and Cu / Zn, evaluating its antibacterial activity against *Alcaligenes faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia* and *Clostridium perfringens*, the results indicate that NPs Ag / Cu and Cu / Zn are more effective than the tested control drugs (ciprofloxacin and amoxicillin), except for *Staphylococcus aureus* where amoxicillin showed better results.

In studies on anticancer and antioxidant activity, Elemike et al. (2019), developed a Ag-Au bimetallic system using *Stigmaphyllon ovatum* to test its cytotoxic capacity with HeLa cell lines; the results showed that, compared to bimetallic NPs the system showed greater activity due to possibly the synergistic effect of the two metals. According with the authors, the ability to inhibit cell viability is related to the ability of metals to generate Fenton-like reactions by means of which reactive oxygen species are produced that damage DNA and lead to cell death. In this same sense, Thakore et al. (2019), evaluated the cytotoxic effect of the Cu / Ag alloy bioreduced with sapota fruit latex, the tests with different proportions of the metals did not show cytotoxic effects, so its therapeutic application could lead to products biocompatible with the latex-coated alloy. Merugu et al. (2020), tested their bimetallic NPs against HeLa cancer cells and their antioxidant activity, with respect to the first test, the results indicate that the inhibition of cell viability increases with increasing dosage of NPs for both combinations Ag / Cu and Cu / Zn.

7.3 Biosynthesis of Fe / Cu bimetallic nanoparticles and their application in the removal of indigo carmine.

One other area to use of NP's is in environmental remediation, specifically the treatment of water and wastewater through Advanced Oxidation Processes (AOP); this is a group of techniques that consider the environment the subject for the elimination of persistent organic pollutants, pathogens and by-products of water disinfection through the *in situ* formation of powerful oxidizing agents such as the hydroxyl radical (HO[•]). One of these processes is the Fenton reaction, which is based on the decomposition of hydrogen peroxide catalyzed by iron ions in

an acid medium, among its main advantages are its low cost, ease of application at room temperature and ambient pressure. However, one of its main disadvantages lies in the high amounts of iron necessary to carry out the process (50-80 mg / mL) (Oruç et al. 2019; Scaria et al. 2020). Recently, the use of bimetallic catalysts (Elias E. Elemike et al. 2019; Xiulan Weng et al. 2017; Zhu et al. 2018) has shown that they have a better catalytic activity as result of the surface area increase and the synergistic effect between the two metals, which not only improves the degradation of pollutants complexes, but it is also useful to achieve the complete mineralization of their by-products. In this sense the Fe-Cu bimetallic catalysts have attracted attention because, as has been suggested, there is the interaction between the redox couple of the two Fe-Cu metals that could accelerate electronic transfer at the interface and thus improve the activation of H₂O₂ by the catalyst (Scaria et al. 2020; Sun et al. 2019; Tang & Wang, 2020; Wang et al. 2018).

Eucalyptus globulus belongs to the Myrtaceae family; due to its rapid growth which increases its timber biomass, the Eucalyptus genus is widely cultivated in the Mediterranean, its leaves are used for traditional remedies of several respiratory conditions (Boulekbache-Makhlouf et al. 2013). Among its main components are holocellulose (83.2%), lignin (34.1%), and extractives (6.5%), where the latter are made up of lipophilic compounds and polyphenolic compounds responsible of its anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant properties (González et al. 2017), the use of *Eucalyptus globulus* has already been reported for the synthesis of metallic nanoparticles (Iliger et al. 2021; Siripireddy & Mandal, 2017), its biomolecules play a key role in the reduction of ions at the nano scale and stabilization of nanoparticles (Iliger et al. 2021), in addition to being an economical and environmentally friendly method.

7.3.1 Materials and Methods

Preparation of the vegetal extract

Generally, the biosynthesis of metallic nanoparticles is carried out in aqueous solution (Amini et al. 2019), various authors agree on the procedure to obtain the plant extract, considering small variations such as plant organ used, amount of biomass per volume, boiling time (Agarwal et al. 2017; Ahmad et al. 2018; Rajesh et al. 2018; Siripireddy & Mandal, 2017).

In this research, eucalyptus leaves, moringa leaves and hibiscus flower were used to obtain the plant extract with which the Fe / Cu bimetallic particles were reduced. The leaves were acquired in the municipal market of Metepec, State of Mexico, transported to the laboratory and washed thoroughly to remove dirt and dust, then were placed in a paper bag in an oven at 100 °C for 24 hours, until they look completely dry. They were macerated to obtain a fine powder that was kept in an airtight container until use.

The infusions were prepared following the process reported by Siripireddy and Mandal (2017), namely: 10 g of eucalyptus, moringa and hibiscus leaf powder were weighed separately (Fig.

4); each sample was placed in a beaker and 70 mL distilled water were added, then the obtained suspensions were placed on a heating plate at constant stirring until boiling, the infusions were allowed to boil for 10-15 min, after which were removed and the supernatant was filtered, obtaining 50 mL of infusion. It was allowed to cool to room temperature and used for reduction reaction.

The three infusions prepared were tested to obtain Cu particles to evaluate which reducer was more efficient to be used to carry out the reduction reaction of the Fe / Cu bimetallic catalyst.

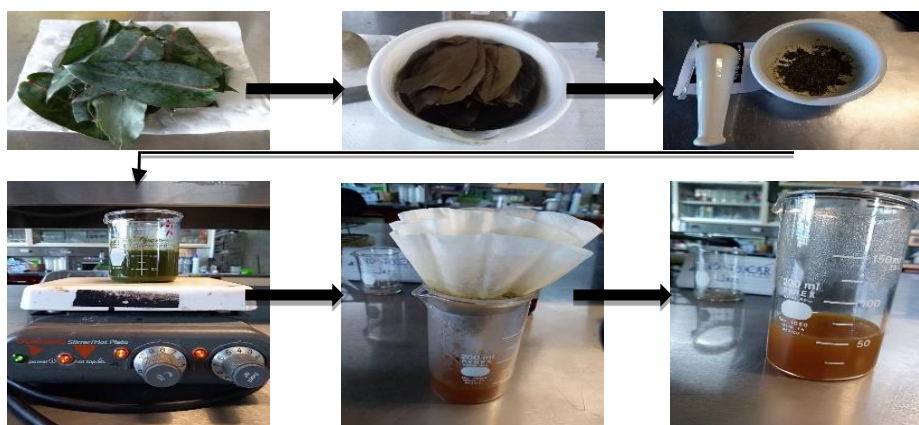


Figure 4. Procedure for the elaboration of the vegetal extract from eucalyptus leaves (*own elaboration*).

Reduction reaction

For the reduction reaction, 150 mL of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.05 M were prepared with distilled water in a volumetric flask. The reduction reaction was carried out with the moringa extract plus the copper solution in a 1:1 volume ratio, at room temperature under constant stirring for one hour, but no color change was observed in the solution that remained a light green color, which suggested that the reduction process was not taking place (Fig. 5d). Subsequently, the hibiscus solution and the copper solution were tested under the same conditions; although the color change was not very evident, the resulting solution was filtered because a little turbidity was observed, obtaining very few particles (Fig. 5e). Finally, the test with the eucalyptus infusion resulted in the color change from light brown of the infusion to dark brown that was due combination to reaction with the copper solution after the first 5 minutes (Fig. 5f), so this infusion was used as a reducing agent for the Fe / Cu bimetallic particles.

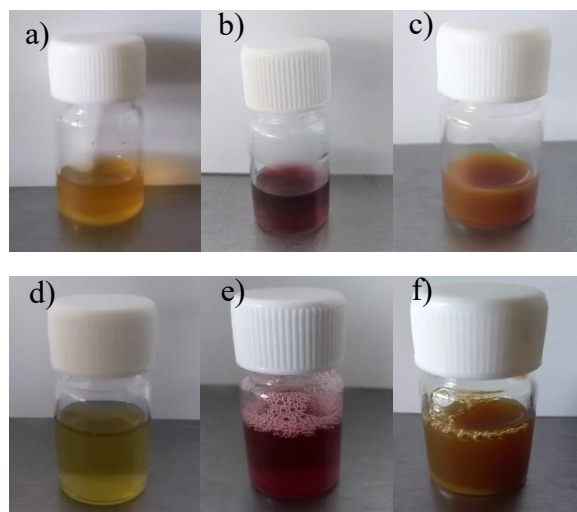


Figure 5. a), b) and c) infusions of moringa, hibiscus and eucalyptus before the reduction reaction; d), e) and f) solutions after one hour of reduction reaction with copper.

For the reduction of Fe / Cu bimetallic particles, 50 mL were prepared with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ at a concentration of 0.05 M in distilled water, once the bimetallic solution had been prepared, the infusion of eucalyptus leaves (IEH) was added in a 1: 1 volume ratio, the color change from light brown to dark was observed immediately, the reaction was kept under constant stirring for 2 h, then the solution was left to rest for 24 h, after which it was filtered on a Büchner funnel; the particles obtained were dried at 70 °C for 48 hours and stored in 3 mL hermetic vials

Characterization of the Fe/Cu NPs

Determination of the SPR of the IEH-Sol containing Fe / Cu solution by means of UV-visible with a Perkin-Elmer Lambda 25 spectrophotometer.

Indigo carmine removal

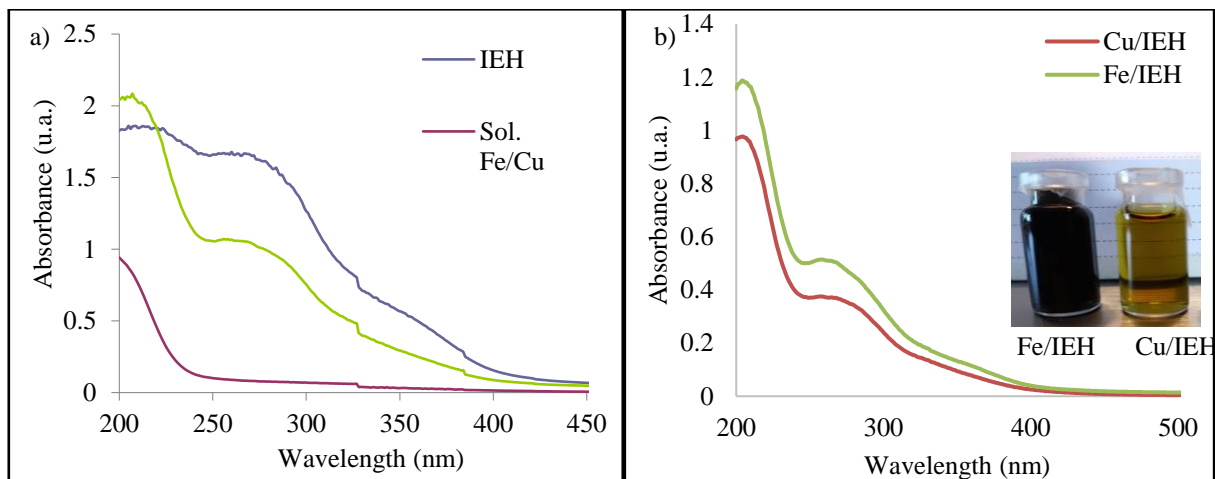
Indigo carmine reagent grade was added with distilled water to set the pH with 4 M sulfuric acid and hydrogen peroxide at 30% analytical grade, the removal of the dye was monitored by UV-visible spectrophotometry with the Perkin-Elmer Lambda spectrophotometer 25, applying equation 4, the results obtained were fed into the statistical software Minitab Ver. 18.0 to design and carry out a factorial experimental 2^3 ; the factors evaluated were: dye concentration (200 - 400 mg / L), dose of 30% hydrogen peroxide (5 and 10 μL) and catalyst dose (1 and 5 mg). The volume used for each test was 10 mL at a pH of 3.0.

$$\% \text{ Remoción de IC} = \frac{c_0 - c_t}{c_0} * 100 \quad (4)$$

7.3.2 Results

Characterization of the Fe/Cu NPs

UV-vis spectrophotometry is a technique that allows establishing the formation of NPs (Katata-Seru et al. 2018), after the change in color of the infusion of eucalyptus leaves (IEH) from light brown to black after it enters into contact with the bimetallic solution; the reduction process is evidenced and the formation of nanoparticles due to surface plasmon resonance (SPR), as corroborated by the UV-vis absorption spectra that were obtained from the IEH, for the Fe / Cu bimetallic solution and for the reduction solution (IEH-Sol, Fe / Cu). As seen in graph 1a) the IEH spectrum shows two absorption maxima at 270 and 220 nm, when added the bimetallic solution a decrease is observed in the maximum of 270 nm while that close to 200 nm increases reaching a maximum at 208 nm that corresponds to the bimetallic nanoparticles obtained. Graph 1b) shows the spectra corresponding to the individual reduction solutions of Fe / IEH and Cu / IEH; the spectrum of Fe / IEH agrees with that reported by Katata-Seru et al. (2018).

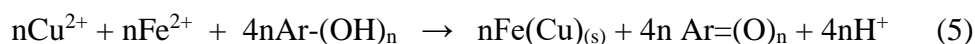


Graph 1. UV-Vis spectra: a) spectrum of the reduction reaction solutions in the green infusion of eucalyptus leaves plus iron and in the red infusion of eucalyptus leaves plus copper; b) spectra in the blue infusion of eucalyptus leaves (IEH), red bimetallic solution (Fe / Cu) and in green reduction solution (IEH-Sol. Fe / Cu).

Proposed reduction mechanism

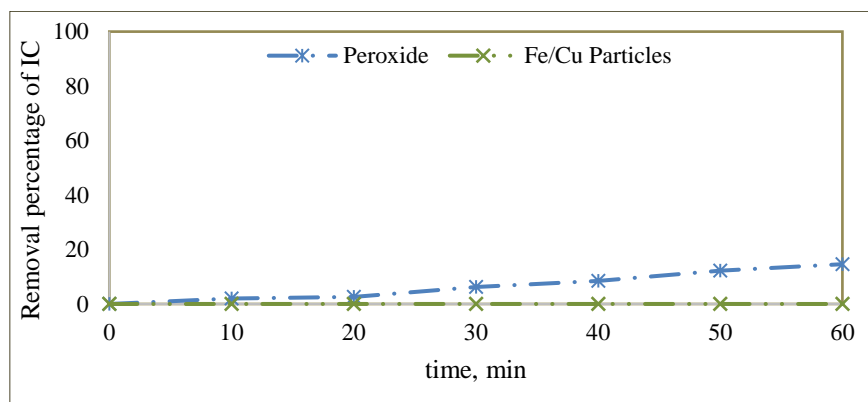
Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) is commonly used to treat respiratory diseases such as bronchitis, asthma, and influenza, among others; its antioxidant and antimicrobial capacity has been recognized by studies such as that of Boulekbache-Makhlouf et al. (2013), who found among its components the polyphenols, mainly hydrolysable tannins, responsible for said activity. Furthermore, Gonzales-Burgos et al. (2018), reported that among the flavonoids present in eucalyptus extracts the most abundant compound is chlorogenic acid and the group of quercetin glucosides which display multiple hydroxyl groups that can act as reducing metal ions, as shown in the mechanism proposed in equation 5. Due to the redox potentials of the two metals ($E^0(\text{Fe}_{(\text{III})} / \text{Fe}_{(\text{II})}) = 0.77 \text{ V}$) and Cu ($E^0(\text{Cu}_{(\text{II})} / \text{Cu}_{(\text{I})}) = 0.17 \text{ V}$) it is proposed that iron reacts

faster so that the Fe nuclei are the first to form to begin growth process, where the copper nanoparticles aggregate over the surface.



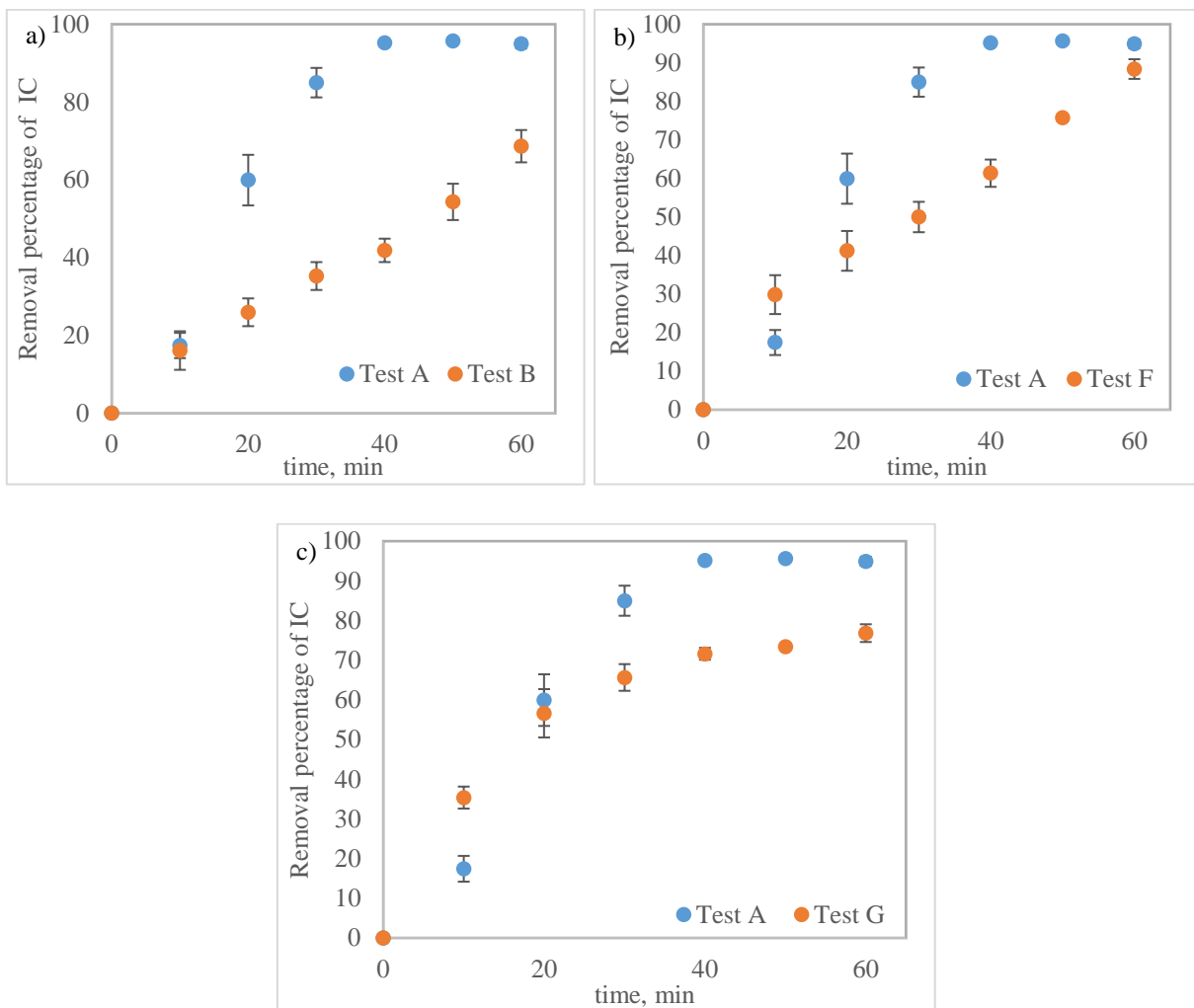
Indigo carmine removal

Preliminary calibration plots were made for the IC ($\text{Abs}_{610} = 0.0447 (C_{\text{IC}}) - 0.0021$) and the Isatin ($\text{Abs}_{245} = 0.1655 (C_{\text{Is}}) - 0.0383$), their main degradation by-product, obtaining a coefficient of determination of 0.9966 and 0.9981 respectively. Additionally, peroxide and Fe / Cu bimetallic particles were tested individually to observe their effect on color, as can be seen in graph 2, both peroxide and bimetallic particles remove color in very low percentage during the treatment time, 0.002 and 14.613% respectively.



Graph 2. Evaluation of the individual reagents for removal of the IC dye. Working conditions, volume: 10mL; dye concentration: 200 mg / L; pH: 3.0; amount of particles: 1mg; amount of H₂O₂: 10 μL.

From the developed experimental design, a total of eight experiments were obtained with all possible combinations of the levels for each factor, each experiment was assigned the letters in alphabetical order A, B, C, D, E, F, G and H, all the experiments were carried out in triplicate, working with a set volume of 10 mL and with a set pH = 3.0.

