

Síntesis a Escala Laboratorio de Nanopartículas de Compuestos de Cobre a Partir de
Extracto de Residuo de Mora (*Rubus glaucus Benth*).

Diego Fernando Montoya Salas

Trabajo de Grado para Optar por el Título de Ingeniero Químico

Práctica Empresarial

Directora:

Debora Alcida Nabarlatz

Ph.D. en Ingeniería Química

Codirectores:

José Gabriel López Ortiz

MSc en Ingeniería Química

Julián Mauricio Guerrero Rodríguez

Ingeniero Químico

Ingeniera Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2023

Dedicatoria

A mi madre Martha Salas por creer en mí, por su amor incondicional y porque sin ella nada de esto hubiese sido posible.

A mis hermanos Ricardo y Oscar por sus consejos y su apoyo, por ser mi ejemplo a seguir.

A mi abuelito Rodrigo en el cielo y a mi abuelita Rosa por su amor.

A mis amigos y compañeros que estuvieron a mi lado durante la carrera universitaria.

Para ustedes con todo el amor.

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander, alma máter que me permitió crecer en mi formación profesional y personal durante estos años.

A la empresa Zumotec S.A, por darme la oportunidad de hacer mis prácticas, por permitirme realizar el proyecto y por el apoyo tanto formativo como económico.

A mi directora Debora Alcida Nabarlatz por su seguimiento, aportes y recomendaciones las cuales hicieron posible el desarrollo de un mejor proyecto.

A mi codirector Julián Mauricio Guerrero Rodríguez por su gran apoyo, guía, paciencia y conocimiento que me brindó durante el desarrollo del proyecto.

A mi codirector José Gabriel López Ortiz por su guía, asesoría y por brindarme su conocimiento en cada oportunidad.

A mi tutora Leydy Paola Barrera Lemus por su apoyo y enseñanzas durante el desarrollo del proyecto.

Tabla de Contenido

Introducción	12
1 Objetivos	15
1.1 Objetivo General	15
1.2 Objetivos Específicos	15
2 Marco teórico	15
2.1 Síntesis de Nanopartículas (Nps)	15
2.1.1 Método de Reducción por Vía Química.....	16
2.1.2 Nucleación y Crecimiento.....	16
2.1.3 Biosíntesis de Nanopartículas	17
2.2 Uso de Extractos Acuosaos de Frutas como Agentes Reductores	18
2.2.1 Compuestos Polifenólicos	19
2.2.2 Flavonoides	20
2.2.3 Extracción por Maceración	21
2.2.4 Rendimiento de Extracción	21
2.3 Técnicas de Caracterización de Nps	23
2.3.1 Espectroscopía UV-Vis.....	23
2.3.2 Microscopio Electrónico de Barrido	23
2.3.3 Espectroscopía de Rayos X de Energía Dispersiva.....	24
2.3.4 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier	24
3 Descripción Metodológica	25
3.1 Reactivos	25
3.2 Materiales y Equipos.....	25

3.3	Etapa 1: Obtención del Extracto Acuoso y Cuantificación de su Capacidad Reductora	
	Cu^{2+}	26
3.3.1	Recolección de la Materia Prima.	26
3.3.2	Acondicionamiento de la Materia Prima.....	26
3.3.3	Determinación del Contenido de Humedad	27
3.3.4	Proceso de Extracción por Maceración.....	27
3.3.5	Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu^{2+} del Extracto Acuoso Mediante el Método Modificado de Benedict.....	28
3.3.6	Diseño de Experimentos	29
3.4	Etapa 2: Síntesis de Nps de Cobre a partir del Extracto Acuoso de Mora.....	30
3.4.1	Condiciones de Síntesis	30
3.5	Etapa 3: Caracterización de las Nps de Cobre	31
3.5.1	Espectroscopía UV-Vis.....	31
3.5.2	Análisis SEM, EDS y FTIR	31
4	Resultados	32
4.1	Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu^{2+} del Extracto Acuoso de Mora.....	32
4.1.1	Diseño 2^3	32
4.1.2	Efecto de la Relación %sólido/líquido.....	33
4.1.3	Efecto del pH.....	35
4.1.4	Efecto del Tiempo de Maceración.	35
4.1.5	Diseño Central Compuesto	37
4.1.6	Maximización de la Capacidad de Reducción.	38
4.2	Análisis Cualitativo del Proceso de Síntesis de Nps.....	39

4.3	Caracterización de las Nps de Cobre obtenidas en el precipitado	42
4.3.1	Espectroscopía UV-Vis.....	42
4.3.2	Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	44
4.3.3	Análisis FTIR	47
4.3.4	Análisis pruebas EDS.....	49
5	Conclusiones	51
6	Recomendaciones.....	52
	Referencias Bibliográficas	53

Lista de Tablas

Tabla 1. Factores y Niveles del Diseño Factorial 2^3	29
Tabla 2. Factores y Niveles del Diseño Central Compuesto	30
Tabla 3. Resultados de la Prueba de Benedict del Diseño 2^3	33
Tabla 4. Evaluación de la capacidad de reducción de Cu^{2+} mediante la Prueba de Benedict, en función del tiempo y el %Sólido/Líquido en un Diseño Central Compuesto	37
Tabla 5. Maximización de la Capacidad de Reducción Cu^{2+}	39
Tabla 6. Comparación con Literatura de la Morfología de Nps de Óxido de Cobre	44
Tabla 7. Resultados EDS de la Composición Elemental de los Precipitados	50

Lista de Figuras

Figura 1. Aproximación de la Formación de Nps de CuO Mediante Biosíntesis.....	18
Figura 2. Diagrama Generalizado del Proceso de Biosíntesis	19
Figura 3. Estructura Básica y Tipos de Flavonoides.....	20
Figura 4. Diagrama de la Metodología por Etapas	25
Figura 5. Gráfica de Efectos Principales sobre la Capacidad de Reducción Cu^{2+}	34
Figura 6. Diagrama de Pareto Sobre la Capacidad Reductora Diseño Factorial 2^3	36
Figura 7. Superficie de Respuesta de la Capacidad de Reducción Cu^{2+}	38
Figura 8. Color de la Mezcla de Reacción a Diferentes Tiempos	40
Figura 9. Productos de la Síntesis de nanopartículas de cobre	41
Figura 10. Espectro UV-Vis de los Precipitados	43
Figura 11. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido.....	45
Figura 12. Espectro FTIR de las partículas de Óxido de Cobre	48

Lista de Apéndices

Apéndice A. Resultados de la Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu^{2+}	65
Apéndice B. Resultados Análisis Estadístico Diseño Factorial 2^3	69
Apéndice C. Resultados Análisis Estadístico Diseño Central Compuesto y Maximización.....	70
Apéndice D. Espectro UV-Vis de los Reactivos y Sobrenadantes.....	72
Apéndice E. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido de los Precipitados	73
Apéndice F. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido de los Sobrenadantes	76
Apéndice G. Espectros FTIR de los Precipitados	77
Apéndice H. Espectros FTIR de los Sobrenadantes.....	82
Apéndice I. Resultados EDS de los Sobrenadantes	85

Resumen

Título: Síntesis a Escala Laboratorio de Nanopartículas de Compuestos de Cobre a Partir de Extracto de Residuo de Mora (*Rubus glaucus Benth*)*.

Autor: Diego Fernando Montoya Salas **

Palabras Claves: Nanopartículas de cobre, extractos vegetales, biosíntesis, *Rubus glaucus Benth*.

Actualmente, existe un gran interés en implementar procesos de síntesis de nanopartículas metálicas más amigables con el ambiente, que eviten el uso de agentes reductores químicos convencionales con problemas de toxicidad asociados. En este sentido, se han realizado estudios enfocados en el uso de sistemas biológicos y bioquímicos como plantas, frutos y sus extractos acuosos como agentes reductores y de recubrimiento en la síntesis de nanopartículas. Por lo anterior, el presente proyecto tiene como objetivo sintetizar a escala laboratorio nanopartículas (Nps) de compuestos de cobre usando como agente reductor el extracto acuoso de residuos agroindustriales de mora (*Rubus glaucus Benth*).

Se realizó la extracción por maceración de los compuestos activos de los residuos de mora variando los tiempos de maceración, pH de extracción y la relación sólido/líquido para maximizar la capacidad reductora de Cu^{2+} del extracto acuoso. Las mejores condiciones de extracción se obtuvieron a un pH de 4, tiempo de maceración de 7 h y un %sólido/líquido de 0,76 [%p/p] como las que permiten obtener un máximo de capacidad de reducción de Cu^{2+} de 4,25 [mg Cu/ mg solidos suspendidos].

Se confirmó la presencia y morfología de las partículas sintetizadas mediante las imágenes del microscopio electrónico de barrido donde se observaron partículas de formas esféricas y amorfas, las cuales se encuentran en un rango de tamaño entre 240-1510 nm formando un agregado aleatorio. Mediante el análisis EDS y FTIR se confirmó la presencia de partículas de Cu_2O cuya superficie posee una composición química similar a los compuestos fenólicos presentes en el extracto de mora. Como lo revela el espectro UV- Vis, se observaron picos de absorción a 260 y 290 nm para las partículas sintetizadas, los cuales son característicos de las partículas de óxido de cobre.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Ingeniería Química. Directora: Debora Alcida Nabarlatz. Ph.D. Codirectores: José Gabriel López Ortiz. Magister en Ingeniería Química. Julián Mauricio Guerrero Rodríguez. Ingeniero Químico.

Abstract

Title: Laboratory Scale Synthesis of Copper Compounds Nanoparticles from Blackberry Residue Extract (*Rubus glaucus Benth*)*.

Author: Diego Fernando Montoya Salas**

Keywords: Copper nanoparticles, plant extracts, biosynthesis, *Rubus glaucus Benth*.

Currently, there is great interest in implementing more environmentally friendly metallic nanoparticle synthesis processes that avoid the use of conventional chemical reducing agents with associated toxicity problems. In this sense, studies have been carried out focused on the use of biological and biochemical systems such as plants, fruits and their aqueous extracts as reducing and coating agents in the synthesis of nanoparticles. Therefore, the objective of this project is to synthesize copper compounds nanoparticles at a laboratory scale using the aqueous extract of blackberry (*Rubus glaucus Benth*) agro-industrial residues as a reducing agent.

The extraction by maceration of the active compounds of the blackberry residues was carried out, varying the maceration times, extraction pH and the solid/liquid ratio to maximize the Cu^{2+} reducing capacity of the aqueous extract. The best extraction conditions were obtained at a pH of 4, maceration time of 7 h and a % solid/liquid of 0,76 [% w/w], as those that allow obtaining a maximum Cu^{2+} reduction capacity of 4,25 [mg Cu/ mg suspended solids].

The presence and morphology of the synthesized particles was confirmed by Scanning Electron Microscopy images, where particles of spherical and amorphous shapes were observed, which are in a size range between 240-1510 nm forming a random aggregate. Through the EDS and FTIR analysis, the presence of Cu_2O particles whose surface has a chemical composition similar to the phenolic compounds present in the blackberry extract was confirmed. As revealed by the UV-Vis spectrum, absorption peaks at 260 and 290 nm were observed for the synthesized particles, which are characteristic of copper oxide particles.

* Bachelor Thesis

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Ingeniería Química. Directora: Debora Alcida Nabarlatz. Ph.D. Codirectores: José Gabriel López Ortiz. Magister en Ingeniería Química. Julián Mauricio Guerrero Rodríguez. Ingeniero Químico.

Introducción

La nanotecnología es el campo de estudio que se dedica al diseño, síntesis, manipulación y aplicación de materiales mediante el control de fenómenos y propiedades de la materia a escala nanométrica, es decir, entre 1 y 100 nanómetros (nm). Esta tecnología se ha ido desarrollando en diversas áreas, siendo el estudio de las nanopartículas (Nps) una de las de mayor relevancia debido a las propiedades y características únicas que se pueden obtener y que les permiten desempeñar un papel fundamental en áreas como la mecánica, la óptica, las ciencias biomédicas, la industria química, la electrónica, la administración de fármacos, la catálisis, los dispositivos optoelectrónicos, las aplicaciones fotoelectroquímicas, entre otras (Iravani, 2011).

Actualmente, existe un gran interés en implementar procesos de síntesis de nanopartículas metálicas más amigables con el ambiente, que eviten el uso de agentes reductores químicos convencionales con problemas de toxicidad asociados (Deyá & Bellotti, 2015). En este sentido, se han realizado estudios enfocados en el uso de sistemas biológicos y bioquímicos como plantas, frutos y sus residuos o subproductos agroindustriales, para la fabricación de nuevos materiales o sustancias con valor agregado como el uso de extractos vegetales acuosos (Singh et al., 2018).

En relación con lo anterior, si bien gran parte de los residuos o subproductos que se generan en los procesos del sector agroindustrial, no son de utilidad o aprovechados, “en su mayoría estos residuos presentan características óptimas para su aprovechamiento en otra cadena de producción o como alternativa de tratamiento o recuperación de algún medio contaminado” (Vargas Corredor & Pérez Pérez, 2018 ,p. 2). De esta manera, al evitar métodos ineficaces de disposición final como la quema, rellenos sanitarios o el vertido en fuentes de agua, el uso de residuos o subproductos de

la agroindustria no sólo les añade valor económico, sino que también disminuye la contaminación y la degradación de los ecosistemas (Victoria et al., 2017).

El uso de extractos acuosos de frutas como agentes reductores y de recubrimiento en la síntesis de Nps, se ha convertido en una alternativa novedosa, ecológica y rentable; *Carica papaya* (Sankar et al., 2014), *Psidium guajava* (Caroling et al., 2015), *Citrus limon* (Amer & Awwad, 2021) son algunos ejemplos de frutas que se han utilizado para sintetizar Nps de Cobre, debido a la presencia de compuestos activos en su estructura química capaces de reducir iones metálicos. También se evidencia un gran interés en explorar el uso de materiales vegetales para la producción de extractos que contengan compuestos antioxidantes como flavonoides, taninos y otros polifenoles (Meléndez Balbuena et al., 2020).

En Colombia, la producción de mora superó las 140.000 toneladas en 2020, siendo la mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) la especie más cultivada en el país (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021). Los extractos de esta especie se identifican como un potencial agente reductor gracias a que posee una gran cantidad de metabolitos secundarios como son los polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas ente otros) (González, 2011), compuestos que han demostrado su capacidad para actuar como agentes antioxidantes, dado que son sustancias que pueden neutralizar, prevenir o retrasar gran parte del proceso de oxidación (Victoria et al., 2017).

En cuanto a las Nps metálicas, particularmente las de cobre y óxido de cobre, cuentan con propiedades y características únicas dependiendo fuertemente de su forma, tamaño y composición, que les permiten tener diversas aplicaciones, entre la que destaca su uso como agente antimicrobiano. En los últimos años numerosos estudios han evidenciado que las Nps de cobre poseen actividad antimicrobiana, demostrando propiedades biocidas y bactericidas frente a

diferentes microorganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* (Reyes Rodriguez, 2012), presentándose de esta manera como una alternativa a compuestos biocidas tradicionales.

Zumotec S.A. es una empresa de base tecnológica con 21 años de experiencia en el desarrollo de productos de higiene y desinfección, así como en productos elaborados con materias primas vegetales que ha brindado soluciones innovadoras basadas en la química avanzada, biotecnología y nanotecnología. Teniendo en cuenta la alternativa a los biocidas y la razón social de la compañía, se formula el presente proyecto, que tiene como objetivo sintetizar a escala de laboratorio nanopartículas de compuestos de cobre usando como agente reductor el extracto acuoso de residuos agroindustriales de mora (*Rubus glaucus Benth*), cuyos resultados obtenidos aportarán en el desarrollo de nuevos productos en el área de limpieza y desinfección.

El documento está estructurado de la siguiente manera: el capítulo 1 contiene los objetivos. En el capítulo 2 se encuentra el marco teórico. El capítulo 3 presenta la descripción metodológica. En el capítulo 4 se expone el análisis de los resultados de la siguiente manera: 4.1 cuantificación de la capacidad reductora de Cu^{2+} del extracto acuoso de mora mediante el método modificado de Benedict, 4.2 Análisis Cualitativo del Proceso de Síntesis de Nps y 4.3 Caracterización de las Nps de cobre. Finalmente, se encuentran las conclusiones, recomendaciones y apéndices.

1 Objetivos

1.1 Objetivo General

Sintetizar a escala de laboratorio nanopartículas de compuestos de cobre, usando como agente reductor el extracto acuoso de residuos agroindustriales de mora (*Rubus glaucus Benth*).

1.2 Objetivos Específicos

- Maximizar la capacidad reductora de Cu^{2+} del extracto acuoso de mora (*Rubus glaucus Benth*)
- Sintetizar Nps de compuestos de cobre a partir del extracto vegetal de mora (*Rubus glaucus Benth*).
- Caracterizar las nanopartículas de compuestos de cobre mediante UV-Vis, SEM, FTIR y EDS con el fin de determinar su presencia, morfología, tamaño y composición.

2 Marco teórico

A continuación, se expone el marco teórico de las temáticas principales que se abordan en el proceso de investigación.

2.1 Síntesis de Nanopartículas (Nps)

Los enfoques "de arriba hacia abajo" y "de abajo hacia arriba" son los dos métodos en los que suelen dividirse las técnicas de síntesis de Nps (Gómez Garzón, 2018). La primera consiste en la reducción de tamaño de sólidos con dimensión mayor a la escala nanométrica. Este enfoque

puede involucrar la molienda o técnicas de desgaste como la fotolitografía. La segunda aproximación, «de abajo hacia arriba», se basa en la formación de estructuras nanométricas a partir del crecimiento o ensamblaje de átomos y moléculas en una fase gaseosa o fase líquida (Zanella, 2012).

2.1.1 Método de Reducción por Vía Química

Es uno de los procesos de síntesis de nanomateriales en fase líquida en la que son mezclados y agregados controladamente un precursor (sal del metal), un solvente y un agente reductor del precursor el cual debe favorecer la transferencia de electrones a otra molécula (comúnmente iones), con el fin de promover una reacción de óxido-reducción (Karatutlu et al., 2018). Si dicha transferencia de electrones se lleva a cabo de forma exitosa, Sebastián (2018) menciona que: “se produce la reducción de los iones, generando átomos que se ensamblan formando núcleos cristalinos y estos a su vez generan nanocristales en función de la cinética de cristalización y los procesos de nucleación-crecimiento desarrollados por la termodinámica del sistema” (p. 311).

2.1.2 Nucleación y Crecimiento

La nucleación se define como la formación de una nueva fase (núcleo) debido al gradiente de concentración presente en una solución sobresaturada, mientras que el crecimiento, se define como la etapa donde se desarrollan dichos núcleos mediante diferentes mecanismos (Piña P et al., 2012).

Durante muchos años, el proceso de nucleación y crecimiento de Nps se ha descrito a través del mecanismo de LaMer. Este mecanismo puede ser dividido en tres etapas: (I) la concentración

de monómeros va aumentando en la solución (en el caso de Nps metálicas muy probablemente debido a la reducción de sus iones), (II) los monómeros sufren una "nucleación en ráfaga" y (III) finalmente la nucleación se detiene e inicia la etapa de crecimiento por difusión de monómeros en la solución hacia las superficies de las partículas (Thanh et al., 2014) .

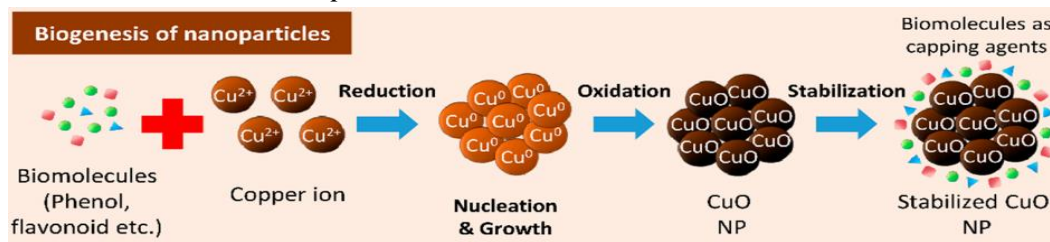
A pesar de que existen diferentes mecanismos que pueden caracterizar los procesos de nucleación y crecimiento de las Nps, muchos de estos han sido simplificados, (como el propio mecanismo de LaMer), y no incluyen distintos efectos que pueden formar parte del proceso de formación de Nps como lo son la aglomeración o la maduración de Oswald entre otros (Polte, 2015).

2.1.3 Biosíntesis de Nanopartículas

La biosíntesis de Nps resulta una opción amigable con el medio ambiente, que usa sistemas biológicos como microorganismos (bacterias y hongos) o bioquímicos como plantas, frutos y extractos de estos que pueden reemplazar agentes químicos reductores convencionales (Torres-gómez et al., 2020). Según Morales-Díaz et al. (2017) “la síntesis bioquímica o biológica de Nps de metales es una reacción redox y ocurre gracias a la capacidad reductora de los componentes celulares o extracelulares como proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos, fenoles y otros metabolitos” (p. 1214), los cuales llevan a cabo su función como agentes reductores y de recubrimiento. En la Figura 1 se puede observar un esquema general del mecanismo de formación de Nps de óxido de cobre mediante biosíntesis.

