

Treball final de grau

Estudi: Grau en Enginyeria Química

Títol: Síntesi verda de nanopartícules de cobalt.

Document: Memòria

Alumne: Franc Domènech i Alsina

Tutor: Núria Fiol

Departament: Enginyeria química, agrària i tecnologia
agroalimentària

Àrea: Enginyeria química

Convocatòria (mes/any): Juny /2018

Resum

L'objectiu d'aquest treball és establir un mètode per a la síntesi verda de nanopartícules de cobalt utilitzant extractes vegetals com a substitutiu dels reactius químics convencionals. Una vegada establert el mètode s'utilitzarà la Metodologia de Superfície de Resposta (MRS), que és una eina estadística que serveix per ajustar a una equació matemàtica el comportament d'un sistema en funció de les variables que l'afecten. L'objectiu d'utilitzar aquesta eina serà la obtenció d'un model matemàtic que defineixi el sistema i ens permeti optimitzar el mètode per aconseguir nanopartícules de cobalt el més petites possibles.

En la realització del treball s'ha realitzat la síntesi convencional de nanopartícules de cobalt per tal d'estudiar el mètode i caracteritzar les nanopartícules obtingudes amb la finalitat d'utilitzar-lo com a base per aconseguir la síntesi verda substituint els reactius convencionals per els extractes vegetals. Per això s'han realitzat dos mètodes de síntesi convencional, un mètode utilitzant borohidruir sòdic com agent reductor i àcid cítric com a estabilitzador, i un segon mètode utilitzant hidrazina com agent reductor i estabilitzador. Al realitzar els experiments només s'ha aconseguit sintetitzar nanopartícules de cobalt d'una mida pròxima als 150nm amb primer mètode, descartant el mètode que utilitza hidrazina com a partida per a la síntesi verda.

Una vegada caracteritzades les nanopartícules obtingudes amb el mètode convencional, s'ha realitzat una bateria d'experiments amb diferents extractes vegetals imitant les condicions experimentals convencionals. Les proves s'han realitzat amb quatre extractes diferents : extracte de cafè, te roibos, rapa de raïm i pell de magrana. Tots els extractes s'han obtingut mitjançant una extracció sòlid-liquid convencional amb aigua miliQ de la matèria vegetal triturada i seca. Una vegada feta l'extracció, amb la mateixa proporció de matèria vegetal/aigua per a tots els casos, s'ha determinat els contingut total de polifenols de cada extracte mitjançant el mètode Folin-Ciocalteu.

Una vegada realitzada la bateria d'experiments, s'ha analitzat els resultats mitjançant DLS (Dynamic Light Scattering). El DLS és un aparell semblant a un espectrofotòmetre on la mostra dins d'una cubeta és travessada per un làser que pateix una desviació proporcional a la mida de partícula de la mostra. Els resultats proporcionats per l'aparell ens han permès veure en quins casos s'ha produït la síntesi de nanopartícules de cobalt. Essent l'extracte de te roibos i de rapa de raïm els únics que han aconseguit sintetitzar nanopartícules de cobalt, descartant els altres dos extractes com a reactius verds per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.

Determinats els extractes a utilitzar per a la síntesi de nanopartícules de cobalt, procedim a optimitzar la metodologia de síntesi per aconseguir la mida de partícula més petita utilitzant la Metodologia de Superfície de Resposta. Per a utilitzar aquest mètode cal determinar les variables a estudiar i un disseny experimental que compregui valors significatius per a cada variable. Les variables a estudiar seran la temperatura de reacció, el temps de reacció i la concentració d'extracte utilitzat. El disseny experimental realitzat és un model estàndard CCI (Central Composite Inscribed) que comprèn els valors centrals (determinats segons experiències prèvies i

bibliografia), els extrems per a cada variable, i uns valors combinats entre variables. S'ha realitzat un disseny experimental per als dos extractes amb els que hem aconseguit resultats satisfactoris en la bateria d'experiments.

Realitzats tots els experiments s'han analitzat els resultats amb DLS per determinar la mida de partícula obtinguda i entrar-ne els valors en el software matemàtic Matlab que generarà el model matemàtic. A part de la mida de partícula també s'han analitzat els resultats amb XRD i STEM per a determinar l'espècie de nanopartícules de cobalt obtingudes i per obtenir-ne una imatge per corroborar els valors de mida obtinguts per DLS.

Processades les dades i obtingut del software informàtic el model matemàtic que descriu cada sistema, podem observar per a cada extracte on s'obté la mida de partícula mínima i de quines variables depenen. Hem observat que per la síntesi utilitzant extracte de te rooibos la temperatura i la concentració d'extracte són variables que influeixen molt en la mida de partícula i que han de tendir a valors baixos per a l'obtenció de la mida de partícula més petita. En canvi hem pogut veure com el temps de reacció tenia un mínim clar a 20 minuts, determinant aquest temps com al temps de reacció òptim per aquest sistema.

Per al model obtingut de la síntesi de nanopartícules emprant l'extracte de rapa de raïm, s'ha determinat que la variable que més afecta a la mida de partícula és la concentració d'extracte, essent en les baixes concentracions quan obtenim menor mida de partícula. Igual que en el model amb extracte de rooibos l'efecte de la temperatura té un paper important en el sistema aconseguint la mida de partícula més petita quan la síntesi es realitza a temperatures baixes. En contra de l'altre model, el temps de reacció per a la síntesi amb rapa de raïm no és una variable de pes. La seva influència va molt lligada a la resta de variables, però tot i així podem observar que a menor temps de reacció la mida de partícula obtinguda és més petita.

Les mostres analitzades amb STEM ens han confirmat la obtenció de nanopartícules de cobalt de mida 2nm en el cas del te rooibos i de 80nm en el cas de la rapa de raïm, a partir d'una imatge real d'aquestes que ens permet mesurar-les.

La difracció per raigs X XRD ha identificat les nanopartícules obtingudes com a nanopartícules de clorur de cobalt. Indicant així que els extractes vegetals utilitzats no tenen prou poder reductor per a aconseguir formar cobalt metall. Tot i així la formació de nanopartícules estables de mides molt petites ens indica que els polifenols que contenen els extractes si actuen com a excel·lent agent estabilitzador, essent aquesta propietat la més important per a la síntesi de nanopartícules.

Agraïments

A la meva família, especialment als meus pares. Per el seu suport incondicional i l'esforç que han realitzat al llarg de tota la meva vida acadèmica i personal per fer de mi una bona persona, treballadora, capaç i amb criteri per tal de brindar-me un futur ple d'oportunitats. El camí no ha estat fàcil al llarg dels anys i mai podré compensar tot el que han patit per mi. Espero que pugueu estar orgullosos del vostre fill.

A la meva parella, Diana. Que ha estat al meu costat durant aquests anys de carrera animant-me en els pitjors moments i fent que al final acabi recordant aquesta etapa de la meva vida com a una etapa de felicitat i creixement personal.

Finalment a la tutora del treball, Nuria Fiol. Per tota la paciència que ha tingut en els moments de nervis i tensió que algunes adversitats m'han provocat al llarg de la realització d'aquest treball. Gràcies per les dosis d'optimisme i la confiança que m'ha donat, sense donar-se'n compte m'ha donat molt suport moral i ha fet que em quedi amb el record d'una molt bona experiència en un laboratori d'investigació.

Índex

Resum	i
Agraïments	iii
Índex de Figures	v
Índex de Taules	vii
1. Introducció	1
1.1. Les Nanopartícules metàl·liques i la seva síntesi	1
1.2. Síntesi verda de nanopartícules metàl·liques	2
1.3. Caracterització de nanopartícules.....	4
1.4. Metodologia de superfície de resposta com a eina per optimització en la síntesi química.	5
2. Objectiu	7
3. Material i metodologia	8
3.1. Material	8
3.1.1. Reactius	8
3.1.2. Equips.....	8
3.2. Mètodes	9
3.2.1. Síntesi i caracterització de nanopartícules de cobalt per mètodes convencionals	9
3.2.2. Preparació d'extractes vegetals i caracterització	11
3.2.3. Síntesi verda de nanopartícules de cobalt. Determinació de l'extracte més idoni per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.	13
3.2.4. Optimització de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant la metodologia de superfície de resposta.....	14
4. Resultats	17
4.1. Síntesi i caracterització de nanopartícules de cobalt per mètodes convencionals ..	17
4.2. Determinació de polifenols d'extractes vegetals	20
4.3. Síntesi verda de nanopartícules de cobalt. Determinació de l'extracte més idoni per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.	22
4.4. Optimització de la síntesi verda de nanopartícules de cobalt.....	24
5. Conclusió	35
6. Pressupost i planificació del treball	36
6.1. Planificació	36
6.2. Pressupost.....	38
7. Bibliografia	39