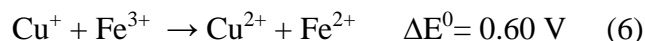


Graph 3. Indigo carmine removal with Fenton-like reactions with Fe / Cu bimetallic nanoparticles: a) evaluation of the influence of the IC dye concentration (200 - 400 mg / L); b) evaluation of the influence of the amount of NPs Fe / Cu (1 - 5 mg); and c) evaluation of the influence of the H₂O₂ dose (5 - 10 μ L). Working conditions: volume of 10 mL, pH 3.0, constant stirring (ANOVA analysis $p < 0.05$).

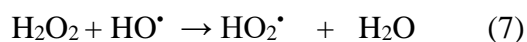
Regarding the effect of the concentration of the dye, as can be seen in graph 3a), when the dose of H₂O₂ (10 μ L) and Fe / Cu bimetallic particles (5 mg) are kept constant, increasing the concentration of dye from 200 mg / L (test A) to 400 mg / L (test B), the removal percentage is significantly decreased (ANOVA $p < 0.05$) from 94.92 to 68.66%, it is also important to note that after 40 minutes of test A maximum removal was reached.

When analyzing the effect of the catalyst dose in graph 3b), it is apparent that by reducing the amount of catalyst (from 5 to 1 mg), keeping the dye concentration (200 mg) and the H₂O₂ dose (10 μ L) constant, the removal percentage decreases from 94.92 to 88.37%, the effectiveness of the catalyst may be related to the standard reduction potentials of Fe (E^0 (Fe_(III) / Fe_{(II)}) = 0.77 V) and Cu (E^0 (Cu_(II) / Cu_{(I)}) = 0.17 V) where part of the Cu (I) generated on the Fe surface}}

could promote Fe (II) regeneration through a thermodynamically favorable electron transfer process (6) (Tang & Wang, 2020).



The effect of H₂O₂ dosage (from 10 to 5 μL) can be observed in graph 3 c) also decreases the removal percentage from 94.92 to 76.83%; however, it is important to note that at 30 min in the G test, it exceeds 60% removal so that it is possible to reduce the H₂O₂ dose to an intermediate value and that this would not significantly affect the removal process and would also reduce the operating cost. It should be noted that since H₂O₂ is the main source of the HO• radical, it is important that it is not insufficient since this generated a decrease in the degradation rate of the dye due to lower generation of HO•. Nonetheless, higher concentrations of H₂O₂ can be generated, more HO• that may accelerate the decomposition of organic compounds, excess peroxide will have a predatory effect on HO• radicals through the self-decomposition of H₂O₂ to O₂ and H₂O (equations 7-9) limiting the degradation process (Oruç et al. 2019).



The analysis of variance (ANOVA) carried out in the statistical software Minitab Ver. 18.0, with a confidence level of 95%, using the IC percentage removal as the response variable in the analysis, shows that there are statistically significant differences (p < 0.05) between the different treatments, this suggests that the factors that have a greater effect on the response variable are the concentration of color and bimetallic particles. Since the value of R² (94.31%) and fitted R² (91.83%) are very close to 1.0, this indicates a good fit between the observations and that predicted by the model. The optimization of the experimental designates test A as the best.

UV-vis analysis of the Indigo Carmine removal

In the UV-vis spectra obtained from the indigo carmine dye (Fig. 6), two main absorption maxima can be identified as: the first in the visible region at 610 nm, typical of the IC dye, can be attributed to the orbital of the n → π group of the double bond system (transition of the non-binding electrons to the antiband π) and the second in the ultraviolet region at 287 nm characteristic of the benzene rings present in the molecule (aromatic compounds present absorption maxima between 210-320 nm).

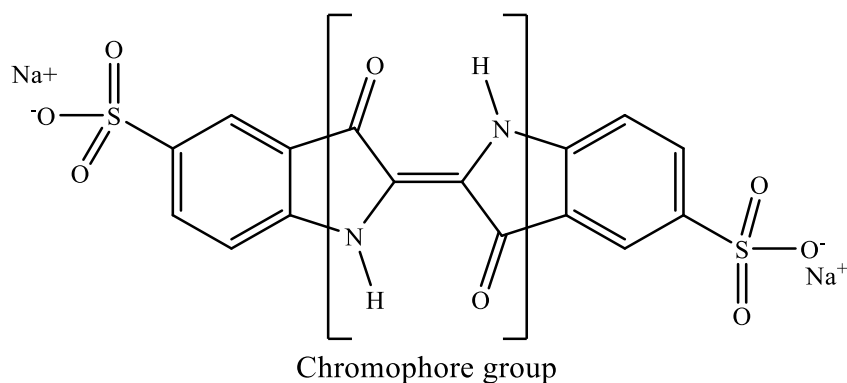
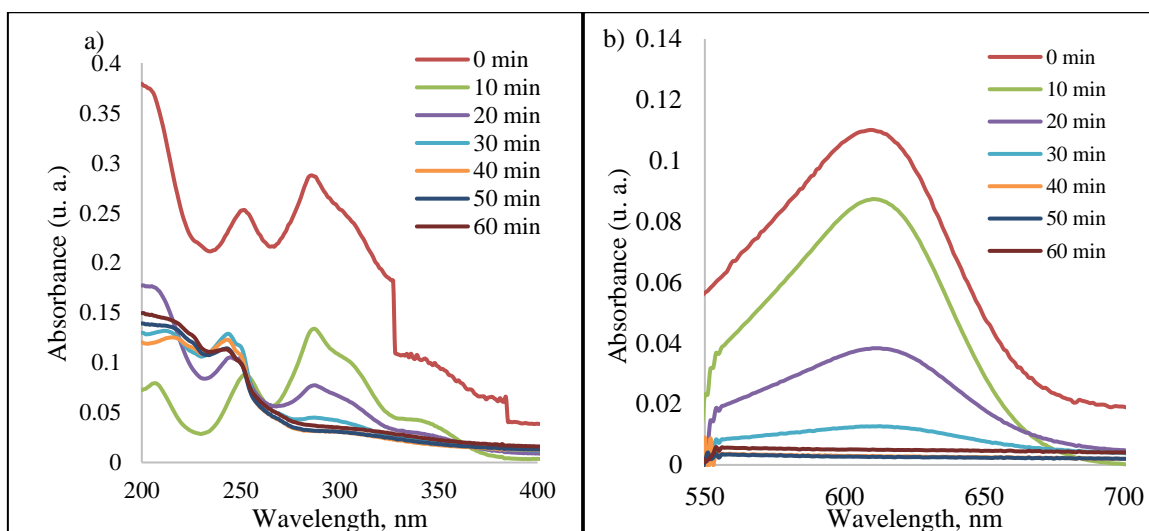


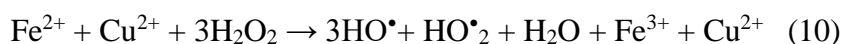
Figure 6. Chemical structure of the indigo carmine (modified from De León Condés et al., 2019).



Graph 4. Indigo carmine UV-visible spectra: a) segment of the 200-400 nm range; b) segment of 550-700 nm characteristic absorption of the blue of the indigo carmine.

The graph 4b) shows the absorption band associated with the chromophore group of the dye molecule decreasing with time, which suggests an oxidation process by which the IC degrades during the first 30 minutes, while plot 4a) depicts the emergence of a maximum around 245 nm characteristic of isatin, that begins to be appear after 20 min reaction, reaching a maximum at 30 min; this decreases at the end of the experiment, therefore, in addition to the degradation of the IC, the main by-product generated from this process is also degraded, which is consistent with that reported by Torres-Blancas et al. (2017), who applied a Fe-Cu bimetallic catalyst in the ozonation process to remove the indigo carmine dye: this does not only improves the efficiency of the process, but also impacts the mineralization (90%) of its by-products in a short time through the generation of hydroxyl radicals. For the synergy of the ozonation, peroxidation, Fenton and Fenton-like concurrent reactions, much like the Fenton and Fenton-like processes evaluated with the Fe / Cu bimetallic particles, the reaction mechanism is very similar to that

proposed by Torres-Blancas, shown in equation 10, where the generation of the HO• radical can be seen responsible for the degradation of the indigo carmine dye.



Bioreduction with eucalyptus is efficient to obtain monometallic and bimetallic Fe / Cu nanoparticles, which is verified through UV-Vis spectra of surface plasmon resonance (SPR) characteristic of nano-sized particles. The spectrum Fe / IEH is in close agreement with that reported in the literature at a wavelength of 208 nm. Thus, it is important to point out that the phytochemicals present in the eucalyptus extract are very important for the particles stability, to prevent their agglomeration, that would occur with other chemical reducers. The proposed mechanism suggests that iron ions are first reduced so that copper NPs deposit over their surface. The catalytic activity of the elaborated Fe / Cu bimetallic particles was tested for the removal of the indigo carmine dye in standard solutions through Fenton-like reactions, reaching an efficiency of 94.92% with optimal conditions, in addition to the removal of the Isatin by-product. Statistical analysis indicates that the concentration of the dye and the amount of bimetallic particles used have a significant effect on the removal of the dye.

8. Toxicity

The toxicity of nanomaterials depends on several factors such as: size, shape, size and shape of their distribution, surface charge and surface chemistry. To make a valid comparison in addition to the type of associated phytochemical, it is necessary to consider other factors such as reactivity, mobility, solubility and aggregation. (Amini, 2019; Sajid et al., 2015).

Based on the review by Ajdary et al. (2018), NPs can enter the body through various means, like inhalation, skin and digestion; depending on their physicochemical characteristics and their method of preparation, NPs can access vital organs through blood flow and induce tissue and cell damage. Cell penetration occurs through diffusion intrusion, endocytosis, and membrane proteins such as the phospholipid layer; several investigations indicate that NPs activate oxidative stress by increasing the generation of reactive oxygen species (ROS), intervening in the expression of genes involved in inflammation, consequently generating damage to proteins, cell membrane and DNA (Fard et al., 2015). Further, the presence of NPs in the environment gives rise to transformations capable of modifying their degree of toxicity, which still requires studies and test methods to single out the processes underway in different environmental spheres that allow identifying risk levels. (Zhang et al., 2018).

Considering the above and the rapid growth, development, and applications of NPs, regulation via legislations, laws and rules are being implemented by various governmental organizations to minimize or avoid the risks associated with these materials. However, there are neither international regulations, nor protocols and legal terminology for management and production, nor toxicity tests or environmental impact assessments of NPs (Jeevanandam et al., 2018), so that management and production in research centers acquires relevant importance.

9. Conclusions

Bioreduction processes using plants show broad advantages over other methods related to the availability of plant species with antioxidant capacity, the complex matrix of the extract that provides not only chemical species with reducing capacities, but also provides stabilizing species that when associated with the surface of the NPs, can influence positively the application to be evaluated, mainly generating high expectations in the medical and catalytic area.

The manufacturing processes must consider the aforementioned aspects like pH, temperature, metal ion concentration, as well as the amount of plant extract, so it is important to carry out an optimization process to synthesize nanoparticles displaying the best qualities, which can be corroborated with the fundamental characterization studies such as UV-vis Spectrophotometry, X-ray Diffraction (XRD) and microscopy, either scanning electron microscopy (SEM) or transmission electron microscopy (TEM) to ensure the success of the tests to be carried out.

The application of bimetallic NPs obtained by bioreduction, as catalysts for advanced oxidation processes such as Fenton-like, is a viable field in development where high efficiencies can be found in the removal of organic pollutants; subsequent and complementary studies are required to shed light on the degree of mineralization of the pollutants and the toxicity of the particles used in the process.

Acknowledgements

The first author thanks CONACyT for the national scholarship granted for postgraduate studies, as well as the UAEMex 4986/2020 CIB Project for the finance provided; special thanks are given to the LIA María Citlali Martínez Soto for the support of the documentary film material, to the Dr. Mario Alberto Romero Romo for his support in the translation of this document.

Referencias

Afsheen, S., Tahir, M. B., Iqbal, T., Liaqat, A., & Abrar, M. (2018). Green synthesis and characterization of novel iron particles by using different extracts. *Journal of Alloys and Compounds*, 732, 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.10.137>

Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406–413. <https://doi.org/10.1016/j.refit.2017.03.002>

Aghajanyan, A., Gabrielyan, L., Schubert, R., & Trchounian, A. (2020). Silver ion bioreduction in nanoparticles using *Artemisia annua* L. extract: characterization and application as antibacterial agents. *AMB Express*, 10. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01002-w>

Ahmad, T., Bustam, M. A., Irfan, M., Moniruzzaman, M., Anwaar Asghar, H. M., & Bhattacharjee, S. (2018). Green synthesis of stabilized spherical shaped gold nanoparticles using novel aqueous *Elaeis guineensis* (oil palm) leaves extract. *Journal of Molecular Structure*, 1159, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.11.095>

Ahmed, S., Saifullah, Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>

Ahmmad, B., Kurawaki, J., Ohkubo, T., & Kuroda, Y. (2013). GREEN TEA MEDIATED BIOSYNTHESIS OF Fe_2O_3 NANO - / MICRO-PARTICLES AND THEIR CHARACTERIZATION. *World Journal of Engineering*, December, 19–20.

Ajdary, M., Moosavi, M. A., Rahmati, M., Falahati, M., Mahboubi, M., Mandegary, A., Jangjoo, S., Mohammadinejad, R., & Varma, R. S. (2018). Health concerns of various nanoparticles: A review of their in vitro and in vivo toxicity. *Nanomaterials*, 8, 1–28. <https://doi.org/10.3390/nano8090634>

Al-Haddad, J., Alzaabi, F., Pal, P., Rambabu, K., & Banat, F. (2019). Green synthesis of bimetallic copper–silver nanoparticles and their application in catalytic and antibacterial activities. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 22, 269–277. <https://doi.org/10.1007/s10098-019-01765-2>

Albeladi, S. S. R., Malik, M. A., & Al-Thabaiti, S. A. (2020). Facile biofabrication of silver nanoparticles using *Salvia officinalis* leaf extract and its catalytic activity towards Congo red dye degradation. *Journal of Materials Research and Technology*, 9, 10031–10044. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.06.074>

Alwhibi, M. S., Soliman, D. A., al khaldy, H., Marraiki, N. A., El-Zaidy, M., & AlSubeie, M. S. (2020). Green biosynthesis of silver nanoparticle using *Commiphora myrrh* extract and evaluation of their antimicrobial activity and colon cancer cells viability. *Journal of King Saud University - Science*, 32, 3372–3379. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.09.024>

Amini, S. M. (2019). Preparation of antimicrobial metallic nanoparticles with bioactive compounds. *Materials Science and Engineering C*, 103(May), 109809. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109809>

Anu, K., Devanesan, S., Prasanth, R., AlSalhi, M. S., Ajithkumar, S., & Singaravelu, G. (2020). Biogenesis of selenium nanoparticles and their anti-leukemia activity. *Journal of King Saud University - Science*, 32(4), 2520–2526. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.04.018>

Araya-Castro, K., Chao, T. C., Durán-Vinet, B., Cisternas, C., Ciudad, G., & Rubilar, O. (2021). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using protein fractions from an aqueous extract of brown algae *Macrocystis pyrifera*. *Processes*, 9, 1–10. <https://doi.org/10.3390/pr9010078>

Arya, A., Gupta, K., & Chundawat, T. S. (2020). In vitro antimicrobial and antioxidant activity of biogenically synthesized palladium and platinum nanoparticles using *Botryococcus braunii*. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17, 299–306. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.94103>

Arya, A., Gupta, K., Chundawat, T. S., & Vaya, D. (2018). Biogenic Synthesis of Copper and Silver Nanoparticles Using Green Alga *Botryococcus braunii* and Its Antimicrobial Activity. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7879403>

- Asghar, M. A., Zahir, E., Shahid, S. M., Khan, M. N., Asghar, M. A., Iqbal, J., & Walker, G. (2018). Iron, copper and silver nanoparticles: Green synthesis using green and black tea leaves extracts and evaluation of antibacterial, antifungal and aflatoxin B1 adsorption activity. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.009>
- Balasubramanian, S., Kala, S. M. J., & Pushparaj, T. L. (2020). Biogenic synthesis of gold nanoparticles using *Jasminum auriculatum* leaf extract and their catalytic, antimicrobial and anticancer activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57, 101620. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101620>
- Begum, J. P. S., Manjunath, K., Pratibha, S., Dhananjaya, N., Sahu, P., & Kashaw, S. (2020). Bioreduction synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Delonix regia* leaf extract (Gul Mohar) and its agromedicinal applications. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 5, 468–475. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.07.009>
- Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., & Madani, K. (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 41, 85–89. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.019>
- Canizal, G., Schabes-Retchkiman, P. S., Pal, U., Liu, H. B., & Ascencio, J. A. (2006). Controlled synthesis of ZnO nanoparticles by bioreduction. *Materials Chemistry and Physics*, 97, 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2005.08.015>
- Carrillo-Inungaray, M. L., Trejo-Ramirez, J. A., Reyes-Munguia, A., & Carranza-Alvarez, C. (2018). Advances and Perspectives. In *Use of Nanoparticles in the Food Industry: Advances and Perspectives* (Issue 6, pp. 419–444). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811441-4/00015-7>
- Chamsa-ard, W., Fawcett, D., Fung, C. C., & Poinern, G. E. J. (2019). Biogenic synthesis of gold nanoparticles from waste watermelon and their antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 7, 2499–2505. <https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20192874>
- Chinnasamy, C., Tamilselvam, P., Karthick, B., Sidharth, B., & Senthilnathan, M. (2018). Green Synthesis, Characterization and Optimization Studies of Zinc Oxide Nano Particles Using *Costus igneus* Leaf Extract. *Materials Today: Proceedings*, 5(2), 6728–6735. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.11.331>
- Cruz, D., Falé, P. L., Mourato, A., Vaz, P. D., Serralheiro, M. L., & Lino, A. R. L. (2010). Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.025>
- Dada, A. O., Adekola, F. A., Dada, F. E., Adelani-Akande, A. T., Bello, M. O., Okonkwo, C. R., Inyinbor, A. A., Oluyori, A. P., Olayanju, A., Ajanaku, K. O., & Adetunji, C. O. (2019). Silver nanoparticle synthesis by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial testing. *Heliyon*, 5(10), e02517. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02517>

- De León-Condés, C. A., Roa-Morales, G., Martínez-Barrera, G., Balderas-Hernández, P., Menchaca-Campos, C., & Ureña-Núñez, F. (2019). A novel sulfonated waste polystyrene / iron oxide nanoparticles composite: Green synthesis, characterization and applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7, 102841. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102841>
- Deeksha, B., Sadanand, V., Hariram, N., & Rajulu, A. V. (2021). Preparation and properties of cellulose nanocomposite fabrics with in situ generated silver nanoparticles by bioreduction method. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2021.01.003>
- Devatha, C. P., Thalla, A. K., & Katte, S. Y. (2016). Green synthesis of iron nanoparticles using different leaf extracts for treatment of domestic waste water. *Journal of Cleaner Production*, 139, 1425–1435. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.09.019>
- Dzimitrowicz, A., Jamroz, P., DiCenzo, G. C., Gil, W., Bojszczak, W., Motyka, A., Pogoda, D., & Pohl, P. (2018). Fermented juices as reducing and capping agents for the biosynthesis of size-defined spherical gold nanoparticles. *Journal of Saudi Chemical Society*, 22, 767–776. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2017.12.008>
- Ealia, A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263, 0–15. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- Elemike, E. E., Onwudiwe, D. C., Nundkumar, N., Singh, M., & Iyekowa, O. (2019). Green synthesis of Ag, Au and Ag-Au bimetallic nanoparticles using *Stigmaphyllon ovatum* leaf extract and their in vitro anticancer potential. *Materials Letters*, 243, 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.02.049>
- Elemike, Elias E., Onwudiwe, D. C., Fayemi, O. E., & Botha, T. L. (2019). Green synthesis and electrochemistry of Ag, Au, and Ag–Au bimetallic nanoparticles using golden rod (*Solidago canadensis*) leaf extract. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 125(1), 0. <https://doi.org/10.1007/s00339-018-2348-0>
- Fard, J. K., Jafari, S., & Eghbal, M. A. (2015). A review of molecular mechanisms involved in toxicity of nanoparticles. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5, 447–454. <https://doi.org/10.15171/apb.2015.061>
- Fatimah, I., Hidayat, H., Nugroho, B. H., & Husein, S. (2020). Ultrasound-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Clitoria ternatea* flower. *South African Journal of Chemical Engineering*, 34, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.06.007>
- Forough, M., & Farhadi, K. (2010). Biological and green synthesis of silver nanoparticles. *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 34, 281–287. <https://doi.org/10.3906/muh-1005-30>
- Gan, P. P., & Li, S. F. Y. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(2), 169–206. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9278-7>