Figura 1

Aproximación de la Formación de Nps de CuO Mediante Biosíntesis



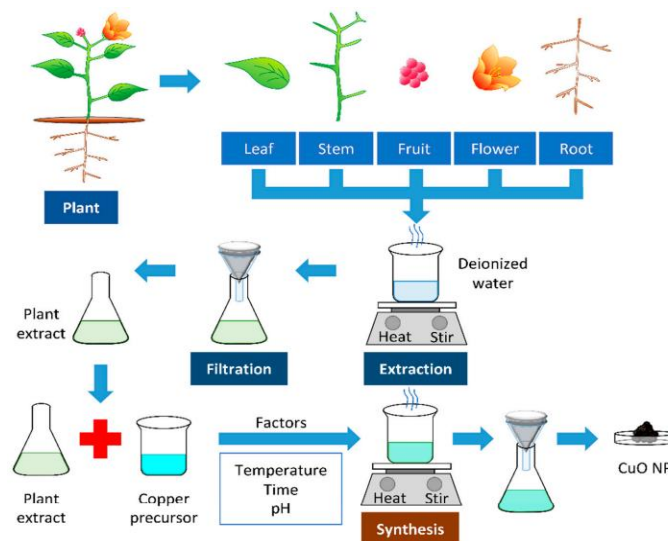
Nota. Adaptado de Plant-Based Biosynthesis of Copper/Copper Oxide Nanoparticles: An Update on Their Applications in Biomedicine, Mechanisms, and Toxicity (p. 6), por Letchumanan et al., (2021)

2.2 Uso de Extractos Acuosa de Frutas como Agentes Reductores

La presencia de compuestos bioactivos en frutas, y especialmente el contenido de compuestos fenólicos en su estructura química, brinda la posibilidad de producir extractos acuosa que puedan actuar como agentes reductores en la síntesis de Nps metálicas en soluciones acuosa. Por ejemplo, extractos de frutas como arándanos, uva, fresa son algunos de los que se han utilizado para sintetizar Nps de óxido de cobre, oro y plata en los últimos años (H. Kumar et al., 2020). En la figura 2 se puede observar un diagrama general del proceso de biosíntesis empleando extractos de material vegetal como agentes reductores.

Figura 2

Diagrama Generalizado del Proceso de Biosíntesis



Nota. Adaptado de Plant-Based Biosynthesis of Copper/Copper Oxide Nanoparticles: An Update on Their Applications in Biomedicine, Mechanisms, and Toxicity (p. 6), por Letchumanan et al.,(2021)

2.2.1 Compuestos Polifenólicos

Los polifenoles son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas y estructuralmente se caracterizan por tener al menos un anillo aromático al que se une al menos un sustituyente hidroxilo (Hidalgo & Almajano, 2017). Estos compuestos tienen entre sus actividades biológicas una gran capacidad antioxidante, dada por su capacidad donadora de electrones lo que permite reducir la degradación oxidativa de otras moléculas (Soler et al., 2009).

Los polifenoles son compuestos de gran diversidad que abarcan desde moléculas sencillas hasta polímeros más complejos los cuales se clasifican principalmente en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (González, 2011); desde el punto de vista de su estructura

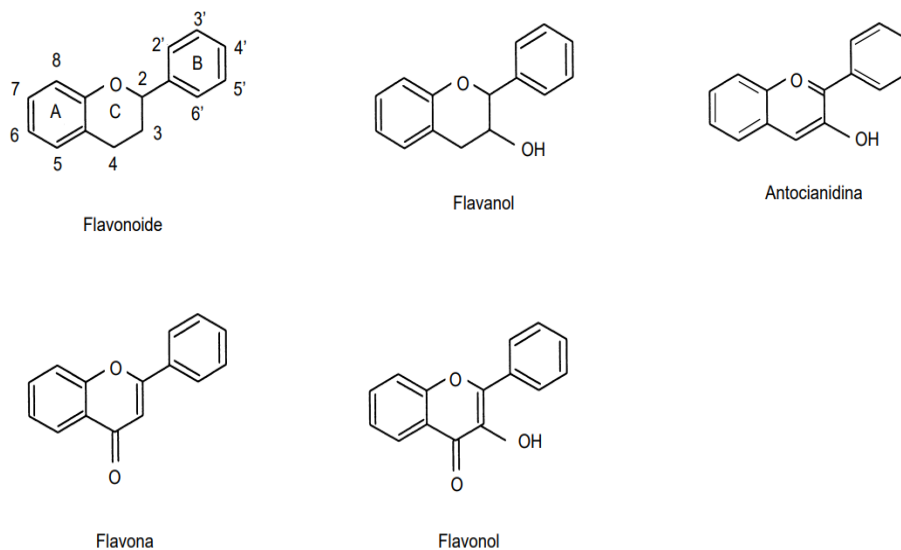
química, esta clasificación se basa en la cantidad y la composición estructural de la cadena de anillos fenólicos presentes (Pandey & Rizvi, 2009).

2.2.2 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular cuya estructura “es del tipo C6-C3- C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 átomos de carbono que forman un anillo heterocíclico oxigenado” (González, 2011,p. 15). En función de diferentes patrones de sustitución en el anillo C de 3 átomos de carbono, estos compuestos se pueden clasificar principalmente en flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas (Martínez-Flórez et al., 2002).

Figura 3

Estructura Básica y Tipos de Flavonoides



Nota. Adaptado de Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes (p. 272), por Martínez-Flórez et al.,(2002)

2.2.3 Extracción por Maceración

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido, donde una materia prima que posee una serie de compuestos químicos de interés se pone en contacto por un periodo de tiempo determinado con el líquido/solvente de extracción, con el propósito de recuperar los compuestos solubles mediante difusión desde la matriz sólida (sólido) hacia la matriz líquida (solvente) (Handa Swami et al., 2008).

2.2.4 Rendimiento de Extracción

El objetivo del estudio de las técnicas de extracción es lograr rendimientos más altos, reducir el tiempo de extracción, utilizar una menor cantidad de solvente, obtener resultados reproducibles y conservar tanto la estabilidad como la bioactividad de los compuestos extraídos (Duarte-Trujillo et al., 2020). El rendimiento de extracción depende primordialmente de las condiciones de operación (tiempo de extracción, relación sólido-líquido, pH entre otras), la naturaleza de la matriz sólida, la química de los compuestos bioactivos de interés y la elección del disolvente (Naranjo, 2016).

Algunos de los solventes más comunes utilizados en la extracción sólido-líquido por maceración son el agua, etanol y la acetona entre otros; la elección de éste dependerá de las propiedades químicas del sólido que se desea extraer, de los componentes solubles que se desean recuperar, los efectos tóxicos y los costos económicos (Soto García & Rosales Castro, 2016). En general, el pH y la polaridad del solvente utilizado durante la extracción pueden mejorar la solubilidad y estabilidad de los diferentes compuestos de interés presentes en el material vegetal (Takeuchi & Pereira, 2009), por lo tanto, el agua como solvente polar se utiliza con frecuencia en la extracción de compuestos hidrosolubles como los polifenoles (Beltrán Delgado et al., 2013),

donde habitualmente se utiliza un rango de pH desde valores ácidos (2 a 4) a alcalinos (9 a 10) (Lazarova et al., 2016).

La relación sólido-líquido es un factor crucial en el proceso de extracción, ya que la transferencia de los componentes solubles de una matriz sólida al solvente líquido depende de la existencia de una fuerza impulsora que genere la transferencia de materia. Esta fuerza se produce a través del gradiente de concentraciones que se establece entre la matriz sólida del material vegetal y el solvente (Villamil Galindo, 2021). En consecuencia, la relación sólido-líquido adecuada es esencial para asegurar una extracción óptima de los componentes solubles del material vegetal durante el proceso de maceración. El efecto de esta relación en la recuperación de compuestos fenólicos de diferentes matrices vegetales se ha reportado y el rango más comúnmente utilizado para la relación sólido-líquido suele estar entre el 10-20% [%m/v] . Sin embargo, en algunos casos, dependiendo de la naturaleza del sólido se pueden utilizar relaciones sólido-líquido por fuera de este rango, del 5% o incluso 30% (Bucić-Kojić et al., 2007)(Pinelo et al., 2005). Estos últimos fueron los valores empleados en el diseño de experimentos del presente trabajo.

El tiempo durante el proceso de extracción puede influir significativamente en la cantidad y estabilidad de los compuestos extraídos, lo cual afecta directamente su bioactividad, incluyendo la actividad antioxidante, en consecuencia, un tiempo de maceración corto puede resultar en una interrupción de la transferencia de los compuestos solubles desde la matriz sólida al solvente, mientras que un tiempo de maceración prolongado puede promover la degradación de los compuestos extraídos (Iranawati et al., 2020). Habitualmente, los rangos reportados del tiempo de maceración varían entre 1 hora y 5 días (Cacique et al., 2020); sin embargo, para el diseño de experimentos del presente trabajo, se establecieron inicialmente los valores de 24 a 48 horas (Iranawati et al., 2020) considerando los posibles efectos mencionados previamente .

En un estudio realizado en el año 2020, se reportaron los rendimientos de extracción mediante maceración de 11 residuos agroindustriales generados en el departamento de Santander, los cuales se encuentran en un rango de 0,89% y 27,4% [g material vegetal extraído/ g material vegetal seco inicial], obteniendo el mayor rendimiento con la cáscara de mandarina (Sampayo Velásquez et al., 2020).

2.3 Técnicas de Caracterización de Nps

2.3.1 Espectroscopía UV-Vis

La espectroscopia UV-Vis es una técnica de caracterización que se basa en la capacidad de una sustancia desconocida para absorber ondas electromagnéticas de diferentes longitudes de onda en el visible y el ultravioleta (Owen, 2000). Según las moléculas presentes en la sustancia, “la luz es absorbida parcialmente. La luz restante, es decir, la luz transmitida, se registra en función de la longitud de onda mediante un detector adecuado, proporcionando el espectro UV/VIS de la muestra” (A. De Caro & Haller, 2017, p. 5). Como resultado, la relación entre una sustancia y su espectro UV-Vis, permite identificar y/o cuantificar sus compuestos, ya que cada sustancia absorbe la luz a diferentes longitudes de onda.

2.3.2 Microscopio Electrónico de Barrido

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es uno de los instrumentos disponibles para el análisis de microestructuras que utiliza un haz de electrones de alta energía que al interactuar con la muestra produce diversas señales, como electrones retro dispersados, electrones secundarios y rayos X característicos, que luego son recogidas por un detector determinado y posteriormente procesados para generar imágenes de gran aumento (González Mancera & Noguez Amaya, 2006).

Las señales que se obtienen de esta interacción revelan información sobre la muestra como la morfología externa y la composición química de esta.

2.3.3 Espectroscopía de Rayos X de Energía Dispersiva

Es una técnica que permite el análisis elemental de materiales y se basa en la detección de la radiación X característica que emite el material al interactuar con un haz de electrones. Posteriormente al impacto del haz de electrones con el material se producen transiciones energéticas en los átomos que “cuando regresan a su estado fundamental, emitirán rayos X característicos y la energía del fotón de rayos X es la energía potencial resultante de la diferencia entre los dos orbitales involucrados en la transición, que es característico del elemento” (Scimeca et al., 2018, p. 1). Como resultado, la emisión de rayos X a diferentes longitudes de onda puede medirse mediante un detector sensible a la energía fotónica lo que permite obtener un análisis e identificar los elementos presentes en la muestra.

2.3.4 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

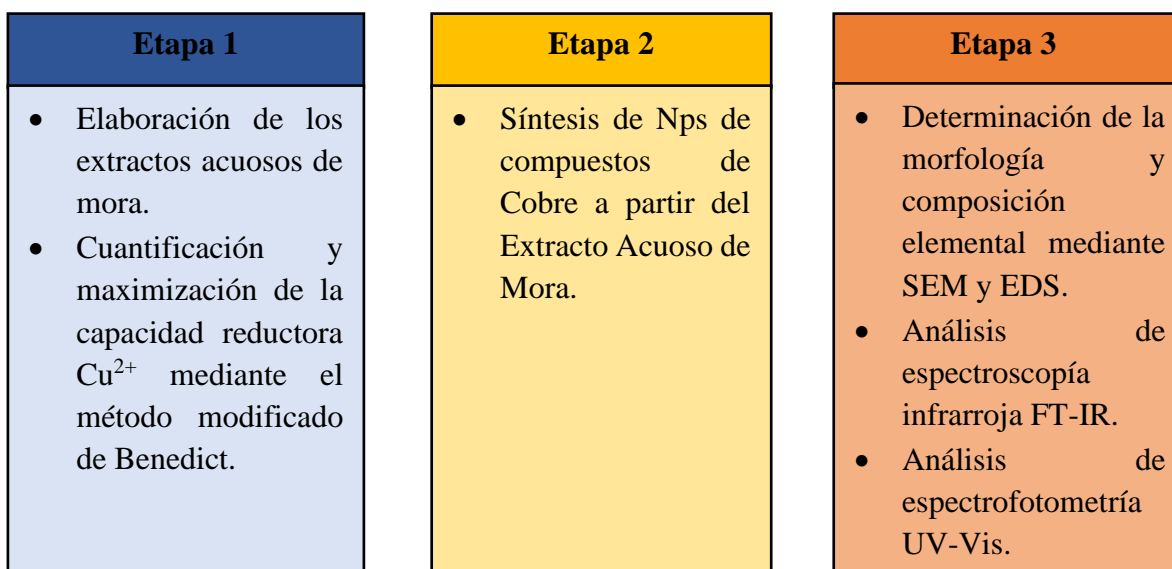
Es una técnica de análisis espectroscópica por la cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación infrarroja y el material de estudio (Piqué & Vázquez, 2012). Esta técnica se basa en la excitación de los modos de vibración y rotación de los enlaces atómicos de las moléculas presentes en el material; dependiendo de la naturaleza de estos enlaces, las moléculas absorben energía a una o distintas longitudes de onda, lo que permite obtener información sobre los grupos funcionales que se encuentran presentes en la muestra (Téllez Mesa, 2019).

3 Descripción Metodológica

En la figura 4 se presenta el diagrama de flujo general que resume la metodología empleada en el proyecto; así como la descripción global de las etapas secuenciales y las actividades realizadas para alcanzar los objetivos.

Figura 4

Diagrama de la Metodología por Etapas



3.1 Reactivos

Para el desarrollo del proyecto fueron utilizados: sulfato de cobre pentahidratado (98%), carbonato anhídrido de sodio (>99%, Panreac), citrato de sodio (>99%, Panreac), hidróxido de sodio industrial (50% p/p, Brinsa), ácido láctico (85%), Glutaraldehído (2%, Visoft), y agua desionizada suministrados por Zumotec S.A.

3.2 Materiales y Equipos

Los materiales y equipos que se emplearon fueron: Espectrofotómetro UV-Vis DU-8200 marca Drawell, secador de alimentos marca LEM modelo 778^a, agitador magnético de

calentamiento estable digital HJ-6B marca MesuLab, balanza analítica FA 2004, balanza de precisión digital modelo LIBRAL600-400c marca Libra, centrifuga de laboratorio, refractómetro portable, pH-metro HI991003 marca Hanna Instruments, micropipeta 100-1000 μl marca Joanlab, micropipeta 2-20 μl marca Joanlab, agitador magnético, molino de cuchillas, desecador, horno marca Challenger, tamiz, condensador de vidrio 34/35, espectrofotómetro FTIR y el microscopio electrónico de barrido (MEB) Tescan Vega 3.

3.3 Etapa 1: Obtención del Extracto Acuoso y Cuantificación de su Capacidad

Reductora Cu^{2+} .

3.3.1 Recolección de la Materia Prima.

Para la preparación del extracto se recolectaron 15 kg de residuo de mora proveniente del proceso de despulpado en la empresa Neo Frut S.A.S. ubicada en la central de abastos de Bucaramanga.

3.3.2 Acondicionamiento de la Materia Prima

El residuo de mora fue lavado y desinfectado por 20 minutos con Glutaraltec (Glutaraldehído, 2%), un desinfectante para alimentos. A continuación, el material fue sometido a un proceso de secado en un secador de alimentos con recirculación de aire a 60 °C hasta obtener un peso constante. Seguidamente, se redujo el tamaño del material seco en un molino de cuchillas y se tamizó hasta alcanzar un tamaño de partícula entre 30 y 40 mesh (H. Sukhdev et al., 2008). Por último, el material se almacenó a 4° C en bolsas herméticas tipo ziploc aislado de la luz.

3.3.3 *Determinación del Contenido de Humedad*

Se pesaron en un crisol 3 gramos de la muestra proveniente de la etapa anterior, el cual fue llevado al horno a 103 °C. Después de 4 h la muestra se introdujo en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente, y por último la muestra se pesó en la balanza analítica y se calculó el porcentaje de humedad empleando la ecuación 1. Este procedimiento se repitió en intervalos de 1 hora hasta conseguir un peso constante entre 2 medidas.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 \quad (\text{Ec.1})$$

m1: peso del crisol vacío (g), m2: peso del crisol + peso de la muestra inicial (g), m3: peso del crisol + muestra seca (g).

Esta prueba se realizó según el procedimiento expuesto en (Nollet, 2016).

3.3.4 *Proceso de Extracción por Maceración*

El material proveniente de la etapa de acondicionamiento de materia prima fue sometido a la técnica de maceración aplicando la metodología descrita en Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants (H. Sukhdev et al., 2008). Se utilizó agua como solvente debido a su polaridad, la cual le confiere propiedades de solubilización de diferentes solutos entre los que se encuentran los polifenoles (Beltrán Delgado et al., 2013). Con el propósito de cumplir la relación de sólido-líquido se realizó una prueba de hinchamiento, debido a que el material vegetal seco se hidrata nuevamente y retiene solvente en su interior; en intervalos de 15 min se adicionó solvente al material vegetal hasta que este último se hidratara totalmente y así obtener el volumen neto del solvente a utilizar en la extracción. La extracción se realizó para un volumen de 20 ml y a temperatura ambiente (≈ 28 °C), el extracto fue centrifugado a 4000 rpm por 25 min obteniendo un sobrenadante el cual fue almacenado y congelado en recipientes plásticos color ámbar. La

concentración de sólidos suspendidos expresada como grados Brix (g de material vegetal extraído/100ml de extracto), la cual fue medida utilizando el refractómetro portátil. El rendimiento de extracción se obtuvo empleando la siguiente ecuación:

$$\% \text{Rendimiento de extracción} = \text{°Brix} * \frac{100 \text{ ml de extracto final}}{\text{g de material vegetal seco}} * 100$$
$$\text{donde } \text{°Brix} = \left(\frac{\text{g de material vegetal extraído}}{100 \text{ ml de extracto final}} \right) \quad (\text{Ec. 2})$$

3.3.5 Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu²⁺ del Extracto Acuoso Mediante el Método Modificado de Benedict

Para la preparación del reactivo de Benedict se disuelven 100 g de carbonato anhídrido de sodio, 173 g de citrato de sodio, y 17,3 g de sulfato de cobre pentahidratado en 1 litro de agua destilada, seguidamente se ajusta el pH con NaOH hasta 12. Se adicionaron 2 ml del reactivo Benedict en una celda de cuarzo para realizar un barrido a diferentes longitudes de onda en el espectrofotómetro UV-Vis para determinar la longitud de onda donde se presenta el máximo de absorbancia. Para la curva de calibración se realizaron diluciones desde 4,81 hasta 0,2 mg de Cu/ml de solución (Ver apéndice A).

Para la prueba de capacidad reductora, se adicionaron 0,6 ml de reactivo de Benedict preparado anteriormente y 1,4 ml de extracto. Esta solución se calienta hasta 100°C en un baño con agua, por 4 min. Seguidamente se llevó a choque térmico en agua fría por 4 min y se centrifugó a 4000 rpm por 25 min. Para determinar la concentración de sulfato de cobre pentahidratado, se dispone de 2 ml de la solución en la celda de cuarzo y se mide la absorbancia a 740 nm utilizando el espectrofotómetro UV-Vis. Con el valor de absorbancia obtenido se determinó la concentración final del sulfato de cobre en la muestra utilizando la ecuación de la curva de calibración. A partir de la diferencia de concentraciones del sulfato de cobre, se determinó la cantidad de cobre reducido

y utilizando la Ec. 3 se evaluó la capacidad de reducción Cu^{2+} . Los experimentos se realizaron por triplicado.

$$\text{Capacidad de reducción } \text{Cu}^{2+} = \frac{\text{g CuSO}_{4o} - \text{g CuSO}_{4f}}{\text{g de sólidos suspendidos}} = \frac{\text{g CuSO}_4 \text{ reducidos}}{\text{g de sólidos suspendidos}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Nota: Donde g CuSO_{4o} son los g iniciales y g CuSO_{4f} son los g finales.

3.3.6 *Diseño de Experimentos*

Para obtener las condiciones que maximicen la capacidad de reducción Cu^{2+} del extracto acuoso de residuo de mora, se empleó un diseño factorial 2^3 para determinar la interacción entre factores con mayor efecto en la variable respuesta, y posteriormente se llevó a cabo un diseño central compuesto, utilizando para su análisis la metodología de superficie de respuesta. Los experimentos se realizaron por triplicado. El software utilizado fue MINITAB 19. A continuación se presentan los factores estudiados y los niveles empleados en cada diseño:

Tabla 1

Factores y Niveles del Diseño Factorial 2^3

Factores	Niveles de los Factores	
	Bajo	Alto
pH	4	10
%Sólido/ Líquido [%p/p]	5	30
Tiempo de maceración [h]	24	48

Nota. El % sólido / líquido se establece como la relación (%p/p) del material vegetal y solvente utilizado.

Tabla 2*Factores y Niveles del Diseño Central Compuesto*

Factores	Niveles de los Factores	
	Bajo	Alto
%Sólido/Líquido [%p/p]	2	8
Tiempo de maceración [h]	12	36

Nota. El % sólido / líquido se establece como la relación (%p/p) del material vegetal y solvente utilizado.