Índex de Figures

Figura 1. Imatge obtinguda mitjançant un microscopi electrònic d'alta resolució (HTREM) d'una nanopartícula de Fe recoberta de C.	1
Figura 2. Mètodes de síntesi de nanopartícules metàl·liques.....	2
Figura 3. Representació gràfica de la síntesi verda de nanopartícules metàl·liques.	3
Figura 4. Microscopi electrònic de transmissió model Hitachi 8100-TEM de la Northwestern University (Chicago, EEUU).	5
Figura 5. Aparell de Dynamic Light Scatering ZEN3600 Malvern del laboratori MiMA de la Universitat de Girona (Girona, Espanya)	5
Figura 6. Alguns perfils de superfície de resposta generats a partir d'un model quadràtic en la optimització de dues variables. (a)màxim, (b)altiplà, (c) màxim fora de la regió experimental, (d) mínim i (e) sella.	6
Figura 7. Muntatge experimental on té lloc la reacció de reducció del cobalt. Es mostren els reactius i el producte de la reacció : clorur de cobalt (A), borohidrurs amb àcid cítric(B) i producte de reacció (C).	9
Figura 8. Muntatge i viratge de color de la síntesi amb hidrazina.....	11
Figura 9. Muntatge de l'extracció sòlid-líquid.	12
Figura 10. Esquema del muntatge realitzat per a dur a terme la síntesi verda de nanopartícules de cobalt amb diferents extractes vegetals.	13
Figura 11. Representació gràfica en el pla del disseny experimental Central Composite Inscribed utilitzat per a la optimització de les condicions de síntesi de nanopartícules de cobalt.	14
Figura 12. Muntatge dels experiments portats a terme per al disseny experimental CCI. S'observa els capilars de bombolleig de nitrogen i el bany termostàtic.....	16
Figura 13. Resultat de la distribució de mida de partícula segons nombre. S'ha analitzat amb l'equip DLS ZEN3600 Malvern.	18
Figura 14. XRD del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant borohidruir sòdic i àcid cítric, juntament amb el patró d'òxid de cobalt (línees de color vermell)	19
Figura 15. Imatges obtingudes per STEM de les nanopartícules de cobalt sintetitzades emprant borohidruir sòdic i àcid cítric.....	19
Figura 16. Espectres UV-Vis dels extractes utilitzats en la síntesi de nanopartícules de cobalt.	21
Figura 17. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temperatura de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>).....	27
Figura 18. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>).	27
Figura 19. Distribució de la mida de partícula segons temperatura de reacció i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>).....	28
Figura 21. Distribució de mida de partícula segons nombre obtinguda amb DLS per el producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt amb extracte de rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>).	29
Figura 20. XRD obtingut del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>), juntament amb patrons de clorur de cobalt.	29
Figura 22. Imatge obtinguda per STEM del producte obtingut en la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de te rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>).	30
Figura 23. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temperatura de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (<i>Vitis vinifera</i>).....	31

Figura 24. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*).. 32

Figura 25. Distribució de la mida de partícula segons temperatura de reacció i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*).. 32

Figura 26. XRD obtingut del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*). S'observa com el resultat de l'anàlisi és igual que el de la Figura 20 corresponent a una barreja de clorurs de cobalt hidratats..... 33

Figura 27. Imatge obtinguda per STEM del producte obtingut en la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*). 34

Figura 28. Distribució de mida de partícula segons nombre obtinguda amb DLS per el producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt amb extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*). 34

Figura 29. Graella de les tasques del treball final de grau configurada amb MSProject. 36

Figura 30. Diagrama de Gantt del treball de fi de grau *Síntesi verda de nanopartícules de cobalt*..... 37

Índex de Taules

Taula 1. Valors que prenen per a cada rang i nivel les variables independents del sistema per a la realització del disseny d'experiments CCI.....	14
Taula 2. Llistat dels 21 experiments realitzats per el disseny d'experimental CCI on consten en detall les repeticions i les condicions de cada experiment per a cada variable.....	15
Taula 3. Resultats de la síntesi convencional de nanopartícules de cobalt emprant el mètode 3.2.1.a) variant la concentració d'àcid cítric. El temps de reacció ha estat de 15minuts, la concentració de clorur de cobalt 0,4M i la de borohidrur sòdic 4,45mM.	17
Taula 4. Valors d'absorbància de les mostres obtinguts amb l'espectrofotòmetre a 760nm per a la determinació de la concentració de polifenols dels extractes.	20
Taula 5. Contingut total de polifenols expressats en mg/L dels extractes utilitzats en el transcurs del treball.	20
Taula 6. Resultats de la bateria d'experiments realitzada per a l'elecció de l'extracte idoni per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.....	22
Taula 7. Valors de mida de partícula obtinguts en les condicions experimentals del disseny CCI per a l'optimització de la síntesi verda utilitzant extracte de te rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>)	24
Taula 8. Valors de mida de partícula obtinguts en les condicions experimentals del disseny CCI per a l'optimització de la síntesi verda de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (<i>Vitis vinifera</i>)	25
Taula 9. Valors de les constants de la funció quadràtica que defineix el sistema de síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de te rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>)	26
Taula 10. Valors de les constants de la funció quadràtica que defineix el sistema de síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm (<i>Vitis vinifera</i>)	30
Taula 11. Pressupost del Treball de fi de Grau (<i>Síntesi verda de nanopartícules de cobalt</i>)	38

1. Introducció

1.1. Les Nanopartícules metàl·liques i la seva síntesi

La nanociència i la nanotecnologia són la ciència i la tècnica que estudia, obté o bé manipula materials a escala nanomètrica (de 1 a 100nm). Entenem com a nanopartícula tota aquella estructura amb una mida compresa dins aquesta escala. Per exemple en la Figura 1 es pot veure una imatge obtinguda amb HTREM (Microscòpia Electrònica de Transmissió d'Alta Resolució) d'una nanopartícula de ferro de 20nm aproximadament. Els coneixements d'aquesta branca de la ciència han evolucionat recentment en molts àmbits de la ciència i la indústria a partir de la creació i perfeccionament d'eines per a la caracterització i manipulació de partícules a nanoescala, prenent gran interès les aplicacions que s'atribueixen a la majoria de les nanopartícules metàl·liques. La majoria d'aplicacions són en el camp de l'electrònica i la química. En el camp de l'electrònica s'utilitzen en la fabricació d'elèctrodes [Campbell, F.W. i Compton, R.G., 2010], sensors [Tukur, S.A. i Azahyusof, N., 2015] o bé celes d'energia solar [J.M. Lee i S.O. Kim, 2016]. I en el camp de la química s'utilitzen majoritàriament com a catalitzadors [Kusada, K. i Kitagawa, H., 2016].

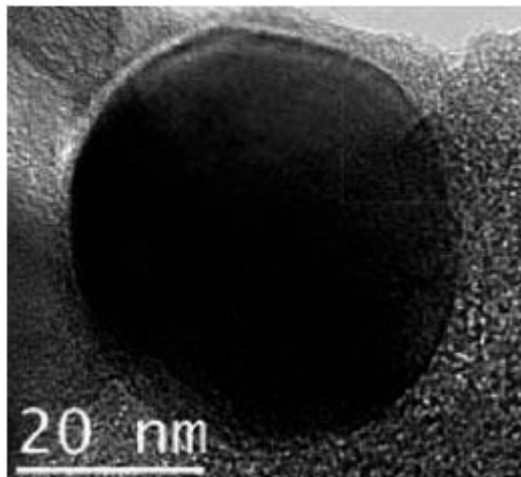


Figura 1. Imatge obtinguda mitjançant un microscopi electrònic d'alta resolució (HTREM) d'una nanopartícula de Fe recoberta de C.

Dins de les moltes nanopartícules metàl·liques, prenen també especial interès les nanopartícules de diferents compostos de cobalt, ja que tenen moltes aplicacions. Majoritàriament aplicacions biomèdiques com a substàncies administradores de fàrmacs [Tietze, R. *et al.*, 2005] o per a reduir la hipertèrmia local en les teràpies contra el càncer [Zeisberger, M. *et al.*, 2007], però també han cobrat gran interès en el camp de l'electrònica i s'estan investigant per a utilitzar-les en sensors electroquímics per a la determinació de diferents components [Li, Su-Juan *et al.*, 2014].

Les múltiples aplicacions de les nanopartícules metàl·liques com les anteriorment esmentades han provocat el desenvolupament de diferents mètodes per a la seva síntesi. Les diferents vies de síntesi que s'utilitzen es poden agrupar en dos grups segons el mètode seguit: els mètodes físics anomenats "top-down" perquè parteixen

del metall en partícula macroscòpica i el subdivideixen fins a obtenir nanopartícules, i els mètodes químics anomenats “bottom-up” que parteixen d'àtoms del metall conjugat que es redueix químicament i al alliberar-se els ions es nucleen fins a mida de nanopartícula. Els mètodes químics solen ser més precisos ja que permeten un major control de la mida final de partícula.

Dins dels mètodes físics trobem el mètode de deposició de vapor on el metall es porta fins el seu punt d'ebullició i llavors es condensa sobre un substrat [Chen, X. i Mao, S.S., 2007], i el mètode de la síntesi mitjançant combustió on el metall contingut en un sòlid es crema mitjançant una font externa i s'inicia una reacció exotèrmica que es propaga pel sòlid sintetitzant nanopartícules del metall també en estat sòlid [Patil, K.C. *et al.*, 2002].

Pel que fa als mètodes químics els mes coneguts són la reducció del metall, on una sal del metall es redueix mitjançant reductors forts i a continuació es procedeix a la nucleació controlada afegint agents estabilitzants.

En la Figura 2 podem veure un esquema que resumeix els dos camins per obtenir nanopartícules metàl·liques.