- Geetha, M. S., Nagabhushana, H., & Shivananjaiiah, H. N. (2016). Green mediated synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using Euphorbia Jatropa latex as reducing agent. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 1(3), 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2016.06.015>
- Ghareib, M., Abdallah, W., Tahon, M. A., & Tallima, A. (2019). Biosynthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using the Preformed Biomass of *Aspergillus Fumigatus* and Their. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 14, 291–303.
- Ghidan, A. Y., Al-Antary, T. M., & Awwad, A. M. (2016). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach Aphid. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 6, 95–98. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2016.08.002>
- Ghosh, S., Patil, S., Ahire, M., Kitture, R., Gurav, D. D., Jabgunde, A. M., Kale, S., Pardesi, K., Shinde, V., Bellare, J., Dhavale, D. D., & Chopade, B. A. (2012). *Gnidia glauca* flower extract mediated synthesis of gold nanoparticles and evaluation of its chemocatalytic potential. *Journal of Nanobiotechnology*, 10, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-10-17>
- González-Burgos, E., Liaudanskas, M., Viškelis, J., Žvikas, V., Janulis, V., & Gómez-Serranillos, M. P. (2018). Antioxidant activity, neuroprotective properties and bioactive constituents analysis of varying polarity extracts from *Eucalyptus globulus* leaves. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26, 1293–1302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.05.010>
- González, N., Elissetche, J., Pereira, M., & Fernández, K. (2017). Extraction of polyphenols from *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus*: Experimental kinetics, modeling and evaluation of their antioxidant and antifungal activities. *Industrial Crops and Products*, 109, 737–745. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.038>
- Gopalakrishnan, V., & Muniraj, S. (2019). Neem flower extract assisted green synthesis of copper nanoparticles - Optimisation, characterisation and anti-bacterial study. *Materials Today: Proceedings*, 36, 832–836. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.07.013>
- Gunalan, S., Sivaraj, R., & Rajendran, V. (2012). Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(6), 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2012.11.015>
- He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J., & Gu, N. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*. *Materials Letters*, 61, 3984–3987. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2007.01.018>
- Hitesh, & Lata, S. (2018). Green Chemistry Based Synthesis of Silver Nanoparticles from Floral Extract of *Nelumbo Nucifera*. *Materials Today: Proceedings*, 5, 6227–6233. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.12.231>
- Huang, L., Weng, X., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2014). Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: Comparative study of the reactivity. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.04.037>

Iliger, K. S., Sofi, T. A., Bhat, N. A., Ahanger, F. A., Sekhar, J. C., Elhendi, A. Z., Al-Huqail, A. A., & Khan, F. (2021). Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 1477–1486. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.003>

Jamdagni, P., Khatri, P., & Rana, J. S. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. *Journal of King Saud University - Science*, 30(2), 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.10.002>

Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101174. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101174>

Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9, 1050–1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>

Joshi, N., Filip, J., Coker, V. S., Sadhukhan, J., Safarik, I., Bagshaw, H., & Lloyd, J. R. (2018). Microbial reduction of Natural Fe(III) minerals; Toward the sustainable production of functional magnetic nanoparticles. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00127>

Kalpna, V. N., Kataru, B. A. S., Sravani, N., Vigneshwari, T., Panneerselvam, A., & Devi Rajeswari, V. (2018). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using culture filtrates of *Aspergillus niger*: Antimicrobial textiles and dye degradation studies. *OpenNano*, 3, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2018.06.001>

Katata-Seru, L., Moremedi, T., Aremu, O. S., & Bahadur, I. (2018). Green synthesis of iron nanoparticles using *Moringa oleifera* extracts and their applications: Removal of nitrate from water and antibacterial activity against *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Liquids*, 256, 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.11.093>

Khani, R., Roostaei, B., Bagherzade, G., & Moudi, M. (2018). Green synthesis of copper nanoparticles by fruit extract of *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd.: Application for adsorption of triphenylmethane dye and antibacterial assay. *Journal of Molecular Liquids*, 255, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.02.010>

Khanna, P., Kaur, A., & Goyal, D. (2019). Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications. *Journal of Microbiological Methods*, 163, 105656. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105656>

Kharissova, O. V., Rasika, H. V., Kharisov, B. I., Olvera, B., & Jiménez, V. M. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 31(4), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.003>

Korkmaz, N. (2020). Bioreduction: The biological activity, characterization, and synthesis of silver nanoparticles. *Turkish Journal of Chemistry*, 44, 325–334. <https://doi.org/10.3906/KIM-1910-8>

Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 473–484. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.11.013>

Lagashetty, A., Ganiger, S. K., & Shashidhar. (2019). Synthesis, characterization and antibacterial study of Ag–Au Bi-metallic nanocomposite by bioreduction using piper betle leaf extract. *Heliyon*, 5, e02794. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02794>

Li, J., Li, Q., Ma, X., Tian, B., Li, T., Yu, J., Dai, S., Weng, Y., & Hua, Y. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles by the extreme bacterium *Deinococcus radiodurans* and an evaluation of their antibacterial properties. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 5931–5944. <https://doi.org/10.2147/IJN.S119618>

Liu, H., Zheng, S. M., Xiong, H. F., Alwahibi, M. S., & Niu, X. (2020). Biosynthesis of copperoxide nanoparticles using *Abies spectabilis* plant extract and analyzing its antinociceptive and anti-inflammatory potency in various mice models. *Arabian Journal of Chemistry*, 13, 6995–7006. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.07.006>

Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*, 6(20), 35–44. <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-1-35-44>

Mallikarjuna, K., Narasimha, G., Dillip, G. R., Praveen, B., Shreedhar, B., Lakshmi, C. S., Reddy, B. V. S., & Raju, B. D. P. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum* leaf extract and their characterization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6, 181–186.

Matinise, N., Fuku, X. G., Kaviyarasu, K., Mayedwa, N., & Maaza, M. (2017). ZnO nanoparticles via *Moringa oleifera* green synthesis: Physical properties & mechanism of formation. *Applied Surface Science*, 406, 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.01.219>

Merugu, R., Gothalwal, R., Deshpande, P. K., De Mandal, S., Padala, G., & Chitturi, K. L. (2020). Synthesis of Ag/Cu and Cu/Zn bimetallic nanoparticles using toddy palm: Investigations of their antitumor, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.027>

Mirzaei, H., & Darroudi, M. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications. *Ceramics International*, 43, 907–914. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.10.051>

Mishra, B., Saxena, A., & Tiwari, A. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles from marine diatoms *Chaetoceros* sp., *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., and their antibacterial study. *Biotechnology Reports*, 28, e00571. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00571>

Mohaghegh, S., Osouli-Bostanabad, K., Nazemiyeh, H., Javadzadeh, Y., Parvizpur, A., Barzegar-Jalali, M., & Adibkia, K. (2020). A comparative study of eco-friendly silver nanoparticles synthesis using *Prunus domestica* plum extract and sodium citrate as reducing

agents. *Advanced Powder Technology*, 31, 1169–1180. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2019.12.039>

Mukunthan, K. S., Elumalai, E. K., Patel, T. N., & Murty, V. R. (2011). *Catharanthus roseus*: A natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, 270–274. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60041-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60041-5)

Nagar, N., & Devra, V. (2018). Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves. *Materials Chemistry and Physics*, 213, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.04.007>

Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010a). Phytosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour. *Materials Characterization*, 61, 1232–1238. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2010.08.003>

Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010b). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in Colloid and Interface Science*, 156, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.02.001>

Nasrollahzadeh, M., Sajjadi, M., Dadashi, J., & Ghafuri, H. (2020). Pd-based nanoparticles: Plant-assisted biosynthesis, characterization, mechanism, stability, catalytic and antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 276, 102103. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102103>

Nava, O. J., Soto-Robles, C. A., Gómez-Gutiérrez, C. M., Vilchis-Nestor, A. R., Castro-Beltrán, A., Olivas, A., & Luque, P. A. (2017). Fruit peel extract mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, 1147, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.06.078>

Nayantara, & Kaur, P. (2018). Biosynthesis of nanoparticles using eco-friendly factories and their role in plant pathogenicity: a review. *Biotechnology Research and Innovation*, 2, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2018.09.003>

Ninganagouda, S., Rathod, V., Jyoti, H., Singh, D., Prema, K., & Manzoor-UI-Haq. (2013). EXTRACELLULAR BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING *ASPERGILLUS FLAVUS* AND THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST GRAM NEGATIVE MDR STRAINS. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4, 222–229.

Olajire, A. A., & Mohammed, A. A. (2020). Green synthesis of bimetallic Pd_{core}Au_{shell} nanoparticles for enhanced solid-phase photodegradation of low-density polyethylene film. *Journal of Molecular Structure*, 1206, 127724. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127724>

Oruç, Z., Ergüt, M., Uzunoğlu, D., & Özer, A. (2019). Green synthesis of biomass-derived activated carbon/Fe-Zn bimetallic nanoparticles from lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.) wastes for heterogeneous Fenton-like decolorization of Reactive Red 2. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7, 103231. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103231>

Ouyang, Q., Kou, F., Tsang, P. E., Lian, J., Xian, J., Fang, J., & Fang, Z. (2019). Green synthesis of Fe-based material using tea polyphenols and its application as a heterogeneous Fenton-like

catalyst for the degradation of lincomycin. *Journal of Cleaner Production*, 232, 1492–1498. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.043>

Ovais, M., Khalil, A. T., Ayaz, M., Ahmad, I., Nethi, S. K., & Mukherjee, S. (2018). Biosynthesis of metal nanoparticles via microbial enzymes: A mechanistic approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms19124100>

Powar, N. S., & Patel, V. (2019). Cu Nanoparticle : Synthesis , Characterization and Application Review article Cu Nanoparticle : Synthesis , Characterization and Application. *Chemical Methodologies*, 3(January), 457–480. <https://doi.org/10.22034/chemm.2019.154075.1112>

Rai, M., & Yadav, A. (2013). Plants as potential synthesiser of precious metal nanoparticles: Progress and prospects. *IET Nanobiotechnology*, 7, 117–124. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2012.0031>

Rajesh, K. M., Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., Suneetha, Y., & Reddy, P. S. (2018). Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. *Optik*, 154, 593–600. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2017.10.074>

Reddy, K. R. (2017). Green synthesis, morphological and optical studies of CuO nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, 1150, 553–557. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.09.005>

Sajid, M., Ilyas, M., Basheer, C., Tariq, M., Daud, M., Baig, N., & Shehzad, F. (2015). Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4122–4143. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3994-1>

Salem, S. S., & Fouda, A. (2020). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Prospective Biotechnological Applications: an Overview. *Biological Trace Element Research*, 199, 344–370. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02138-3>

Santhoshkumar, J., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies*, 3, 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.refit.2017.05.001>

Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P. R., & George, C. S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264, 128580. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128580>

Scaria, J., Nidheesh, P. V., & Kumar, M. S. (2020). Synthesis and applications of various bimetallic nanomaterials in water and wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 259, 110011. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.110011>

Schabes-Retchkiman, P. S., Canizal, G., Herrera-Becerra, R., Zorrilla, C., Liu, H. B., & Ascencio, J. A. (2006). Biosynthesis and characterization of Ti/Ni bimetallic nanoparticles. *Optical Materials*, 29, 95–99. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2006.03.014>

Selvan, D. A., Mahendiran, D., Kumar, R. S., & Rahiman, A. K. (2018). Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant

and in vitro cytotoxicity studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.014>

Shamsuzzaman, Mashrai, A., Khanam, H., & Aljawfi, R. N. (2017). Biological synthesis of ZnO nanoparticles using *C. albicans* and studying their catalytic performance in the synthesis of steroidal pyrazolines. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1530–S1536. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.05.004>

Sharma, A., Sharma, S., Sharma, K., Chetri, S. P. K., Vashishtha, A., Singh, P., Kumar, R., Rathi, B., & Agrawal, V. (2015). Algae as crucial organisms in advancing nanotechnology: a systematic review. *Journal of Applied Phycology*, 28, 1759–1774. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0715-1>

Sharma, D., Kanchi, S., & Bisetty, K. (2019). Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 3576–3600. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.002>

Sharmila, G., Pradeep, R. S., Sandiya, K., Santhiya, S., Muthukumaran, C., Jeyanthi, J., Kumar, N. M., & Thirumarimurugan, M. (2018). Biogenic synthesis of CuO nanoparticles using *Bauhinia tomentosa* leaves extract: Characterization and its antibacterial application. *Journal of Molecular Structure*, 1165, 288–292. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.04.011>

Sherin, L., Sohail, A., Amjad, U., Mustafa, M., Jabeen, R., & Ul-Hamid, A. (2020). Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia bellerica* kernel extract for catalytic reduction of anthropogenic water pollutants. *Colloids and Interface Science Communications*, 37, 100276. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2020.100276>

Silva-De Hoyos, L. E., Sánchez-Mendieta, V., Camacho-López, M. A., Trujillo-Reyes, J., & Vilchis-Nestor, A. R. (2020). Plasmonic and fluorescent sensors of metal ions in water based on biogenic gold nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*, 13, 1975–1985. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.02.016>

Silva-De Hoyos, L. E., Sánchez-Mendieta, V., Vilchis-Nestor, A. R., Camacho-López, M. A., Trujillo-Reyes, J., & Avalos-Borja, M. (2019). Plasmonic Sensing of Aqueous-Divalent Metal Ions by Biogenic Gold Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2019, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/9846729>

Singh, J., Dutta, T., Kim, K.-H., Rawat, M., Samddar, P., & Kumar, P. (2018). “Green” synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, 16, 1–24. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>

Siripireddy, B., & Mandal, B. K. (2017). Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Eucalyptus globulus* and their photocatalytic and antioxidant activity. *Advanced Powder Technology*, 28, 785–797. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2016.11.026>

Sumbal, Nadeem, A., Naz, S., Ali, J. S., Mannan, A., & Zia, M. (2019). Synthesis, characterization and biological activities of monometallic and bimetallic nanoparticles using *Mirabilis jalapa* leaf extract. *Biotechnology Reports*, 22, e00338. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00338>

- Sun, Y., Yang, Z., Tian, P., Sheng, Y., Xu, J., & Han, Y.-F. (2019). Oxidative degradation of nitrobenzene by a Fenton-like reaction with Fe-Cu bimetallic catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 244, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2018.11.009>
- Tamuly, C., Hazarika, M., & Bordoloi, M. (2013). Biosynthesis of Au nanoparticles by *Gymnocladus assamicus* and its catalytic activity. *Materials Letters*, 108, 276–279. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.07.020>
- Tang, J., & Wang, J. (2020). Iron-copper bimetallic metal-organic frameworks for efficient Fenton-like degradation of sulfamethoxazole under mild conditions. *Chemosphere*, 241, 125002. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125002>
- Tetty, C. O., & Shin, H. M. (2019). Evaluation of the antioxidant and cytotoxic activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *scutellaria baicalensis* root. *Scientific African*, 6, e00157. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00157>
- Thakore, S. I., Nagar, P. S., Jadeja, R. N., Thounaojam, M., Devkar, R. V., & Rathore, P. S. (2019). Sapota fruit latex mediated synthesis of Ag, Cu mono and bimetallic nanoparticles and their in vitro toxicity studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 694–700. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.12.042>
- Torres-Blancas, T., Roa-Morales, G., Ureña-Núñez, F., Barrera-Díaz, C., Dorazco-González, A., & Natividad, R. (2017). Ozonation enhancement by Fe–Cu biometallic particles. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 74, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.02.025>
- Umai, D., Vikranth, A., & Meenambiga, S. S. (2020). A study on the green synthesis of silver nanoparticles from *Olea europaea* and its activity against oral pathogens. *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.681>
- Vijayakumar, S. (2019). Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using fruit extracts and in vitro anticancer studies. *Journal of Saudi Chemical Society*, 23, 753–761. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2018.12.002>
- Vijayakumar, S., Mahadevan, S., Arulmozhi, P., Sriram, S., & Praseetha, P. K. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Atalantia monophylla* leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 82, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2018.03.017>
- Vijayaraghavan, K., & Ashokkumar, T. (2017). Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), 4866–4883. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.09.026>
- Wahab, A. W., Karim, A., Asmawati, & Sutapa, I. W. (2018). Bio-synthesis of gold nanoparticles through bioreduction using the aqueous extract of *Muntingia calabura* L. leaves. *Oriental Journal of Chemistry*, 34, 401–409. <https://doi.org/10.13005/ojc/340143>

- Wang, Q., Ma, Y., & Xing, S. (2018). Comparative study of Cu-based bimetallic oxides for Fenton-like degradation of organic pollutants. *Chemosphere*, 203, 450–456. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.013>
- Weng, X., Lin, Z., Xiao, X., Li, C., & Chen, Z. (2018). One-step biosynthesis of hybrid reduced graphene oxide/iron-based nanoparticles by eucalyptus extract and its removal of dye. *Journal of Cleaner Production*, 203, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.08.158>
- Weng, Xiulan, Guo, M., Luo, F., & Chen, Z. (2017). One-step green synthesis of bimetallic Fe/Ni nanoparticles by eucalyptus leaf extract: Biomolecules identification, characterization and catalytic activity. *Chemical Engineering Journal*, 308, 904–911. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.134>
- Wu, J. W., & Ng, I. S. (2017). Biofabrication of gold nanoparticles by *Shewanella* species. *Bioresources and Bioprocessing*, 4. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0181-5>
- Yasin, S., Liu, L., & Yao, J. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles by bamboo leaves extract and their antimicrobial activity. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 6, 77–84. <https://doi.org/10.3993/jfbi03201307>
- Yusof, H. M., Rahman, N. A., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Samsudin, A. A. (2020). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties. *Scientific Reports*, 10, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76402-w>
- Zayed, M. F., & Eisa, W. H. (2014). Phoenix *dactylifera* L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; Controlled synthesis and catalytic activity. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 121, 238–244. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.10.092>
- Zhang, J., Guo, W., Li, Q., Wang, Z., & Liu, S. (2018). The effects and the potential mechanism of environmental transformation of metal nanoparticles on their toxicity in organisms. *Environmental Science: Nano*, 5, 2482–2499. <https://doi.org/10.1039/c8en00688a>
- Zhu, F., Ma, S., Liu, T., & Deng, X. (2018). Green synthesis of nano zero-valent iron/Cu by green tea to remove hexavalent chromium from groundwater. *Journal of Cleaner Production*, 174, 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.302>
- Žvab, U., Kukulin, D. S., Fanetti, M., & Valant, M. (2021). Bioremediation of copper polluted wastewater-like nutrient media and simultaneous synthesis of stable copper nanoparticles by a viable green alga. *Journal of Water Process Engineering*, 42, 102123. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102123>

4.2 Artículo enviado

TEXTILE WASTEWATER COUPLED TREATMENT IMPLEMENTING ENHANCED OZONATION WITH FENTON-LIKE AND PHYTOREMEDIATION

Jazmin A. Reyes-Pérez¹, Gabriela Roa-Morales^{1*}, Carlos E. Barrera-Díaz¹, Patricia Balderas-Hernández¹, Araceli Amaya-Chávez^{2*}, Teresa Torres-Blancas³

¹Autonomous University of the State of México, (UAEMex), Joint Research Center in Sustainable Chemistry(CCIQS) UAEM-UNAM, Carretera Toluca-Atlaconulco, Km 14.5, Toluca, MEX, México. 50200.

²Faculty of Chemistry, Autonomous University of the State of Mexico, Paseo Colón, Colonia Universidad, Toluca de Lerdo, MEX, México. 50120

³Poly Rafia S.A. de C.V. Manzana 4 A 2da Sección, Parque Industrial Atlaconulco, Atlaconulco, Estado de México. 50450.