3.4 Etapa 2: Síntesis de Nps de Cobre a partir del Extracto Acuoso de Mora

3.4.1 Condiciones de Síntesis

Las condiciones de síntesis se basaron en las metodologías de (Amaliyah et al., 2020) y (Ávalo Cortez & Martínez Aguilar, 2018) con modificaciones. Para ello se mezcló una solución acuosa de sulfato de cobre pentahidratado (SC) a 0,46 M, el extracto de residuo de mora a una concentración de 0,085 g/ml y NaOH al 3,78% p/v, utilizando una relación volumétrica de 2:1:1, respectivamente. La adición del NaOH se llevó a cabo de tres maneras diferentes: R1) se adicionó previamente al extracto y posteriormente la mezcla extracto-NaOH se agregó a la solución de SC, R2) se adicionó previamente a la solución de SC y posteriormente el extracto se agregó a la mezcla SC-NaOH y R3) se adicionó previamente al extracto y a la solución de SC y luego se agregó la mezcla extracto-NaOH a la mezcla SC-NaOH. La síntesis se realizó a 60°C durante 30 min con agitación constante. Los experimentos se realizaron por triplicado.

3.5 Etapa 3: Caracterización de las Nps de Cobre

Inicialmente, se detectó a primera vista la formación de partículas al observar un cambio de color en las soluciones de reacción. La solución final fue centrifugada 24 h después a 4000 rpm por 25 min para separar el sobrenadante y el precipitado formado durante la síntesis. El sobrenadante fue almacenado y congelado en recipientes de vidrio. El precipitado fue lavado tres veces con agua destilada y una cuarta vez con etanol con el propósito de remover la mayor cantidad de impurezas, excesos de reactivos y subproductos (Chamé, 2013). Finalmente, el precipitado se llevó a secar al horno durante 45 min a 60°C y fue almacenado para su respectivo análisis (Mosquera et al., 2015).

3.5.1 Espectroscopía UV-Vis

Para realizar el análisis del sobrenadante, se tomaron 100 µl de la muestra y se diluyeron en 2,9 ml de agua destilada en una celda de cuarzo la cual fue llevada al espectrofotómetro para obtener los espectros desde 190 a 1000 nm.

Para realizar el análisis del precipitado, 0,05 g de este se agregaron a 10 ml de ácido láctico con el fin de dispersar las partículas y obtener una mezcla homogénea. Posteriormente, se tomaron 40 µl de la mezcla mencionada anteriormente y se diluyeron en 2,96 ml de ácido láctico en una celda de cuarzo la cual fue llevada al espectrofotómetro para obtener los espectros de 250 a 1000 nm.

3.5.2 Análisis SEM, EDS y FTIR

Las características morfológicas del sobrenadante y precipitado se estudiaron utilizando el microscopio electrónico de barrido (SEM) Tescan Vega 3 aplicando un voltaje de 20 kV, una

distancia de magnificación de 15 y 20 kx respectivamente y utilizando el detector BSE. La composición elemental se examinó mediante espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDS) con el software AztecOne. Se realizó un análisis de espectroscopía infrarroja (FTIR) para averiguar el papel de las biomoléculas en el extracto para la reducción de metales en el rango de 500-4000 cm^{-1} .

4 Resultados

4.1 Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu^{2+} del Extracto Acuoso de Mora

4.1.1 *Diseño 2³*

A partir de los resultados de los 24 experimentos del diseño 2^3 (Tabla 3) se evaluó el efecto de las variables y su interacción aplicando el análisis de varianza (ver tabla 1 del apéndice B). De acuerdo con el valor P obtenido, se infiere que todas las variables tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta a un nivel de confianza del 95%.

En la tabla 3 se presentan los resultados de la prueba de capacidad reductora de Cu^{2+} obtenida del diseño 2^3 , donde se observa que la Muestra número 1, cuyo extracto fue realizado a un pH de 4, un tiempo de maceración de 24 h y un % Sólido/Líquido del 5%, presentó la mayor capacidad reductora frente al resto de combinaciones en el experimento.

Tabla 3*Resultados de la Prueba de Benedict del Diseño 2³*

Muestra	Tiempo[h]	pH	%Sólido/Líquido [%p/p]	Capacidad de reducción de Cu ²⁺ *	Rendimiento de extracción*
1	24	4	5	4,95 ± 0,05	1,9% ± 0
2	24	4	30	1,34 ± 0,02	1,2% ± 0,18
3	24	10	5	2,49 ± 0,08	3,8% ± 0
4	24	10	30	0,94 ± 0,01	2,2% ± 0
5	48	4	5	1,34 ± 0,09	3,8% ± 0
6	48	4	30	0,90 ± 0,01	2,5% ± 0
7	48	10	5	1,25 ± 0,10	3,8% ± 0
8	48	10	30	1,10 ± 0,05	1,8% ± 0,18

Nota. Los resultados representan el promedio de las réplicas y su desviación estándar. * Las unidades de capacidad de reducción están dadas en [mg Cu/mg sólidos suspendidos]. * Las unidades del rendimiento de extracción están dadas en [g material vegetal extraído/g material vegetal seco].

En la figura 5 se presenta la influencia de los factores y sus interacciones sobre la capacidad de reducción.

4.1.2 Efecto de la Relación %sólido/líquido

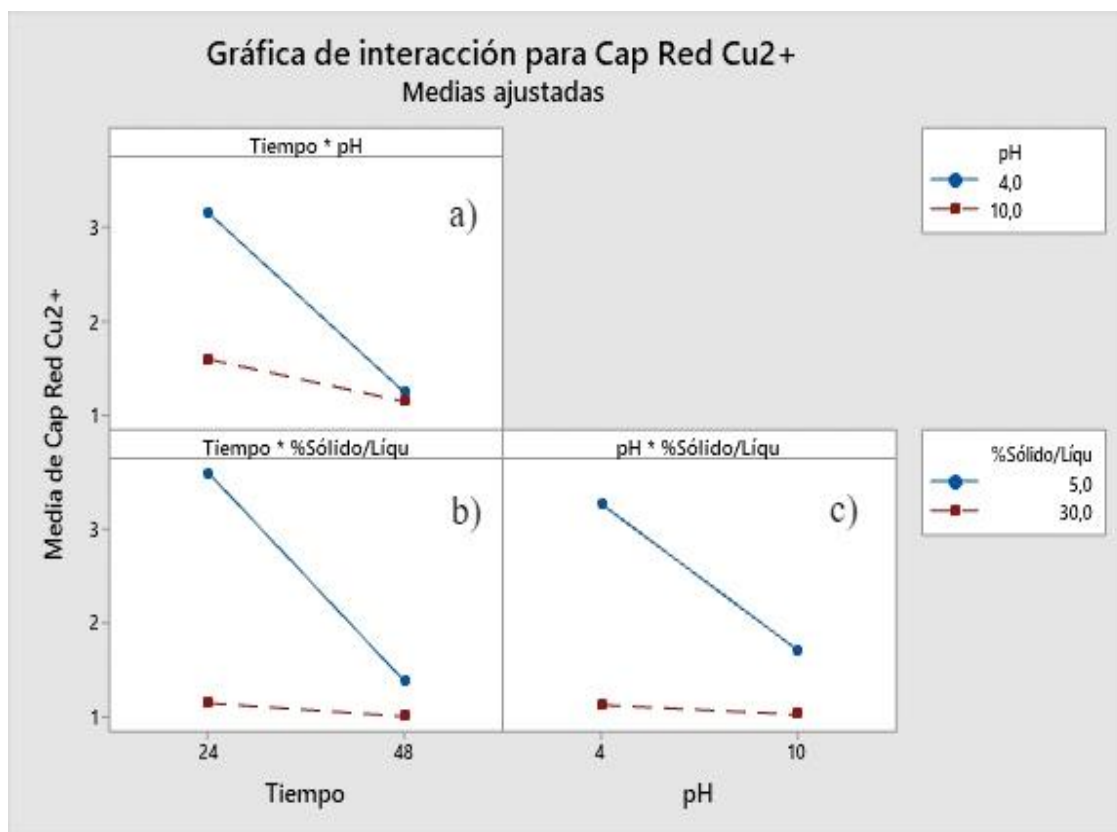
En la figura 5 b) y c) se evidencia que al disminuir la relación sólido/líquido a un 5% se obtiene una mayor capacidad de reducción. Esta tendencia ha sido observada por Castro López et al. (2017) , quienes realizaron la extracción por maceración a partir de cáscara de granada (*Punica granatum*), cáscara de nuez (*Juglans regia*), hojas de moringa (*Moringa oleífera*) y hojas de hojásén (*Cassia fistula*). En su estudio se reportó que el aumento de la relación sólido líquido de 1:25 a 1:50 [m/v] resultó en una mayor extracción de compuestos fenólicos y en un aumento en

la actividad antioxidante de los extractos obtenidos para todos los materiales vegetales. A diferencia de cómo se procedió en este trabajo, ellos realizaron la extracción por 2 h con agitación constante.

Este comportamiento se puede explicar debido a que el aumento en la relación solvente-sólido favorece el transporte del soluto (polifenoles presentes en el sólido) hacia el solvente gracias al gradiente de concentración en la interfase sólido-solvente, el cual se considera como la fuerza impulsora durante la transferencia de masa en este tipo de extracción (Cacace & Mazza, 2003).

Figura 5

Gráfica de Efectos Principales sobre la Capacidad de Reducción Cu^{2+}



Nota. a) Efecto tiempo-pH, b) efecto tiempo-%S/L y c) efecto pH-%S/L. Los resultados representan las medias ajustadas de cada nivel.

4.1.3 Efecto del pH

En la figura 5 a) se evidencia que al disminuir a un pH 4 de extracción se obtiene una mayor capacidad de reducción. Esta tendencia fue observada por Ruenroengklin et al., (2008) en donde la actividad antioxidante del extracto de Litchi aumentaba a pH bajo, debido a la extracción de compuestos fenólicos, y disminuyó cuando se empleaba un pH superior a 4. Esto podría deberse a la inhibición de los procesos de oxidación enzimática de los compuestos fenólicos a pH ácido, lo cual permite una mayor estabilidad de las antocianinas presentes en el extracto obtenido (Hidalgo & Almajano, 2017). Además, la adición de ácido en el solvente puede debilitar los tejidos vegetales y aumentar la desintegración de las paredes celulares del material vegetal, facilitando así la solubilización y la difusión de los compuestos que favorecen la actividad antioxidante del extracto (Naranjo, 2016).

4.1.4 Efecto del Tiempo de Maceración.

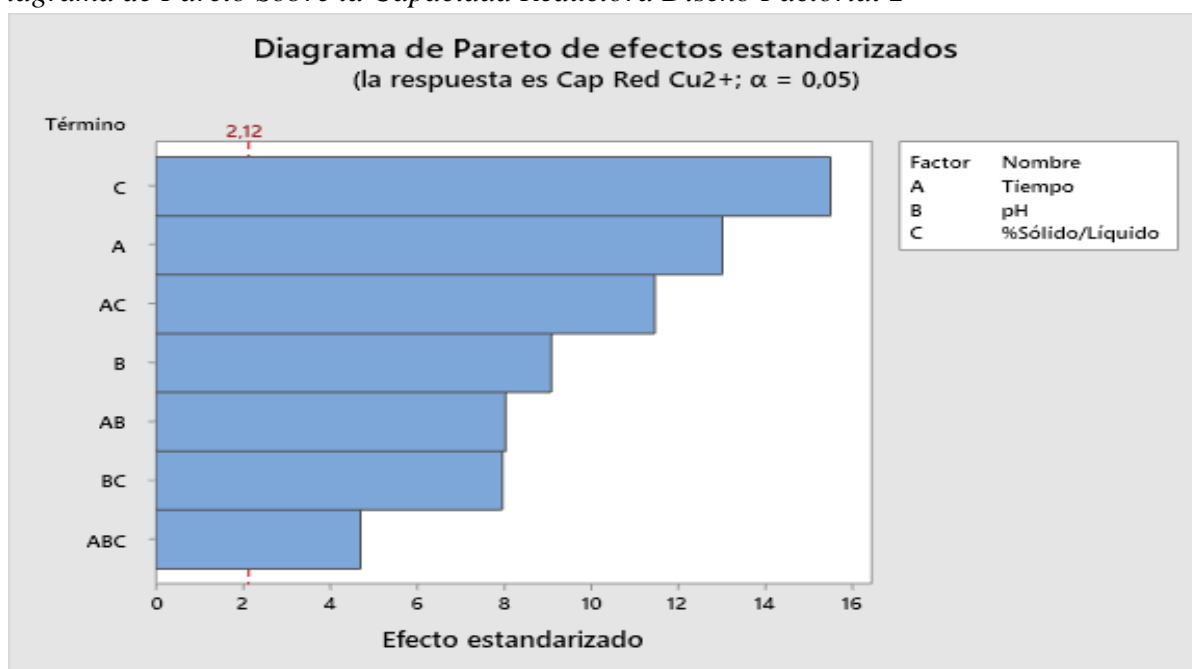
En las Figuras 5 a) y b) se observa que al aumentar el tiempo de maceración la capacidad de reducción del extracto disminuye. Este comportamiento podría explicarse debido a que durante tiempos de extracción prolongados se pueden iniciar reacciones de polimerización causando la degradación de los compuestos fenólicos presentes en el extracto, los cuales están relacionados directamente con la actividad antioxidante que el extracto pueda tener (Kara & Ercelebi, 2013). También se puede añadir que al cabo de un tiempo, la concentración del soluto en el interior de las células vegetales del sólido y en el volumen del solvente alcanzan un equilibrio, momento en el cual el transporte de los compuestos activos desde la célula hacia el solvente se ve afectado (Yang et al., 2010). Esta tendencia fue reportada por Iranawati et al. (2020), quienes estudiaron los extractos obtenidos por maceración a partir de hojas de *Sonneratia caseolaris*. Los investigadores

evaluaron el efecto del tiempo de extracción a 24 y 48 horas sobre la actividad antioxidante del extracto y los resultados indicaron que a 24 horas de extracción la capacidad de inhibir radicales libres aumentó, obteniendo así una mayor actividad antioxidante. A diferencia del presente trabajo, los investigadores utilizaron metanol como solvente.

En la figura 6 se aprecia el diagrama de Pareto que confirma lo obtenido en el análisis de varianza (ver apéndice B) y que permite identificar la interacción AC (tiempo de maceración y % Sólido/Líquido) como la de mayor efecto sobre la variable de respuesta. Por consiguiente, se acotó el número de factores para el siguiente diseño de experimentos (Central compuesto-Superficie de respuesta) dejando fijo el valor del pH de extracción en 4.

Figura 6

Diagrama de Pareto Sobre la Capacidad Reductora Diseño Factorial 2^3



Nota. El diagrama de Pareto permite determinar la importancia de los factores sobre la variable de respuesta. Las interacciones o factores que sobrepasan la línea roja son considerados como estadísticamente significativos.

4.1.5 Diseño Central Compuesto

A partir de los resultados de los 42 experimentos del diseño central compuesto (Tabla 4) se evaluó el efecto de las variables y sus interacciones, y permitió hallar los niveles que maximizan la capacidad de reducción de Cu^{2+} , aplicando el análisis de varianza (ver tabla 1 del apéndice C).

En la tabla 4 se pueden ver los resultados de la prueba de capacidad reductora de Cu^{2+} obtenida del diseño central compuesto, donde se observa que la Muestra 2, con el extracto producido a un pH de 4, tiempo de maceración de 12 h y un %Sólido/Líquido de 2%, presentó la mayor capacidad reductora frente al resto de combinaciones en el experimento.

Tabla 4

Evaluación de la capacidad de reducción de Cu^{2+} mediante la Prueba de Benedict, en función del tiempo y el %Sólido/Líquido en un Diseño Central Compuesto.

Muestra	Tiempo [h]	%Sólido/Líquido [%p/p]	Capacidad de reducción de Cu^{2+} *	Rendimiento de extracción*
1	7,02	5	$2,97 \pm 0,03$	3,81%
2	12	2	$3,06 \pm 0,06$	4,77%
3	12	8	$1,68 \pm 0,05$	4,77%
4	24	0,76	$2,35 \pm 0,05$	12,59%
5	24	5	$1,56 \pm 0,02$	7,63%
6	24	9,24	$1,32 \pm 0,02$	5,16%
7	36	2	$1,70 \pm 0,09$	9,53%
8	36	8	$1,64 \pm 0,04$	4,77%
9	40,9	5	$1,89 \pm 0,01$	5,72%

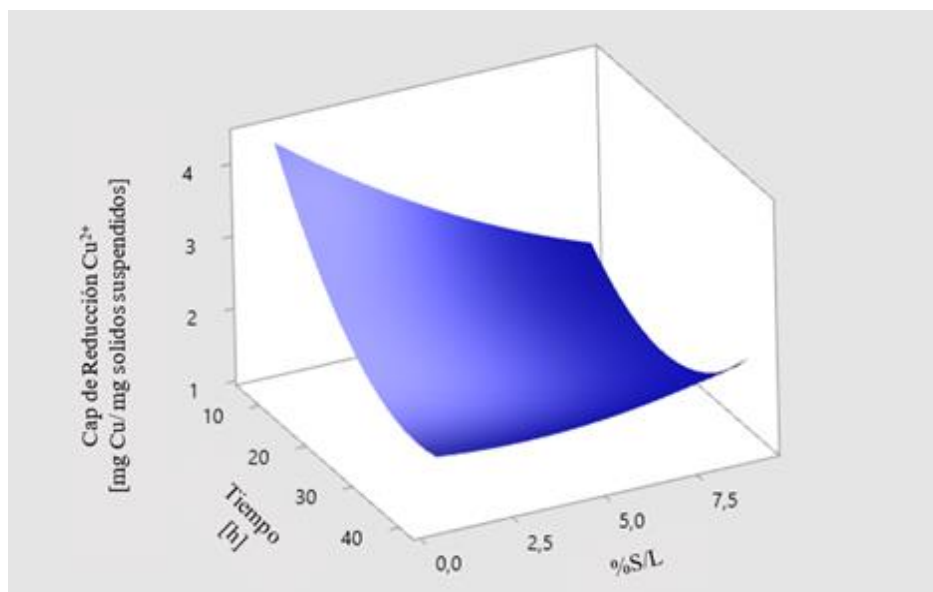
Nota. Los resultados representan el promedio de las réplicas y su desviación estándar. * Las unidades de capacidad de reducción están dadas en [mg Cu/mg sólidos suspendidos]. * Las unidades del rendimiento de extracción están dadas en [g material vegetal extraído/g material vegetal seco].

En la figura 7 se presenta la superficie de respuesta obtenida al evaluar la capacidad reductora de Cu^{2+} mediante un diseño central compuesto, donde se observa que esta variable aumenta a medida que el tiempo de maceración y el % Sólido/Líquido (% S/L) disminuyen.

Posteriormente, se empleó la herramienta de maximización de respuesta de Minitab para hallar los niveles de los factores a los cuales la capacidad de reducción Cu^{2+} es máxima.

Figura 7

Superficie de Respuesta de la Capacidad de Reducción Cu^{2+}



4.1.6 Maximización de la Capacidad de Reducción.

La tabla 5 presenta la solución (ver tabla 2 del apéndice C) obtenida a partir del modelo matemático (ver Ec. 4) de superficie de respuesta de la capacidad de reducción Cu^{2+} con un R^2 de 0,991.

Tabla 5*Maximización de la Capacidad de Reducción Cu²⁺*

Factores	Solución	Capacidad de reducción Cu ²⁺ *
Tiempo de maceración [h]	7,03	4,29 ± 0,09
%Sólido/Líquido [%p/p]	0,76	

Nota. * las unidades de capacidad de reducción están dadas en [mg Cu/mg solidos suspendidos].

Ecuación de regresión

$$\text{Cap Red Cu}^{2+} = 5,9547 - 0,21317 * A - 0,4667 * B + 0,002796 * A^2 + 0,01194 * B^2 + 0,009541 * A * B \quad (\text{Ec. 4})$$

Nota: Donde A es el Tiempo [h] y B es el %Sólido/Líquido [%p/p]

A partir de los resultados de la maximización se puede decir que, a un tiempo de maceración de 7,03 h, un % Sólido/Líquido de 0,76 [%p/p] y un pH de 4, se puede obtener un máximo teórico de capacidad de reducción de Cu²⁺ de 4,29 ± 0,09 [mg Cu/mg de sólidos suspendidos] con un nivel de confianza del 95% (ver tabla 2 del apéndice C). Al aplicar las condiciones de extracción mencionadas anteriormente se obtuvo un máximo experimental de 4,25 [mg Cu/mg solidos suspendidos] el cual se encuentra en el intervalo de confianza establecido.

4.2 Análisis Cualitativo del Proceso de Síntesis de Nps

En la figura 8 se puede observar el cambio de color en la suspensión durante el tiempo de síntesis para las reacciones R1, R2 y R3. Inicialmente se parte de una solución de sulfato de cobre color azul pálido en la que segundos después de iniciar la reacción cambia a color azul oscuro debido a la reacción de la sal cúprica con una solución básica, en este caso el hidróxido de sodio, dando lugar principalmente a la formación de Cu(OH)₂ (Ec. 5) (Pastrana Alta, 2017). Este

compuesto se comporta como una especie metaestable (no es termodinámicamente estable), que posteriormente se deshidrata y es reducida por los compuestos fenólicos presentes en el extracto hasta llegar finalmente a una solución color ocre, permitiendo la formación de partículas de especies más estables termodinámicamente como las de óxidos de cobre (Wen, 2021)(Ec. 6), durante la etapa de nucleación, crecimiento y recubrimiento (Kuo et al., 2007)(Sahoo et al., 2009).