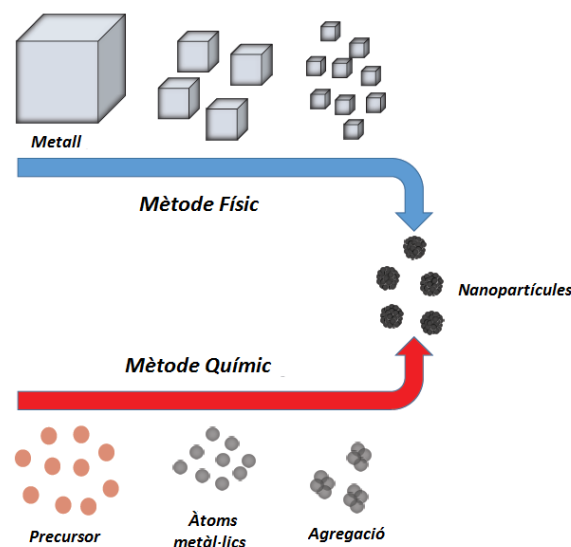


Figura 2. Mètodes de síntesi de nanopartícules metàl·liques.

En el camp concret de la síntesi de nanopartícules de cobalt s'han trobat mètodes que utilitzen com a reductors el NaBH_4 [Salgueiriño-Maceira, V. *et al.*, 2005] o la hidrazina [Guo, F. *et al.*, 2002] utilitzant com a estabilitzant l'àcid cítric. També es coneix el mètode químic del Sol-Gel que consisteix en generar una solució d'un gel mitjançant la hidròlisi de l'ió metàl·lic obtenint d'aquesta manera la coagulació del gel formant nanopartícules metàl·liques [Macwan, D.P. *et al.*, 2011], aquest mètode s'ha utilitzat per obtenir nanopartícules de diferents metalls entre ells el cobalt.

1.2. Síntesi verda de nanopartícules metàl·liques

La síntesi de nanopartícules metàl·liques s'ha portat a nivell industrial i actualment se'n fabriquen milers de tones emprant els mètodes anteriorment esmentats. Aquests

mètodes són complexes i perillosos de realitzar a nivell de laboratori, factors que es multipliquen al portar-los a escala industrial afegint-hi també l'alt perill mediambiental i l'elevat cost econòmic que comporta la seva fabricació a gran escala. Els mètodes físics, basats en la evaporació del metall, són molt agressius pel medi ambient degut a la gran quantitat d'energia necessària per arribar a temperatures de fusió d'entre 1200 i 3000°C i la quantitat de residus de combustió tòxics que es produeixen en aquests forns, juntament amb els metalls. No menys agressius amb el medi ambient són els mètodes químics, on es pot prescindir del gran consum d'energia que tenen els mètodes físics, però on la toxicitat i nocivitat per a l'esser humà i el medi ambient ja no només és en el residu obtingut, sinó també en totes les substàncies emprades en la reacció des del seu inici.

Per a contra, s'ha començat a investigar la síntesi de nanopartícules metàl·liques mitjançant la química verda, és a dir, realitzant la reacció emprant de principi a fi reactius respectuosos amb el medi ambient i eliminant la formació de productes o subproductes tòxics o contaminants. Aquest procés és conegut com a la síntesi verda de nanopartícules metàl·liques i alguns investigadors han aconseguit realitzar-la obtenint bons resultats utilitzant extractes de diferents plantes [Kharissova, O.V. *et al.*, 2013] posant àtoms metàl·lics en contacte amb l'extracte tal com es pot veure en l'esquema de la Figura 3. Els extractes de plantes contenen una alta concentració de components bioactius com els polifenols(tanins, àcids fenòlics, flavonoides...), aquests components tenen caràcter reductor i són també bons agents quelants. De fet, hi ha estudis que asseguren haver aconseguit nanopartícules metàl·liques mitjançant síntesi verda de mides més petites que amb els mètodes convencionals i amb una bona estabilitat [Peralta-Videa, J.R. *et al.*, 2016]. Per exemple s'han obtingut nanopartícules d'or, plata i coure utilitzant extracte de menta, canyella, saüc i llimona entre d'altres vegetals comuns [Peralta-Videa J.R. *et al.*, 2016].

Pel que fa a les nanopartícules de cobalt, fins a dia d'avui només s'han pogut sintetitzar mitjançant síntesi verda utilitzant extracte de *Aspalathus linearis* planta coneguda amb el seu nom comú: Rooibos [Diallo A. *et al.*, 2015]. Per això seria interessant trobar altres extractes de vegetal més comuns en el nostre entorn per a realitzar la síntesi verda.

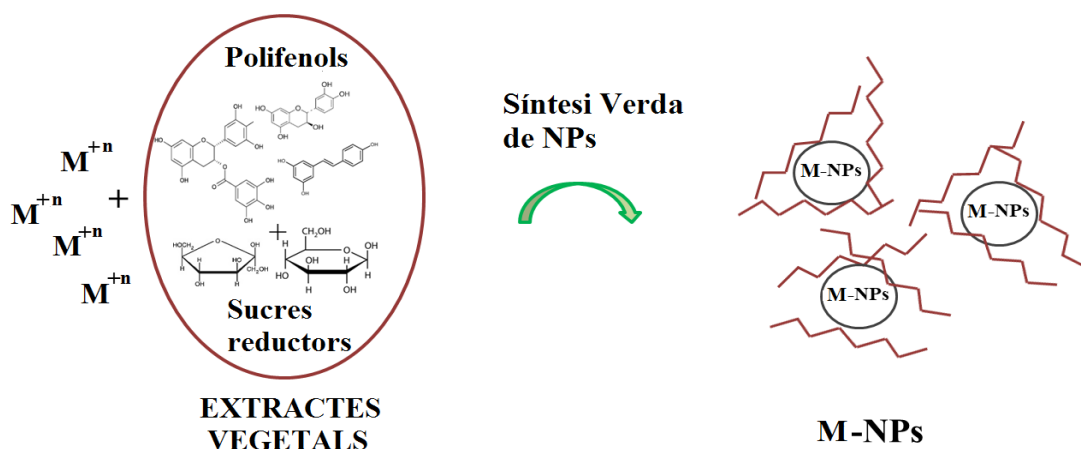


Figura 3. Representació gràfica de la síntesi verda de nanopartícules metàl·liques.

1.3. Caracterització de nanopartícules

Per a caracteritzar les nanopartícules de cobalt s'utilitzen diverses tècniques: la difracció per raigs X (XRD), la microscòpia electrònica de transmissió (TEM), la microscòpia electrònica d'escombrat (SEM), l'espectrofotometria UV-Vis i la dispersió de llum dinàmica (DLS).

La difracció per raigs X (XRD) és una tècnica que es basa en la dispersió de rajos X que la matèria cristal·lina provoca al ser travessada per un feix d'aquests. Aquesta dispersió permet identificar les fases cristal·lines de la matèria que són característiques per a cada molècula.

L'espectrofotometria Ultraviolat-Visible s'utilitza per a veure si realment hi ha un canvi en la composició del producte de reacció indicant que aquesta s'ha produït. La tècnica utilitza un espectrofotòmetre, un aparell format per una font de llum que emet un feix de llum en tot l'espectre del ultraviolat visible que travessa la mostra líquida ubicada en una cubeta fins arribar al sensor que envia les dades a un processador. Aquest sensor detecta l'absorbància de la mostra respecte cada longitud d'ona i permet dibuixar-ne un espectre. Els espectres permeten observar si canvis entre els reactius i el producte de reacció.

La microscòpia electrònica d'escombrat (SEM) és utilitzada per obtenir la imatge de les nanopartícules i veure'n la mida i l'estructura basant-se en la interacció electrons-matèria. És una tècnica que utilitza un microscopi electrònic d'escombrat, que s'anomena així perquè emet un feix d'electrons per a tota la mostra i obté una imatge d'aquesta interpretant-la dels electrons que són remesos.

La microscòpia electrònica de transmissió (TEM) també s'utilitza per obtenir la imatge de les nanopartícules i apreciar la mida d'aquestes. Per aquesta tècnica s'utilitza un microscopi electrònic de transmissió que, per contra d'un microscopi òptic, la mostra és travessada per un feix d'electrons dels que a través d'un sistema de processament de dades podem obtenir una imatge. En la Figura 4 podem veure un microscopi electrònic de transmissió.

La dispersió de llum dinàmica DLS (sigles provinents del seu nom en anglès Dynamic Light Scattering), és una tècnica molt moderna i poc utilitzada fins avui dia que permet dibuixar una distribució de la mida de partícula d'una dissolució o suspensió aquosa. La tècnica es basa en els fonaments teòrics del moviment brownià on es descriu que la velocitat de les entitats sotmeses a aquest moviment depèn de la mida de l'entitat i la viscositat del medi. L'aparell és semblant a un espectrofotòmetre on la mostra líquida dins una cubeta és travessada per un làser. El sensor, posicionat després de la mostra, detecta fluctuacions en la intensitat de llum rebuda, aquestes fluctuacions d'intensitat tenen una freqüència determinada que depèn de la velocitat de les partícules de la mostra i aquesta velocitat segons la equació de Stokes-Einstein depenen de la mida d'aquesta. D'aquesta manera l'aparell realitza tot un seguit de mesures i càlculs de la correlació d'aquestes que permeten determinar una distribució de mida de partícul. En la Figura 5 es mostra l'aparell de DLS ZEN3600 de la marca Malvern que es troba al laboratori de Metalls i Medi Ambient de l'Escola Politècnica Superior de la UdG.



Figura 5. Aparell de Dynamic Light Scatering ZEN360 Malvern del laboratori MiMA de la Universitat de Girona (Girona, Espanya)



Figura 4. Microscopi electrònic de transmissió model Hitachi 8100-TEM de la Northwestern University (Chicago, EEUU).