*Corresponding Autor: groam@uaemex.mx; aamayac@uaemex.mx

Summary

In this contribution is described how phytoremediation using *M. aquaticum* is feasible with coupled ozonation/Fenton-like processes in real wastewater from the denim textile industry, with the purpose of removing color and therefore highly polluting particles. For the ozonation/Fenton-Like process, pH 3 and 9 were evaluated using copper-enriched pumice to activate the catalytic processes carried out in the Fenton-Like reactions. Subsequently, phytoremediation was carried out using *M. aquaticum* to completely degrade the by-products generated from the ozone/Fenton-Like process. Plant health was controlled through the determination of chlorophylls and carotenes. All the analyses were monitored by COD, UV-Vis spectrophotometry for the determinations of color quantification in the wastewater and oxidizable organic matter, SEM / EDS for the characterization of the material and XPR to corroborate the oxidation state of the copper that gives rise to radical species. The results indicate that at pH 3.0, the ozonation process with the PMPCu catalyst at 1 g / L it is the most efficient, achieving a percentage of color removal of 86.79% and COD of 76.19%, which is consistent with the optimization analysis. of the experimental design. The residual color and its degradation by-products were eliminated by phytoremediation.

Keywords: color, catalyst, pumice, *M. aquaticum*, ozonation.

4.3. Resultados no publicados

4.3.1 Caracterización partículas Fe-Cu soportadas en pumita

Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (IR-TF)

La espectroscopía IR-TF fue realizada para identificar los grupos funcionales que participan en la reducción de los metales Fe y Cu, la figura 10 muestra el espectro donde se puede observar los picos asociados a diferentes grupos funcionales presentes en el extracto de eucalipto antes y después de la bio-reducción. Los picos entre 1726 y 1621 cm^{-1} son asignados al estiramiento $\text{C}=\text{C}$, el pico en 1032 cm^{-1} corresponde al estiramiento $\text{C}-\text{O}\text{ cm}^{-1}$ (Balamurugan and Saravanan, 2017). Los picos ubicados entre $1442 - 1309\text{ cm}^{-1}$ corresponden al enlace $\text{N}-\text{H}$, de amidas primarias o secundarias y a la vibración de estiramiento de $-\text{C}-\text{N}-$ de las amidas o al estiramiento $\text{C}-\text{O}$ de los alcoholes, éter, ácidos carboxílicos y anhídridos. El extracto de hoja de *Eucalipto globulus* contiene compuestos fenólicos simples, flavonoides y compuestos polifenólicos más complejos, las similitudes del espectro de las partículas Eu/ Fe-Cu con el espectro del eucalipto, indican que varias de estas moléculas son las responsables de la reducción de los iones u óxidos metálicos y la formación de nanopartículas, y muestran un efecto protector sobre estas (Elemike *et al.*, 2019; Barzinjy and Azeez, 2020).

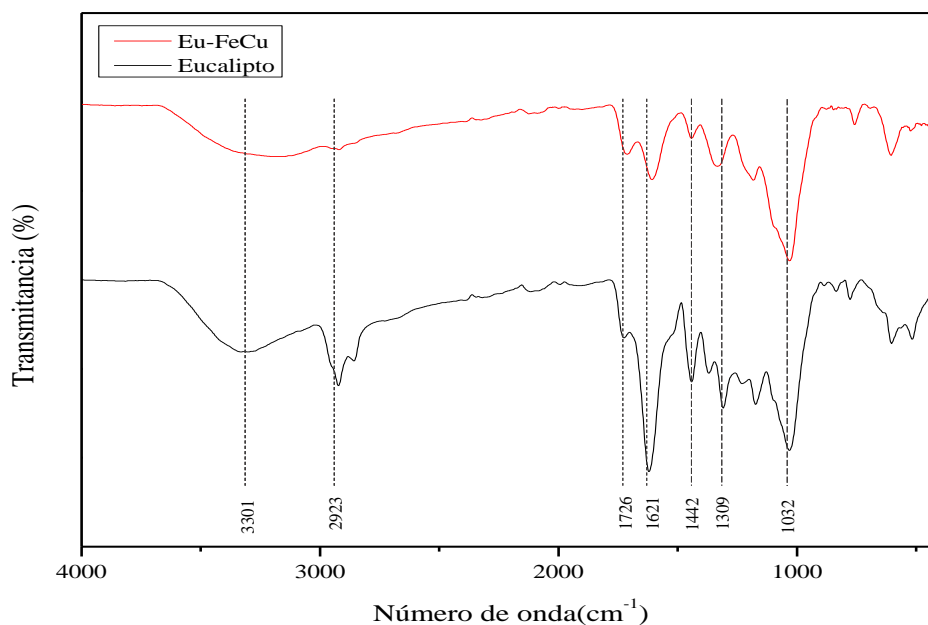


Figura 10. Espectro IR-TF de las partículas Fe-Cu preparadas con extracto de Eucalipto.

En la figura 11 se muestra espectro que corresponde a pumita natural (PN) y la pumita modificada con partículas de Fe-Cu (PMP/Fe-Cu), se observan los picos característicos de la piedra pómez como el pico a 1028 cm^{-1} asociado al estiramiento simétrico del Si – O – Si cuyo ángulo de enlace es de 160° , los picos en 782 y 456 cm^{-1} pertenecen a las vibraciones flexión del enlace Si – O – Si, el pequeño pico a 1636 cm^{-1} indica la vibración de flexión del enlace H–O–H, como se observa los espectros de la piedra pómez emiten principalmente una fuerte vibración de unión de Si-O-Si, lo que facilita formar una estructura superficial entre el silicio y el grupo hidroxilo (Li *et al.*, 2010). Una vez que las partículas bimetalicas Fe-Cu fueron sintetizadas sobre la piedra se observa una notable reducción en la intensidad de los picos, así como la aparición de otros asociados a los compuestos fitoquímicos unidos a las partículas bimetalicas.

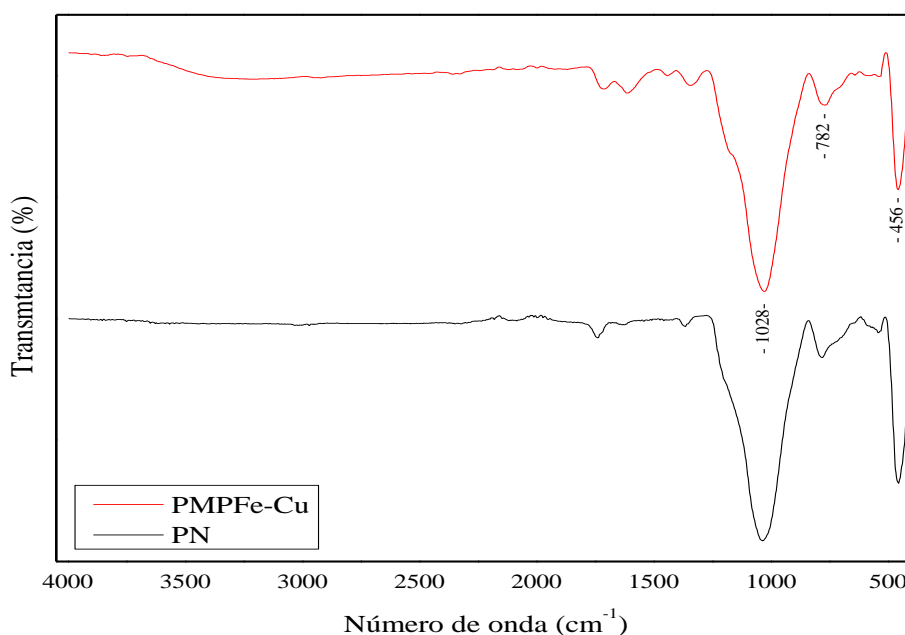


Figura 11. Espectro IR-TF de la pumita natural (PN) y pumita modificada con partículas Fe-Cu (PMP/Fe-Cu).

Microscopia electrónica de barrido (SEM-EDS)

La morfología del material PMP/Fe-Cu se analizó mediante microscopia electrónica de barrido la figura 12 muestra a PMP/Fe-Cu antes del proceso de ozonación en diferentes aumentos y la figura 13 muestra a PMP/Fe-Cu después de su uso por ozonación, en ambas figuras las

micrografías confirman la estructura porosa de pumita que presenta una alta porosidad misma que ha sido reportada por diversos autores en la literatura (Li *et al.*, 2010). En la figura 12 se observan además depósitos amorfos sobre la superficie de pumita los cuales corresponden a las partículas Fe-Cu y a residuos del extracto de eucalipto utilizado durante la síntesis de las partículas bimetalicas corroborado por la presencia de oxígeno y carbono obtenido en el análisis elemental.

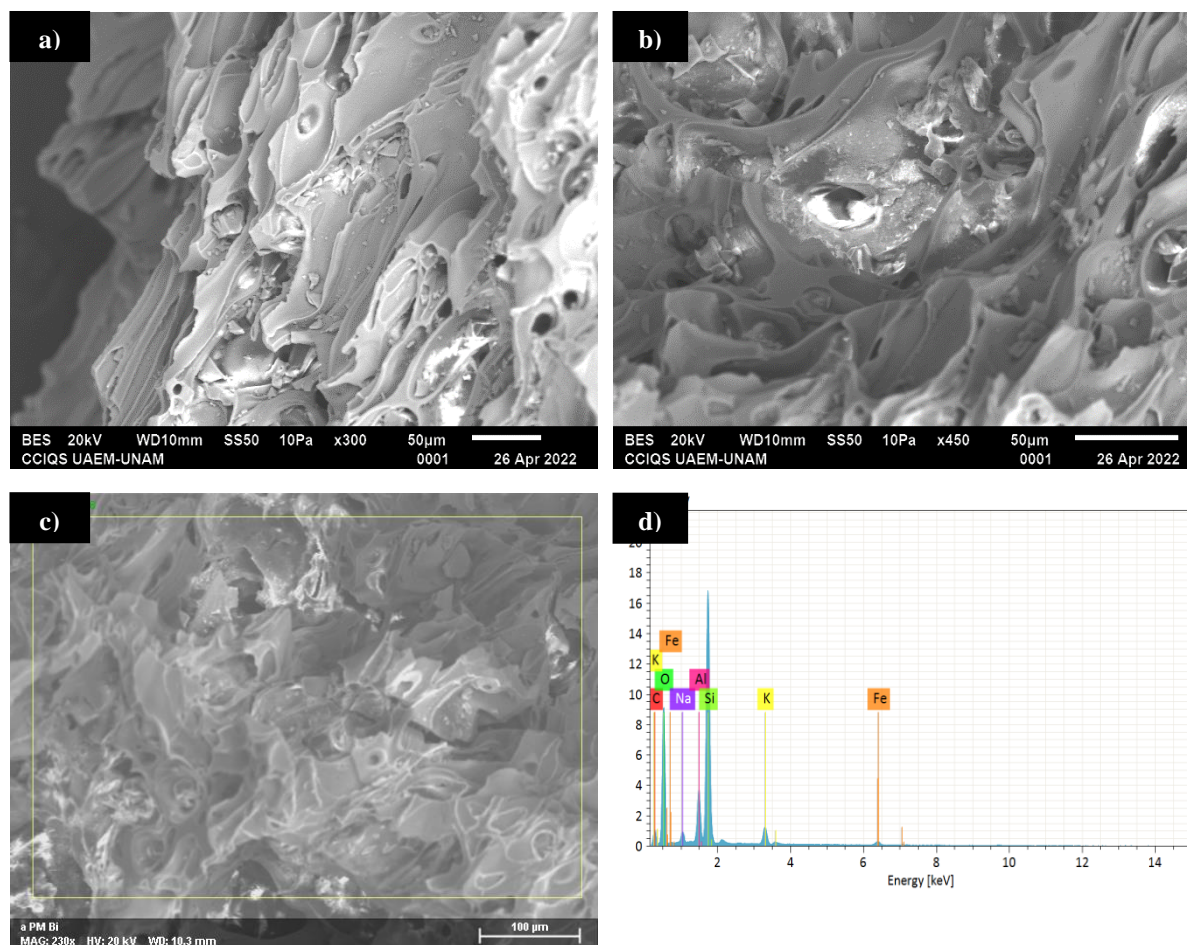


Figura 12. Micrografías SEM-EDS de la PMP/Fe-Cu antes del tratamiento de ozonación a) 300X; b) 450X; c) 100 μm; d) composición elemental del material.

En la figura 13 en las micrografías se observa la presencia de los depósitos sobre la superficie que se conservan aún después del uso en ozonación, se observan agregados no esféricos ampliamente distribuidos sobre la superficie de pumita, el análisis elemental tanto antes como después del tratamiento muestran la presencia de Fe, pese a que las partículas son bimetalicas

Fe-Cu, la ausencia de la señal que corresponde al Cu puede estar relacionada con la configuración de las partículas bimetálicas debido a que el Cu puede estar formando un centro compacto rodeado por partículas de Fe en una configuración núcleo-coraza o multi coraza-núcleo , esto solo podría ser corroborado a través de un análisis de TEM de alta resolución (Kumari, Jacob and Philip, 2015; Scaria, Nidheesh and Kumar, 2020).

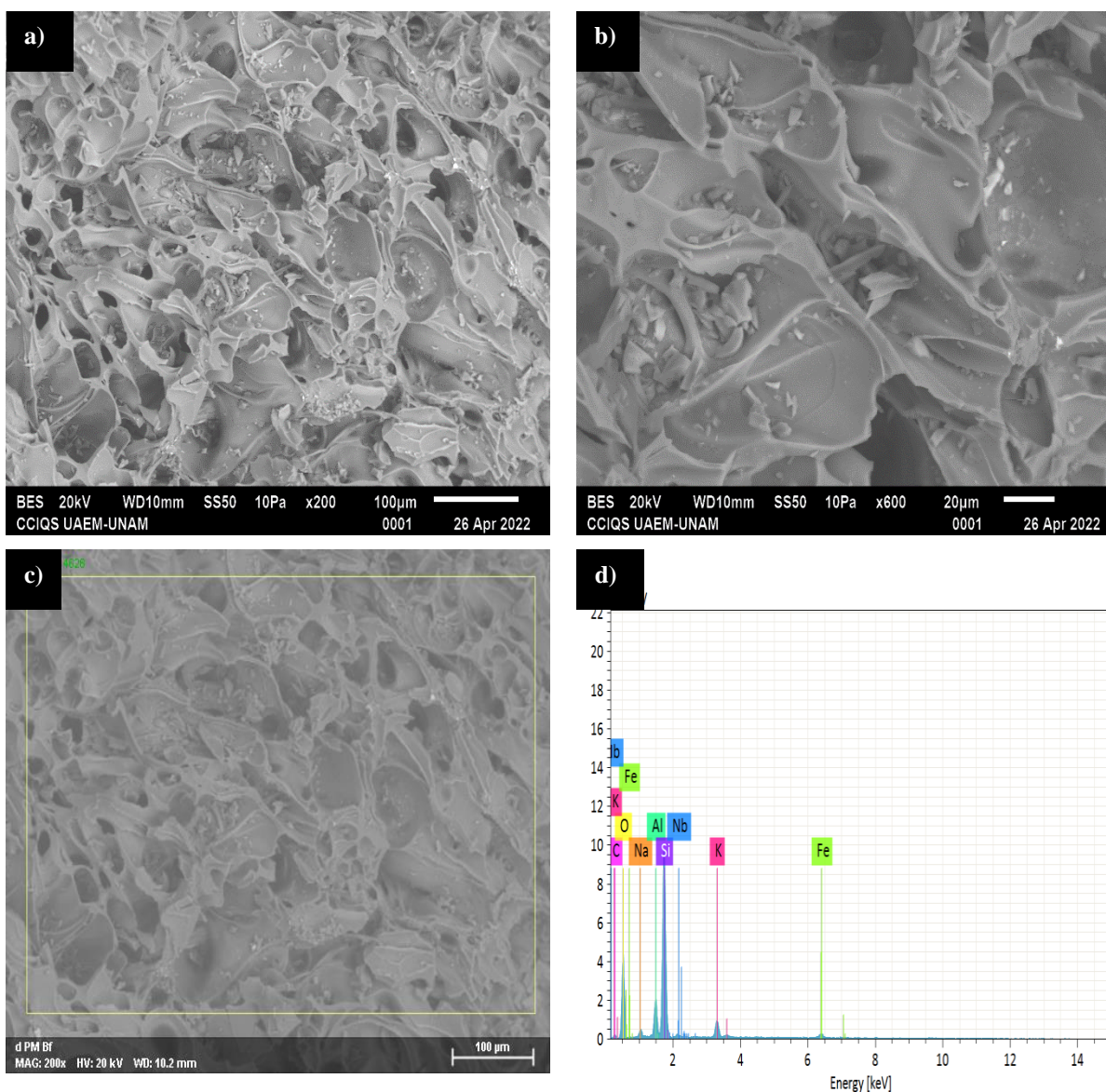


Figura 13. Micrografías SEM-EDS de la PMP/Fe-Cu después del tratamiento de ozonación a) 200X; b) 600X; c)100µm; d) composición elemental del material.

4.3.2 Aplicación de PMP/Fe-Cu en Ozonación

El proceso de ozonación para los tres valores de pH sin catalizador, se puede observar en la figura 14a, en esta gráfica es difícil determinar a simple vista diferencias en las eficiencias de remoción del color entre los tratamientos pues en todos los casos se alcanza el 95 % de remoción de color durante los primeros 14 minutos de reacción, en estos casos el principal mecanismo de degradación posible es la reacción directa del ozono con el colorante mediante la interacción del ozono con el enlace C=C de la molécula de índigo carmín a través de la cual la molécula queda fraccionada (Ben Hamida *et al.*, 2018) lo cual se corrobora mediante los espectros UV-Vis obtenidos de las muestras presentados en la figura 15a donde se observa que en el minuto 12 empieza a surgir una banda de absorción máxima en 245 nm la cual de acuerdo con la literatura corresponde con el isatin ácido sulfónico principal subproducto de IC (Torres-Blancas *et al.*, 2017; Ben Hamida *et al.*, 2018).

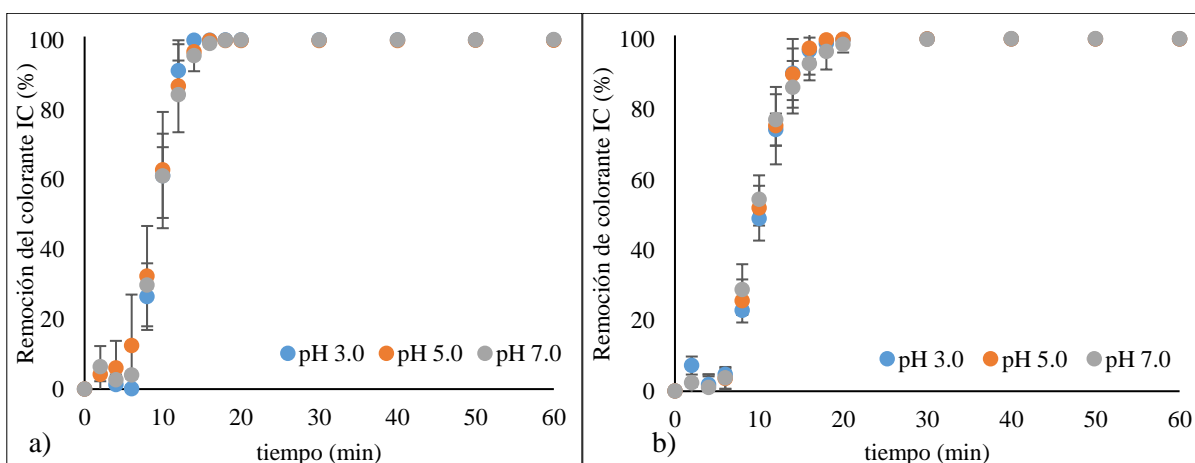


Figura 14. Remoción de índigo carmín a) con ozono solo para valores de pH de 3.0, 5.0 y 7.0; b) con ozono más catalizador bimetalico PMP/Cu-Fe (0.5 g /L).