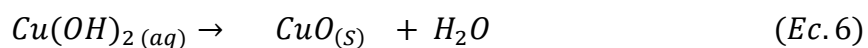
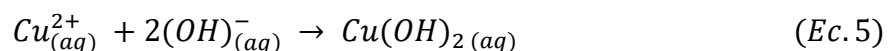
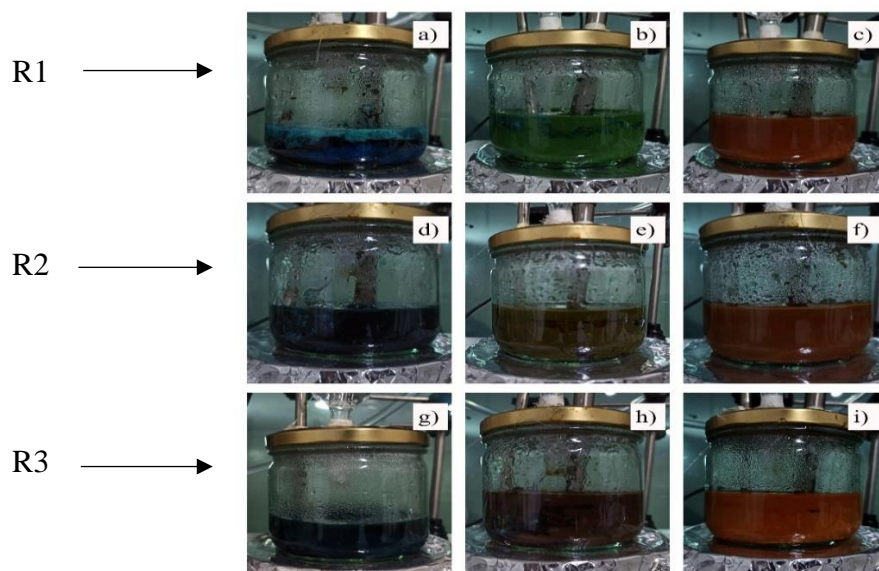


Figura 8

Color de la Mezcla de Reacción a Diferentes Tiempos



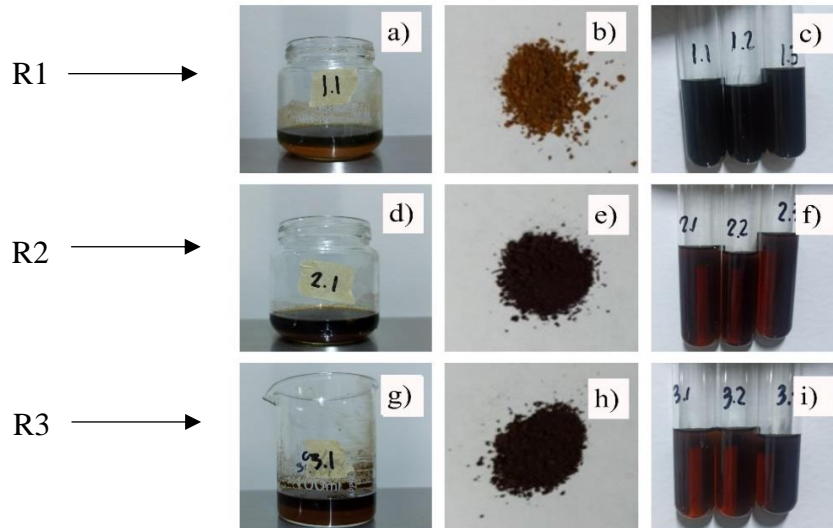
Nota. a), b), c) Color de la mezcla R1(reacción en donde el NaOH se adicionó previamente al extracto) luego de 30 s, 2 min y 5 min respectivamente. d), e), f) Color de la mezcla R2 (reacción donde el NaOH se adicionó previamente a la solución de SC) luego de 30 s, 2 min y 5 min respectivamente. g), h), i) Color de la mezcla R3 (reacción donde el NaOH se adicionó previamente tanto a la solución de SC como al extracto) luego de 30 s, 2 min y 5 min respectivamente. Todas se llevaron a cabo a 60 °C con agitación.

En la figura 9 se evidencia la formación de dos fases al finalizar la síntesis, un sobrenadante y un precipitado de color marrón claro para la R1 (b) y un color marrón oscuro para R2 (e) y R3 (h) los cuales posteriormente fueron caracterizados mediante las técnicas mencionadas en la metodología.

Para R1, reacción en donde el NaOH se adicionó previamente al extracto y posteriormente la mezcla extracto-NaOH se agregó a la solución de SC, se evidenció un color verde oscuro en el sobrenadante, lo cual es un indicativo de la presencia de complejos iónicos de Cu y de compuestos fenólicos oxidados provenientes del extracto de mora junto con subproductos formados durante la síntesis como el Na_2SO_4 , lo cual fue confirmado posteriormente en el análisis EDS realizado.

Figura 9

Productos de la Síntesis de Nanopartículas de Cobre



Nota. a), d), g) Formación de dos fases al finalizar la síntesis de R1, R2, R3 respectivamente. b), e), h) precipitados de R1, R2, R3 respectivamente. c), f), i) sobrenadantes de R1, R2, R3 respectivamente. La síntesis se realizó a 60°C durante 30 min con agitación constante. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Para R2, donde el NaOH se adicionó previamente a la solución de SC y posteriormente el extracto se agregó a la mezcla SC-NaOH, se evidenció un color marrón en el sobrenadante obtenido. Para R3, donde el NaOH se adicionó previamente al extracto y a la solución de SC y luego se agregó la mezcla extracto-NaOH a la mezcla SC-NaOH, se obtuvo de igual manera un sobrenadante de color marrón, dado principalmente por compuestos fenólicos como flavonoles y antocianinas que han sido oxidadas y son sensibles a variaciones de pH y temperatura (Gloria Astrid Garzón, 2008).

La síntesis de nanopartículas de Cu metálico es un gran desafío debido a su alta tendencia a la oxidación, esta es alguna de las razones por las que se obtuvieron partículas en las fases de óxido, las cuales son termodinámicamente más estables y cuya presencia fue observada en las imágenes obtenidas durante el posterior análisis SEM, EDS y FTIR.

4.3 Caracterización de las Nps de Cobre obtenidas en el precipitado

4.3.1 Espectroscopía UV-Vis

En el apéndice D se presentan los espectros obtenidos del extracto de mora, hidróxido de sodio y el sulfato de cobre. El extracto mostró un pico de absorción máxima a 240 nm característico de flavonoides como los flavanoles y antocianinas que han sido identificados en (Ertz et al., 2007)(G.A Garzón et al., 2015) y son abundantes en frutos rojos como la mora de castilla, mientras que el hidróxido de sodio presentó su pico máximo de absorbancia a 210 nm y el sulfato de cobre a 740 nm.

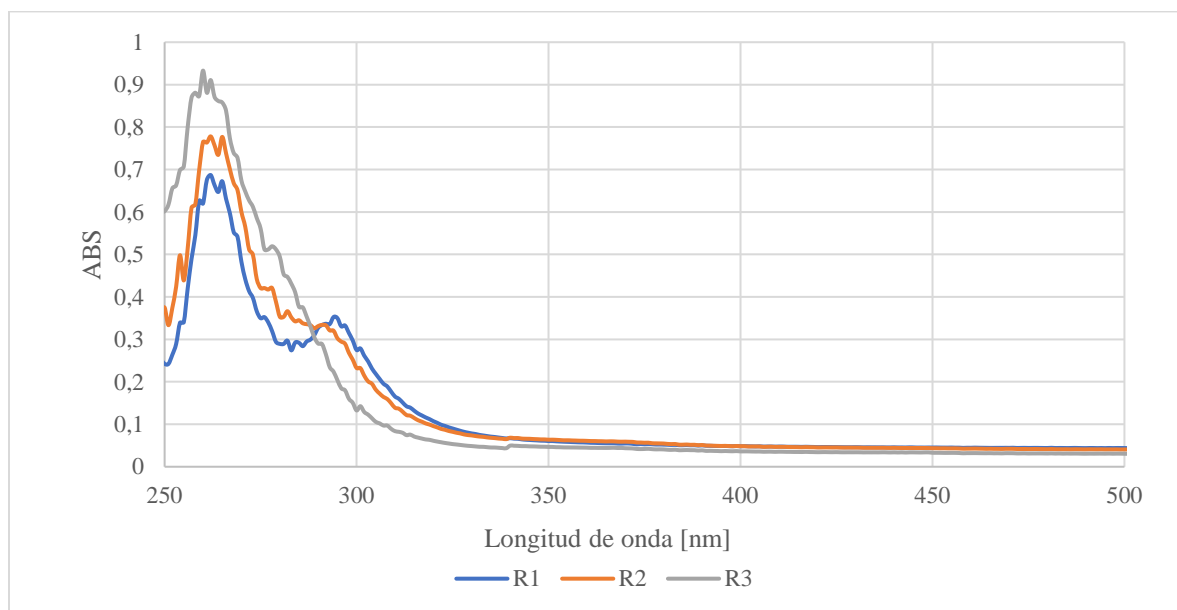
Por otra parte, en la figura 10 se presentan los espectros de los precipitados obtenidos en R1, R2 y R3. Las muestras de R1 y R2 evidenciaron picos de absorbancia a 260 y 290 nm, mientras que R3 presentó un solo pico 260 nm. Estos resultados similares a otros estudios sobre la síntesis

de Nps de óxido de cobre utilizando extracto de café y extracto de hoja de *Terminalia phanerophlebia*, donde se obtuvieron picos máximos de absorbancia a 262 nm (Fardood & Ramazani, 2016) y a 290 nm (Keabadile et al., 2020), respectivamente.

En los trabajos mencionados anteriormente se establecen estos picos característicos como evidencia de la detección de Nps de óxidos de cobre, sin embargo, este análisis se complementa con los resultados obtenidos en las pruebas de SEM, EDS y FTIR.

Figura 10

Espectro UV-Vis de los Precipitados



Nota. R1 (a) reacción en donde el NaOH se adicionó previamente al extracto, R2 (b) reacción donde el NaOH se adicionó previamente a la solución de SC y R3(c) reacción donde el NaOH se adicionó previamente tanto a la solución de SC como al extracto. Todas las reacciones se llevaron a cabo por 30 min a 60 °C con agitación.

En el apéndice D se presentan los espectros obtenidos del sobrenadante de cada uno de los puntos de síntesis realizados. Se observó un pico de absorción entre 230-240 nm para R2 y R3, y entre 265-275 nm para R1 los cuales son característicos de polifenoles como los elagitaninos, ácido

gálico y la catequina (Ertz et al., 2007) (González, 2011). En ninguna de las muestras se evidenció un pico de absorbancia remanente del sulfato de cobre, indicando que este se consumió primero formando complejos iónicos de Cu y en la posterior reducción simultánea de iones de Cu^{2+} en Cu^{+1} y Cu^0 .

4.3.2 *Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)*

En la figura 11 se presentan las imágenes de las muestras de precipitados (Ver apéndice E). En las imágenes se confirma la presencia de partículas de formas esféricas y amorfas y no se evidenció una diferencia significativa de la morfología entre las muestras de precipitados de las 3 reacciones, las cuales tienden a formar un agregado aleatorio y presentan un tamaño superior al de la nano escala (1 a 100 nm) ya que se encuentran en un rango de tamaño entre 240 nm y 1,51 μm .

Los resultados obtenidos se compararon con los reportados por diferentes autores en la tabla 6.

Tabla 6

Comparación con Literatura de la Morfología de Nps de Óxido de Cobre

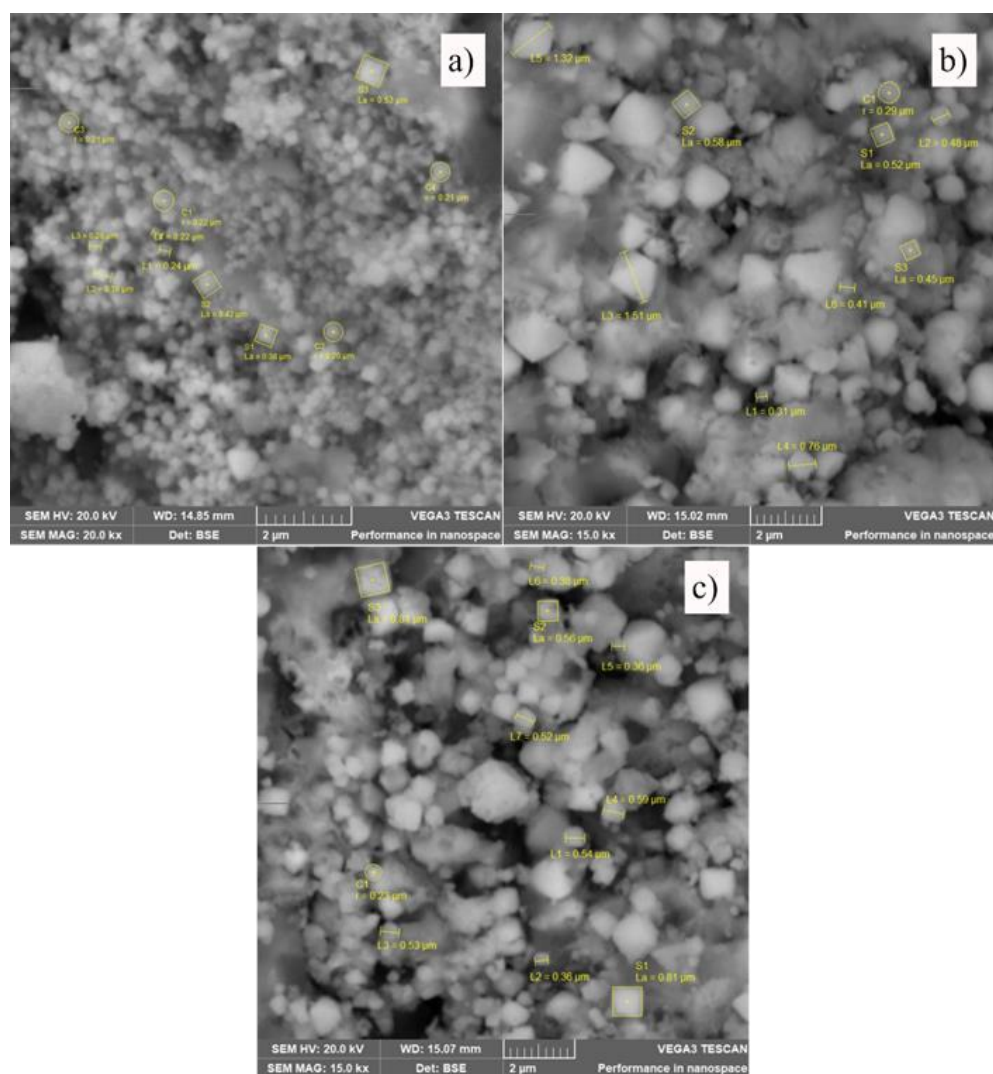
Autores	Tamaño [nm]	Forma
B. Kumar et al., 2017	45-53	Esférica
ELhabal et al., 2022	90-139	Esférica
Presente trabajo	240-1510	Esférica, amorfa

B. Kumar et al., 2017 en su estudio donde el extracto de mora de castilla fue usado como agente reductor, reportó Nps de óxido de cobre esféricas y de un tamaño promedio entre 45 y 53 nm. A diferencia de cómo se procedió en este trabajo, ellos utilizaron nitrato de cobre como sal precursora a una concentración de 0,01 M la cual fue mezclada con el extracto por 6 h a 75 °C.

Por otra parte, Elhabal et al., 2022 , reportaron en su estudio Nps esféricas (90 a 139 nm) de óxidos de cobre a partir de la reacción a 70 °C de una solución de sulfato de cobre (0,01 M) con el extracto de *Salvadora persica*.

Figura 11

Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido



Nota. Imágenes de las partículas en el precipitado de R1 (a) reacción en donde el NaOH se adicionó previamente al extracto, R2 (b) reacción donde el NaOH se adicionó previamente a la solución de SC y R3(c) reacción donde el NaOH se adicionó previamente tanto a la solución de SC como al extracto. Todas las reacciones se llevaron a cabo por 30 min a 60 °C con agitación.

Factores como la concentración de la sal metálica, el pH, y los compuestos presentes en el extracto, entre otros, afectan la forma, el tamaño y la estabilización de las Nps. Respecto a la concentración de la sal metálica durante la biosíntesis de Nps de óxidos metálicos, el tamaño de las partículas obtenidas suele aumentar cuando se incrementa la concentración de esta (Din et al., 2017). Es probable que el amplio rango de tamaño de las partículas obtenidas en este trabajo se deba a la concentración de la sal utilizada (0,46 M), la cual es mayor que la utilizada por los autores en los estudios previamente mencionados. Esto puede deberse a una mayor presencia de Cu^{2+} en la solución lo cual promueve un incremento en la producción de los núcleos durante la etapa de nucleación, lo cual a la vez, favorece la aglomeración y precipitación de partículas de mayor tamaño (Jeevanandam et al., 2017).

También se ha observado que la concentración inicial de los reactivos determina la formación de productos intermedios más inestables que tienden a precipitar, como el $\text{Cu}(\text{OH})_2$, lo que consecuentemente puede afectar el rendimiento de producción de las Nps y causar diferentes tamaños por agregación en las partículas obtenidas (Jia et al., 2009) (Salgado et al., 2019).

La morfología de las partículas obtenidas en el presente trabajo también se ve afectada debido a la capacidad de recubrimiento y estabilización de las partículas por los compuestos presentes en el extracto, lo que puede generar partículas de mayor tamaño y con variedad de formas (Chakraborty et al., 2022). La presencia de estos compuestos en la superficie de las partículas se confirma en los resultados de las pruebas FTIR presentadas más adelante.

Adicionalmente, en las imágenes de los sobrenadantes captadas no se evidenció la presencia de ningún tipo de partícula (ver apéndice F).

4.3.3 *Análisis FTIR*

Para comprender la naturaleza y estructura química de las partículas sintetizadas junto con el efecto del agente reductor utilizado en la síntesis, se llevó a cabo un análisis FTIR. La figura 11 representa el espectro FTIR registrado para las partículas y el extracto de mora en el rango de 500 a 4000 cm^{-1} .

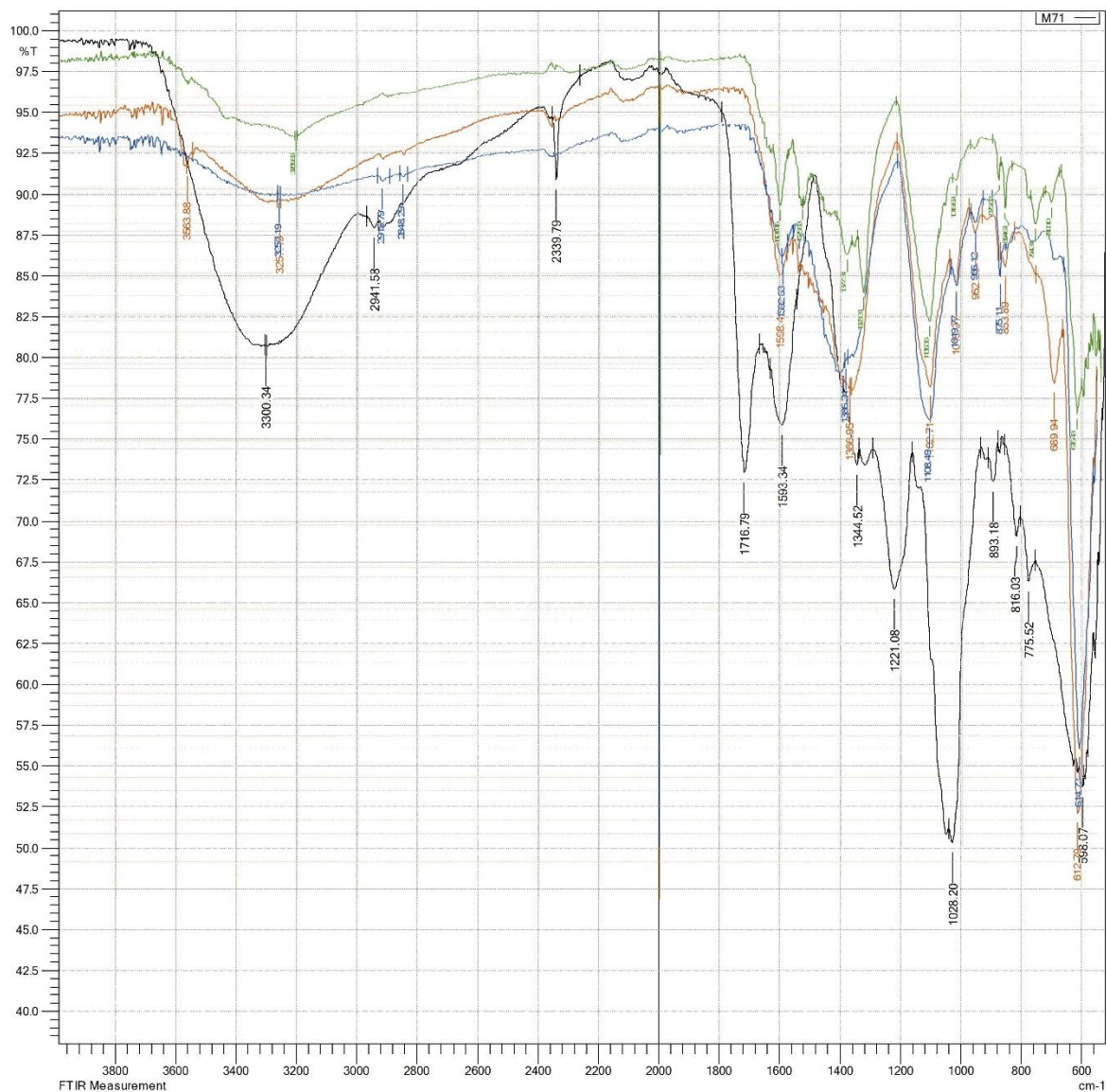
En el espectro del extracto de mora, identificado con la gráfica de color negro, se observaron picos a 3300 cm^{-1} y a 2941 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de extensión del grupo -OH característico de flavonoides y al grupo C-H de compuestos alifáticos (Gaffney et al., 2012), respectivamente. Así mismo, se observan bandas de absorción presentes en 1716 cm^{-1} y 1593 cm^{-1} , característicos del grupo cetona -C=O y del grupo alqueno C=C de anillos aromáticos, respectivamente (B. Kumar et al., 2017) (Gaffney et al., 2012).