1.4. Metodologia de superfície de resposta com a eina per optimització en la síntesi química.

La optimització es defineix com la millora del rendiment d'un sistema, un procés o un producte per a obtenir el màxim benefici per al mateix. El terme optimització s'ha utilitzat comunament en química com un mitjà per a descobrir les condicions que cal aplicar a un sistema per a produir-ne la millor resposta possible, definint-les com les condicions òptimes [Araújo, P.W. i Brereton, R.G., 1996]. Tradicionalment aquesta optimització s'ha portat a terme estudiant l'efecte d'una variable mantenint totes les altres constants, i d'aquesta manera anar estudiant l'efecte de les diferents variables implicades. Aquest mètode anomenat en anglès "one-variable-at-a-time", té la gran desavantatge que no estudia els efectes interactius entre les diferents variables estudiades [Lundstedt, T. *et al.*, 1998]. Però un inconvenient també molt important d'aquest mètode, és l'increment exponencial d'experiments a realitzar per estudiar les variables implicades i l'elevada despesa de temps i material de laboratori que això comporta.

Amb la intenció d'acabar amb aquests desavantatges, la optimització dels processos s'ha portat a terme mitjançant diferents tècniques estadístiques. Entre les tècniques utilitzades més rellevants trobem la Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). El Mètode de Superfície de Resposta (MSR) va ser desenvolupat per George E.P. Box i els seus col·laboradors a finals dels anys 50 [Almeida-Bezerra, M. *et al.*, 2008]. Aquest terme es va originar de la perspectiva gràfica generada després la creació del model matemàtic. El mètode utilitza un conjunt de tècniques matemàtiques i estadístiques que es basen en l'adequació dels models empírics a les dades experimentals obtingudes en relació amb el disseny experimental. Cap aquest objectiu s'utilitzen funcions polinòmiques lineals o quadràtiques per descriure el sistema estudiat i, en conseqüència, explorar (modelant i desplaçant) condicions experimentals fins a la optimització del sistema.

Per a portar a terme aquest mètode i assegurar-ne el seu correcte funcionament per aconseguir la optimització del sistema hi ha diferents fases. La primera fase, és la

selecció de les variables que més afecten al sistema i buscar uns valors intermedis i uns extrems per a cada variable delimitant una regió experimental d'acord amb l'objectiu de l'estudi i l'experiència prèvia. Llavors escollir un disseny experimental i realitzar els experiments segons la matriu experimental seleccionada. Seguidament tractar les dades obtingudes segons un model matemàtic per tal d'ajustar-lo a una funció polinòmica i avaluar l'aptitud del model obtingut. Finalment verificar el model i la possibilitat de desplaçar-lo en direcció a la regió òptima [Teófilo, R.F. i Ferreira, M.M.C., 2006].

Per aquest mètode s'utilitzen models matemàtics de caràcter lineal per a l'estudi de cada variable, llavors un model de funció de segon ordre on es valoren les interaccions entre les diferents variables i finalment per tal de determinar punts crítics (màxims, mínims o una sella) cal ajustar també a un model quadràtic, quedant finalment la funció del model de la següent forma:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i < j \leq k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

On les x són les diferents variables i les β són els coeficients per a cada variable o combinació de variables en el cas del segon grau. De manera que podem determinar els valors d'aquests coeficients per saber quines són les variables que més influeixen en el sistema. El model obtingut és avaluat mitjançant diferents tècniques estadístiques per a minimitzar l'error i ajustar-lo a les dades obtingudes. En aquesta avaluació també hi ha termes de la funció que són descartats degut al seu poc valor estadístic "p-valor". Finalment, si hi ha una bona correlació estadística de les dades obtingudes, per a cada sistema s'aconsegueix una funció quadràtica pròpia que sol tenir una distribució en forma de màxim, mínim o sella com les que es mostren a la Figura 6.

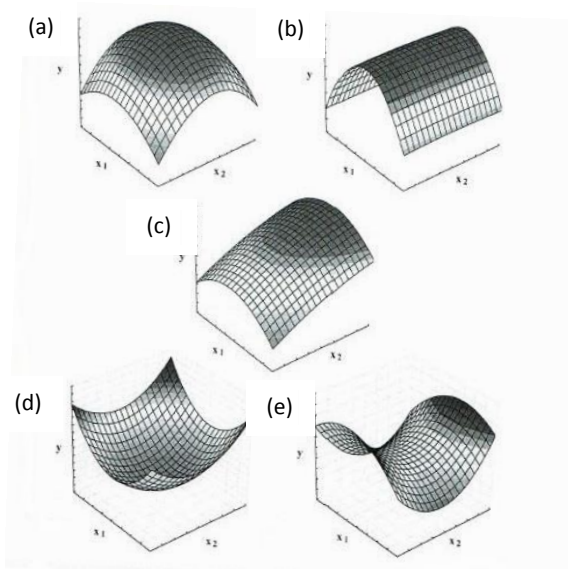


Figura 6. Alguns perfils de superfície de resposta generats a partir d'un model quadràtic en la optimització de dues variables. (a)màxim, (b)altiplà, (c) màxim fora de la regió experimental, (d) mínim i (e) sella.

2. Objectiu

L'objectiu d'aquest treball és establir un mètode per a la síntesi de nanopartícules de cobalt substituint els reactius convencionals per extractes vegetals.

S'iniciarà el treball sintetitzant les nanopartícules de cobalt utilitzant els mètodes químics convencionals per tal de identificar-les i caracteritzar-les, llavors es substituiran gradualment aquests reactius per extractes de vegetals tals com el cafè, el té, la rapa de raïm o pells de fruita com la magrana que actuen com a substàncies reductores i estabilitzants fins a aconseguir la síntesi verda completa de les nanopartícules.

Posteriorment s'utilitzarà la Metodologia de superfície de resposta per tal d'optimitzar les condicions de síntesi per a l'obtenció de nanopartícules de la mida més petita possible..

Per analitzar la mida de les nanopartícules s'utilitzarà un equip DLS, i per a la caracterització d'aquestes s'utilitzaran XRD i STEM.

3. Material i metodologia

3.1. Material

3.1.1. Reactius

- Clorur de cobalt hexahidratat ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) MERCK
- Borohidrur sòdic (NaBH_4) PANREAC
- Àcid cítric ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{H}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) PROBUS
- Sulfat d'hidrazina ($\text{N}_2\text{H}_4\text{H}_2\text{SO}_4$) CARLO ERBA
- Glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) PANREAC
- Agent Folin-Ciocalteu ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40} + \text{HPMo}_{12}\text{O}_{40}$) PANREAC
- Bicarbonat Sòdic (Na_2CO_3) SHARLAU
- Hidròxid sòdic en estat sòlid (NaOH) SHARLAU

3.1.2. Equips

- Bany termostàtic *Digiterm 300054* marca *P/SELECTA*
- Molinet triturador *PRO PREP Chopper Grinder* marca *Waring Commercial*
- Centrifuga *UNIVERSAL 320* marca *Hettich*
- Tamís *BA 200N* marca *Cisa*
- Equip d'extracció sòlid-líquid
- Equip de filtració al buit
- Instal·lació per al bombolleig de nitrogen gas (N_2)
- Forn *P/SELECTA*
- Campana d'escapament de vapors
- Màscara amb filtre de vapors i gasos *Sèrie 4000* marca *3M*
- Bany d'ultrasons
- Filtres pera xeringa $0,2\mu\text{m}$
- Xeringues de 1mL marca *ICO(plus3)*
- Cubetes de Quars *Hellma*
- Espectrofotòmetre UV-Vis *UVmini-1240* marca *Shimadzu*
- Aparell de difracció de raigs X (XRD)
- Microscopi electrònic de transmissió (TEM)
- Aparell de *Dynamic Light Scattering* (DLS) *ZEN3600* marca *Malvern*

3.2. Mètodes

3.2.1. Síntesi i caracterització de nanopartícules de cobalt per mètodes convencionals

a) Síntesi mitjançant borohidruir sòdic com a agent reductor

Aquest experiment es realitza per a poder caracteritzar les nanopartícules de cobalt abans de realitzar la síntesi verda, i es basa en el mètode de síntesi realitzat per Salgueiriño-Maceira, V. *et al.* [2005], però s'han modificat paràmetres per a aconseguir nanopartícules més petites ja que amb aquest mètode s'obtenen nanopartícules de mida molt gran, pròxima a l'escala micromètrica.

S'ha preparat una solució de clorur de cobalt hexahidratat 0,4M, paral·lelament en un matràs aforat de 1L s'ha preparat una solució de borohidruir sòdic i àcid cítric. La concentració de borohidruir sòdic en la solució sempre s'ha fixat a 4,45mM però la concentració de àcid s'ha variat de 0,05mM a 0,6mM en diferents proves degut a que és l'agent estabilitzant, per tant el reactiu que influirà més en la mida de partícula obtinguda.