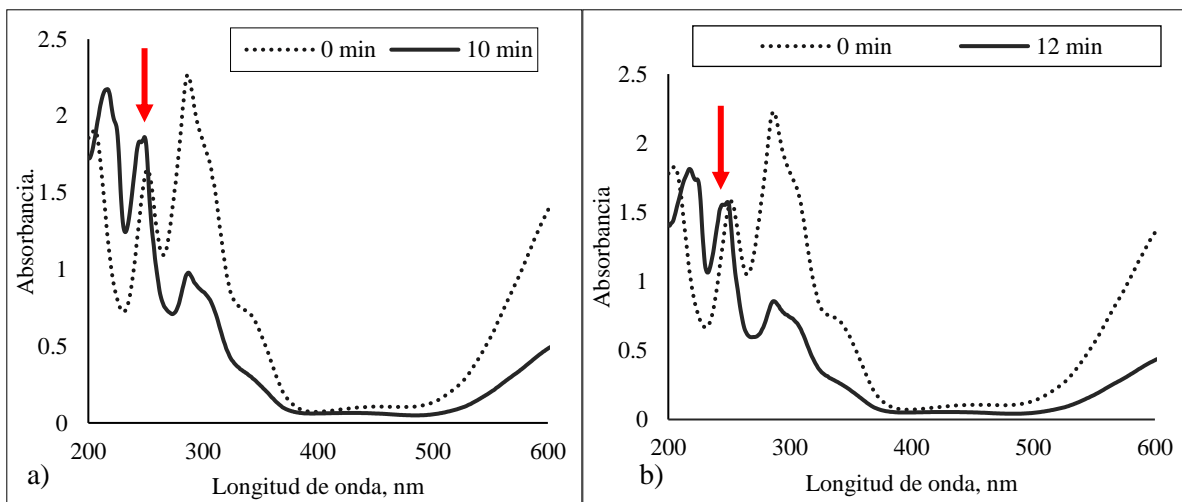


Figura 15. Espectro UV-Vis donde se observa la formación del isatin, principal subproducto de la degradación del IC, a) agua tratada con ozono y b) ozono más 500 mg de PMP/Fe-Cu con pH 7.

Análisis del espectro UV-Vis

El espectro UV-Vis típico del colorante índigo carmín presenta cuatro máximos en 610, 290, 250 y 205 nm, el máximo de absorción en la longitud de onda de 610 nm se debe al grupo cromóforo, del colorante, los tres picos restantes se encuentran en la región ultravioleta los cuales están asociados a estructuras orgánicas, en 290 nm se encuentra un máximo asociado a los grupos amino, en 250 nm el máximo es atribuible a los grupos carbonilo y en 205 nm corresponde a la resonancia de los anillos aromáticos (Ortiz *et al.*, 2016).

La figura 16a muestra el espectro inicial de la solución de IC y el espectro obtenido al final del proceso de ozonación con los diferentes valores de pH evaluados, mientras que en la figura 16b se observan los espectros, obtenidos a partir del proceso de ozonación más 500 mg de catalizador PMP/Fe-Cu. En la primera ocurre la reacción directa del ozono que como se mencionó anteriormente actúa de manera selectiva sobre el grupo cromóforo del colorante fraccionando la molécula por la mitad generando una absorbancia máxima en 245 nm al final del proceso, debido a la abundancia del isatin ácido sulfónico principal subproducto de esta reacción. En la figura 16b la presencia del catalizador PMP/Fe-Cu promueve la segunda vía de reacción del ozono a través de la generación de radicales HO• no selectivos, los cuales interactúan simultáneamente con el grupo cromóforo del colorante y con sus subproductos por lo que la

banda de absorción asociada al isatin ácido sulfónico presenta una menor absorbancia, lo que confirma que durante el proceso no solo se destruye la molécula del colorante sino también su principal subproducto el cual de acuerdo a lo que reporta Ben Hamida et al.(2018) es más biodegradable que el colorante original.

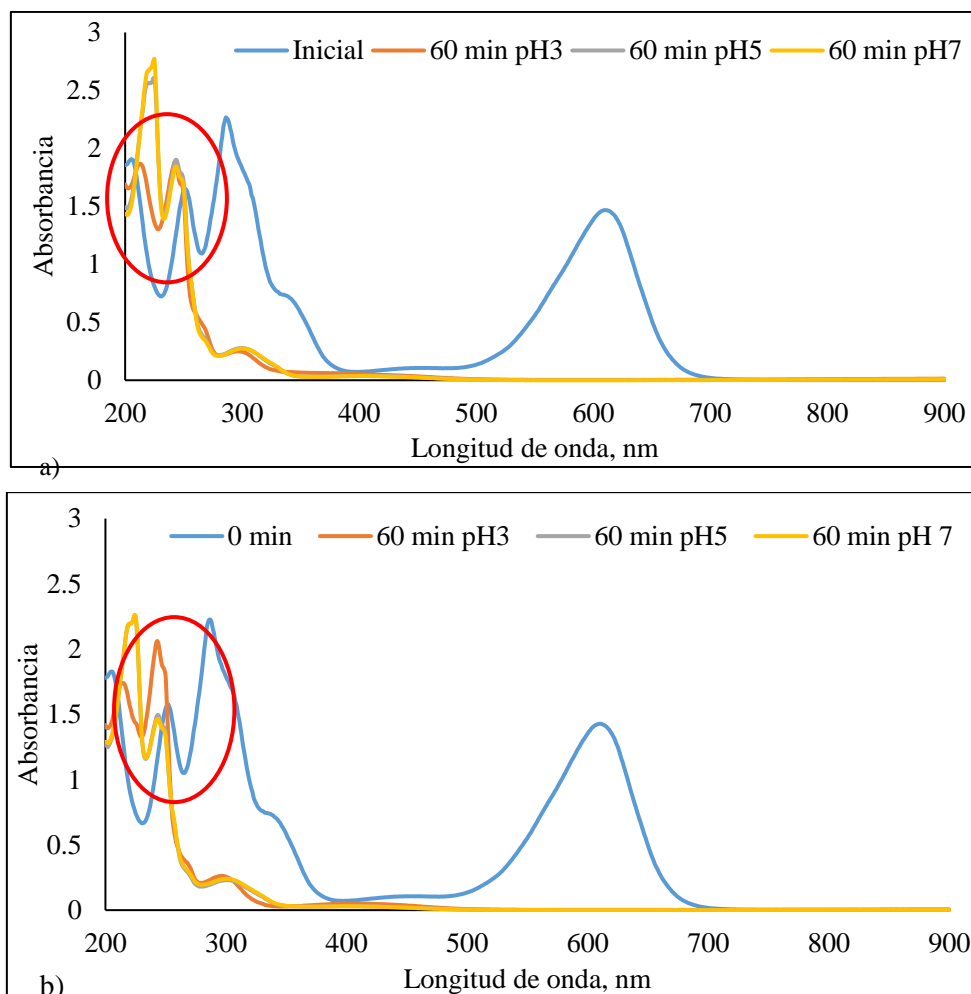


Figura 16. Espectros UV-Vis iniciales y finales del proceso de degradación del índigo carmín con: a) ozono solo; b) ozono con PMP/Fe-Cu.

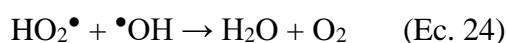
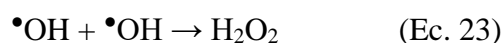
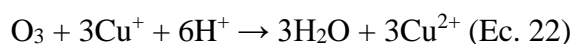
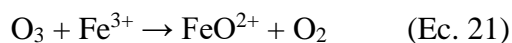
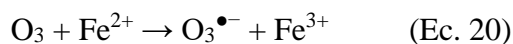
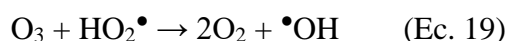
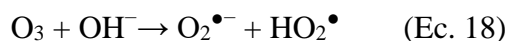
La eficiencia en la mineralización se determinó en términos de Carbón orgánico total (COT), para las pruebas de ozono más el catalizador PMP/Fe-Cu, como se observa en la tabla 13, se alcanzaron porcentajes de mineralización de 86.27, 92.29 y 92.31 % para el pH 3, 5 y 7 respectivamente, estos resultados son congruentes con los reportados por Torres-Blancas et al. (2017) quienes utilizaron partículas bimetálicas Fe-Cu soportadas en pimienta para remover IC

a una concentración de 500 mg/L, lo cual sugiere que independientemente del tipo de soporte, sea mineral u orgánico el sistema Fe-Cu tendrá actividad catalítica semejante.

Tabla 13. Análisis de carbón orgánico total de los diferentes valores de pH evaluados.

Tratamiento	Carbón total	Carbón orgánico	Carbón inorgánico
IC [500 mg/L]	207.12	202.8	4.32
Oz pH3 (60 min)	30.7	27.85	2.855
Oz pH5 (60 min)	18.51	15.64	2.866
Oz pH7 (60 min)	18.47	15.6	2.87

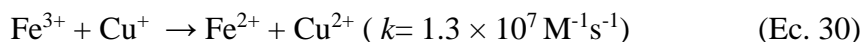
El proceso de degradación del IC en presencia del ozono y el catalizador bimetálico ocurre debido a las diversas rutas de descomposición del ozono que entra en contacto con el agua y las partículas bimetálicas de acuerdo con las reacciones (18 - 22), donde además los radicales hidroxilos también reaccionan entre sí y con el hidroperóxido generado durante la descomposición del ozono en lugar de reaccionar con las moléculas de colorante generando a su vez peróxido de hidrógeno (Ec. 23 y 24) (Torres-Blancas *et al.*, 2017; Ghuge and Saroha, 2018b).



El peróxido generado *in situ* promueve un incremento en la producción de radicales •OH debido a su interacción con los iones de Fe y Cu mediante un proceso Fenton-like descrito en las reacciones 25 – 29 (Sun et al., 2019).



De acuerdo con Sun et al. (2019), Da et al. (2019) y Tang et al. (2020) considerando los potenciales estándar de reducción del Fe y el Cu su interacción podría estar promoviendo una rápida reducción del Fe³⁺ lo que permitiría una rápido regeneración de Fe²⁺ prolongando la formación de •OH.



Con estos resultados se consideró realizar el acoplamiento de fitorremediación con la ozonación a pH 7 pues fue el que dio mejores resultados.

4.3.3 Fitorremediación con *Myriophyllum aquaticum*.

Ensayo de remoción de índigo carmín con *M. aquaticum*

En la concentración de 50 mg/L de colorante se redujo el crecimiento de *M. aquaticum* en un 0.82 % por debajo del control, sin embargo, con la concentración de 100 mg/L la tasa de crecimiento relativo aumentó un 6.5 % en comparación con el control. Estos resultados sugieren que el colorante IC tiene efectos negativos en el crecimiento de las plantas en un periodo inicial de exposición y que al ampliar el tiempo y a pesar de encontrarse ante una concentración mayor los organismos desarrollan tolerancia al contaminante, lo cual fue corroborado con el cálculo del índice de tolerancia que fue de 0.94 para las plantas expuestas a 50 mg/L y retiradas a los 15 días, y de 1.16 para las plantas expuestas a 100 mg/L y retiradas a los 29 días.

El pH medido para los tratamientos de IC de 50 mg/L y 100 mg/L fue de 6.01 ± 0.22 y 7.11 ± 0.08 respectivamente al inicio de la exposición, en el caso del tratamiento de 50 mg/L el pH se mantuvo a 6.18 ± 0.08 , mientras que en el tratamiento de 100 mg/L el pH decreció ligeramente y se estabilizó en 6.51 ± 0.08 esto indica que el pH adecuado para el crecimiento y actividades metabólicas de *M. aquaticum* está entre 6-7, de acuerdo con lo reportado por Al-Baldawi et al. (2020) el pH cercano a 6.5 puede ser relevante para el proceso de decoloración.

El análisis de los pigmentos fotosintéticos es muy importante pues se encuentran directamente involucrados en el metabolismo energético de las células, lo cual es alterado por la exposición a estreses abióticos. Las clorofilas y la concentración de carotenoides en las hojas fueron medidas después de 15 y 29 días de exposición de la planta al colorante índigo carmín en concentraciones de 50 y 100 mg/L. Durante el proceso de tratamiento, se encontró que las cantidades de clorofila a (Ca), clorofilas totales a+b (Ca+b) y carotenoides (Cx+c) disminuyeron un 23.37, 20.28 y 22.45 % respectivamente durante los primeros 15 días (Figura 17), en comparación con la muestra control, mientras que al concluir los 29 días la diferencia con el control se redujo a 11.98, 10.62 y 7.27 %. La disminución inicial de clorofila a, clorofilas totales y carotenos es una respuesta evidente de estrés generado por la exposición al colorante, el incremento de estos pigmentos a través del tiempo en el tratamiento más largo junto con los valores de las relaciones Ca/b y Ca+b/ Cx+c que se mantuvieron estables durante todo el experimento representa una evidencia de adaptación a las condiciones ambientales (Rápó et al., 2020).

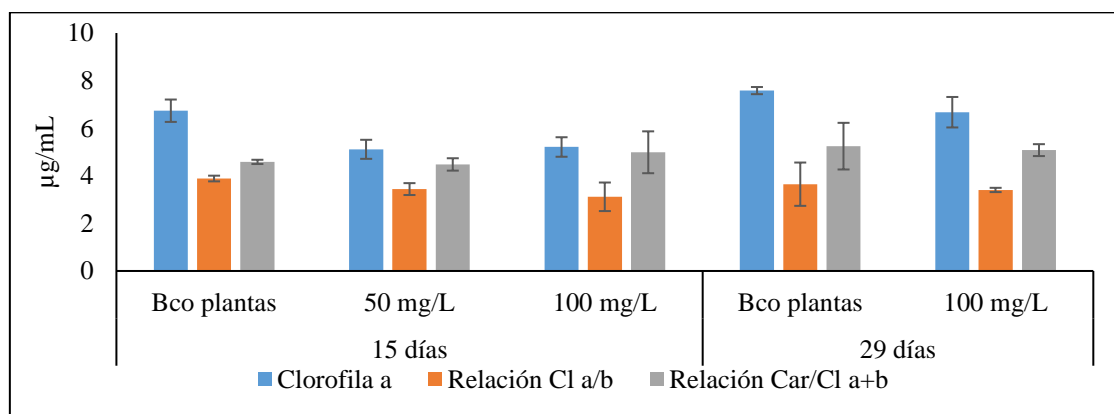


Figura 17. Determinación de pigmentos fotosintéticos para los tratamientos de fitorremediación con *M. aquaticum* de 50 y 100 mg/L a 15 y 29 días.

En la figura 18 se observan los espectros UV-Vis de las concentraciones de IC iniciales y los finales, en 18a el de 50 mg/L y en 18b 100 mg/L, como ya se mencionó anteriormente en los espectros iniciales se identifican los máximos característicos del IC ubicados en 610, 290, 250 y 205 nm, después de los tratamientos de fitorremediación el máximo en 610 nm desaparece mientras que surgen nuevos máximos de absorbancia en 207 asociado al anillo aromático, 235 asociada al Isatin, 260 a los grupos carbonilo. Los resultados sugieren la escisión de la estructura cromófora del colorante y la generación de un nuevo compuesto como lo han reportado (Ortiz *et al.*, 2016; Wang, Lu and Feng, 2017; Safenraider Crema *et al.*, 2020)

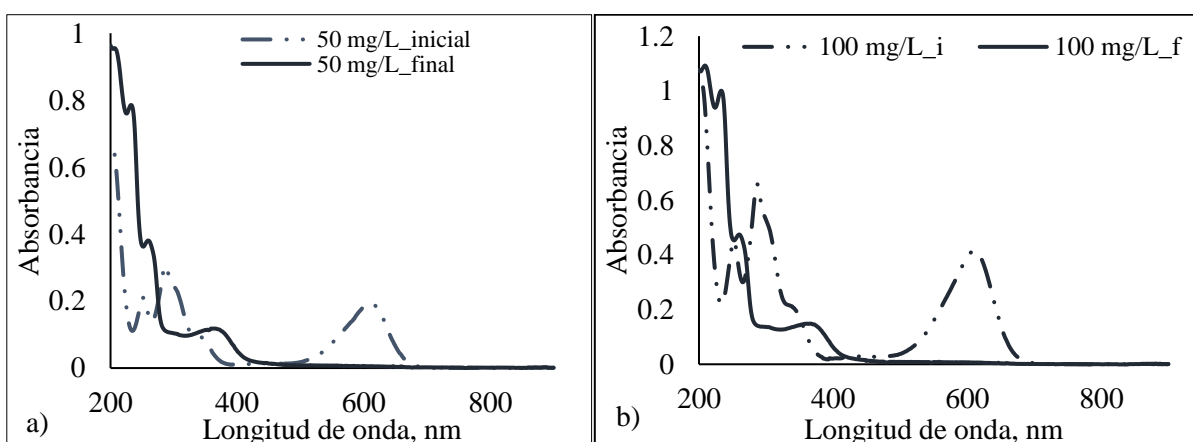


Figura 18. Espectros UV-Vis de los tratamientos de fitorremediación iniciales y finales de las concentraciones evaluadas a) 50 mg/L y b) 100 mg/L.

Fitorremediación con el agua tratada con ozono/ PMP/Fe-Cu

Debido a que en el proceso de ozonación como se observa en la figura 16 el color del IC asociado a la longitud de onda en 610 nm alcanzó una remoción superior al 94 %, para la fitorremediación se monitoreo siguiendo el máximo asociado al isatin ácido sulfónico en 245 nm. La figura 19a muestra como la absorbancia asociada al isatin decrece a través del tiempo alcanzando una remoción máxima del 37 % en presencia de plantas, mientras que para el blanco solo con agua la absorbancia decrece lentamente alcanzando una remoción total de 14 %, lo cual demuestra que las plantas mediante sus actividades metabólicas degradan los subproductos del proceso anterior.

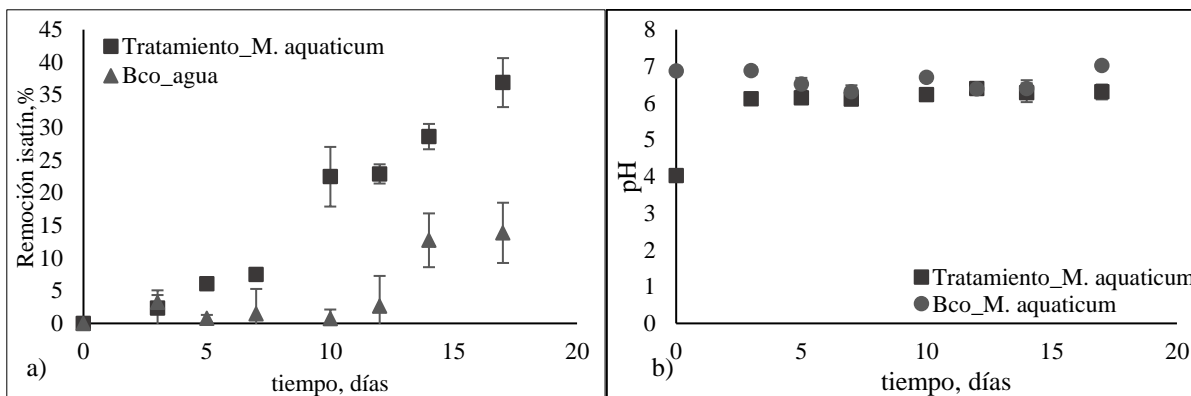


Figura 19. a) Monitoreo de remoción de subproductos en tratamientos de fitorremediación; b) Monitoreo de pH de los tratamientos de fitorremediación, Blanco con *M. aquaticum* y Tratamientos con *M. aquaticum*.

En los tratamientos control con *M. aquaticum* se mantuvo un pH estable de 6.64 ± 0.28 , mientras que en los tratamientos de fitorremediación el pH inicial de ~ 4.0 incremento rápidamente a 6.22 ± 0.16 entre el día 0 y el día 3 manteniéndose constante hasta el final del tratamiento, el incremento puede estar relacionado con las secreción de algunos metabolitos generados por las plantas (Imron *et al.*, 2019).

La tasa de crecimiento relativo en fresco (TCR) de las plantas expuestas al agua tratada decreció -0.002 /día después de 17 días de exposición, el grupo control mantuvo un TCR de 0.01 / día, en investigaciones como la de Imron *et al.* (2019) con *Lemna minor* y Chandanshive *et al.*, (2016) con diferentes especies ornamentales, se encontraron resultados similares cuando las plantas son expuestas a diferentes colorantes.