Al comparar este espectro de extracto de mora con el espectro de las partículas de cobre presentes en el precipitado, se encontró que los picos obtenidos en el extracto se han repetido en las partículas con ligeros cambios en la intensidad de las bandas de absorción.

En la figura 12 también se pueden observar los espectros de las partículas obtenidas durante la síntesis R1, R2 y R3, identificados de color naranja, azul y verde respectivamente. Los picos en 3257 cm^{-1} y 3205 cm^{-1} , correspondientes al grupo -OH, y en 1598 cm^{-1} se vuelven menos estrechos y de menor intensidad respecto a lo obtenido en el extracto. La banda de absorción en 1386 cm^{-1} pertenece a vibraciones de extensión del grupo -COO⁻, característico del ion carboxilato, el cual es el producto de la reacción entre un ácido orgánico y un ion metálico (Jose & Cerillo, 2009). Las bandas de vibración en las frecuencias 613 (R1), 614 (R2) y 615 (R3) cm^{-1} se pueden atribuir a picos característicos del Cu₂O (Zheng & Liu, 2007).

Figura 12

Espectro FTIR de las Partículas de Óxido de Cobre Obtenidas en los Precipitados



Nota. Espectros de las partículas obtenidas en el precipitado durante la síntesis R1(naranja), R2(azul) y R3(verde) y del extracto de mora (negro). (Ver apéndice G para ver espectros por separado)

Adicionalmente, no se observó ningún otro pico activo en el rango entre 609 y 500 cm⁻¹, lo cual podría descartar la existencia de otra fase, como el CuO (Pastrana Alta, 2017). Con la intención de confirmar lo mencionado previamente, y de entender la importancia de los

compuestos del extracto en el proceso de reducción, se realizó un análisis FTIR (ver apéndice G) a las partículas obtenidas a partir de la reacción de sulfato de cobre con hidróxido de sodio, en donde se observaron picos a 532, 444 y 610 cm^{-1} correspondientes a bandas de vibración de estiramiento Cu-O (Zheng & Liu, 2007)(Pastrana Alta, 2017).

No hay duda, por lo tanto, que los compuestos en la superficie de las partículas tienen una composición química muy parecida a la del extracto de mora, confirmando que los compuestos presentes en el extracto cumplen funciones de recubrimiento y estabilización de las partículas. Resultados similares han sido reportados por varios trabajos (Sankar et al., 2014)(Kushwaha & Prakash, 2021).

En el apéndice H se presentan los espectros de los sobrenadantes obtenidos donde se observaron picos a 3304 cm^{-1} y 3267 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de extensión del grupo -OH característico de compuestos fenólicos y a 2827 cm^{-1} correspondiente al grupo C-H de compuestos alifáticos (Gaffney et al., 2012). La banda de absorbancia presente en 1624 cm^{-1} es característica de vibraciones de extensión del grupo alqueno C=C y en 1584 cm^{-1} del grupo alqueno C=C de anillos aromáticos (Bayu et al., 2019).

4.3.4 Análisis pruebas EDS

En la tabla 7 se presentan los valores de la composición elemental de los precipitados obtenidos mediante la técnica EDS.

En la muestra R1 se obtuvo una composición elemental de Cu y O de 14,8 % y 51,3 % atómicos respectivamente, por lo tanto, se puede establecer una fórmula compuesta basada en la relación atómica de Cu y O como $\text{Cu}_{0,29}\text{O}$. De la misma manera, para R2 y R3 se obtienen las fórmulas $\text{Cu}_{0,63}\text{O}$ y $\text{Cu}_{0,46}\text{O}$ respectivamente. Composiciones elementales similares fueron

obtenidas en la síntesis de Nps de óxido de cobre partir del extracto de hoja de *Euphorbia chamaesyce* (Maham et al., 2017).

Tabla 7

Resultados EDS de la Composición Elemental de los Precipitados

Elemento	% Atómico		
	R1	R2	R3
Cu	14,8 ± 0,1	28,0 ± 2,2	19,9 ± 0,8
O	51,3 ± 0,1	44,1 ± 0,3	43,1 ± 0,7
C	22,5 ± 3,1	22,0 ± 2,9	28,6 ± 0,2
Na	10,1 ± 2,6	5,1 ± 0,5	7,2 ± 1,5
S	1,0 ± 0,7	0,6 ± 0,1	1,0 ± 0,4
Ca	0,4 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,3

Nota. Los resultados representan el promedio de las réplicas y su desviación estándar.

En el apéndice I se presentan los valores de la composición elemental de los sobrenadantes obtenidos mediante la técnica EDS. En general, los elementos identificados fueron el O, Na, C, S, K de compuestos oxidados provenientes del extracto de mora y de subproductos formados durante la síntesis como el Na₂SO₄. En comparación con los precipitados, solo se identificaron trazas del Cu atómico con un 0,5 y 0,03 % para las muestras de R1 y R2 respectivamente, las cuales pueden indicar la presencia de trazas de compuestos como el Cu(OH)₂ o el CuSO₄ que no se consumieron durante la síntesis. Estos resultados son congruentes con las imágenes obtenidas en el SEM, en las cuales no se observaron Nps presentes en el sobrenadante.

En general, los resultados muestran una distribución heterogénea de Cu, O, C, Na, S y Ca en la superficie de las muestras y permiten observar que las partículas sintetizadas están compuestas principalmente de cobre y oxígeno con recubrimientos de compuestos provenientes

del extracto de mora, afianzando así lo descrito en los resultados de las pruebas de caracterización Uv-Vis y FTIR.

5 Conclusiones

Los resultados obtenidos por el análisis de varianza confirmaron que todos los factores evaluados tienen una influencia significativa, siendo la interacción tiempo de maceración y % Sólido/Líquido la que presentó un mayor efecto sobre la capacidad reductora Cu^{2+} , obteniendo las mejores condiciones de extracción a pH 4, tiempo de maceración de 7 h y un % Sólido/Líquido de 0,76 como las que permiten obtener un máximo de capacidad de reducción de Cu^{2+} de 4,25 [mg Cu/ mg sólidos suspendidos] el cual se encuentra en el intervalo de confianza establecido $4,29 \pm 0,09$ [mg Cu/mg sólidos suspendidos].

Se sintetizaron partículas de óxido de cobre haciendo uso del extracto acuoso de residuos de mora de castilla como agente reductor y se confirmó su presencia mediante las imágenes del SEM, donde se observaron partículas de formas esféricas y amorfas, las cuales presentan un tamaño superior al de la nano escala y se encuentran en un rango de tamaño entre 240-1510 nm formando un agregado aleatorio.

El amplio rango de tamaño del nanomaterial obtenido se puede atribuir a la alta concentración inicial de los reactivos, particularmente la de la sal de sulfato de cobre utilizada (0,46 M), propiciando una mayor presencia de iones Cu^{2+} en la solución, lo cual promueve un incremento en la producción de nanopartículas más inestables que colisionan entre si favoreciendo la formación de micropartículas durante la etapa de crecimiento por aglomeración. La morfología resultante también se ve influenciada por la capacidad de los compuestos presentes en el extracto de recubrir las partículas. Esto fue validado mediante el análisis EDS y FTIR, donde se pudo

confirmar la presencia de partículas de Cu_2O cuya superficie exhibe una composición química similar a los compuestos encontrados en el extracto de mora.

6 Recomendaciones

Evaluar el efecto de otras variables de extracción como el tipo de solvente, presión, agitación y temperatura sobre la capacidad de reducción de Cu^{2+} , así como llevar a cabo diferentes técnicas de extracción como la extracción Soxhlet.

Evaluar el efecto de las condiciones de síntesis como la temperatura, relación sal precursora- agente reductor, concentración de los reactivos entre otros, sobre la morfología y composición de las partículas.

Mediante estudios de sensibilidad a agentes antimicrobianos, evaluar la actividad antimicrobiana de las partículas de CuO para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) ante diferentes tipos de microorganismos.

Cabe subrayar que el protocolo de síntesis y el material obtenido a partir de este, podría aportar en el desarrollo de soluciones para el tratamiento de aguas residuales. Por lo tanto, se recomienda evaluar la capacidad del extracto de mora y del nanomaterial en la recuperación de metales pesados presentes en lixiviados.

Referencias Bibliográficas

- A. De Caro, C., & Haller, C. (2017). UV / VIS Spectrophotometry. Fundamentals and Applications. En *Mettler-Toledo International* (Número September 2015, pp. 4–14). http://lcwu.edu.pk/ocd/cfiles/Chemistry/MSc/Chem-C-410/Fundamentals_UV_VIS.pdf
- Amaliyah, S., Pangesti, D. P., Masruri, M., Sabarudin, A., & Sumitro, S. B. (2020). Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Piper retrofractum* Vahl extract as bioreductor and capping agent. *Heliyon*, 6(8), e04636. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04636>
- Amer, M. W., & Awwad, A. M. (2021). *Green synthesis of copper nanoparticles by Citrus limon fruits extract , characterization and antibacterial activity*. 7(1), 1–8.
- Ávalo Cortez, O., & Martínez Aguilar, D. P. (2018). Estudio De La Actividad Antimicrobiana De La Cuprita Sintetizada Por Ruta Química. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(4), 436–450. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v84i4.64>
- Bayu, A., Nandiyanto, D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to Read and Interpret FTIR Spectroscope of Organic Material. *Indonesian Journal of Science & Technology H*, 1, 97–118.
- Beltrán Delgado, Y., Morris Quevedo, C. H., de la Cruz, E. R., Quevedo Morales, Y., & Bermúdez Savón, R. C. (2013). Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 32(2), 121–129.

- Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Bilić, M., & Velić, D. (2007). Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, *81*(1), 236–242. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.027>
- Cacace, J. E., & Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, *59*(4), 379–389. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00497-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1)
- Cacique, A. P., Barbosa, É. S., de Pinho, G. P., & Silvério, F. O. (2020). Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Ciencia e Agrotecnologia*, *44*, 1–12. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044017420>
- Caroling, G., Priyadarshini, M. N., Vinodhini, E., Ranjitham, A. M., & Shanthi, P. (2015). BIOSYNTHESIS OF COPPER NANOPARTICLES USING AQUEOUS GUAVA EXTRACT– CHARACTERISATION AND STUDY OF ANTIBACTERIAL EFFECTS. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, *5*(2).
- Castro López, C., Ventura Sobrevilla, J. M., González Hernández, M. D., Rojas, R., Ascacio Valdés, J. A., Aguilar, C. N., & Martínez Ávila, G. C. G. (2017). Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. *Food Chemistry*, *237*, 1139–1148. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.032>
- Chakraborty, N., Banerjee, J., Chakraborty, P., Banerjee, A., Chanda, S., Ray, K., Acharya, K., & Sarkar, J. (2022). Green synthesis of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review. *Green Chemistry Letters and Reviews*, *15*(1), 185–213. <https://doi.org/10.1080/17518253.2022.2025916>

- Chamé, K. F. (2013). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas. *Tesis de maestría*, 87.
- Deyá, C., & Bellotti, N. (2015). *Extractos vegetales para la síntesis de nanopartículas metálicas y su aplicación en pinturas como aditivos antifúngicos*. 368–375.
- Din, M. I., Arshad, F., Hussain, Z., & Mukhtar, M. (2017). Green Adeptness in the Synthesis and Stabilization of Copper Nanoparticles: Catalytic, Antibacterial, Cytotoxicity, and Antioxidant Activities. *Nanoscale Research Letters*, 12. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-2399-8>
- Duarte-Trujillo, A. S., Jiménez-Forero, J. A., Pineda-Insuasti, J., González-Trujillo, C. A., & García-Juárez, M. (2020). Extraction of bioactive substances from pleurotus ostreatus (Pleurotaceae) by dynamic maceration. *Acta Biologica Colombiana*, 25(1), 61–74. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>
- ELhabal, S. F., Elwy, H. M., Hassanin, S., El-Rashedy, A. A., Hamza, A. A., & Khasawneh, M. A. (2022). Biosynthesis and Characterization of Gold and Copper Nanoparticles from *Salvadora persica* Fruit Extracts and Their Biological Properties. *International journal of nanomedicine*, 17(November), 6095–6112. <https://doi.org/10.2147/IJN.S385543>
- Ertz, C. H. M., Heynier, V. E. C., Ünata, Z. I. Y. A. G., Rat, P. I. B., Université, U., Ii, M., & Bataillon, P. E. (2007). Analysis of Phenolic Compounds in Two Blackberry Species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *Agricultural and Food Chemistry*, 8616–8624.
- Fardood, T. S., & Ramazani, A. (2016). Green Synthesis and Characterization of Copper Oxide Nanoparticles Using Coffee Powder Extract. *Journal of Nanostructures*, 6(2), 167–171.

<https://doi.org/10.7508/jns.2016.02.009>

Gaffney, J. S., Marley, N. A., & Jones, D. E. (2012). *FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY*.

Garzón, G.A, Riedl, K. ., & Schwartz, S. . (2015). Determination of Anthocyanins , Total Phenolic Content , and Antioxidant Activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth). *Food Science*, 74(3). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01092.x>

Garzón, Gloria Astrid. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biol. Colomb.*, 13(3), 27–36.

Gómez garzón, M. (2018). *Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde*. 27(2), 75–80.

González, J. C. (2011). *IDENTIFICACIÓN DE LOS POLIFENOLES EN ZUMOS DE FRUTAS ROJAS*.

González Mancera, G., & Noguez Amaya, E. (2006). *Principios de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis por Rayos X Característicos*.

Handa Swami, S., Singh Khanuja, S. P., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants* (Vol. 148, pp. 148–162).

Hidalgo, G.-I., & Almajano, M. P. (2017). Red Fruits : Extraction of Antioxidants , Phenolic Content , and Radical Scavenging Determination : *Antioxidants*, 6(7). <https://doi.org/10.3390/antiox6010007>

Iranawati, F., Narulitai, R., Dewi, C. S. U., & Arifin, S. (2020). Web evaluation of maceration length period on antioxidant potency of *Sonneratia caseolaris* leaf. *E3S Web of Conferences*, 153, 0–4. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015301010>

- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638–2650. <https://doi.org/10.1039/c1gc15386b>
- Jeevanandam, J., Chan, Y. S., & Danquah, M. K. (2017). Biosynthesis and characterization of MgO nanoparticles from plant extracts via induced molecular nucleation. *New Journal of Chemistry*, 41(7), 2800–2814. <https://doi.org/10.1039/c6nj03176e>
- Jia, W., Reitz, E., Shimpi, P., Rodriguez, E. G., Gao, P. X., & Lei, Y. (2009). Spherical CuO synthesized by a simple hydrothermal reaction: Concentration-dependent size and its electrocatalytic application. *Materials Research Bulletin*, 44(8), 1681–1686. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2009.04.003>
- Jose, J., & Cerillo, G. (2009). *Síntesis y caracterización de carboxilatos metálicos*.
- Kara, Ş., & Ercçelebi, E. A. (2013). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Food Engineering*, 116(2), 541–547. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.030>
- Karatutlu, A., Barhoum, A., & Sapelkin, A. (2018). Liquid-phase synthesis of nanoparticles and nanostructured materials. En *Emerging Applications of Nanoparticles and Architectural Nanostructures: Current Prospects and Future Trends* (Número 5). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51254-1.00001-4>
- Keabadile, O. P., Aremu, A. O., Elugoke, S. E., & Fayemi, O. E. (2020). Green and traditional synthesis of copper oxide nanoparticles—comparative study. *Nanomaterials*, 10(12), 1–19. <https://doi.org/10.3390/nano10122502>
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Debut, A., & Angulo, Y. (2017). Biofabrication of copper oxide

- nanoparticles using Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth .) fruit and leaf. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21, S475–S480. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2015.01.009>
- Kumar, H., Bhardwaj, K., Dhanjal, D. S., Nepovimova, E., Şen, F., Regassa, H., Singh, R., Verma, R., Kumar, V., Kumar, D., Bhatia, S. K., & Kuča, K. (2020). Fruit extract mediated green synthesis of metallic nanoparticles: A new avenue in pomology applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms21228458>
- Kuo, C. H., Chen, C. H., & Huang, M. H. (2007). Seed-mediated synthesis of monodispersed Cu₂O nanocubes with five different size ranges from 40 to 420 nm. *Advanced Functional Materials*, 17(18), 3773–3780. <https://doi.org/10.1002/adfm.200700356>
- Kushwaha, S., & Prakash, P. (2021). *Green Synthesis , Characterization and Antibacterial Activity of Copper Oxide Nanoparticles Using Annona muricata Stem Extract December 2021. December*. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2021.39498>
- Lazarova, M. P., Dimitrov, K. I., Nikov, I. S., & Dzhonova, D. B. (2016). Polyphenols extraction from black chokeberry wastes. *Bulgarian Chemical Communications*, 48(E2), 442–445.
- Letchumanan, D., Sok, S. P. M., Ibrahim, S., Nagoor, N. H., & Arshad, N. M. (2021). Plant-based biosynthesis of copper/copper oxide nanoparticles: An update on their applications in biomedicine, mechanisms, and toxicity. *Biomolecules*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/biom11040564>
- Maham, M., Sajadi, S. M., Kharimkhani, M. M., & Nasrollahzadeh, M. (2017). *Biosynthesis of the CuO nanoparticles using Euphorbia Chamaesyce leaf extract and investigation of their catalytic activity for the reduction of 4-nitrophenol*. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2016.0254>

- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion Hospitalaria*, 17(6), 271–278.
- Meléndez Balbuena, L., Cabrera Vivas, B. M., Soto López, I., Castro Lino, A., & Ramírez García, J. C. (2020). Antioxidantes naturales y su poder reductor frente a iones plata : alternativa en la recuperación de metales. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 10.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021). *Cadena Productiva de la Mora*.
- Morales-Díaz, A. B., Juárez-Maldonado, A., Morelos-Moreno, Á., González-Morales, S., & Benavides-Mendoza, A. (2017). Biofabricación de nanopartículas de metales usando células vegetales o extractos de plantas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1211–1224. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i5.247>
- Mosquera, E., Rosas, N., Debut, A., & Guerrero, H. (2015). Síntesis y caracterización de nanopartículas de Dioxido de Titanio obtenidas por el método sol-gel. *Revista Politécnica*, 36(3), 7. https://www.revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/525/pdf
- Naranjo, J. (2016). Evaluación de dos métodos para la obtención de extractos con actividad antioxidante a partir de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) con aplicación en productos mínimamente procesados. En *Universidad de la Salle*.
- Nollet, L. M. L. (2016). Handbook of food analysis. En *Choice Reviews Online* (Vol. 53, Número 07). <https://doi.org/10.5860/choice.194412>

- Ordóñez-Santos, L. E., Esparza-Estrada, J., & Mora, O. O. (2019). Valorization of mulberry (*Rubus glaucus*) by-products: Ultrasound-assisted extraction of total anthocyanins. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 51(2), 367–380.
- Owen, T. (2000). *Fundamentos de la espectrofotometría UV-visible moderna* (Vol. 6, Número 11).
https://blog.utp.edu.co/docenciaedwin/files/2014/03/FUNDAMENTOS_UV_VIS_ESPAÑOL.pdf
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
<https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Pastrana Alta, E. C. (2017). *Síntesis Y Caracterización De Nanopartículas De Óxido De Cobre Por Hidrólisis Forzada Con Actividad Fungicida*.
https://web.archive.org/web/20180508070136id_/http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/5646/1/pastrana_ae.pdf
- Piña P, G., Guzmán A, N. A., Abúndez P, A., M. Rodríguez, J. M., & Arellano C, J. A. (2012). Crecimiento y orientación controlada de núcleos en polímeros para implantes biomecánicos. *CIENCIA ergo sum*, 19(2).
- Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., & Núñez, M. J. (2005). Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2111–2117. <https://doi.org/10.1021/jf0488110>
- Piqué, T. M., & Vázquez, A. (2012). Uso de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

(FTIR) en el estudio de la hidratación del cemento. *Concreto y cemento. Investigación y desarrollo*, 3(2), 62–71.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-30112012000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Polte, J. (2015). Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. *The Royal Society of Chemistry, July*. <https://doi.org/10.1039/C5CE01014D>

Reyes Rodriguez, P. Y. (2012). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de cobre y óxido de cobre y su incorporación en una matriz polimérica y el estudio de sus propiedades antibacterianas*.

Ruenroengklin, N., Zhong, J., Duan, X., Yang, B., & Li, J. (2008). *Effects of Various Temperatures and pH Values on the Extraction Yield of Phenolics from Litchi Fruit Pericarp Tissue and the Antioxidant Activity of the Extracted Anthocyanins*. 1333–1341. <https://doi.org/10.3390/ijms9071333>

Sahoo, P. K., Kalyan Kamal, S. S., Jagadeesh Kumar, T., Sreedhar, B., Singh, A. K., & Srivastava, S. K. (2009). Synthesis of silver nanoparticles using facile wet chemical route. *Defence Science Journal*, 59(4), 447–455. <https://doi.org/10.14429/dsj.59.1545>

Salgado, P., Mártire, D. O., & Vidal, G. (2019). Eucalyptus extracts-mediated synthesis of metallic and metal oxide nanoparticles: Current status and perspectives. *Materials Research Express*, 6(8). <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab254c>

Sampayo Velásquez, G., Gómez Gómez, E., Rodríguez, Guerrero, J., Nabarlatz, D. A., & López Ortíz, J. G. (2020). *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS VEGETALES PRODUCIDOS A PARTIR DE DESECHOS*

AGROINDUSTRIALES GENERADOS EN EL DEPARTAMENTO DE SANTANDER.