Una vegada preparada les solucions, i amb aquestes fresques, s'introdueixen 100mL de la solució de NaBH_4 amb presència d'àcid dins un matràs Erlenmeyer. A aquest Erlenmeyer ha de tenir una bona agitació i ha d'estar sota atmosfera lliure d'oxigen per evitar l'oxidació del cobalt. El mètode seguit per Salgueiriño-Maceira, V. *et al.* [2005] utilitza argó per aconseguir aquestes condicions, però en el nostre cas, s'ha sotmès el matràs Erlenmeyer a bombolleg constant de nitrogen per a crear aquesta atmosfera lliure d'oxigen. Immediatament es s'addiciona 1mL de la solució de Co^{2+} 0,4M amb micro-pipeta i tapa amb para-film el matràs per conservar la atmosfera de nitrogen. Només de començar la reacció s'ha de produir un canvi de color de transparent a negre indicant la formació del cobalt que precipita. Després de 15 minuts de reacció per assegurar la precipitació de tot el cobalt es recull el producte repartint-lo a volums

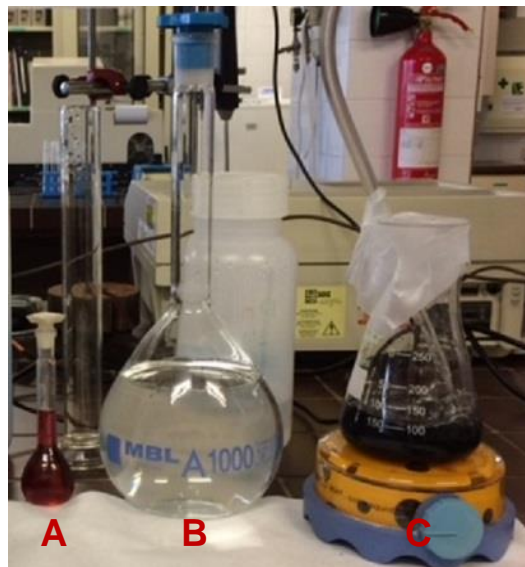


Figura 7. Muntatge experimental on té lloc la reacció de reducció del cobalt. Es mostren els reactius i el producte de la reacció : clorur de cobalt (A), borohidruirs amb àcid cítric(B) i producte de reacció (C).

iguals en 4 tubs de centrífuga, també tapats amb para-film per a la posterior centrifugació a 5000rpm durant 5 minuts.

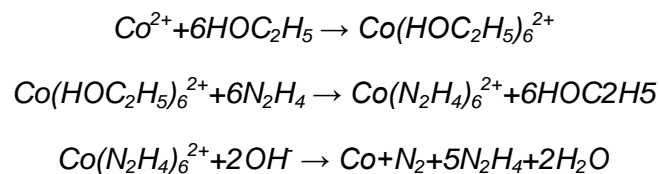
Acabada la centrifugació, s'han d'obtenir 2 fases: una líquida transparent i un precipitat negre al fons del tub. Es separa el sobrenedant i el precipitat ric en cobalt es resuspèn en 15mL d'etanol al 98%. Les dues solucions obtingudes es conserven en el congelador per a la seva caracterització.

La caracterització de la mida de partícula obtinguda i la seva estabilitat s'ha realitzat amb l'aparell de DLS aplicant-hi a les mostres un bany d'ultrasons durant 15 minuts abans d'analitzar-les. També s'ha analitzat per XRD i TEM. Per a l'anàlisi amb XRD és necessita d'un sòlid sec. Per això el precipitat resuspès en etanol s'ha introduït en el forn durant 24 hores a 60°C per a evaporar tot l'etanol i assecar-lo. Llavors abans d'analitzar-lo ha estat un dia més en el dessecador.

En la Figura 7 es mostra el muntatge de la reacció amb el bombolleig i l'agitació una vegada afegits els reactius(C). També es mostren les solucions dels reactius: de color rosa intens el clorur de cobalt (A) i transparent la solució de borohidrurs amb àcids(B).

b) Síntesi mitjançant hidrazina com agent reductor

Com a alternativa al mètode de síntesi descrit en el punt anterior 3.2.1a) on s'utilitzen borohidrurs com a agent reductor, es realitza la síntesi emprant hidrazina en medi alcalí partint del mètode descrit per Guo, F. *et al.* [2002] ja que asseguren haver sintetitzat nanopartícules de cobalt d'una mida molt més petita. Per a la síntesi de nanopartícules amb aquest mètode s'han de produir la següents reaccions:



Per a fer aquesta síntesi s'ha preparat una solució 0,05M de clorur de cobalt en etanol al 98% en un matràs aforat de 100mL. Paral·lelament s'ha preparat una solució 4M de hidròxid sòdic en aigua emprant de perles de NaOH i per últim 50mL d'una altre solució 0,3M d'hidrazina en aigua a partir de sulfat d'hidrazina.

Amb molt de compte s'ha portat a terme la reacció posant en contacte, en un Erlenmeyer de 500mL, la totalitat de les solucions de cobalt i hidrazina amb agitació vigorosa i constant. Només d'entrar en contacte la mescla ha d'agafar una tonalitat de color blau fosc intens indicant la formació de $\text{Co}(\text{HOC}_2\text{H}_5)_6^{2+}$. Després s'han incorporat lentament a la solució 10mL d'hidròxid sòdic 4M per afavorir el medi alcalí i immediatament el color de la mescla ha de virar a un color rosa clar totalment opac indicant la formació de $\text{Co}(\text{N}_2\text{H}_4)_6^{2+}$ que en aquest medi alcalí ha de començar a aparèixer un precipitat de cobalt de color gris fosc i vapors de la hidrazina gasosa que s'allibera.

Aquesta reacció s'ha realitzat sota campana i amb una màscara amb filtre de gasos ja que la hidrazina gasosa és molt perjudicial per a la salut.

Finalment s'ha pres una mostra del producte de la reacció i s'ha sotmès a centrifugació durant 5 minuts a 5000rpm i el precipitat grisós que ha quedat en el fons del tub de centrifuga s'ha resuspès i posteriorment analitzat per DLS després de 15 minuts en un bany d'ultrasons.

En la Figura 8 es mostra el muntatge per a la síntesi emprant hidrazina on també es pot veure el canvi de color de blau fosc a rosa.

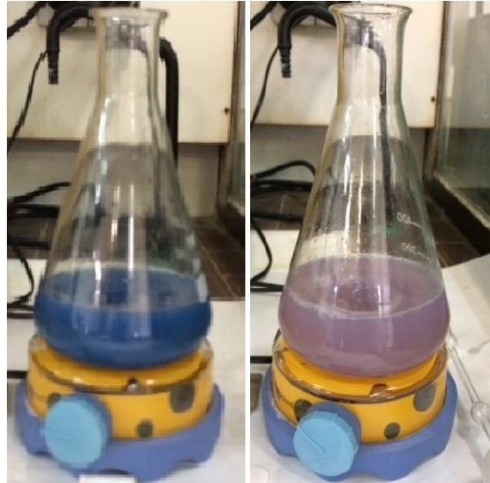


Figura 8. Muntatge i viratge de color de la síntesi amb hidrazina.

3.2.2. Preparació d'extractes vegetals i caracterització

Per a realitzar la síntesi verda de nanopartícules s'han utilitzat extractes de diferents vegetals com a font de polifenols i aquest s'han preparat seguint sempre la mateixa metodologia. S'han utilitzat quatre fonts de matèria vegetal: te roibos (*Aspalathus linearis*), rapa de raïm (*Vitis vinifera*), cafè (*Coffea*) i pell de magrana (*Punica granatum*).

Primer de tot s'ha assecat completament la matèria vegetal en el forn a una temperatura moderada al voltant dels 50°C durant 24 hores per evitar cremar-la. Només de treure-la del forn s'ha deixat refredar en un dessecador per evitar que aquesta agafi humitat ambiental.

Una vegada seca, la matèria vegetal s'ha triturat utilitzant un molinet elèctric i després s'ha passat per el tamís per separar-ne els trossos de major mida de la pols generada en el molinet. Per a l'extracció s'ha d'evitar utilitzar la pols del vegetal ja que aquesta es pot dissoldre en el líquid o quedar en suspensió i confondre's amb les partícules de cobalt alhora del seu anàlisi.

Per a preparar l'extracte s'ha realitzat una extracció sòlid-líquid convencional pesant una quantitat determinada de vegetal triturat i sec dins d'un baló. S'han afegit juntament amb la matèria vegetal 100 o 300mL d'aigua miliQ. Aquesta quantitat ha estat depenent de si s'ha utilitzat el baló de 200 o 500mL de volum, ja que és necessari que hi hagi espai dins el baló perquè amb l'ebullició la matèria vegetal mescli bé en el líquid optimitzant l'extracció. En la Figura 9 es pot veure el muntatge d'extracció sòlid-líquid convencional utilitzat.

S'ha començat l'extracció aplicant calor sobre el baló amb una manta calefactora fins a l'ebullició de l'aigua i utilitzant el serpentí refrigerador amb alimentació d'aigua fresca de xarxa per a condensar els vapors generats. La mescla he estat en ebullició durant

dues hores. Transcorregut el temps i un cop fred el baló, s'ha portat a terme una primera filtració de les partícules més grans amb paper de filtre i un embut convencional utilitzant un matràs Erlenmeyer com a recipient. Realitzada la primera filtració s'ha procedit a la filtració al buit utilitzant el muntatge tradicional amb una bomba de buit, un embut Büchner, el matràs Kitasato i el paper de filtre de 0,2 micres.

Realitzada aquesta filtració ja s'ha obtingut l'extracte en perfectes condicions i llest per utilitzar en els nostres experiments. L'extracte sobrant s'ha conservat en un congelador per evitar el deteriorament de la matèria orgànica i l'aparició de fongs.



Figura 9. Muntatge de l'extracció sòlid-líquid.