Para el análisis de los pigmentos se encontró que los valores de la clorofila a incrementaron ligeramente al final del tratamiento con respecto al grupo control significativamente ($p < 0.05$), mientras que los incrementos en la clorofila b y carotenos no fueron significativos ($p > 0.05$), de acuerdo con Chandanshive *et al.* (2018), este es un fenómeno común durante la fitorremediación que ocurre para liberar el estrés generado durante la decoloración de las aguas residuales textiles o para cumplir con el rendimiento fotosintético.

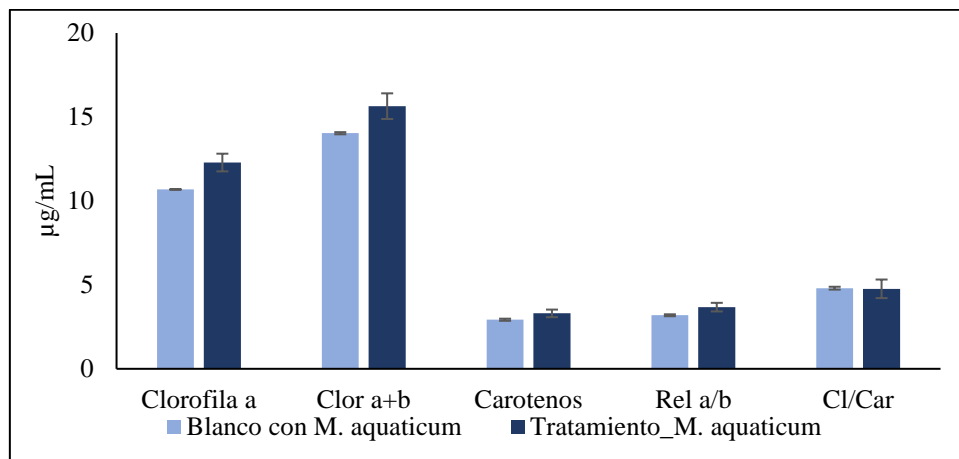


Figura 20. Comparación de determinación de clorofilas y carotenos, ente el tratamiento de fitorremediación y el blanco de plantas del agua que fue tratada previamente con ozono.

Análisis electroquímico por Voltamperometría cíclica

La figura 21 muestra en línea punteada el voltamperograma cíclico (VC) del índigo carmín obtenido con una solución 0.04 M de H_2SO_4 aplicando un potencial en un intervalo de - 0.60 a 0.90 V, con una velocidad de barrido de 100 mV/s en sentido catódico. El VC del índigo carmín se caracteriza por una señal electroica reversible bien definida (I_a/I_c) y un pico de oxidación más positivo (II_a), de acuerdo con otras investigaciones (Díaz-González, Fernández-Sánchez and Costa-García, 2002; N Dri Seiny, Coulibaly and Yao N Guessan, 2016) ambos son procesos de dos electrones atribuidos a la oxidación/reducción de la especie leucoíndigo carmín/índigo carmín y la oxidación de la especie índigo carmín/dehidroíndigo carmine (DHIC), respectivamente. En la línea sólida se observa el VC después del tratamiento con ozono con el catalizador PMP/Fe-Cu, los picos asociados a la reducción y oxidación del IC desaparecen lo que indica la oxidación del compuesto y la ruptura del grupo cromóforo, se presenta únicamente un ligero pico reducción hacia el potencial -0.26 V que se puede asociar con los subproductos generados por el tratamiento de ozonación. Por otro lado es importante destacar que el VC postratamiento no indica la presencia de metales pues no aparecen nuevos picos de oxidación o reducción que pudieran asociarse a los procesos electroquímicos de los metales presentes en el catalizador PMP/Fe-Cu lo cual contrasta con lo observado por De León-Condes et al. (2019) quienes refieren que las partículas de Fe elaboradas por bio-reducción con té verde y soportadas

en poliestireno son liberadas en la solución durante el tratamiento por lo que se requiere un proceso adicional para remover el metal.

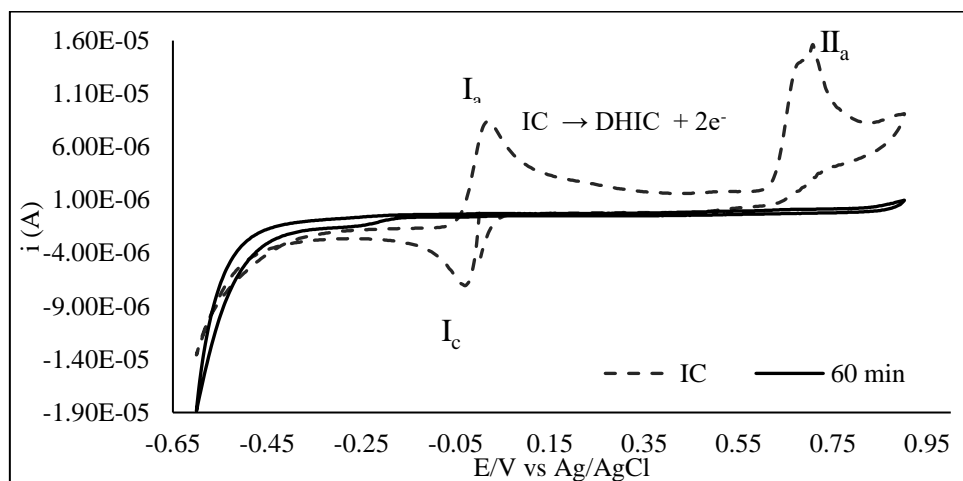


Figura 21. Voltamperograma cíclico obtenido para el colorante IC en línea punteada antes y sólida después del tratamiento por ozonación con PMP/Fe-Cu.

En la figura 22 se observan los voltamperogramas cíclicos que corresponden al proceso de fitorremediación, en línea punteada se observa el control de agua, en negro el control de plantas y en gris el agua resultante del tratamiento de fitorremediación. Los voltamperogramas cíclicos (VC) se realizaron con una solución 0.04 M de H_2SO_4 aplicando un potencial en un intervalo de -0.60 a 0.90 V, con una velocidad de barrido de 100 mV/s iniciando en sentido catódico. Como se puede observar únicamente en el control agua se presenta un ligero pico de reducción asociado a los subproductos residuales del agua tratada por ozonación, el agua tratada con *M. aquaticum* no presenta señales de oxidación o reducción lo que sugiere que la materia orgánica ha sido removida.

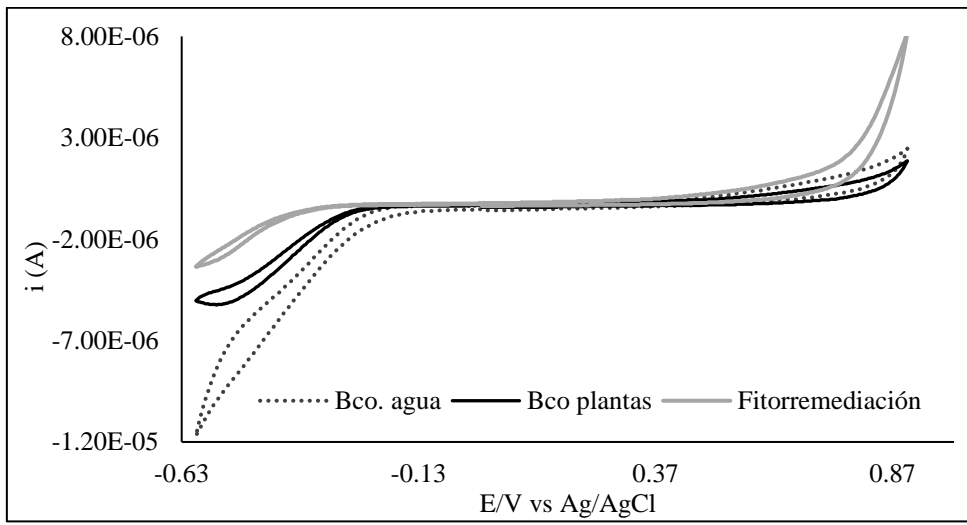


Figura 22. Voltamperograma cíclico de la fitorremediación

4.4 Discusión General

El proceso de bioreducción es sencillo, económico y amigable con el ambiente, no requiere sustancias adicionales para la estabilización de las partículas porque el extracto vegetal al ser una matriz compleja contiene moléculas que actúan como reductores, otras como estabilizantes y protectoras de las partículas por lo que evitan su aglomeración (Siripireddy and Mandal, 2017). Los resultados IR-TF del eucalipto y las partículas bimetalicas demuestra que moléculas como polifenoles, aldehídos, aminas y alcanos presentes en la infusión de eucalipto (Weng *et al.*, 2017) participan en la reducción, estabilización y protección de las partículas. Es posible también que estas moléculas asociadas con las partículas bimetalicas permitan que se fijen de una mejor manera sobre la superficie de pumita impidiendo que migren por completo hacia el agua tratada.

El proceso de ozonación utilizando PMP/Fe-Cu mejora la mineralización del contaminante alcanzando una remoción de COT de 92 % con pH 5 y 7, además de la oxidación que ocurre por la interacción del ozono con la molécula colorante, la presencia del catalizador bimetalico mejora la degradación del IC en pH's cercanos al neutro, varias investigaciones proponen que la presencia del Cu promueve la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} acelerando el ciclo catalítico que genera HO^{\bullet} lo que incrementa la degradación del IC (Da *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2019).

El ensayo de fitorremediación permitió observar las condiciones en que las plantas podrían ser implementadas para tratar agua residual cargada con color, como lo muestran los resultados el tiempo de remoción dependerá de la concentración del contaminante, aunque es posible que sea necesario considerar otras variables como volumen, biomasa utilizada y etapa de crecimiento de la planta. Al implementar la fitorremediación con agua que ya fue tratada por ozonación se observó que las plantas removieron el principal subproducto generado (isatin ácido sulfónico).

4.5 Conclusiones Generales

- La obtención de nanopartículas metálicas mediante rutas verdes utilizando extractos vegetales es un método eficiente, ecológico, económico y sencillo por lo que es recomendable seguir explorando esta alternativa de reducción para la obtención de catalizadores nanométricos que puedan mejorar los procesos de degradación de contaminantes presentes en aguas residuales.
- Es importante realizar un proceso de optimización para la reducción de los metales considerando los parámetros como pH, concentración de la sal metálica precursora, temperatura y cantidad de agente reductor (infusión) para realizar el proceso de reducción.
- La actividad catalítica de las nanopartículas para la remoción de color con el proceso de ozonación en muestras estándar incrementa la biodegradabilidad de estas por lo que su aplicación en combinación con un proceso biológico incrementa la calidad del agua tratada.
- El acoplamiento del proceso de ozonación con fitorremediación es viable para mejorar las condiciones del agua tratada, sin embargo, es necesario realizar análisis del material vegetal en diferentes momentos del tratamiento, así como diferentes pruebas con biomarcadores de estrés oxidativo para obtener resultados concluyentes.
- Los resultados en el estado de salud de las plantas indican que *M. aquaticum* es una macrofito apta para su implementación en remoción de colorantes.

Referencias

- Abdedayem, A., Guiza, M. and Ouederni, A. (2015) 'Copper supported on porous activated carbon obtained by wetness impregnation: Effect of preparation conditions on the ozonation catalyst's characteristics', *Comptes Rendus Chimie*, 18(1), pp. 100–109. doi: 10.1016/j.crci.2014.07.011.
- Adel, M., Ahmed, M. A. and Mohamed, A. A. (2021) 'Effective removal of indigo carmine dye from wastewaters by adsorption onto mesoporous magnesium ferrite nanoparticles', *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 16(March), p. 100550. doi: 10.1016/j.enmm.2021.100550.
- Afsheen, S. *et al.* (2018) 'Green synthesis and characterization of novel iron particles by using different extracts', *Journal of Alloys and Compounds*, 732, pp. 935–944. doi: 10.1016/j.jallcom.2017.10.137.
- Aghajanyan, A. *et al.* (2020) 'Silver ion bioreduction in nanoparticles using *Artemisia annua* L. extract: characterization and application as antibacterial agents', *AMB Express*, 10. doi: 10.1186/s13568-020-01002-w.
- Ahila, K. G. *et al.* (2021) 'Phytoremediation potential of freshwater macrophytes for treating dye-containing wastewater', *Sustainability (Switzerland)*, 13(1), pp. 1–13. doi: 10.3390/su13010329.
- Ahmad, T. *et al.* (2018) 'Green synthesis of stabilized spherical shaped gold nanoparticles using novel aqueous *Elaeis guineensis* (oil palm) leaves extract', *Journal of Molecular Structure*, 1159, pp. 167–173. doi: 10.1016/j.molstruc.2017.11.095.
- Ahmed, S. *et al.* (2016) 'Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract', *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9, pp. 1–7. doi: 10.1016/j.jrras.2015.06.006.
- Ahmmad, B. *et al.* (2015) 'GREEN TEA MEDIATED BIOSYNTHESIS OF -Fe₂O₃ NANO - / MICRO-PARTICLES AND THEIR CHARACTERIZATION', *World Journal of Engineering*, (December), pp. 19–20.
- Al-Baldawi, I. A. *et al.* (2020) 'Role of *Salvinia molesta* in biodecolorization of methyl orange dye from water', *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–9. doi: 10.1038/s41598-020-70740-5.
- Albeladi, S. S. R., Malik, M. A. and Al-Thabaiti, S. A. (2020) 'Facile biofabrication of silver nanoparticles using *Salvia officinalis* leaf extract and its catalytic activity towards Congo red dye degradation', *Journal of Materials Research and Technology*, 9(5), pp. 10031–10044. doi: 10.1016/j.jmrt.2020.06.074.
- Alrumman, S. A., El-kott, A. F. and Keshk, S. M. A. S. (2016) 'Water Pollution : Source and Treatment Water Pollution : Source & Treatment', *Am J Environ Eng*, 6(June), pp. 88–98. doi: 10.5923/j.ajee.20160603.02.
- Alwhibi, M. S. *et al.* (2020) 'Green biosynthesis of silver nanoparticle using *Commiphora myrrh* extract and evaluation of their antimicrobial activity and colon cancer cells viability', *Journal*

of King Saud University - Science, 32, pp. 3372–3379. doi: 10.1016/j.jksus.2020.09.024.

Asghar, A., Raman, A. A. A. and Daud, W. M. A. W. (2015) ‘Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review’, *Journal of Cleaner Production*, 87, pp. 826–838. doi: 10.1016/j.jclepro.2014.09.010.

Asghar, M. A. *et al.* (2018) ‘Iron, copper and silver nanoparticles: Green synthesis using green and black tea leaves extracts and evaluation of antibacterial, antifungal and aflatoxin B1 adsorption activity’, *LWT-Food Science and Technology*, 90, pp. 98–107. doi: 10.1016/j.lwt.2017.12.009.

Balamurugan, M. and Saravanan, S. (2017) ‘Green Synthesis of Silver Nanoparticles by using Eucalyptus Globulus Leaf Extract’, *Journal of The Institution of Engineers (India): Series A*, 98(4), pp. 461–467. doi: 10.1007/s40030-017-0236-9.

Balasubramanian, S., Kala, S. M. J. and Pushparaj, T. L. (2020) ‘Biogenic synthesis of gold nanoparticles using Jasminum auriculatum leaf extract and their catalytic, antimicrobial and anticancer activities’, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57, p. 101620. doi: 10.1016/j.jddst.2020.101620.

Barzinjy, A. A. and Azeez, H. H. (2020) ‘Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Eucalyptus globulus Labill. leaf extract and zinc nitrate hexahydrate salt’, *SN Applied Sciences*, 2(5), pp. 1–14. doi: 10.1007/s42452-020-2813-1.

Behera, M. *et al.* (2021) ‘A review on the treatment of textile industry waste effluents towards the development of efficient mitigation strategy: An integrated system design approach’, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), p. 105277. doi: 10.1016/j.jece.2021.105277.

Benkhaya, S., El Harfi, S. and El Harfi, A. (2017) ‘Classifications , properties and applications of textile dyes : A review’, *Appl. J. Envir. Eng. Sci.*, 3, pp. 311–320.

Benkhaya, S., M’rabet, S. and El Harfi, A. (2020) ‘A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes’, *Inorganic Chemistry Communications*, 115(January), p. 107891. doi: 10.1016/j.inoche.2020.107891.

Bharathiraja, B. *et al.* (2018) ‘Phytoremediation Techniques for the Removal of Dye in Wastewater’, *Energy, Environment, and Sustainability*, pp. 243–252. doi: 10.1007/978-981-10-7485-1_12.

Bhardwaj, D. and Bharadvaja, N. (2021) ‘Phycoremediation of effluents containing dyes and its prospects for value-added products: A review of opportunities’, *Journal of Water Process Engineering*, 41(February), p. 102080. doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102080.

Bilinska, L., Gmurek, M. and Ledakowicz, S. (2016) ‘Comparison between industrial and simulated textile wastewater treatment by AOPs – Biodegradability , toxicity and cost assessment’, *Chemical Engineering Journal*, 306, pp. 550–559. doi: 10.1016/j.cej.2016.07.100.

Bokare, A. D. and Choi, W. (2014) ‘Review of iron-free Fenton-like systems for activating H₂O₂ in advanced oxidation processes’, *Journal of Hazardous Materials*, 275, pp. 121–135.

doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.04.054.

Canizal, G. *et al.* (2006) 'Controlled synthesis of Zn₀ nanoparticles by bioreduction', *Materials Chemistry and Physics*, 97(2–3), pp. 321–329. doi: 10.1016/j.matchemphys.2005.08.015.

Cano-Rodríguez, C. . T. *et al.* (2010) 'An integrated electrocoagulation-phytoremediation process for the treatment of mixed industrial wastewater.', *International journal of phytoremediation*, 12, pp. 772–84. doi: 10.1080/15226510903390429.

Cano-Rodríguez, C. T. *et al.* (2014) 'Tolerance of *Myriophyllum aquaticum* to exposure of industrial wastewater pretreatment with electrocoagulation and their efficiency in the removal of pollutants', *Journal of Environmental Biology*, 35(January), pp. 127–136.

Chamsa-ard, W. *et al.* (2019) 'Biogenic synthesis of gold nanoparticles from waste watermelon and their antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*', *International Journal of Research in Medical Sciences*, 7, pp. 2499–2505. doi: 10.18203/2320-6012.ijrms20192874.

Chandanshive, V. V. *et al.* (2016) 'Efficient decolorization and detoxification of textile industry effluent by *Salvinia molesta* in lagoon treatment', *Environmental Research*, 150, pp. 88–96. doi: 10.1016/j.envres.2016.05.047.

Chandanshive, V. V. *et al.* (2018) 'In situ phytoremediation of dyes from textile wastewater using garden ornamental plants , effect on soil quality and plant growth', *Chemosphere*, 210, pp. 968–976. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.064.

Chaturvedi, A. *et al.* (2021) 'A comprehensive review on the integration of advanced oxidation processes with biodegradation for the treatment of textile wastewater containing azo dyes', *Reviews in Chemical Engineering*. doi: 10.1515/revce-2020-0010.

Chinnasamy, C. *et al.* (2018) 'Green Synthesis , Characterization and Optimization Studies of Zinc Oxide Nano Particles Using *Costusigneus* Leaf Extract', *Materials Today: Proceedings*, 5(2), pp. 6728–6735. doi: 10.1016/j.matpr.2017.11.331.

Chowdhury, M. F. *et al.* (2020) 'Current treatment technologies and mechanisms for removal of indigo carmine dyes from wastewater: A review', *Journal of Molecular Liquids*, 318, p. 114061. doi: 10.1016/j.molliq.2020.114061.

CONAGUA (2014) *Numeragua México 2014*. Ed. 2018. Edited by Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México: Coordinación General de Comunicación y Cultura del Agua de la Comisión Nacional del Agua.

CONAGUA (2018) *Numeragua México 2018*. Ed. 2018. Edited by S. de M. A. y R. Naturales. México: Banco Interamericano de Desarrollo. Available at: <https://www.acnur.org/5c93e4c34.pdf>.

CONAGUA (2019) *Estadísticas del Agua en México, SEGOB (In Spanish)*. Available at: <https://www.gob.mx/conagua>.