- Sankar, R., Manikandan, P., Malarvizhi, V., & Fathima, T. (2014). Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *121*(75), 746–750. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.12.020>
- Scimeca, M., Bischetti, S., Lamsira, H. K., Bonfiglio, R., & Bonanno, E. (2018). Energy Dispersive X-ray (EDX) microanalysis : A powerful tool in biomedical research and diagnosis. *European Journal of Histochemistry*, *62*. <https://doi.org/10.4081/ejh.2018.2841>
- Sebastián, V. (2018). Nanocristales , nuevos materiales con propiedades y applications. *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, 306–314.
- 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*, 1–24. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>
- Soler, A., Tesis, C., & Noviembre, D. (2009). Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. *Universidad de Lleida*.
- Soto García, M., & Rosales Castro, M. (2016). Effect of solvent and solvent-to-solid ratio on the phenolic extraction and the antioxidant capacity of extracts from *pinus durangensis* and *Quercus sideroxylla* bark. *Maderas: Ciencia y Tecnologia*, *18*(4), 701–714. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>
- Takeuchi, T. M., & Pereira, C. G. (2009). Low-Pressure Extraction (Solid – Liquid Extraction , Microwave Assisted , and Ultrasound Assisted) from Condimentary Plants. *Extracting*

Bioactive Compounds for Food Products, 137–218.

Téllez Mesa, C. (2019). Aplicaciones De La Espectroscopía Infrarroja En El Análisis De Alimentos. *Trabajo Fin De Grado*, 1(0), 46.

https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5f89fd7801268.pdf

Thanh, N. T. K., Maclean, N., & Mahiddine, S. (2014). Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution. *American Chemical Society*, 3(1).

Torres-gómez, N., Ávila-avilés, R. D., & Vilchis-nesor, A. R. (2020). Biosíntesis y caracterización de nanoestructuras por microscopía electrónica. *Mundo Nano*, 13(25), 29–43.

Vargas Corredor, Y. A., & Pérez Pérez, L. I. (2018). APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AMBIENTE. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14(1), 59–72.

Victoria, L., Gonzalez, P., Patricia, S., Gómez, M., Andrea, P., & Abad, G. (2017). A provechamiento de residuos agroindustriales en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8 N° 2(ISSN-e 2145–6453), 141–150.

Villamil Galindo, J. E. (2021). *Extracción de compuestos fenólicos a partir del residuo agroindustrial de frutilla (Fragaria x Ananassa)*.

Wen, J. (2021). *Estudio Termodinámico del Sistema Cu-Zn-Tiourea en Solución Acuosa para la Electrodeposición de Fotocátodos basados en Sulfuros de Cobre-Zinc*.

Yang, L., Cao, Y. L., Jiang, J. G., Lin, Q. S., Chen, J., & Zhu, L. (2010). Response surface optimization of ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of *Citrus aurantium* L. var. amara Engl. *Journal of Separation Science*, 33(9), 1349–1355.

<https://doi.org/10.1002/jssc.200900776>

Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas : controlando forma y tamaño.

Mundo Nano, 5(1), 69–81.

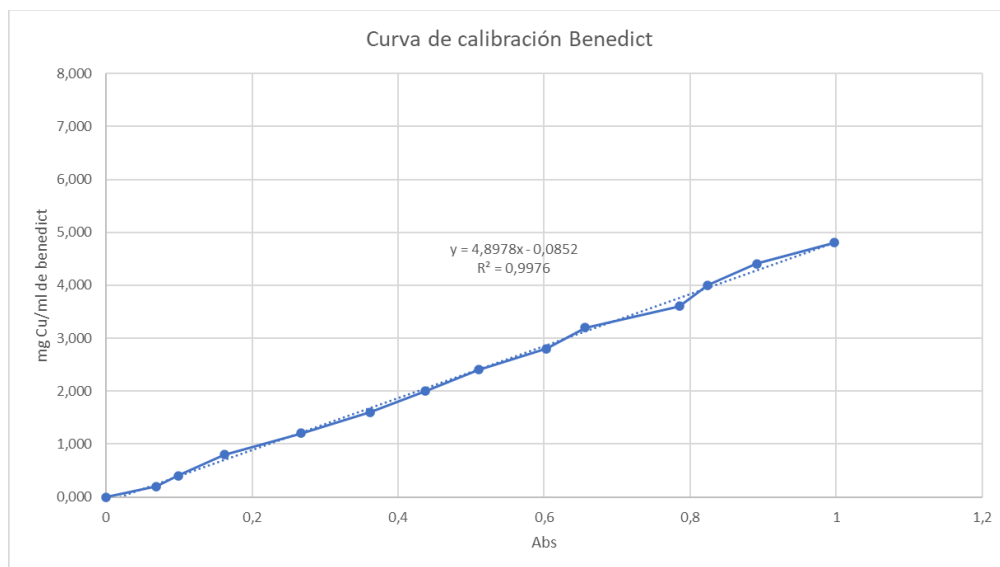
Zheng, L., & Liu, X. (2007). Solution-phase synthesis of CuO hierarchical nanosheets at near-neutral pH and near-room temperature. *Materials Letters*, 61(11–12), 2222–2226.

<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.08.063>

Apéndices

Apéndice A. Resultados de la Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu²⁺

Curva de Calibración del reactivo Benedict



Ecuación de regresión

$$y = 4,8978 * X - 0,0852 \quad R^2 = 0,997$$

Relación Secado/ °Brix

Volumen de Extracto por secar [ml]	5
°Brix [g/ ml sln]	0,01
mg extraídos según °Brix	5
mg extraídos según secado	4,85
Relación Secado/° Brix [mg extraídos según secado del extracto /mg extraídos según °Brix]	0,97

Apéndice A. Resultados de la Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu²⁺*Resultados de la Prueba de Benedict del Diseño 2³*

N°	Tiempo [h]	pH	%S/L [%p/p]	Abs	mg CuSO _{4f}	mg extraídos	Cap de Reducción Cu ²⁺	Rendimiento de Extracción *
1	24	4	5	0,293	2,700	1,4	4,94	1,9%
2	48	4	5	0,599	5,697	2,8	1,40	3,8%
3	24	10	5	0,302	2,788	2,8	2,44	3,8%
4	48	10	5	0,711	6,796	2,8	1,01	3,8%
5	24	4	30	0,416	3,905	4,2	1,36	1,0%
6	48	4	30	0,054	0,359	11,2	0,83	2,5%
7	24	10	30	0,059	0,408	9,8	0,94	2,2%
8	48	10	30	0,079	0,603	8,4	1,07	1,9%
9	24	4	5	0,283	2,602	1,4	5,01	1,9%
10	48	4	5	0,634	6,040	2,8	1,28	3,8%
11	24	10	5	0,271	2,484	2,8	2,55	3,8%
12	48	10	5	0,62	5,903	2,8	1,32	3,8%
13	24	4	30	0,24	2,181	5,6	1,33	1,3%
14	48	4	30	0,095	0,760	8,4	1,05	1,9%
15	24	10	30	0,067	0,486	9,8	0,93	2,2%
16	48	10	30	0,173	1,524	7	1,16	1,6%
17	24	4	5	0,296	2,729	1,4	4,92	1,9%
18	48	4	5	0,423	3,973	2,8	2,01	3,8%
19	24	10	5	0,254	2,318	4,2	1,74	5,7%
20	48	10	5	0,661	6,304	2,8	1,18	3,8%
21	24	4	30	0,231	2,092	5,6	1,34	1,3%
22	48	4	30	0,074	0,554	11,2	0,81	2,5%
23	24	10	30	0,057	0,388	9,8	0,94	2,2%
24	48	10	30	0,08	0,613	8,4	1,07	1,9%

Nota. * las unidades de capacidad de reducción están dadas en [mg Cu/mg solidos suspendidos].

* las unidades del rendimiento de extracción están dadas en [g material vegetal extraído/g material vegetal seco].

Apéndice A. Resultados de la Cuantificación de la Capacidad Reductora de Cu²⁺*Resultados de la Prueba de Benedict del Diseño Central Compuesto*

N°	Tiempo [h]	%S/L [%p/p]	Abs	mg CuSO _{4f}	mg extraídos	Cap de Reducción Cu ²⁺	Rendimiento de Extracción *
1	24	5	0,14	1,201	5,6	1,50	7,6%
2	24	5	0,098	0,790	5,6	1,58	7,6%
3	24	5	0,092	0,731	5,6	1,59	7,6%
4	36	2	0,531	5,031	2,8	1,64	9,5%
5	36	2	0,495	4,678	2,8	1,76	9,5%
6	12	2	0,561	5,325	1,4	3,06	4,8%
7	24	5	0,104	0,848	5,6	1,56	7,6%
8	24	5	0,112	0,927	5,6	1,55	7,6%
9	24	5	0,1	0,809	5,6	1,57	7,6%
10	36	2	0,563	5,345	2,8	1,52	9,5%
11	12	2	0,569	5,403	1,4	3,01	4,8%
12	36	8	0,052	0,339	5,6	1,66	4,8%
13	12	8	0,066	0,476	5,6	1,63	4,8%
14	24	5	0,114	0,946	5,6	1,55	7,6%
15	24	5	0,115	0,956	5,6	1,55	7,6%
16	12	8	0,024	0,065	5,6	1,70	4,8%
17	24	5	0,113	0,937	5,6	1,55	7,6%
18	12	8	0,018	0,006	5,6	1,72	4,8%
19	36	8	0,089	0,701	5,6	1,59	4,8%
20	12	2	0,553	5,247	1,4	3,12	4,8%
21	36	8	0,048	0,300	5,6	1,66	4,8%
22	24	5	0,098	0,790	5,6	1,58	7,6%
23	7,03	5	0,14	1,201	2,8	3,00	3,8%
24	7,03	5	0,158	1,377	2,8	2,94	3,8%
25	24	5	0,099	0,799	5,6	1,57	7,6%
26	24	5	0,106	0,868	5,6	1,56	7,6%

27	24	5	0,096	0,770	5,6	1,58	7,6%
28	40,97	5	0,19	1,691	4,2	1,89	5,7%
29	7,03	5	0,151	1,309	2,8	2,97	3,8%
30	24	0,76	0,656	6,256	1,4	2,40	12,6%
31	40,97	5	0,195	1,740	4,2	1,87	5,7%
32	24	9,24	0,037	0,192	7	1,35	5,2%
33	24	9,24	0,064	0,457	7	1,31	5,2%
34	24	5	0,108	0,888	5,6	1,56	7,6%
35	24	5	0,125	1,054	5,6	1,53	7,6%
36	24	0,76	0,66	6,295	1,4	2,37	12,6%
37	24	5	0,11	0,907	5,6	1,55	7,6%
38	24	5	0,106	0,868	5,6	1,56	7,6%
39	24	5	0,0953	0,763	5,6	1,58	7,6%
40	40,97	5	0,186	1,652	4,2	1,90	5,7%
41	24	0,76	0,671	6,402	1,4	2,29	12,6%
42	24	9,24	0,064	0,457	7	1,31	5,2%

Nota. * las unidades de capacidad de reducción están dadas en [mg Cu/mg solidos suspendidos].
 * las unidades del rendimiento de extracción están dadas en [g material vegetal extraído/g material vegetal seco].

Apéndice B. Resultados Análisis Estadístico Diseño Factorial 2³

Análisis de Varianza Diseño Factorial 2³

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	38,5530	5,5076	110,73	0,000
Lineal	3	24,5198	8,1733	164,32	0,000
Tiempo	1	8,4411	8,4411	169,71	0,000
pH	1	4,1095	4,1095	82,62	0,000
%Sólido/Líquido	1	11,9692	11,9692	240,64	0,000
Interacciones de 2 términos	3	12,9302	4,3101	86,65	0,000
Tiempo*pH	1	3,2206	3,2206	64,75	0,000
Tiempo*%Sólido/Líquido	1	6,5481	6,5481	131,65	0,000
pH*%Sólido/Líquido	1	3,1614	3,1614	63,56	0,000
Interacciones de 3 términos	1	1,1031	1,1031	22,18	0,000
Tiempo*pH*%Sólido/Líquido	1	1,1031	1,1031	22,18	0,000
Error	16	0,7958	0,0497		
Total	23	39,3489			

Nota. GL: grados de libertad; *SC: suma de cuadrados; *MC: media cuadrática

Ecuación de regresión en unidades no codificadas

$$\text{Cap Red Cu}^{2+} = 13,553 - 0,24*A - 0,9738 *B - 0,3697*C + 0,01851*A*B + 0,006817*A*C + 0,02683*B*C - 0,000476*A*B*C$$

Nota: Donde A es el Tiempo [h], B es el pH y C es el %Sólido/Líquido [5p/p]

Resumen del Modelo

S	R- Cuadrado	R- Cuadrado (ajustado)
0,223022	97,98%	97,09%

Apéndice C. Resultados Análisis Estadístico Diseño Central Compuesto y Maximización

Análisis de Varianza Diseño Central Compuesto

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	6	11,6010	1,93351	694,15	0,000
Bloques	1	0,0610	0,06104	21,91	0,000
Lineal	2	6,4038	3,20190	1149,51	0,000
Tiempo	1	3,3806	3,38063	1213,67	0,000
%Sólido/Líquido	1	3,0232	3,02318	1085,35	0,000
Cuadrado	2	3,7204	1,86022	667,83	0,000
Tiempo*Tiempo	1	3,5901	3,59006	1288,86	0,000
%Sólido/Líquido*%Sólido/Líquido	1	0,2558	0,25579	91,83	0,000
Interacción de 2 factores	1	1,4158	1,41577	508,27	0,000
Tiempo*%Sólido/Líquido	1	1,4158	1,41577	508,27	0,000
Error	35	0,0975	0,00279		
Falta de ajuste	3	0,0395	0,01317	7,27	0,001
Error puro	32	0,0580	0,00181		
Total	41	11,6985			

Nota. GL: grados de libertad; *SC: suma de cuadrados; *MC: media cuadrática

Resultados Maximización de la Respuesta: Capacidad de Reducción Cu²⁺

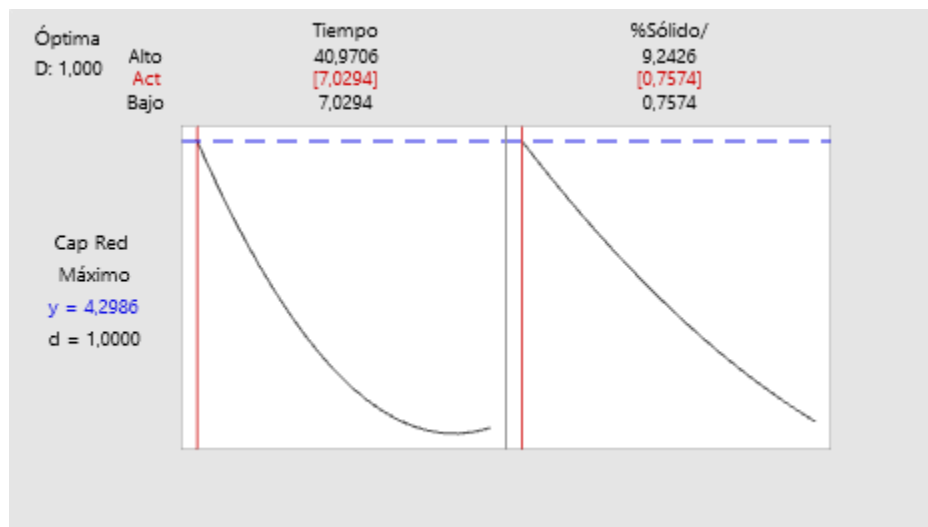
Variable	Valor de configuración	Respuesta	Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
Tiempo [h]	7,02944					
%Sólido/Líquido [%p/p]	0,757359	Cap Red	4,2986	0,0449	(4,2075; 4,3897)	(4,1580; 4,4392)

Resumen del Modelo

S	R- Cuadrado	R- Cuadrado (ajustado)
0,0527773	99,17%	99,02%

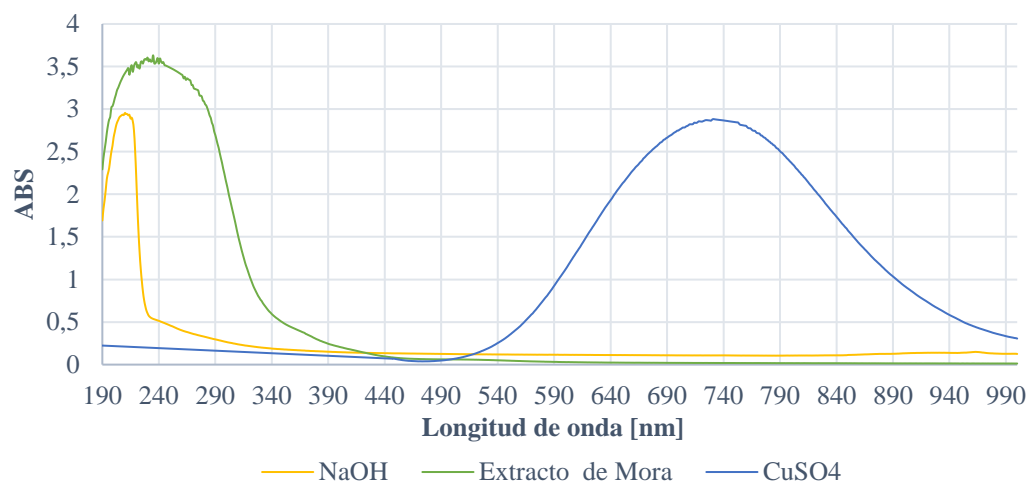
Apéndice C. Resultados Análisis Estadístico Diseño Central Compuesto y Maximización