Per a la determinació de polifenols a l'extracte s'ha seguit el mètode de Folin-Ciocalteu. Aquest mètode és una colorimetria on s'utilitza el reactiu de Folin-Ciocalteu que és una mescla d'àcid fosfotungstènic i àcid fosfomolibdènic que reacciona amb els polifenols de l'extracte prenent un color blavós que varia d'intensitat en funció de la concentració de polifenols. De manera que mesurant l'absorbància a 760nm de longitud d'ona amb un espectrofotòmetre es pot realitzar una recta de calibratge amb patrons i determinar els contingut total de polifenols (CTPF) de la mostra.

S'ha utilitzat una solució d'àcid gàl·lic 2000mg/L com a patró de la que s'ha partit per a fer els següents patrons: 200, 400, 600, 800 i 1000mg/L. La preparació dels patrons i les mostres a analitzar s'ha fet en paral·lel seguint la mateixa metodologia: s'ha preparat en un tub d'assaig una barreja de 3,9mL d'aigua miliQ, 900µL de Na₂CO₃ al 10%, 600µL del reactiu de Folin-Ciocalteu i 100µL de la mostra o patró. Aquest tub s'ha deixat reposar durant dues hores fins a la seva mesura amb l'espectrofotòmetre. Llavors s'ha procedit a mesurar els valors d'absorbància a 760nm de tots els patrons per a fer la recta de calibratge amb una regressió lineal. Finalment s'ha analitzat l'absorbància de la mostra per ajustar-la a la recta i obtenir-ne el valor de concentració de polifenols. La mostra s'ha diluït en els casos en què ha sortit de l'abast de la recta de calibratge.

3.2.3. Síntesi verda de nanopartícules de cobalt. Determinació de l'extracte més idoni per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.

Amb els quatre extractes vegetals que s'han escollit s'ha realitzat una prova per a veure quins són més efectius alhora de realitzar la síntesi verda de nanopartícules de cobalt. Per això, s'ha realitzat una bateria d'experiments amb diferents quantitats de cada extracte.

Primer de tot s'han preparat els extractes seguint la metodologia descrita en l'apartat 3.2.2. posant 12g de matèria vegetal per 300mL d'aigua miliQ, paral·lelament també s'ha preparat a solució 0,4M de clorur de cobalt hexahidrat.

Amb els reactius acabats de fer s'ha muntat la bateria d'experiments. Es preparen quatre tubs d'assaig per a cada extracte fent-ne un total de setze. Aquests tubs s'han posat en un bany termostàtic a 60°C i se'ls han introduït 3, 5, 7 i 9 mL d'extracte respectivament i 1mL de la solució de cobalt. Aquestes condicions de temperatura, concentració d'extracte i temps les hem definit a partir d'un article bibliogràfic que estudia l'efecte de la temperatura en la síntesi de nanopartícules de cobalt [Khodakarami, M. *et al.*, 2014] i condicionant-les a algunes proves prèvies realitzades. En la Figura 10 podem veure un esquema de com s'ha realitzat el muntatge dels tubs dins el bany amb les quantitats afegides de cada extracte. Tots els tubs han estat emplenats fins un volum total de 10mL amb aigua miliQ, excepte el de 9mL d'extracte que ja queda enrasat a aquest volum al afegir la solució de cobalt. Els tubs s'han agitat per afavorir el contacte i han estat dins el bany durant 20 minuts amb bombolleig de nitrogen.

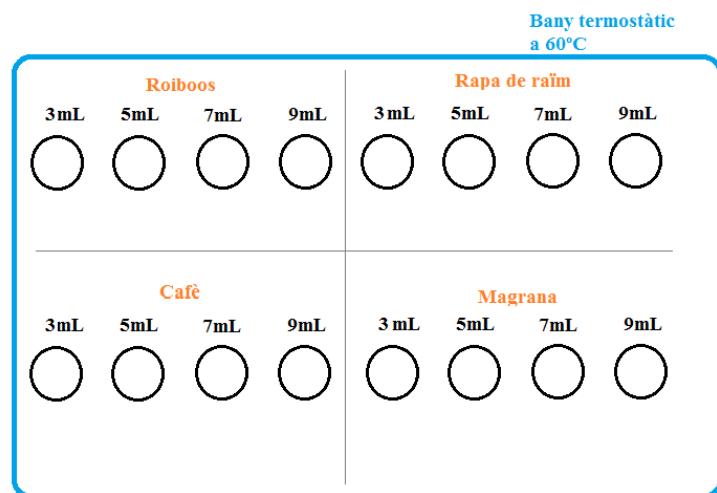


Figura 10. Esquema del muntatge realitzat per a dur a terme la síntesi verda de nanopartícules de cobalt amb diferents extractes vegetals.

Després dels 20 minuts de reacció les mostres s'han centrifugat a 5000rpm durant 5 minuts. Un cop centrifugades s'ha separat el sobrenedant del precipitat que s'ha resuspès en 15mL d'etanol a 98%. Posteriorment les mostres s'han guardat a la nevera per a la seva conservació. Les mostres obtingudes s'han caracteritzat mitjançant l'aparell DLS després de posar-se 15 minuts en un bany d'ultrasons.

3.2.4. Optimització de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant la metodologia de superfície de resposta

Per a la optimització de la síntesi verda de nanopartícules de cobalt utilitzarem la metodologia de superfície de resposta per tal d'ajustar el comportament del sistema a una funció quadràtica tal com s'explica en l'apartat de la introducció 1.4.

El mètode s'ha portat a terme per els dos extractes en que s'han obtingut nanopartícules segons els resultats de la determinació de l'extracte més idoni 4.3, que corresponen als extractes de: te roibos i rapa de raïm. S'ha dissenyat el model experimental partint d'uns valors centrals escollits a partir dels resultats obtinguts en proves prèvies de síntesi verda i els estudis previs de laboratori.

Les variables independents estudiades en la optimització seran tres: la relació estequiomètrica extracte/cobalt (X1), la temperatura de reacció(X2) i el temps de reacció(X3). Essent escollits com a valors centrals: 3mL d'extracte per 1mL de clorur de cobalt hexahidratat 0,4M, 60°C i 20 minuts de reacció. En els dos extractes s'han dissolt 1000mg/L de glucosa per augmentar el seu poder reductor.

A partir d'aquests valors s'ha realitzat un disseny factorial d'experiments anomenat CCI (Central Composite Inscribed) que es basa en un quadrat on el centre hi ha els valors centrals, llavors alineats amb les cares hi situem els valors extrems que definiran el rang, i en els vèrtex, els valors combinats anomenats α que definiran diferents nivells experimentals tal com es mostra en la Figura 11 representat amb una vista en planta.

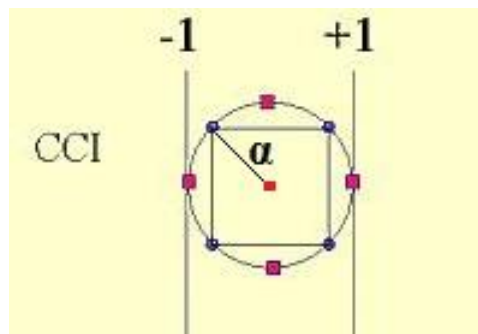


Figura 11. Representació gràfica en el pla del disseny experimental Central Composite Inscribed utilitzat per a la optimització de les condicions de síntesi de nanopartícules de cobalt.

Una vegada aplicat el disseny experimental per als nostres valors centrals, els valors del rang i els nivells experimentals per a cada variable queden definits com s'expressa en la Taula 1.

Taula 1. Valors que prenen per a cada rang i nivel les variables independents del sistema per a la realització del disseny d'experiments CCI.

Variables independents	Rang i nivells				
	-1	- α	0	+ α	+1
X1 Mil·lilitres d'extracte per mL de solució Co^{2+}	1	1,8	3	4,2	5
X2 Temperatura de reacció ($^{\circ}\text{C}$)	40	48	60	72	80
X3 Temps de reacció (min)	10	14	20	26	30

Amb els valors centrals, extrems i tots els nivells definits per a cada variable s'ha realitzat la combinació d'experiments segons el disseny experimental CCI i finalment han resultat 21 experiments on sis d'ells han estat repeticions del valor central. El detall de cadascun dels experiments juntament amb les repeticions de cadascun queden definits a la Taula 2.

Taula 2. Llistat dels 21 experiments realitzats per el disseny d'experimental CCI on consten en detall les repeticions i les condicions de cada experiment per a cada variable.

Experiment	Repeticions	mL extracte	Temperatura(°C)	Temps (min)
1	1	1,8	48	14
2	1	4,2	48	14
3	1	1,8	72	14
4	1	4,2	72	14
5	1	1,8	48	26
6	1	4,2	48	26
7	1	1,8	72	26
8	1	4,2	72	26
9	1	1	60	20
10	1	5	60	20
11	1	3	40	20
12	1	3	80	20
13	1	3	60	10
14	1	3	60	30
15	1	3	60	20
16-21	6	3	60	20

Tots aquests experiments s'han realitzat en un tub d'assaig enrassat amb aigua miliQ fins a 10mL, dins un bany termostàtic, i amb bombolleig de nitrogen per evitar l'atmosfera oxidant.

Paral·lelament amb l'extracte de rooibos i rapa de raïm s'han realitzat els experiments en bateries segons la temperatura de reacció, ja que només disposàvem d'un bany. La metodologia ha estat estrictament igual per a tots els experiments.