CONAGUA (2020) *Programa Nacional Hídrico 2020 - 2024*. México: Diario Oficial de la

Federación.

Cruz, D. *et al.* (2010) 'Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena)', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), pp. 67–73. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.06.025.

Da, X. *et al.* (2019) 'Strongly prolonged hydroxyl radical production for Fenton-like reactions : The golden touch of Cu', *Separation and Purification Technology*, 213, pp. 500–506. doi: 10.1016/j.seppur.2018.12.060.

Dada, A. O. *et al.* (2019) 'Silver nanoparticle synthesis by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial testing', *Heliyon*, 5(10), p. e02517. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02517.

Dahamsheh, A. and Wedyan, M. (2017) 'Evaluation and assessment of performance of Al-Hussein bin Talal University (AHU) wastewater treatment plants', *International Journal of Advanced and Applied Sciences*, 4(1), pp. 84–89. Available at: <https://doi.org/10.21833/ijaas.2017.01.012>.

Dasgupta, J. *et al.* (2015) 'Remediation of textile effluents by membrane based treatment techniques: A state of the art review', *Journal of Environmental Management*, 147, pp. 55–72. doi: 10.1016/j.jenvman.2014.08.008.

Decou, R. *et al.* (2019) 'Comparative in vitro / in situ approaches to three biomarker responses of *Myriophyllum alterniflorum* exposed to metal stress *Raphanistrum*', *Chemosphere*, 222, pp. 29–37. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.01.105.

Deeksha, B. *et al.* (2021) 'Preparation and properties of cellulose nanocomposite fabrics with in situ generated silver nanoparticles by bioreduction method', *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6, pp. 75–81. doi: 10.1016/j.jobab.2021.01.003.

Devatha, C. P., Thalla, A. K. and Katte, S. Y. (2016) 'Green synthesis of iron nanoparticles using different leaf extracts for treatment of domestic waste water', *Journal of Cleaner Production*, 139, pp. 1425–1435. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.09.019.

Díaz-González, M., Fernández-Sánchez, C. and Costa-García, A. (2002) 'Comparative voltammetric behavior of indigo carmine at screenprinted carbon electrodes', *Electroanalysis*, 14(10), pp. 665–670. doi: 10.1002/1521-4109(200205)14:10<665::AID-ELAN665>3.0.CO;2-C.

Donkadokula, N. Y. *et al.* (2020) 'A review on advanced physico-chemical and biological textile dye wastewater treatment techniques', *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 19(3), pp. 543–560. doi: 10.1007/s11157-020-09543-z.

Dzimitrowicz, A. *et al.* (2018) 'Fermented juices as reducing and capping agents for the biosynthesis of size-defined spherical gold nanoparticles', *Journal of Saudi Chemical Society*, 22, pp. 767–776. doi: 10.1016/j.jscs.2017.12.008.

Ekanayake, M. S. *et al.* (2021) 'Phytoremediation of synthetic textile dyes: biosorption and enzymatic degradation involved in efficient dye decolorization by *Eichhornia crassipes* (Mart.)

Solms and Pistia stratiotes L.', *Environmental Science and Pollution Research*, 28(16), pp. 20476–20486. doi: 10.1007/s11356-020-11699-8.

Elemike, E. E. *et al.* (2019) 'Green synthesis and electrochemistry of Ag, Au, and Ag–Au bimetallic nanoparticles using golden rod (*Solidago canadensis*) leaf extract', *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 125(1), p. 0. doi: 10.1007/s00339-018-2348-0.

Fatimah, I. *et al.* (2020) 'Ultrasound-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Clitoria ternatea* flower', *South African Journal of Chemical Engineering*, 34, pp. 97–106. doi: 10.1016/j.sajce.2020.06.007.

Fatombi, J. K. *et al.* (2019) 'Adsorption of Indigo Carmine from Aqueous Solution by Chitosan and Chitosan/Activated Carbon Composite: Kinetics, Isotherms and Thermodynamics Studies', *Fibers and Polymers*, 20(9), pp. 1820–1832. doi: 10.1007/s12221-019-1107-y.

Forough, M. and Farhadi, K. (2010) 'Biological and green synthesis of silver nanoparticles', *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 34, pp. 281–287. doi: 10.3906/muh-1005-30.

Geetha, M. S., Nagabhushana, H. and Shivananjaiah, H. N. (2016) 'Green mediated synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Euphorbia Jatropa* latex as reducing agent', *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 1, pp. 301–310. doi: 10.1016/j.jsamd.2016.06.015.

Genázio Pereira, P. C. *et al.* (2017) 'Lethal and sub-lethal evaluation of Indigo Carmine dye and byproducts after TiO₂ photocatalysis in the immune system of *Eisenia andrei* earthworms', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143(May), pp. 275–282. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.05.043.

Ghaly, A. E. *et al.* (2014) 'Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review', *Journal of Chemical Engineering & Process Technology*, 05, pp. 1–19. doi: 10.4172/2157-7048.1000182.

Ghidan, A. Y., Al-antary, T. M. and Awwad, A. M. (2016) 'Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach Aphid', *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 6, pp. 95–98. doi: 10.1016/j.enmm.2016.08.002.

Ghosh, S. *et al.* (2012) 'Gnidia glauca flower extract mediated synthesis of gold nanoparticles and evaluation of its chemocatalytic potential', *Journal of Nanobiotechnology*, 10, pp. 1–9. doi: 10.1186/1477-3155-10-17.

Ghughe, S. P. and Saroha, A. K. (2018a) 'Catalytic ozonation for the treatment of synthetic and industrial effluents - Application of mesoporous materials: A review', *Journal of Environmental Management*, 211, pp. 83–102. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.01.052.

Ghughe, S. P. and Saroha, A. K. (2018b) 'Catalytic ozonation of dye industry effluent using mesoporous bimetallic Ru-Cu / SBA-15 catalyst', *Process Safety and Environmental Protection*, 118, pp. 125–132. doi: 10.1016/j.psep.2018.06.033.

Ghughe, S. P. and Saroha, A. K. (2018c) 'Ozonation of Reactive Orange 4 dye aqueous solution using mesoporous Cu/SBA-15 catalytic material', *Journal of Water Process Engineering*, 23, pp. 217–229. doi: 10.1016/j.jwpe.2018.04.009.

Gopalakrishnan, V. and Muniraj, S. (2019) 'Neem flower extract assisted green synthesis of copper nanoparticles - Optimisation, characterisation and anti-bacterial study', *Materials Today: Proceedings*, 36, pp. 832–836. doi: 10.1016/j.matpr.2020.07.013.

Guo, H. *et al.* (2020) 'Evaluation of cadmium hyperaccumulation and tolerance potential of *Myriophyllum aquaticum*', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195(October 2019), p. 110502. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110502.

Guo, X. *et al.* (2020) 'Potential of *Myriophyllum aquaticum* for phytoremediation of water contaminated with tetracycline antibiotics and copper', *Journal of Environmental Management*, 270(February), p. 110867. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110867.

Ben Hamida, S. *et al.* (2018) 'Dry and wet ozonation of denim: Degradation products, reaction mechanism, toxicity and cytotoxicity assessment', *Chemosphere*, 203, pp. 514–520. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.03.199.

Hasanuzzaman, M. *et al.* (2020) 'Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator', *Antioxidants*, 9(8), pp. 1–52. doi: 10.3390/antiox9080681.

Hassan Al-Taai, S. H. (2021) 'Water pollution Its causes and effects', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 790(1). doi: 10.1088/1755-1315/790/1/012026.

El Hassani, K. *et al.* (2019) 'Enhanced degradation of an azo dye by catalytic ozonation over Ni-containing layered double hydroxide nanocatalyst', *Separation and Purification Technology*, 210(June 2018), pp. 764–774. doi: 10.1016/j.seppur.2018.08.074.

Heibati, B. *et al.* (2015) 'Removal of noxious dye—Acid Orange 7 from aqueous solution using natural pumice and Fe-coated pumice stone', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 31, pp. 124–131. doi: 10.1016/j.jiec.2015.06.016.

Hitesh and Lata, S. (2018) 'Green Chemistry Based Synthesis of Silver Nanoparticles from Floral Extract of *Nelumbo Nucifera*', *Materials Today: Proceedings*, 5, pp. 6227–6233. doi: 10.1016/j.matpr.2017.12.231.

Holkar, C. R. *et al.* (2016) 'A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches', *Journal of Environmental Management*, 182, pp. 351–366. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.07.090.

Hu, E. *et al.* (2015) 'Catalytic ozonation of simulated textile dyeing wastewater using mesoporous carbon aerogel supported copper oxide catalyst', *Journal of Cleaner Production*, 112, pp. 4710–4718. doi: 10.1016/j.jclepro.2015.06.127.

Huang, L. *et al.* (2014) 'Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: Comparative study of the reactivity', *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, pp. 295–301. doi: 10.1016/j.saa.2014.04.037.

Hussain, S. *et al.* (2019) ‘Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Plants Under Drought Conditions’, in *Plant Abiotic Stress Tolerance: Agronomic, Molecular and Biotechnological Approaches*. Springer Nature Switzerland, pp. 1–490. doi: 10.1007/978-3-030-06118-0.

Hussain, T. and Wahab, A. (2018) ‘A critical review of the current water conservation practices in textile wet processing’, *Journal of Cleaner Production*, 198, pp. 806–819. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.07.051.

Iliger, K. S. *et al.* (2021) ‘Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici*’, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, pp. 1477–1486. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.12.003.

Imron, M. F. *et al.* (2019) ‘Phytoremediation of methylene blue using duckweed (*Lemna minor*)’, *Heliyon*, 5(8), p. e02206. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02206.

Jadoun, S. *et al.* (2020) ‘Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review’, *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), pp. 355–374. doi: 10.1007/s10311-020-01074-x.

Jamdagni, P., Khatri, P. and Rana, J. S. (2018) ‘Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity’, *Journal of King Saud University - Science*, 30(2), pp. 168–175. doi: 10.1016/j.jksus.2016.10.002.

Kabra, A. N., Khandare, R. V. and Govindwar, S. P. (2013) ‘Development of a bioreactor for remediation of textile effluent and dye mixture: A plant-bacterial synergistic strategy’, *Water Research*, 47(3), pp. 1035–1048. doi: 10.1016/j.watres.2012.11.007.

Kagalkar, A. N. *et al.* (2009) ‘Biotechnological strategies for phytoremediation of the sulfonated azo dye Direct Red 5B using *Blumea malcolmii* Hook’, *Bioresource Technology*, 100(18), pp. 4104–4110. doi: 10.1016/j.biortech.2009.03.049.

Katata-Seru, L. *et al.* (2018) ‘Green synthesis of iron nanoparticles using *Moringa oleifera* extracts and their applications: Removal of nitrate from water and antibacterial activity against *Escherichia coli*’, *Journal of Molecular Liquids*, 256, pp. 296–304. doi: 10.1016/j.molliq.2017.11.093.

Katheresan, V., Kansedo, J. and Lau, S. Y. (2018) ‘Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review’, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(4), pp. 4676–4697. doi: 10.1016/j.jece.2018.06.060.

Khandare, R. V. *et al.* (2011) ‘Phytoremediation potential of *Portulaca grandiflora* Hook. (Moss-Rose) in degrading a sulfonated diazo reactive dye Navy Blue HE2R (Reactive Blue 172)’, *Bioresource Technology*, 102(12), pp. 6774–6777. doi: 10.1016/j.biortech.2011.03.094.

Khani, R. *et al.* (2018) ‘Green synthesis of copper nanoparticles by fruit extract of *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd.: Application for adsorption of triphenylmethane dye and antibacterial assay’, *Journal of Molecular Liquids*, 255, pp. 541–549. doi: 10.1016/j.molliq.2018.02.010.

Korkmaz, N. (2020) ‘Bioreduction: The biological activity, characterization, and synthesis of silver nanoparticles’, *Turkish Journal of Chemistry*, 44, pp. 325–334. doi: 10.3906/KIM-1910-8.

Kumari, M. M., Jacob, J. and Philip, D. (2015) 'Green synthesis and applications of Au-Ag bimetallic nanoparticles', *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, pp. 185–192. doi: 10.1016/j.saa.2014.08.079.

Lellis, B. *et al.* (2019) 'Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms', *Biotechnology Research and Innovation*, 3(2), pp. 275–290. doi: 10.1016/j.biori.2019.09.001.

De León-Condés, C. A. *et al.* (2019) 'A novel sulfonated waste polystyrene / iron oxide nanoparticles composite: Green synthesis, characterization and applications', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(1), p. 102841. doi: 10.1016/j.jece.2018.102841.

Li, X. *et al.* (2010) 'Investigation on microstructure, composition, and cytocompatibility of natural pumice for potential biomedical application', *Tissue Engineering - Part C: Methods*, 16(3), pp. 427–434. doi: 10.1089/ten.tec.2009.0285.

Liu, F. *et al.* (2016) 'Nitrogen removal and mass balance in newly-formed *Myriophyllum aquaticum* mesocosm during a single 28-day incubation with swine wastewater treatment', *Journal of Environmental Management*, 166, pp. 596–604. doi: 10.1016/j.jenvman.2015.11.020.

Liu, H. *et al.* (2020) 'Biosynthesis of copperoxide nanoparticles using *Abies spectabilis* plant extract and analyzing its antinociceptive and anti-inflammatory potency in various mice models', *Arabian Journal of Chemistry*, 13, pp. 6995–7006. doi: 10.1016/j.arabjc.2020.07.006.

Liu, Y. *et al.* (2017) 'Structural characterizations of zinc-copper silicate polymer (ZCSP) and its mechanisms of ozonation for removal of p-chloronitrobenzene in aqueous solution', *Separation and Purification Technology*, 172(3), pp. 251–257. doi: 10.1016/j.seppur.2016.08.022.

Llano, M. A. *et al.* (2020) 'Eliminación del color de las soluciones de tinte índigo carmín utilizando fibras fique modificadas con nanopartículas de ZnO', *Respuestas*, 25(2), pp. 147–158. doi: 10.22463/0122820x.2956.

Luo, P. *et al.* (2017) 'Phosphorus removal from lagoon-pretreated swine wastewater by pilot-scale surface flow constructed wetlands planted with *Myriophyllum aquaticum*', *Science of The Total Environment*, 576, pp. 490–497. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.094.

Madhav, S. *et al.* (2018) 'A review of textile industry: Wet processing, environmental impacts, and effluent treatment methods', *Environmental Quality Management*, 27(3), pp. 31–41. doi: 10.1002/tqem.21538.

Malik, S. N. *et al.* (2018) 'Catalytic ozone pretreatment of complex textile effluent using Fe²⁺ and zero valent iron nanoparticles.', *Journal of hazardous materials*, 357(May), pp. 363–375. doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.05.070.

Mallikarjuna, K. *et al.* (2011) 'Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum* leaf extract and their characterization', *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6, pp. 181–186.

Matavos-Aramyan, S. and Moussavi, M. (2017) 'Advances in Fenton and Fenton Based

Oxidation Processes for Industrial Effluent Contaminants Control-A Review', 2(4). doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.555594.

Matinise, N. *et al.* (2017) 'ZnO nanoparticles via Moringa oleifera green synthesis: Physical properties & mechanism of formation', *Applied Surface Science*, 406, pp. 339–347. doi: 10.1016/j.apsusc.2017.01.219.

Mendoza-Avila, J., Chauhan, K. and Vazquez-Duhalt, R. (2020) 'Enzymatic synthesis of indigo-derivative industrial dyes', *Dyes and Pigments*, 178(March), p. 108384. doi: 10.1016/j.dyepig.2020.108384.

Miklos, D. B. *et al.* (2018) 'Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment - A critical review.', *Water research*, 139, pp. 118–131. doi: 10.1016/j.watres.2018.03.042.

Mohaghegh, S. *et al.* (2020) 'A comparative study of eco-friendly silver nanoparticles synthesis using Prunus domestica plum extract and sodium citrate as reducing agents', *Advanced Powder Technology*, 31, pp. 1169–1180. doi: 10.1016/j.appt.2019.12.039.

Mondal, P., Baksi, S. and Bose, D. (2017) 'Study of Environmental Issues in Textile Industries and Recent Wastewater Treatment Technology', *World Scientific News*, 61(2), pp. 98–109. Available at: www.worldscientificnews.com.

Mukunthan, K. S. *et al.* (2011) 'Catharanthus roseus: A natural source for the synthesis of silver nanoparticles', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, pp. 270–274. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60041-5.

N Dri Seiny, R., Coulibaly, M. and Yao N Guessan, A. (2016) 'Voltametric Characterization of Composite Silicon-Carbon Electrode in Presence of Indigo Carmine', *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 5(5), pp. 1934–1939. doi: 10.21275/v5i5.nov163710.

Nagar, N. and Devra, V. (2018) 'Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using Azadirachta indica leaves', *Materials Chemistry and Physics*, 213, pp. 44–51. doi: 10.1016/j.matchemphys.2018.04.007.

Nakhate, P. H. *et al.* (2019) 'Engineering aspects of catalytic ozonation for purification of real textile industry wastewater at the pilot scale', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 69, pp. 77–89. doi: 10.1016/j.jiec.2018.09.010.

Narayanan, K. B. and Sakthivel, N. (2010) 'Phytosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of Coleus amboinicus Lour', *Materials Characterization*, 61, pp. 1232–1238. doi: 10.1016/j.matchar.2010.08.003.

Nava, O. J. *et al.* (2017) 'Fruit peel extract mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles', *Journal of Molecular Structure*, 1147, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.molstruc.2017.06.078.

Odoh, C. K. *et al.* (2019) 'Status, progress and challenges of phytoremediation - An African scenario', *Journal of Environmental Management*, 237(June 2018), pp. 365–378. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.02.090.

Okcu, G. D., Tunacan, T. and Dikmen, E. (2019) 'Removal of indigo dye by photocatalysis process using Taguchi experimental design', *Environmental Research & Technology*, 2, pp. 63–72.

Oliveira, M. T. *et al.* (2020) 'Electrocoagulation of the indigo carmine dye using electrodes produced from the compression of metallurgical filing wastes', *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(3), pp. 1657–1662. doi: 10.1007/s13762-019-02574-2.

Organización de las Naciones Unidas para la Cultura las Ciencias y la Educación. (2019) *No dejar nadie atrás*, *Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura*. Available at: <https://www.acnur.org/5c93e4c34.pdf>.

Oriol, R. *et al.* (2019) 'A hybrid photoelectrocatalytic/photoelectro-Fenton treatment of Indigo Carmine in acidic aqueous solution using TiO₂ nanotube arrays as photoanode', *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 847(March), p. 113088. doi: 10.1016/j.jelechem.2019.04.048.

Ortiz, E. *et al.* (2016) 'Degradation of Indigo Carmine Using Advanced Oxidation Processes: Synergy Effects and Toxicological Study', *Journal of Environmental Protection*, 07(12), pp. 1693–1706. doi: 10.4236/jep.2016.712137.

P. P. S., G. and S. F. Y., L. (2012) 'Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications', *Rev Environ Sci Biotechnol*, 11, pp. 169–206. doi: 10.1007/s11157-012-9278-7.

Pal, G., Rai, P. and Pandey, A. (2019) *Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future*, *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/b978-0-08-102579-6.00001-0.

Pavithra, K. G. *et al.* (2019) 'Removal of colorants from wastewater: A review on sources and treatment strategies', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 75, pp. 1–19. doi: 10.1016/j.jiec.2019.02.011.

Punzi, M. *et al.* (2015) 'Combined anaerobic-ozonation process for treatment of textile wastewater: Removal of acute toxicity and mutagenicity', *Journal of Hazardous Materials*, 292, pp. 52–60. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.03.018.

Rajesh, K. M. *et al.* (2018) 'Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties', *Optik*, 154, pp. 593–600. doi: 10.1016/j.ijleo.2017.10.074.

Ramos, R. O. *et al.* (2020) 'Degradation of indigo carmine by photo-Fenton, Fenton, H₂O₂/UV-C and direct UV-C: Comparison of pathways, products and kinetics', *Journal of Water Process Engineering*, 37(May), p. 101535. doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101535.

Rane, N. R. *et al.* (2016) 'Ipomoea hederifolia rooted soil bed and Ipomoea aquatica rhizofiltration coupled phytoreactors for efficient treatment of textile wastewater', *Water Research*, 96, pp. 1–11. doi: 10.1016/j.watres.2016.03.029.