Gráfica de Maximización de Respuesta Cap Red Cu²⁺

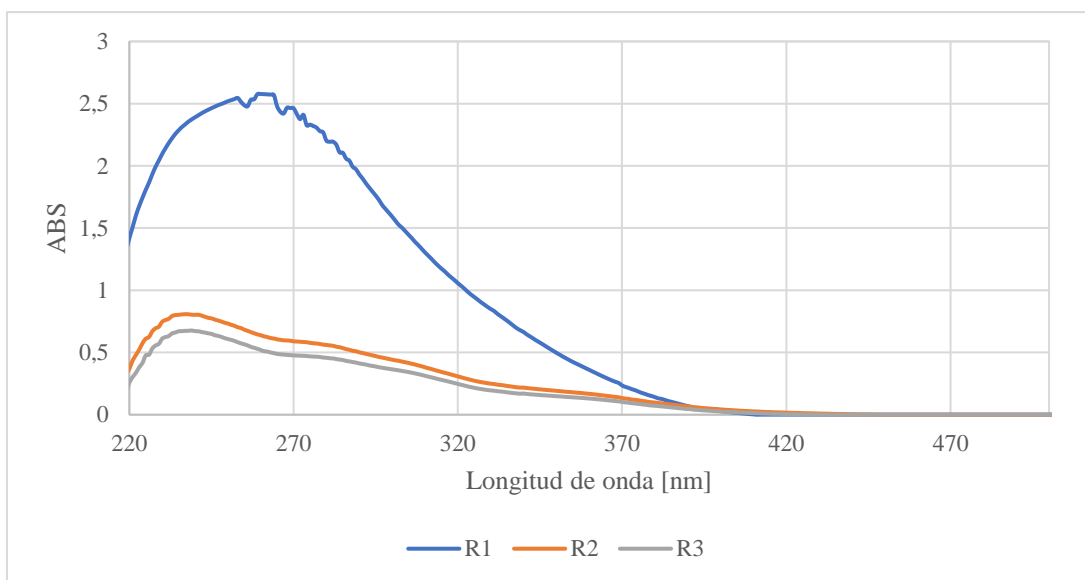


Apéndice D. Espectro UV-Vis de los Reactivos y Sobrenadantes

Espectro UV-Vis de los Reactivos

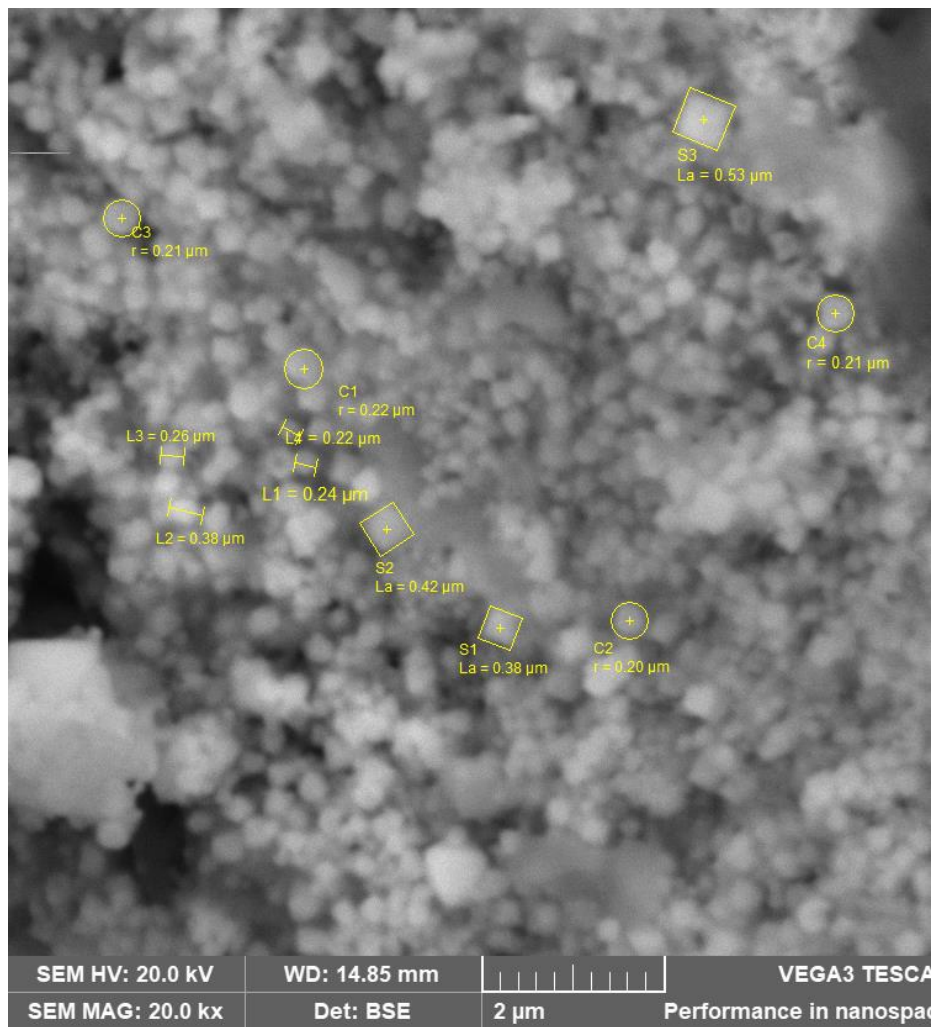


Espectro UV-Vis de los Sobrenadantes



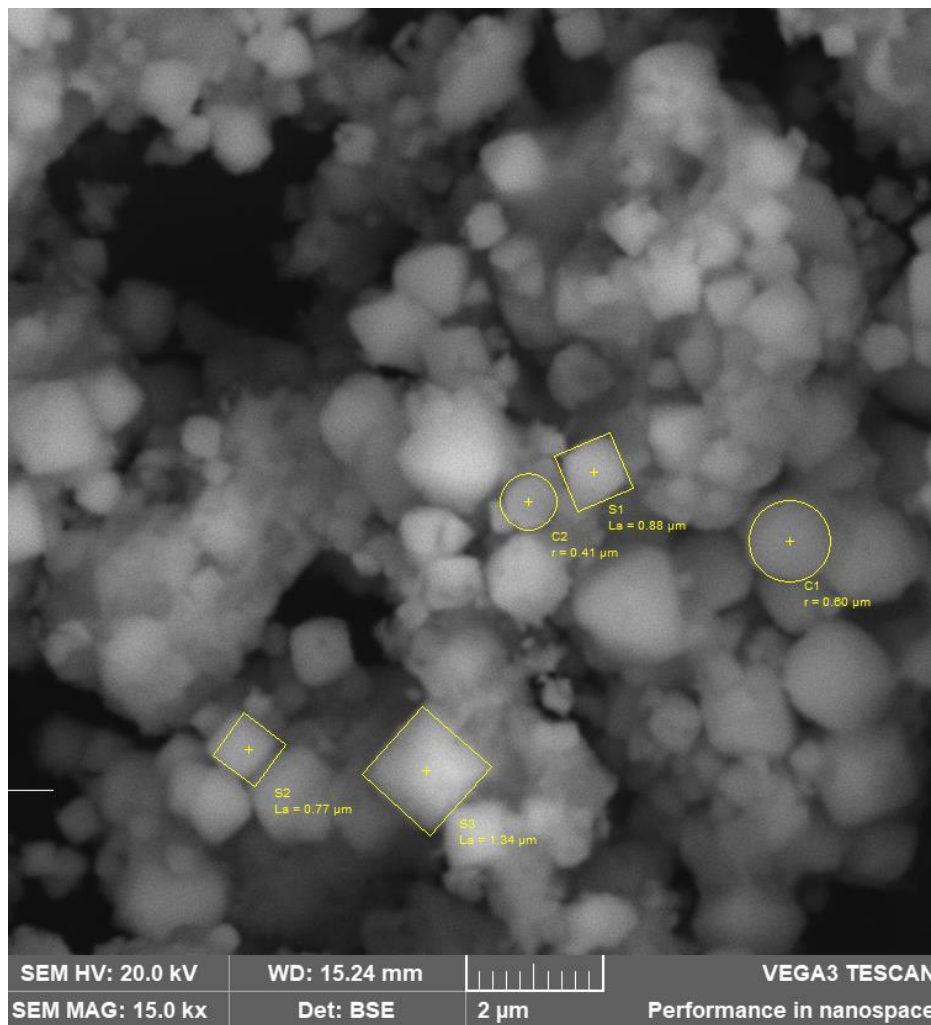
Apéndice E. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido de los Precipitados

Imagen Microscopía Electrónica de Barrido de las partículas de Óxido Cobre Obtenidas en el Precipitado por la Síntesis R1



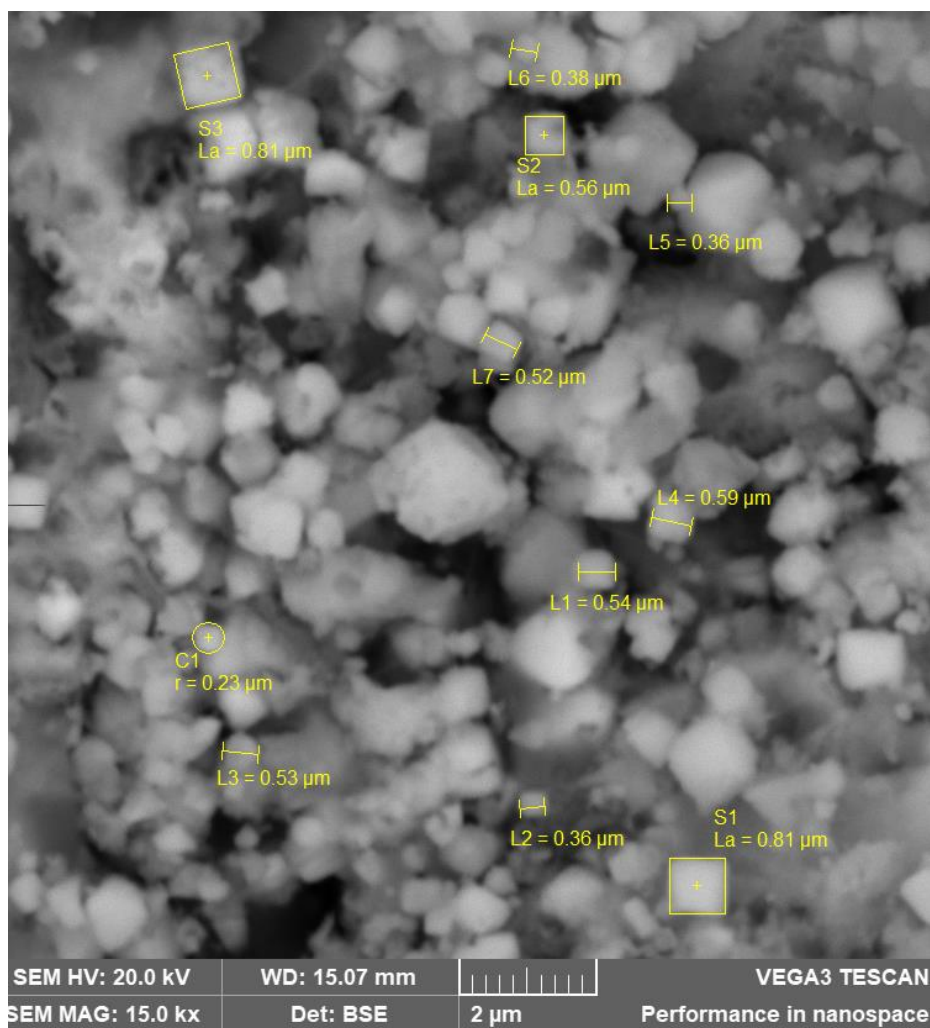
Apéndice E. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido de los Precipitados

Imagen Microscopía Electrónica de Barrido de las Partículas de óxido Cobre obtenidas en el Precipitado por la Síntesis R2

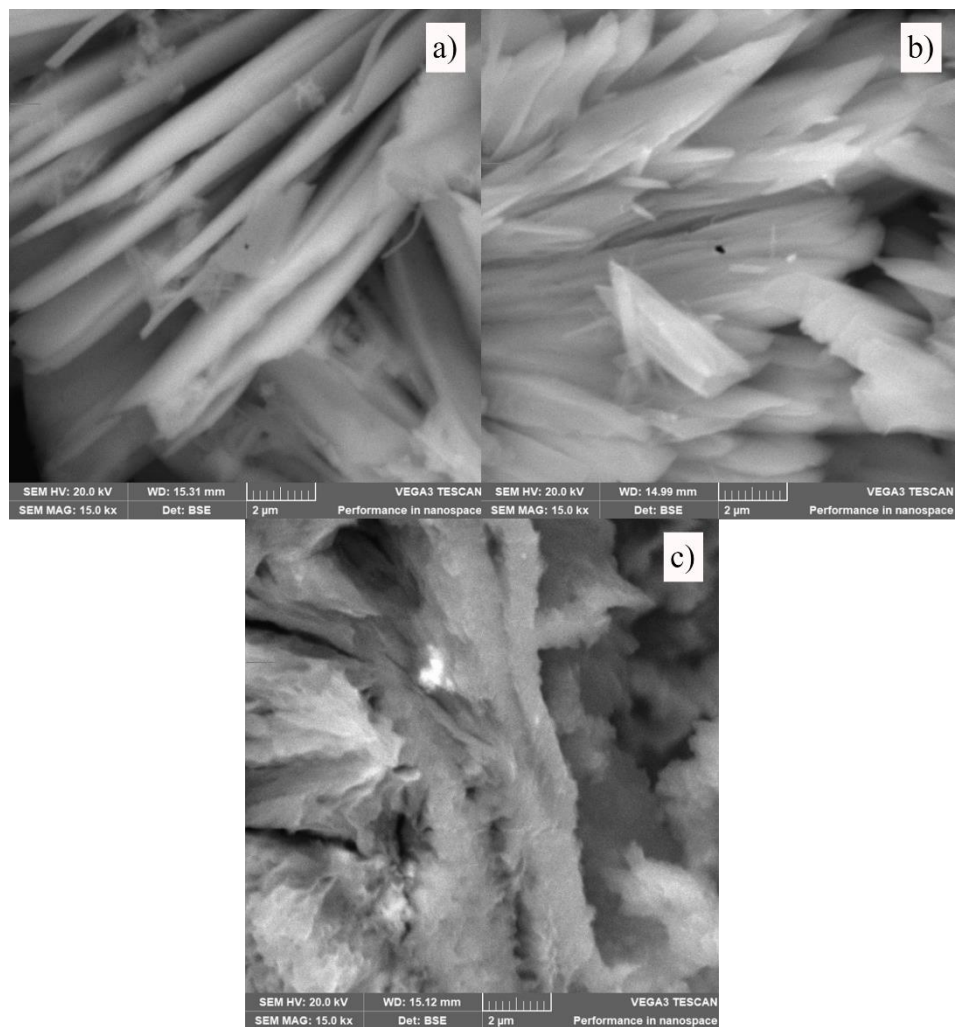


Apéndice E. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido de los Precipitados

Imagen Microscopía Electrónica de Barrido de las Partículas de óxido Cobre obtenidas en el precipitado por la síntesis R3



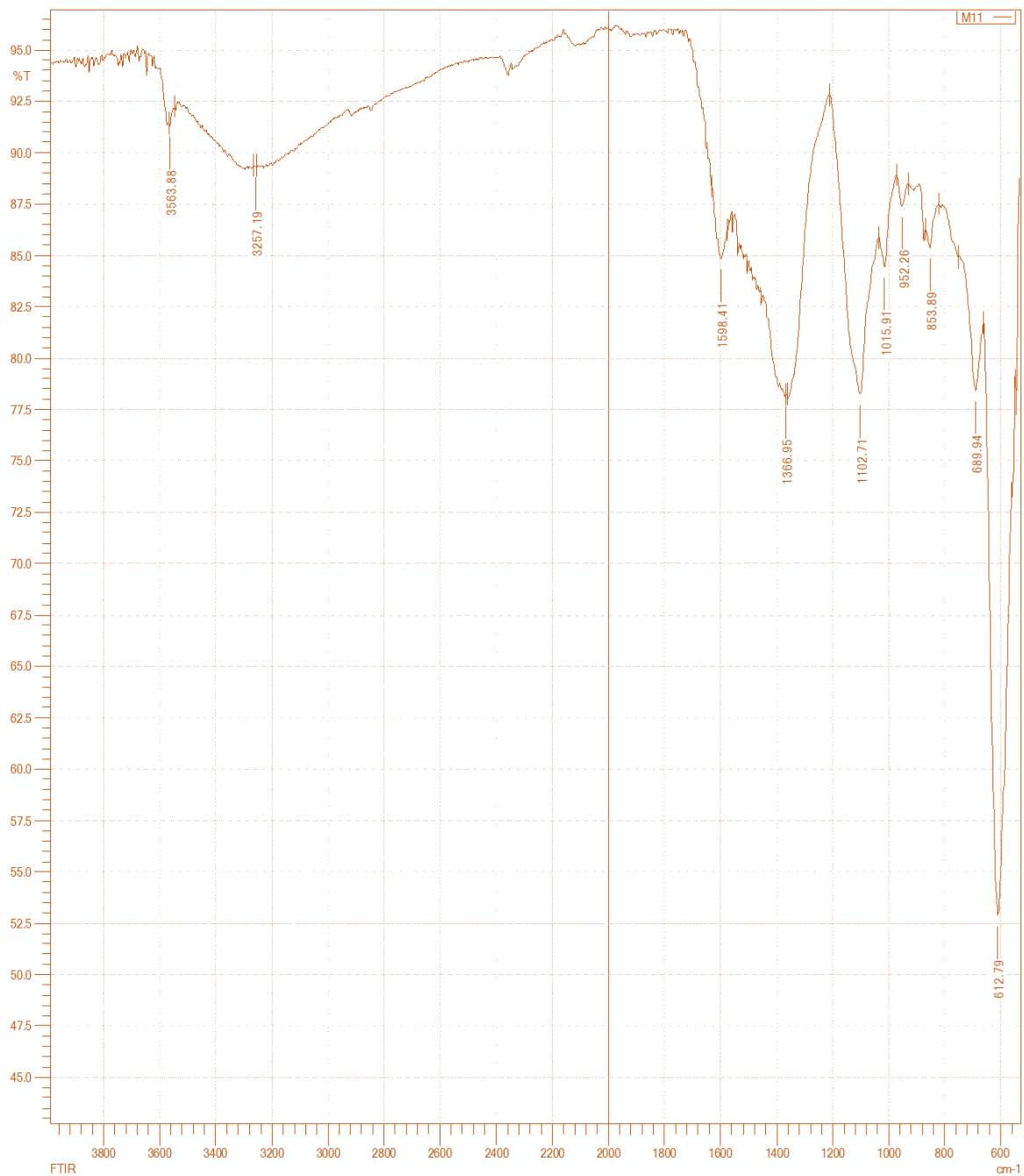
Apéndice F. Imágenes Microscopía Electrónica de Barrido de los Sobrenadantes



Nota. Imágenes de los sobrenadantes de las síntesis R1 (a), R2 (b) y R3(c).

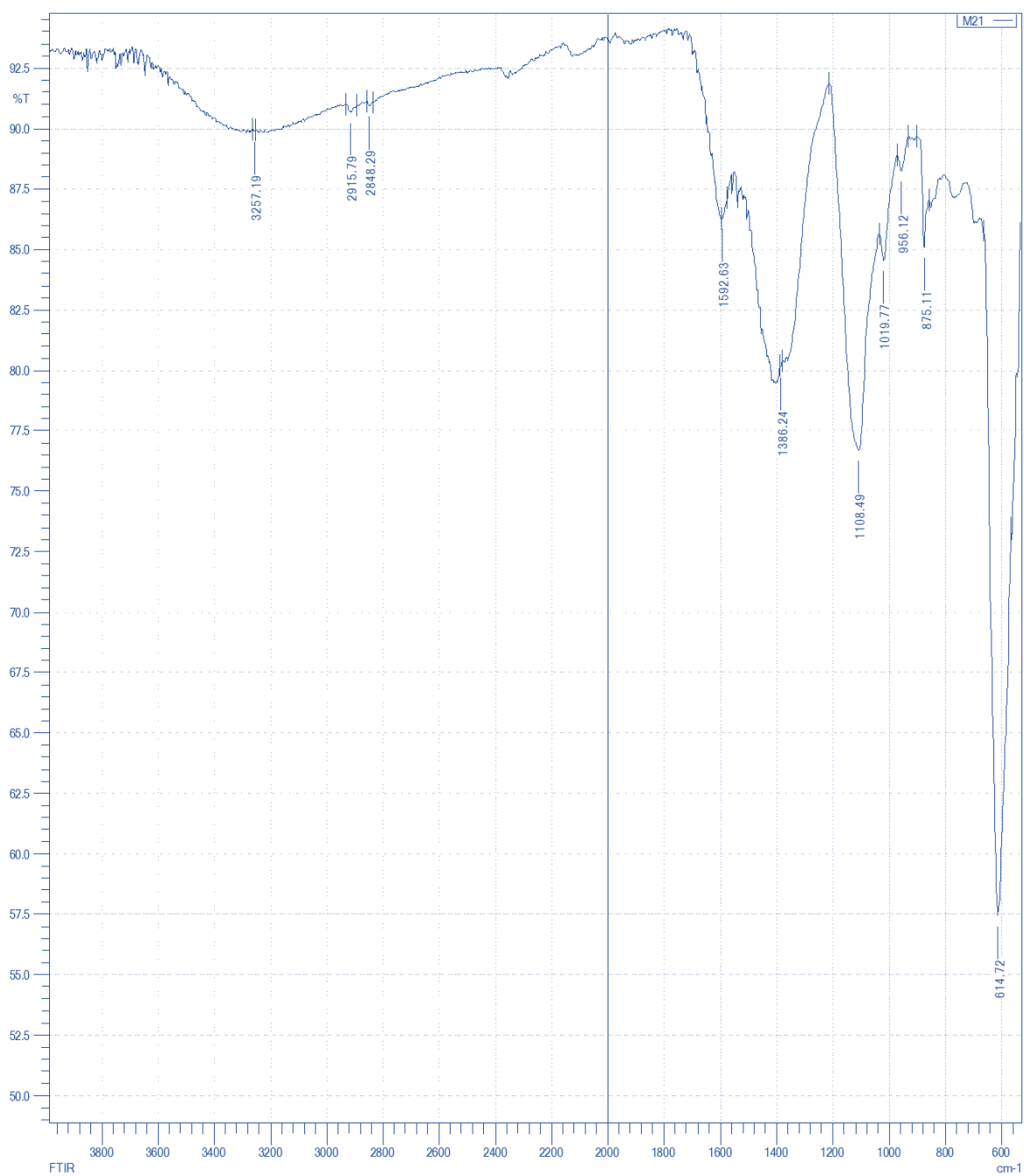
Apéndice G. Espectros FTIR de los Precipitados

Espectro FTIR de las partículas de Óxido Cobre Obtenidas en el Precipitado por la Síntesis RI



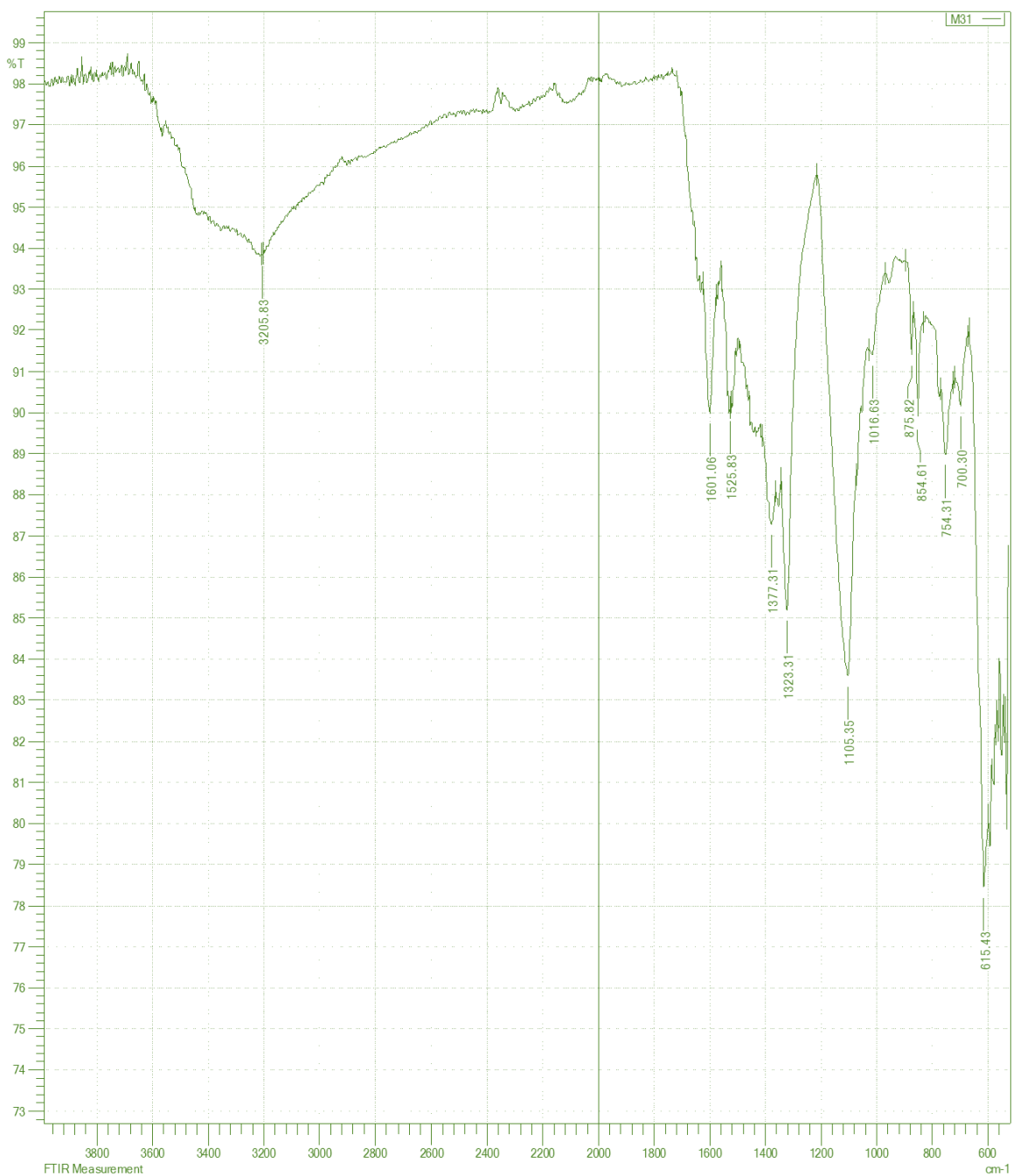
Apéndice G. Espectros FTIR de los Precipitados