Primer de tot amb el bany a temperatura i els tubs d'assaigs nets i numerats, s'ha afegit amb micro-pipeta la quantitat indicada de extracte (acabat de descongelar) i d'aigua miliQ. Immediatament els tubs amb contingut líquid s'han portat al bombolleig constant de nitrogen mitjançant tubs capil·lars. S'ha tapat cada tub amb paper para-film amb un forat per a la sortida de nitrogen i l'entrada de la solució de cobalt. S'ha esperat cada vegada 10 minuts amb el muntatge en aquestes condicions per tal d'assegurar que dins cada tub la atmosfera de nitrogen fos complerta i la temperatura de tots els tubs fos homogènia. Un cop transcorregut aquest temps s'ha afegit amb micro-pipeta 1mL de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,4M i s'ha posat en marxa el cronòmetre. Llavors

s'han preparat al costat del bany diferents recipients plens de gel per a posar els tubs un cop acabada la reacció.

Acabat el temps de reacció indicat per a cada experiment, s'ha retirat el tub corresponent del bany i s'ha introduït immediatament dins el recipient amb gel per a la posterior centrifugació a 5000rpm durant 5 minuts. Després de la centrifugació s'han guardat en tubs enumerats el sobrenedant de cada experiment i el precipitat obtingut de la centrifugació s'ha resuspès en 15mL d'etanol al 98%. Tant el sobrenedant com el precipitat obtingut de cada experiment s'ha guardat correctament identificat dins la nevera per a la seva conservació. A la Figura 12 es mostra el muntatge utilitzat per al disseny d'experiments.



Figura 12. Muntatge dels experiments portats a terme per al disseny experimental CCI. S'observa els capilars de bombolleg de nitrogen i el bany termostàtic.

Llavors s'han analitzat les mostres amb l'aparell DLS per determinar la mida de les partícules presents en cadascuna de les suspensions. Els valors de mida de partícula s'han introduït al model matemàtic per determinar la correlació estadística de les dades obtingudes i crear-ne una funció que s'ajusti al comportament del sistema.

Per avaluar la síntesi de nanopartícules de cobalt també s'han analitzat els reactius i els productes per DLS i també s'han assecat al forn durant 24h a 50°C els precipitats obtinguts dels experiments centrals per a analitzar-los per XRD i determinar la naturalesa de la molècula de cobalt obtinguda. Com a prova definitiva s'ha analitzat per STEM el sobrenedant del producte sintetitzat seguint els valors centrals del model per tal d'obtenir-ne una imatge.

4. Resultats

4.1. Síntesi i caracterització de nanopartícules de cobalt per mètodes convencionals

a) Síntesi mitjançant borohidruir sòdic com a agent reductor

A continuació en la Taula 3 es mostren els valors de diàmetre de partícula obtinguts amb DLS dels precipitats i sobrenedant obtingut en els quatre experiments realitzats de síntesi convencional variant la concentració d'àcid cítric emprat en la reacció com a agent estabilitzant. Les mostres s'han analitzat tres vegades per a assegurar l'estabilitat de les nanopartícules i es dona una mitjana de les lectures un cop són estables. Abans de realitzar la mesura s'han posat les mostres en un bany d'ultrasons.

Taula 3. Resultats de la síntesi convencional de nanopartícules de cobalt emprant el mètode 3.2.1.a) variant la concentració d'àcid cítric. El temps de reacció ha estat de 15minuts, la concentració de clorur de cobalt 0,4M i la de borohidruir sòdic 4,45mM.

EXPERIMENT	[C ₆ H ₅ O ₇ H ₃ ·H ₂ O] (mM)	Ø _m partícula (nm)	
		Sobrenedant	Precipitat
1	0,034	107,1	793,3
2	0,055	171,6	371,5
3	0,200	127,7	187,5
4	0,590	145,7	408,8

Com podem observar en la Taula 3 la mida de partícula obtinguda no varia significativament amb la variació de la concentració d'àcid cítric. S'obtenen en tots els casos nanopartícules d'una mida compresa entre els 100 i 200 nm que corresponen a les més petites que s'han sintetitzat, que tot hi centrifugar el producte de la reacció queden suspeses amb facilitat en la fase líquida al realitzar la decantació després del centrifugat. Per això donem més importància a les mesures obtingudes del precipitat ja que és allà on es concentra més del 90% del producte obtingut de color negre.

En aquest cas veiem com al afegir més àcid cítric s'obtenen nanopartícules més petites. Això es deu a que al ser el reactiu que aporta caràcter estabilitzant encapsula les partícules formades després de la reducció amb més o menys capacitat depenent de la seva concentració. Com més quantitat d'àcid permet encapsular més grups de partícules formant nanopartícules més petites, per tant si la concentració de cobalt és la mateixa i l'àcid hi és amb menys concentració encapsula menys grups de partícules i llavors la mida resultant de la nanopartícula formada és major.

Tot i això veiem que quan la concentració d'àcid cítric és molt elevada la mida obtinguda torna a ser més gran. Això s'explica perquè l'àcid cítric és molt reactiu i quan

la concentració és elevada, superior a 0,2mM, al posar-se en contacte amb el borohidrur sòdic reacciona en part. Aquesta reacció precoç es detecta al preparar la solució on s'observa la formació d'efervescència dins del matràs aforat quan s'introdueix l'àcid cítric juntament amb el borohidrur sòdic. Per això, la concentració d'àcid efectiva durant la reacció és menor i es generen nanopartícules més grans.

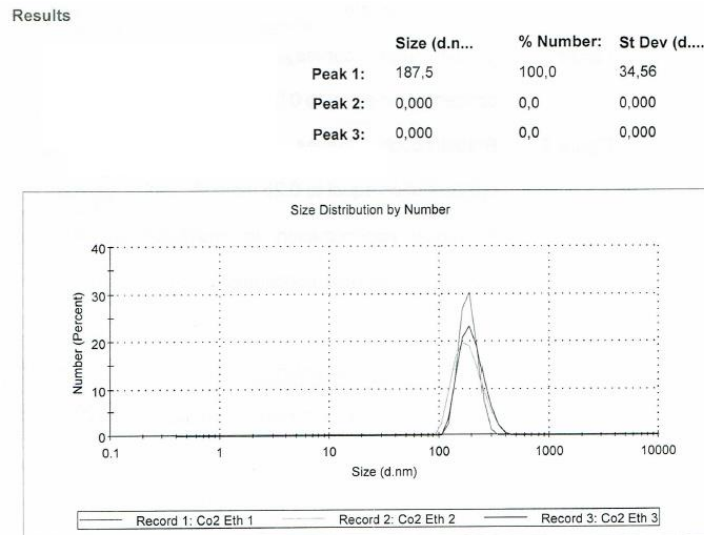


Figura 13. Resultat de la distribució de mida de partícula segons nombre. S'ha analitzat amb l'equip DLS ZEN3600 Malvern.

En la Figura 13 es mostra el gràfic de la distribució de la mida de partícula segons nombre que s'obté de l'aparell DLS, en aquest cas és resultat de l'experiment número 3 de la Taula 3.

La distribució de mida de nanopartícula més petita pel precipitat que s'ha aconseguit mitjançant aquest mètode ha estat de 187,5 nm amb les següents condicions de reacció:

- $[\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}] = 0,4\text{M}$
- $[\text{NaBH}_4] = 4,45\text{mM}$
- $[\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{H}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}] = 0,2 \text{ mM}$
- $t = 15 \text{ minuts}$

Les partícules de cobalt obtingudes, de color gris molt fosc, han estat sotmeses a un imant per a veure si presentaven magnetisme. Efectivament les partícules visibles de major mida, segueixen el moviment de l'imant. Aquest fet indica la formació de cobalt metàl·lic (Co^0) tal com s'esperava seguint la bibliografia, de manera que aquest mètode s'ha validat com un mètode per a l'obtenció de nanopartícules de cobalt del que podem partir per a realitzar la substitució dels reactius per reactius naturals i aconseguir la síntesi verda.

Per a comprovar-ne l'obtenció, la mostra ha estat introduïda al forn a 50°C durant un dia per a obtenir un sòlid per a l'anàlisi amb raigs X, i una part de la mostra s'ha conservat en la resuspensió en etanol per analitzar amb STEM i obtenir una imatge de les nanopartícules sintetitzades.

En la Figura 14 es mostra el gràfic obtingut de l'anàlisi amb XRD, on s'identifica l'espècie com a òxid de cobalt (Co_3O_4). La mostra magnètica obtinguda, al passar per el forn per obtenir-ne un sòlid s'ha oxidat i ha perdut el magnetisme d'aquí a que s'obtingui l'òxid. Tot i així, l'obtenció d'òxid ens indica que s'ha produït una transformació dels ions de cobalt que estaven dissolts inicialment.