Rani, N. and Abraham, E. (2016) 'A potential tissue culture approach for the phytoremediation

of dyes in aquaculture industry’, *Biochemical Engineering Journal*, 115, pp. 23–29. doi: 10.1016/j.bej.2016.08.001.

Rápó, E. *et al.* (2020) ‘Performance Comparison of Eichhornia crassipes and Salvinia natans on Azo-Dye (Eriochrome Black T) Phytoremediation’, *Crystals*, 6(1). doi: 10.1103/PhysRevMaterials.6.013801.

Reddy, K. R. (2017) ‘Green synthesis, morphological and optical studies of CuO nanoparticles’, *Journal of Molecular Structure*, 1150, pp. 553–557. doi: 10.1016/j.molstruc.2017.09.005.

Romero-Hernández, J. A. *et al.* (2017) ‘Tolerance and hyperaccumulation of a mixture of heavy metals (Cu, Pb, Hg, and Zn) by four aquatic macrophytes’, *International Journal of Phytoremediation*, 19(3), pp. 239–245. doi: 10.1080/15226514.2016.1207610.

Rosales-Landeros, C. *et al.* (2018) *Evaluación fisicoquímica y toxicológica de un sistema acoplado de electrooxidación – ozonación para la*. Universidad Autónoma del Estado de México.

Safauldeen, S. H., Hasan, H. A. and Abdullah, S. R. S. (2019) ‘Phytoremediation efficiency of water hyacinth for batik textile effluent treatment’, *Journal of Ecological Engineering*, 20(9), pp. 177–187. doi: 10.12911/22998993/112492.

Safenraider Crema, A. P. *et al.* (2020) ‘Degradation of indigo carmine in water induced by non-thermal plasma, ozone and hydrogen peroxide: A comparative study and by-product identification’, *Chemosphere*, 244, p. 125502. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125502.

Santhoshkumar, J., Kumar, S. V. and Rajeshkumar, S. (2017) ‘Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen’, *Resource-Efficient Technologies*, 3, pp. 459–465. doi: 10.1016/j.reffit.2017.05.001.

Scaria, J., Nidheesh, P. V. and Kumar, M. S. (2020) ‘Synthesis and applications of various bimetallic nanomaterials in water and wastewater treatment’, *Journal of Environmental Management*, 259(May), p. 110011. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.110011.

Secula, M. S., Crețescu, I. and Petrescu, S. (2011) ‘An experimental study of indigo carmine removal from aqueous solution by electrocoagulation’, *Desalination*, 277, pp. 227–235. doi: 10.1016/j.desal.2011.04.031.

Selvan, D. A. *et al.* (2018) ‘Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies’, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, pp. 243–252. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.02.014.

Shabaaz Begum, J. P. *et al.* (2020) ‘Bioreduction synthesis of zinc oxide nanoparticles using Delonix regia leaf extract (Gul Mohar) and its agromedicinal applications’, *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 5(4), pp. 468–475. doi: 10.1016/j.jsamd.2020.07.009.

Shahidi, D., Roy, R. and Azzouz, A. (2015) ‘Advances in catalytic oxidation of organic pollutants - Prospects for thorough mineralization by natural clay catalysts’, *Applied Catalysis B: Environmental*, 174–175, pp. 277–292. doi: 10.1016/j.apcatb.2015.02.042.

- Sharma, J., Sharma, S. and Soni, V. (2021) ‘Classification and impact of synthetic textile dyes on Aquatic Flora: A review’, *Regional Studies in Marine Science*, 45. doi: 10.1016/j.rsma.2021.101802.
- Sharma, P. *et al.* (2012) ‘Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions’, *Journal of Botany*, 2012, pp. 1–26. doi: 10.1155/2012/217037.
- Sharma, R. *et al.* (2020) ‘Removal of organic dyes from wastewater using Eichhornia crassipes: a potential phytoremediation option’, *Environmental Science and Pollution Research*, 28(6), pp. 7116–7122. doi: 10.1007/s11356-020-10940-8.
- Sharmila, G. *et al.* (2018) ‘Biogenic synthesis of CuO nanoparticles using Bauhinia tomentosa leaves extract: Characterization and its antibacterial application’, *Journal of Molecular Structure*, 1165, pp. 288–292. doi: 10.1016/j.molstruc.2018.04.011.
- Sherin, L. *et al.* (2020) ‘Facile green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia bellerica kernel extract for catalytic reduction of anthropogenic water pollutants’, *Colloids and Interface Science Communications*, 37, p. 100276. doi: 10.1016/j.colcom.2020.100276.
- Shindhal, T. *et al.* (2021) ‘A critical review on advances in the practices and perspectives for the treatment of dye industry wastewater’, *Bioengineered*, 12(1), pp. 70–87. doi: 10.1080/21655979.2020.1863034.
- Silva-De Hoyos, L. E. *et al.* (2019) ‘Plasmonic Sensing of Aqueous-Divalent Metal Ions by Biogenic Gold Nanoparticles’, *Journal of Nanomaterials*, 2019, pp. 1–12. doi: 10.1155/2019/9846729.
- Silva-De Hoyos, L. E. *et al.* (2020) ‘Plasmonic and fluorescent sensors of metal ions in water based on biogenic gold nanoparticles’, *Arabian Journal of Chemistry*, 13, pp. 1975–1985. doi: 10.1016/j.arabjc.2018.02.016.
- Singh, J. *et al.* (2018) ‘“Green” synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation’, *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), pp. 1–24. doi: 10.1186/s12951-018-0408-4.
- Singh, R. P. *et al.* (2019) ‘Treatment and Recycling of Wastewater from Textile Industry’, in *Advances in Biological Treatment of Industrial Waste Water and their Recycling for a Sustainable Future*. Singapore: Springer Nature Singapore, pp. 225–266. doi: 10.1007/978-981-13-1468-1_8.
- Siripireddy, B. and Mandal, B. K. (2017) ‘Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles by Eucalyptus globulus and their photocatalytic and antioxidant activity’, *Advanced Powder Technology*, 28, pp. 785–797. doi: 10.1016/j.appt.2016.11.026.
- Souza, F. A. *et al.* (2013) ‘Restoration of polluted waters by phytoremediation using Myriophyllum aquaticum (Vell.) Verdc., Haloragaceae’, *Journal of Environmental Management*, 120, pp. 5–9. doi: 10.1016/j.jenvman.2013.01.029.
- Sun, Y. *et al.* (2019) ‘Oxidative degradation of nitrobenzene by a Fenton-like reaction with Fe-

- Cu bimetallic catalysts', *Applied Catalysis B: Environmental*, 244, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.apcatb.2018.11.009.
- Susarla, S., Medina, V. F. and McCutcheon, S. C. (2002) 'Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination', *Ecological Engineering*, 18(5), pp. 647–658. doi: 10.1016/S0925-8574(02)00026-5.
- Tahir, U., Yasmin, A. and Khan, U. H. (2016) 'Phytoremediation: Potential flora for synthetic dyestuff metabolism', *Journal of King Saud University - Science*, 28(2), pp. 119–130. doi: 10.1016/j.jksus.2015.05.009.
- Tamuly, C., Hazarika, M. and Bordoloi, M. (2013) 'Biosynthesis of Au nanoparticles by *Gymnocladus assamicus* and its catalytic activity', *Materials Letters*, 108, pp. 276–279. doi: 10.1016/j.matlet.2013.07.020.
- Tang, J. and Wang, J. (2020) 'Iron-copper bimetallic metal-organic frameworks for efficient Fenton-like degradation of sulfamethoxazole under mild conditions.', *Chemosphere*, 241, p. 125002. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125002.
- Tanyol, M., Yildirim, N. C. and Alparslan, D. (2021) 'Electrocoagulation induced treatment of indigo carmine textile dye in an aqueous medium: the effect of process variables on efficiency evaluated using biochemical response of *Gammarus pulex*', *Environmental Science and Pollution Research*, 28(39), pp. 55315–55329. doi: 10.1007/s11356-021-14819-0.
- Tetty, C. O. and Shin, H. M. (2019) 'Evaluation of the antioxidant and cytotoxic activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *scutellaria baicalensis* root', *Scientific African*, 6, p. e00157. doi: 10.1016/j.sciaf.2019.e00157.
- Thakore, S. I. *et al.* (2019) 'Sapota fruit latex mediated synthesis of Ag, Cu mono and bimetallic nanoparticles and their in vitro toxicity studies', *Arabian Journal of Chemistry*, 12, pp. 694–700. doi: 10.1016/j.arabjc.2014.12.042.
- Ting, W. H. T. *et al.* (2018) 'Application of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for phytoremediation of ammoniacal nitrogen: A review', *Journal of Water Process Engineering*, 22, pp. 239–249. doi: 10.1016/j.jwpe.2018.02.011.
- Torres-Blancas, T. *et al.* (2015) 'Ozonation of Indigo Carmine Enhanced by Fe / *Pimenta dioica* L . Merrill Particles', *International Journal of Photoenergy*, pp. 1–9.
- Torres-Blancas, T. *et al.* (2017) 'Ozonation enhancement by Fe–Cu biometallic particles', *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 74, pp. 225–232. doi: 10.1016/j.jtice.2017.02.025.
- Umai, D., Vikranth, A. and Meenambiga, S. S. (2020) 'A study on the green synthesis of silver nanoparticles from *Olea europaea* and its activity against oral pathogens', *Materials Today: Proceedings*. doi: 10.1016/j.matpr.2020.10.681.
- Venkata, R. P. *et al.* (2019) 'Removal of indigo carmine dye from aqueous solution by adsorption on biomass of *Grevillea Robusta* leaves', *Materials Today: Proceedings*, 26(xxxx), pp. 3020–3023. doi: 10.1016/j.matpr.2020.02.628.

- Vijayakumar, S. *et al.* (2018) 'Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Atalantia monophylla* leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis', *Materials Science in Semiconductor Processing*, 82, pp. 39–45. doi: 10.1016/j.mssp.2018.03.017.
- Vijayakumar, S. (2019) 'Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using fruit extracts and in vitro anticancer studies', *Journal of Saudi Chemical Society*, 23, pp. 753–761. doi: 10.1016/j.jscs.2018.12.002.
- Vijayalakshmi, S. R. and Muthukumar, K. (2014) 'Phytoremediation of textile effluent pretreated with ultrasound and bacteria', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(3), pp. 1813–1820. doi: 10.1016/j.jece.2014.07.017.
- Vijayaraghavan, K. and Ashokkumar, T. (2017) 'Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), pp. 4866–4883. doi: 10.1016/j.jece.2017.09.026.
- Volkov, V. V. *et al.* (2020) 'Indigo chromophores and pigments: Structure and dynamics', *Dyes and Pigments*, 172(July 2019). doi: 10.1016/j.dyepig.2019.107761.
- Wahab, A. W. *et al.* (2018) 'Bio-synthesis of gold nanoparticles through bioreduction using the aqueous extract of *Muntingia calabura* L. leaves', *Oriental Journal of Chemistry*, 34, pp. 401–409. doi: 10.13005/ojc/340143.
- Wang, J. and Chen, H. (2020) 'Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective', *Science of the Total Environment*, 704, p. 135249. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135249.
- Wang, J., Lu, L. and Feng, F. (2017) 'Improving the indigo carmine decolorization ability of a *Bacillus amyloliquefaciens* laccase by site-directed mutagenesis', *Catalysts*, 7(9), pp. 1–10. doi: 10.3390/catal7090275.
- Watharkar, A. D. and Jadhav, J. P. (2014) 'Detoxification and decolorization of a simulated textile dye mixture by phytoremediation using *Petunia grandiflora* and *Gaillardia grandiflora*: A plant-plant consortial strategy', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 103(1), pp. 1–8. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.01.033.
- Weng, X. *et al.* (2017) 'One-step green synthesis of bimetallic Fe/Ni nanoparticles by eucalyptus leaf extract: Biomolecules identification, characterization and catalytic activity', *Chemical Engineering Journal*, 308, pp. 904–911. doi: 10.1016/j.cej.2016.09.134.
- Weng, X. *et al.* (2018) 'One-step biosynthesis of hybrid reduced graphene oxide/iron-based nanoparticles by eucalyptus extract and its removal of dye', *Journal of Cleaner Production*, 203, pp. 22–29. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.08.158.
- Wersal, R. M. and Madsen, J. D. (2013) 'Influences of light intensity variations on growth characteristics of *Myriophyllum aquaticum*', *Journal of Freshwater Ecology*, 28(2), pp. 147–164. doi: 10.1080/02705060.2012.722067.
- Wijannarong, S. *et al.* (2013) 'Removal of Reactive Dyes from Textile Dyeing Industrial

- Effluent by Ozonation Process’, *APCBEE Procedia*, 5, pp. 279–282. doi: 10.1016/j.apcbee.2013.05.048.
- Wu, J. *et al.* (2016) ‘Catalytic ozonation of organic pollutants from bio-treated dyeing and finishing wastewater using recycled waste iron shavings as a catalyst: Removal and pathways.’, *Water research*, 92, pp. 140–8. doi: 10.1016/j.watres.2016.01.053.
- Xie, X. *et al.* (2019) ‘The Roles of Environmental Factors in Regulation of Oxidative Stress in Plant’, *BioMed Research International*, 2019, pp. 21–27. doi: 10.1155/2019/9732325.
- Yang, C.-M. *et al.* (1998) ‘Method and Determination of the Chlorophyll and their Derivates.’, *Taiwania*, 43(2), pp. 116–122.
- Yaseen, D. A. and Scholz, M. (2019) *Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review*, *International Journal of Environmental Science and Technology*. Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/s13762-018-2130-z.
- Yasin, S., Liu, L. and Yao, J. (2013) ‘Biosynthesis of silver nanoparticles by bamboo leaves extract and their antimicrobial activity’, *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 6, pp. 77–84. doi: 10.3993/jfbi03201307.
- Yuan, L. *et al.* (2012) ‘Pumice-catalyzed ozonation degradation of p-chloronitrobenzene in aqueous solution’, *Applied Catalysis B: Environmental*, 117–118, pp. 414–419. doi: 10.1016/j.apcatb.2012.02.005.
- Yuan, L. *et al.* (2016) ‘Role of Fe/pumice composition and structure in promoting ozonation reactions’, *Applied Catalysis B: Environmental*, 180, pp. 707–714. doi: 10.1016/j.apcatb.2015.07.016.
- Zaher, K. and Hammam, G. (2014) ‘Correlation between Biochemical Oxygen Demand and Chemical Oxygen Demand for Various Wastewater Treatment Plants in Egypt to Obtain the Biodegradability Indices’, *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 13(1), pp. 42–48.
- Zayed, M. F. and Eisa, W. H. (2014) ‘Phoenix dactylifera L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; Controlled synthesis and catalytic activity’, *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 121, pp. 238–244. doi: 10.1016/j.saa.2013.10.092.
- Zhao, Z. *et al.* (2020) ‘Degradation of indigo carmine by coupling Fe(II)-activated sodium persulfate and ozone in a rotor-stator reactor’, *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 148(November 2019), p. 107791. doi: 10.1016/j.cep.2019.107791.

ANEXOS

Anexo 1. Determinación de Clorofilas y carotenos

1. Se pesa la muestra vegetal de 0.25 g
2. Se seca la muestra con nitrógeno líquido y se pulveriza con mortero y pistilo
3. Se muelen y extraen los pigmentos totales con 5 mL de acetona al 80%
4. Se centrifuga el extracto crudo a 1,500 g por 5 minutos.
5. Mantener el sobrenadante y descartar el sedimento.
6. Medir las absorbancias en 663.3, 646.6 y 450.5 nm, los cuales son los principales máximos de absorción de la clorofila a, clorofila b y carotenoides, respectivamente.
7. Calcular el contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides con las ecuaciones

8. Calcular el contenido de pigmentos sobre la base de $\mu\text{g Cl/ g}$ de peso fresco.

$$\text{Cl a} = 12.25 A_{663.6} - 2.55A_{646.6} \text{ (}\mu\text{g/ mL) (Ec. 29)}$$

$$\text{Cl b} = 20.31A_{646.6} - 4.91A_{663.6} \text{ (}\mu\text{g/ mL) (Ec. 30)}$$

$$\text{Cl a + b} = 17.76A_{646.6} + 7.34A_{663.6} \text{ (}\mu\text{g/ mL) (Ec. 31)}$$

$$\text{Car} = 4.69A_{440.5} - 0.267\text{Cl a + b (}\mu\text{g/ mL) (Ec. 32)}$$

Anexo 2. Constancias de participación y asistencia en actividades académicas.



El Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM
otorga la presente


CONSTANCIA

A los autores:

Jazmín Aydee Reyes Pérez, Gabriela Roa Morales, Patricia Balderas Hernández y Araceli Amaya Chávez

Por su participación con el trabajo intitulado "*Biosíntesis de partículas bimetálicas Fe/Cu, utilizando como reductor a Eucalyptus globulus para remover índigo carmín en solución acuosa*" dentro del X Simposio interno del CCIQS, llevado a cabo el 4 de septiembre de 2019.

Toluca, Estado de México a 4 de septiembre de 2019.


Dr. Vojtech Jancik
Coordinador



Universidad Autónoma
del Estado de México


Se otorga la presente

A: Jazmín Aydee Reyes Pérez

Por su participación como asistente del curso de:
"Análisis electroquímico de la corrosión"
llevado a cabo el 4 y 5 de julio de 2019,
con una duración de 8 horas.

Toluca de Lerdo, Estado de México a 15 de julio de 2019.

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2019, Año del 75 Aniversario de la Autonomía UAEM"


Dr. Erick Cuevas Yáñez
Director de la Facultad de Química
U.A.E.M.
FACULTAD DE QUÍMICA
DIRECCIÓN

Folio-263-0719

CEA



Constancia



Universidad Autónoma
del Estado de México

A través de la Facultad de Planeación Urbana y Regional
entregan la siguiente

A:

Jazmin Aydee Reyes Pérez

Por su participación como *ASISTENTE* al curso teórico-práctico
*"Uso y Gestión de Herramientas Computacionales para
la Investigación Científica Básica y Avanzada 1.0"*
modalidad a distancia, con duración de 30 horas, que se llevó a cabo de marzo a junio de
2020, por parte de la Unidad de Laboratorio de Geomática
de la Facultad de Planeación Urbana y Regional.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2020, Año del 25 Aniversario de los Estudios de Doctorado"



FACULTAD DE PLANEACIÓN
URBANA Y REGIONAL
DIRECCIÓN

L. en PL. T. BENIGNO GONZÁLEZ GARCÍA
ENCARGADO DEL DESPACHO DE LA DIRECCIÓN



Escuela Nacional de Electroquímica en Procesos Ambientales ENEPA-2021

Otorga el presente

CERTIFICADO

a:

Jazmin Aydee Reyes Pérez

Por participar en la "Escuela Nacional de Electroquímica en Procesos Ambientales 2021", llevada a cabo los días 19 y 26 del mes de febrero, 5 y 12 del mes de marzo del 2021, con una carga horaria de 16 horas. Guanajuato México.



Dr. Bernardo Frontana Uribe
Presidente de la SMEQ

Dr. Juan Manuel Peralta Hernández
Presidente del comité organizador ENEPA 2021



AMEQA

SETAC, México

La Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental

Otorga la presente

CONSTANCIA

a

JAZMIN AYDEE REYES PÉREZ

por haber asistido al curso

“El estrés oxidativo en la Toxicología Ambiental”

impartido el 21 y 22 de abril de 2021, con una duración de 4 horas en modalidad a distancia.

Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván
Presidente de AMEQA

AMQA
ASOCIACIÓN MEXICANA DE QUÍMICA ANALÍTICA A.C.

UAdeC
Dirección de Asuntos Académicos

Universidad Autónoma de Coahuila

CONSTANCIA

Otorgado a: Jazmín Aydee Reyes Pérez

Por haber cumplido exitosamente el primer **“Webinar Internacional AMQA-FCQ”**, que se efectuó del 3 al 7 de mayo de 2021 en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México. Con valor curricular de **5 horas**.

Dra. María Teresa Ramírez Silva
Presidenta Asociación Mexicana de Química Analítica

Dr. Gerardo de Jesús Sosa Santillán
Director Facultad de Ciencias Químicas UAdeC