Espectro FTIR de las partículas de Óxido Cobre Obtenidas en el Precipitado por la Síntesis R2



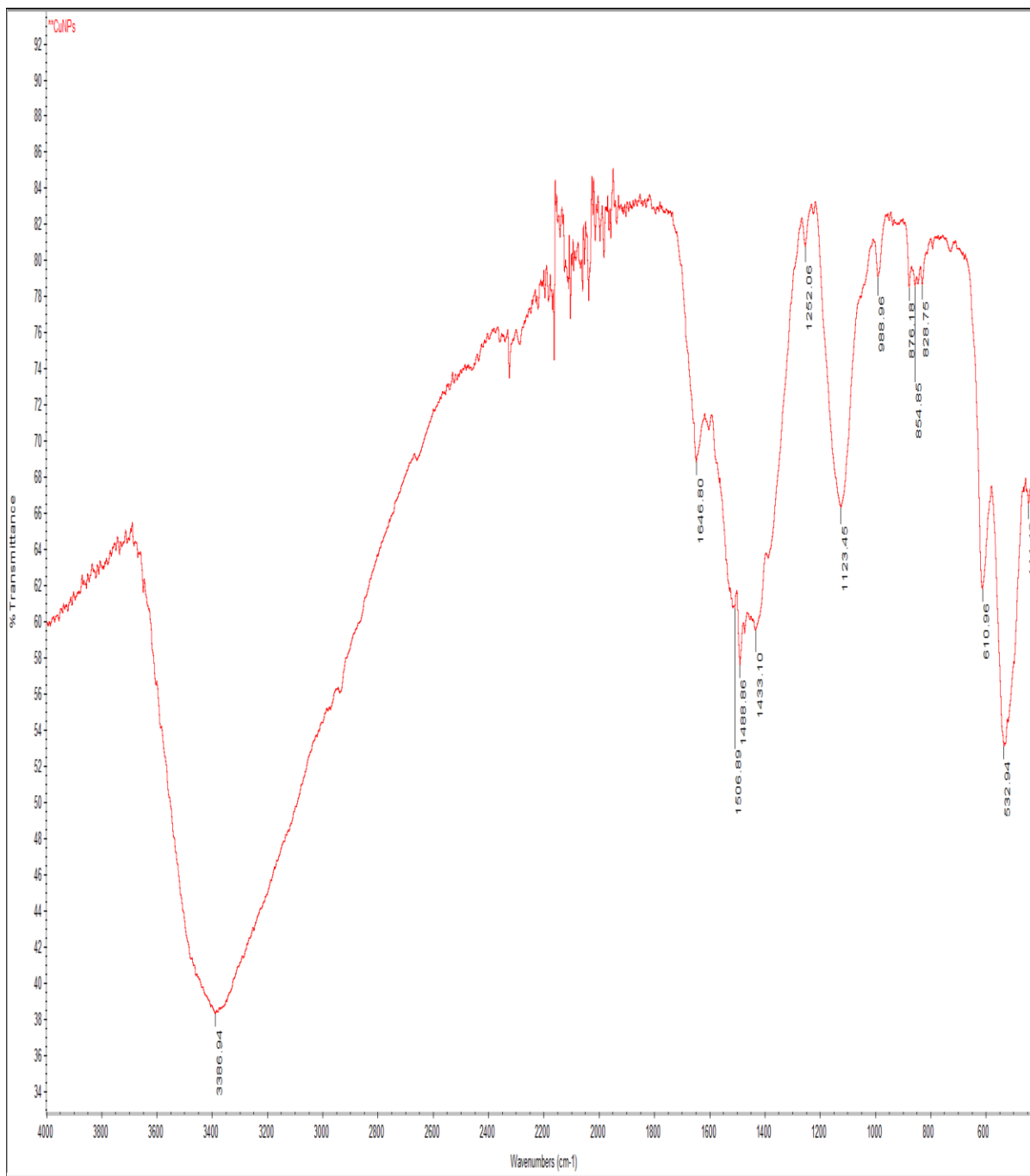
Apéndice G. Espectros FTIR de los Precipitados

Espectro FTIR de las partículas de Óxido Cobre Obtenidas en el Precipitado por la Síntesis R3



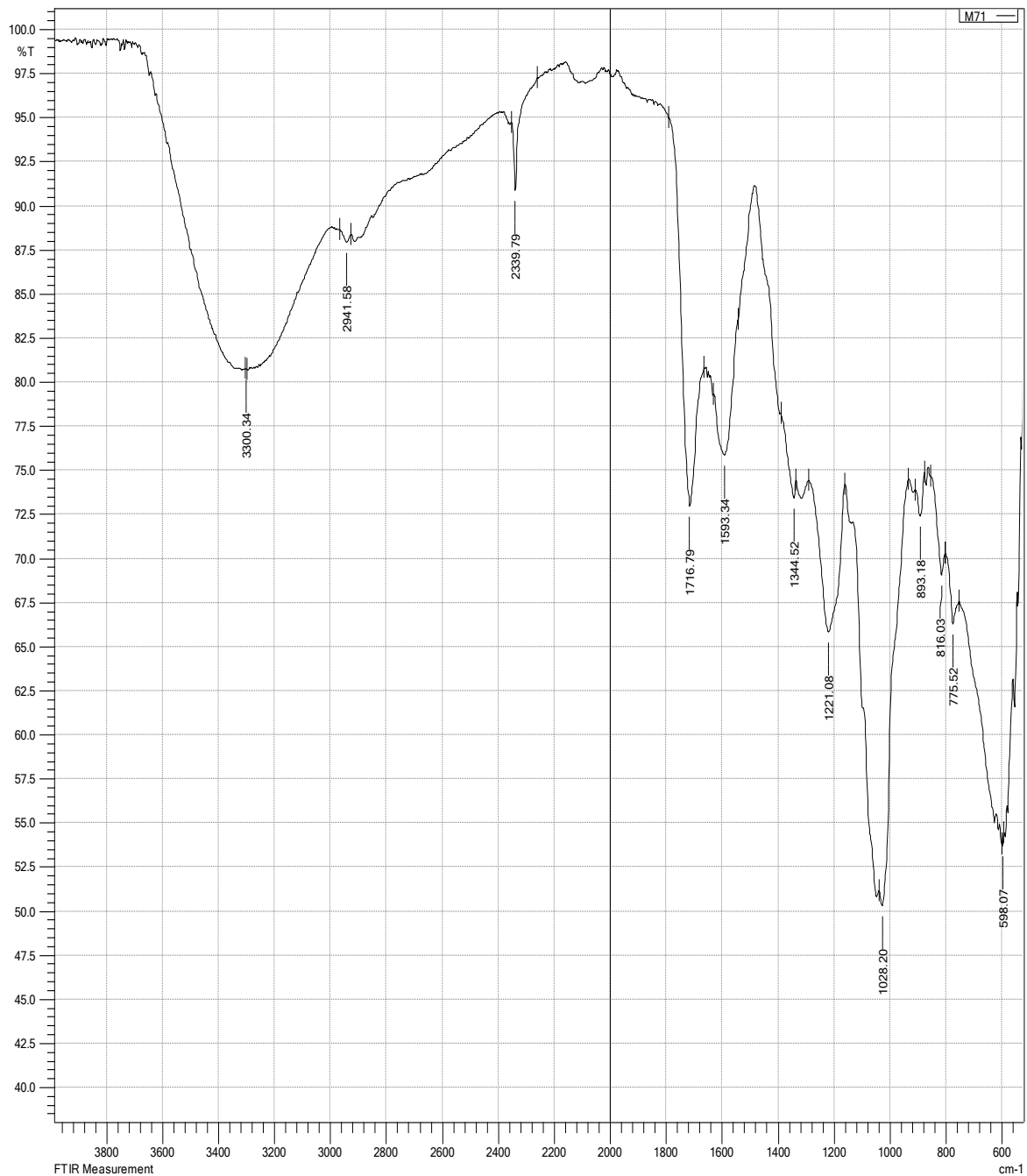
Apéndice G. Espectros FTIR de los Precipitados

Espectro FTIR de las Partículas de CuO Obtenidas a Partir de la Reacción de Sulfato de Cobre con Hidróxido de Sodio.



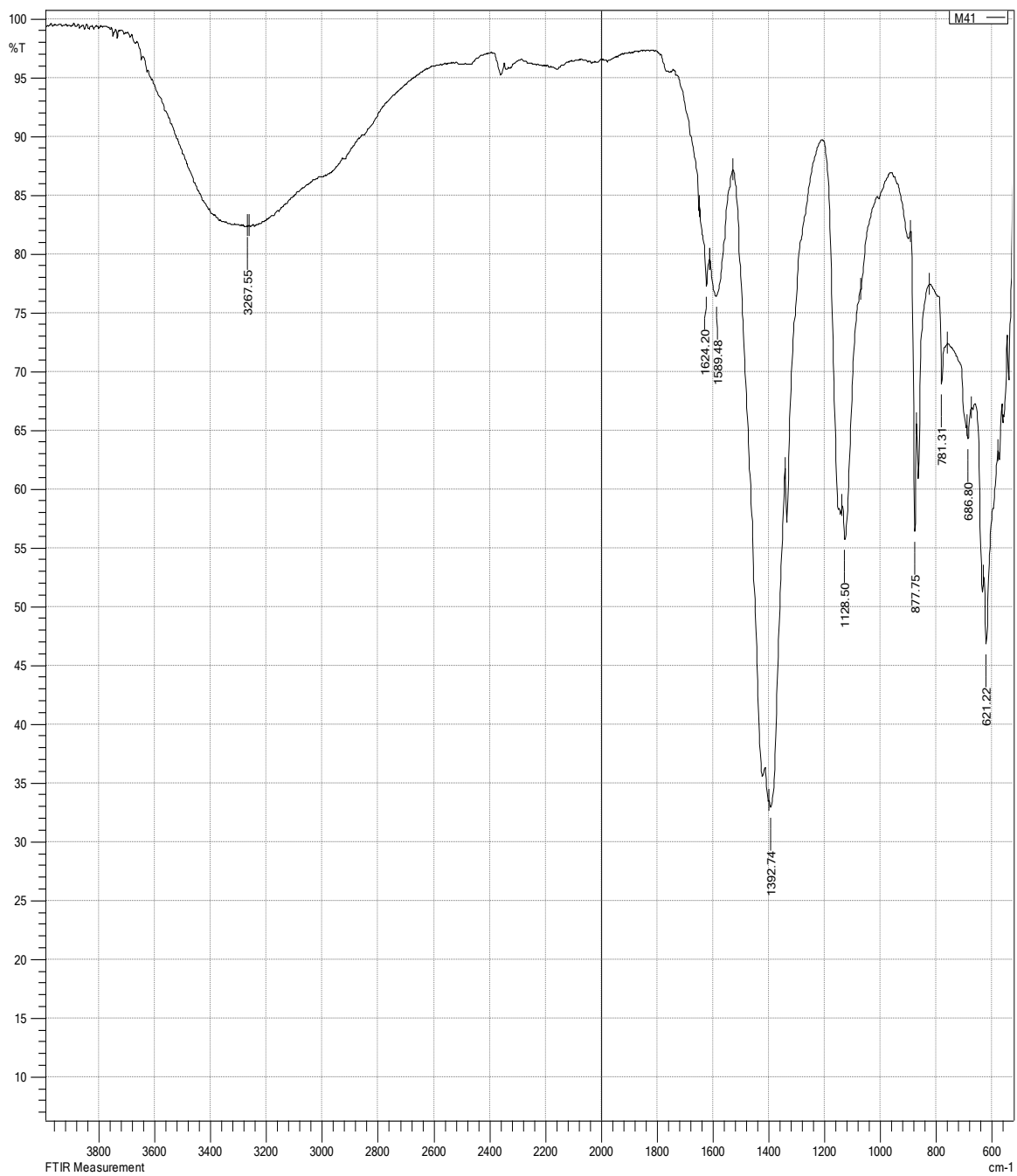
Apéndice G. Espectros FTIR de los Precipitados

Espectro FTIR del Extracto de Mora



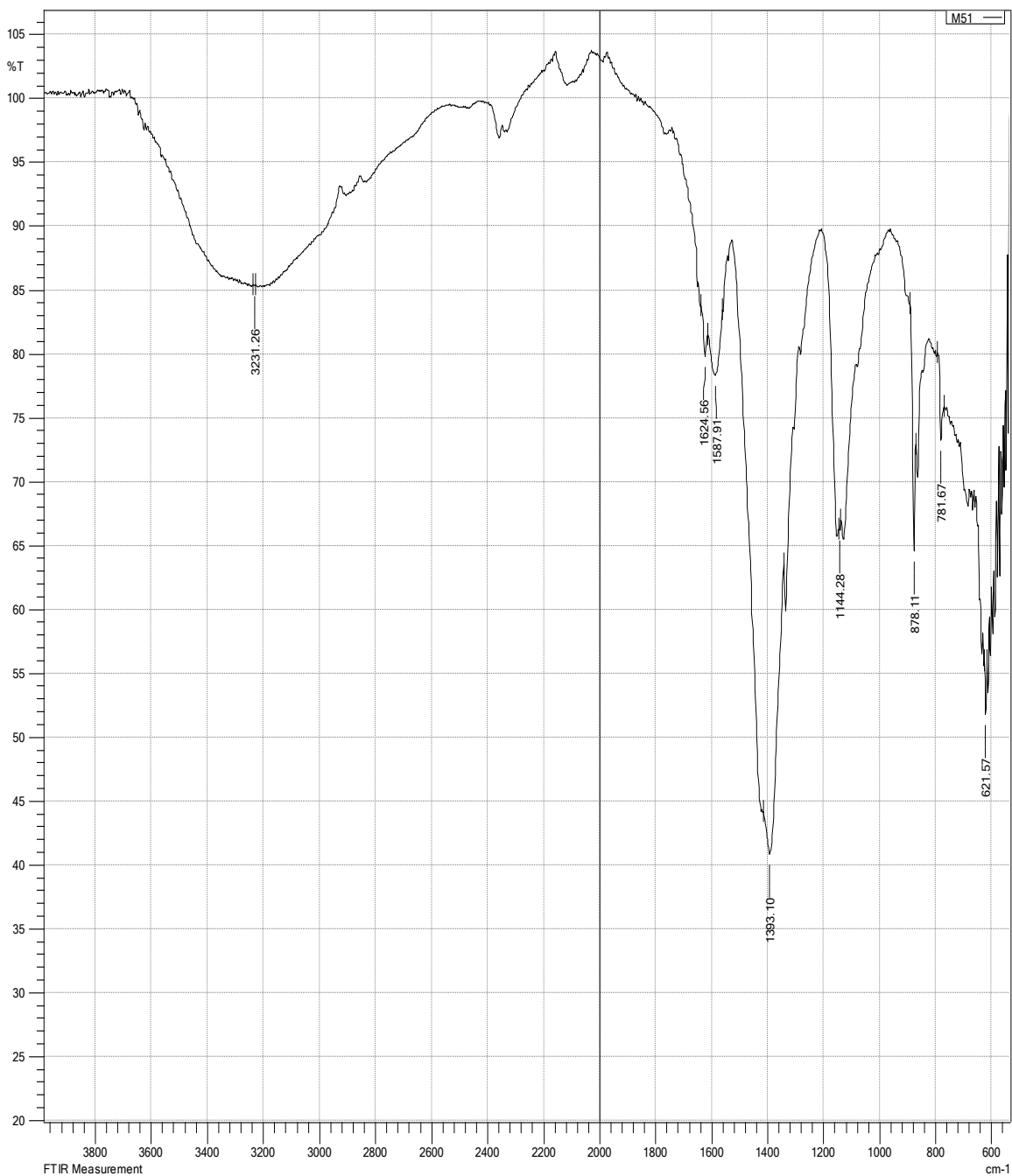
Apéndice H. Espectros FTIR de los Sobrenadantes

Espectro FTIR del Sobrenadante de R1



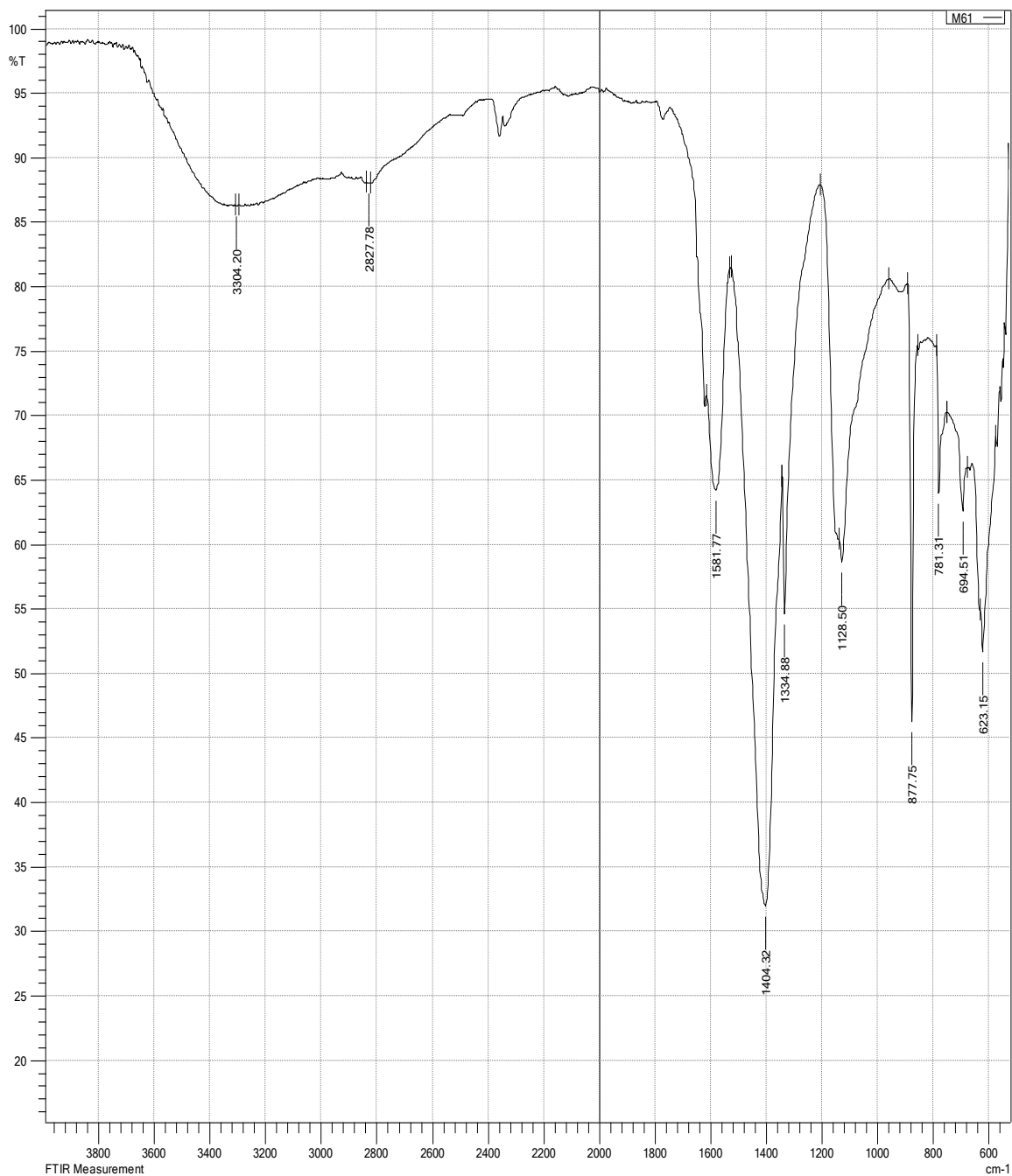
Apéndice H. Espectros FTIR de los Sobrenadantes

Espectro FTIR del Sobrenadante de R2



Apéndice H. Espectros FTIR de los Sobrenadantes

Espectro FTIR del Sobrenadante de R3



Apéndice I. Resultados EDS de los Sobrenadantes*Resultados EDS de la Composición Elemental de los Sobrenadantes*

Elemento	% Atómico		
	R1	R2	R3
O	50,4 ± 1,0	59,3 ± 0,6	50,3 ± 0,7
Na	19,2 ± 1,4	15,7 ± 0,7	18,6 ± 0,7
C	29,4 ± 0,9	24,9 ± 1,2	28,3 ± 0,4
S	0,4 ± 0,1	0,05 ± 0,01	2,7 ± 2,0
K	0,1 ± 0,05	0,1 ± 0,01	0,2 ± 0,1
Cu	0,5 ± 0,45	0,03 ± 0,01	-

Nota. Los resultados representan el promedio de las réplicas y su desviación estándar.