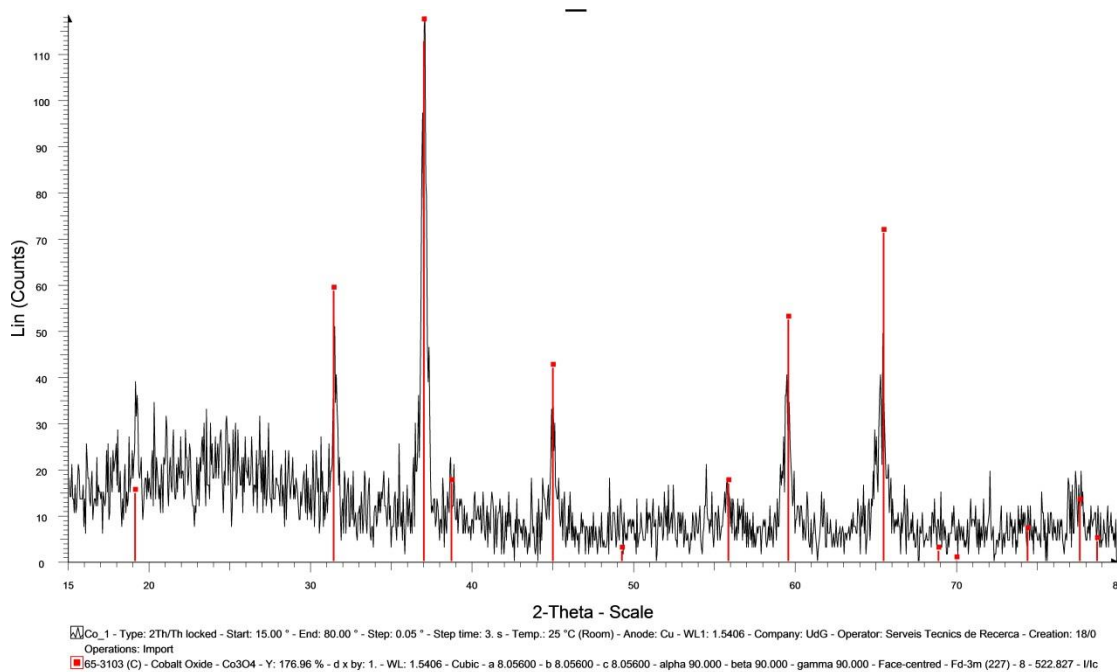


Figura 14. XRD del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant borohidruir sòdic i àcid cítric, juntament amb el patró d'òxid de cobalt (línees de color vermell)

Finalment en la Figura 15 es mostra la imatge obtinguda amb STEM de les nanopartícules de cobalt obtingudes emprant aquest mètode. En la figura s'observa com la mida de partícula obtinguda realment concorda amb la distribució obtinguda amb l'aparell DLS d'una mida a l'entorn de 187nm. Aquest resultat també ens permet validar la tècnica DLS com una tècnica fiable a l'hora de determinar la mida de partícula.

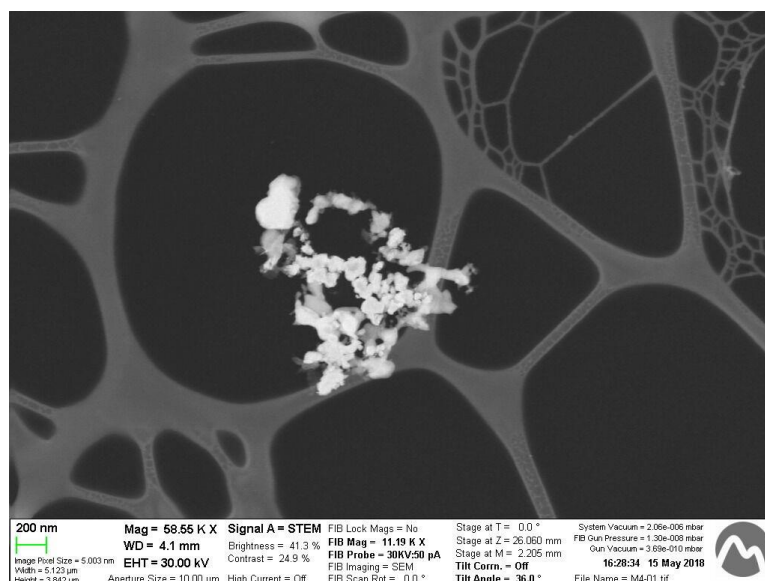


Figura 15. Imatges obtingudes per STEM de les nanopartícules de cobalt sintetitzades emprant borohidruir sòdic i àcid cítric.

b) Síntesi mitjançant hidrazina com agent reductor

S'ha seguit la metodologia descrita per Guo, F. *et al.* [2002] i els canvis descrits s'han produït correctament, però l'última etapa on apareix un precipitat de cobalt de color gris, no s'ha aconseguit. Per aquest motiu i per la perillositat del mètode, la manca de recursos per a realitzar el mètode de manera repetitiva, i la dificultat de la substitució de la hidrazina per un reactiu verd s'ha descartat aquest mètode per a utilitzar-lo de base en la síntesi verda.

4.2. Determinació de polifenols d'extractes vegetals

S'ha determinat el contingut total de polifenols (CTPF) dels extractes estudiats seguint el mètode de Folin-Ciocalteu explicat en l'apartat 3.2.2. Tots els extractes s'han preparat en una proporció de 6g de matèria vegetal per 100mL d'aigua independentment de la quantitat d'extracte preparat.

S'han mesurat els valors d'absorbància obtinguts pels patrons d'àcid gàl·lic per a realitzar la recta de calibratge. Llavors s'han pres els valors d'absorbància de les mostres dissoltes 1/3 ja que el valor de les mostres sense diluir superava considerablement el rang de la recta de calibratge. En la Taula 4 es mostren els valors d'absorbància obtinguts amb l'espectrofotòmetre per totes les mostres mesurades a 760nm.

Taula 4. Valors d'absorbància de les mostres obtinguts amb l'espectrofotòmetre a 760nm per a la determinació de la concentració de polifenols dels extractes.

Mostres	Absorbància
Mostra cafè 1/3	1,303
Mostra rooibos 1/3	1,177
Mostra rapa de raïm 1/3	0,756
Mostra pell de magrana 1/3	0,808

Amb els valors obtinguts d'absorbància dels patrons s'ha obtingut la següent recta de calibratge: $[CTPF](mg/L) = 1,7 + 633,39Abs$; $r^2=0,987$. I a partir de la recta, amb els valors d'absorbància dels extractes i el factor de dilució podem determinar el contingut de polifenols total per a cada extracte. En la Taula 5 es mostra el contingut total de polifenols per a cada extracte realitzat.

Taula 5. Contingut total de polifenols expressats en mg/L dels extractes utilitzats en el transcurs del treball.

Extracte	Contingut total de polifenols (mg/L)
Cafè	2480,6
Rooibos	2242,0
Rapa de raïm	1440,9
Pell de magrana	1540,2

En la Taula 5 podem observar que l'extracte més ric en polifenols és l'extracte de cafè, seguit de l'extracte de te rooibos, i que l'extracte amb menys contingut polifenòlic és el de rapa de raïm. Observem també que l'extracte de magrana, escollit per la coneixença de que és un dels fruits amb més alt contingut polifenòlic [Bibi, I. *et al.*, 2017], també té un valor baix de polifenols comparat amb el te rooibos i el cafè.

En la Figura 16 es mostren els espectres obtinguts amb un espectrofotòmetre UV-Visible dels extractes utilitzats en la síntesi de nanopartícules de cobalt (rooibos i rapa de raïm) diluïts deu vegades. L'espectre permet veure com els extractes tenen una absorbància molt gran en la zona de matèria orgànica (200-350nm) corresponent als polifenols i que el valor d'absorbància pel te rooibos és major que amb la rapa tal com indiquen els resultats de la determinació de polifenols.

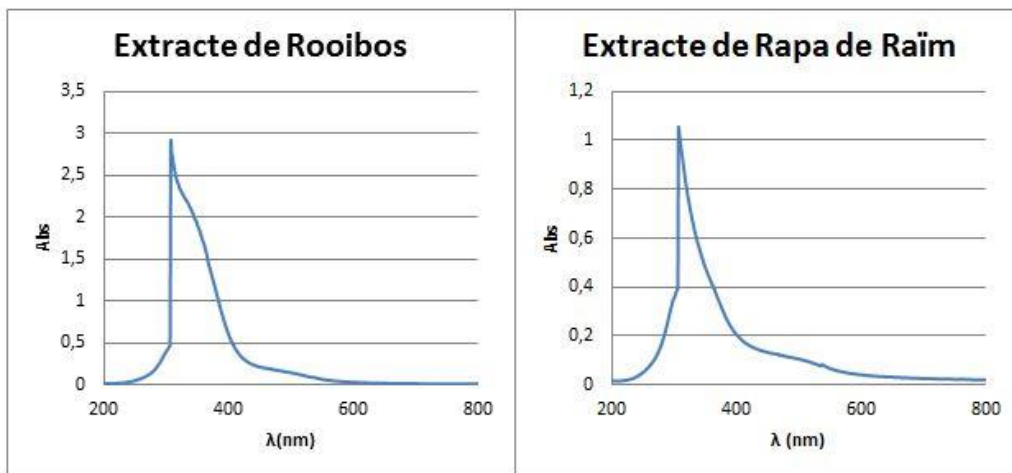


Figura 16. Espectres UV-Vis dels extractes utilitzats en la síntesi de nanopartícules de cobalt.

4.3. Síntesi verda de nanopartícules de cobalt. Determinació de l'extracte més idoni per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.

Realitzada la bateria d'experiments per a els quatre extractes vegetals utilitzats, s'han analitzat les mostres amb l'aparell DLS per a verificar que s'ha produït la síntesi de nanopartícules de cobalt. S'han analitzat el sobrenedant de cada mostra com a mostra representativa ja que s'ha dipositat una gran quantitat de matèria orgànica de l'extracte en la part del precipitat que podria dificultar la correcta mesura amb l'aparell DLS.

Les mostres han estat analitzades després de 15 minuts de bany amb ultrasons i cada mostra s'ha analitzat tres vegades amb l'aparell per assegurar-ne la seva estabilitat. A continuació en la Taula 6 es mostren els resultats obtinguts per a la bateria d'experiments.

Taula 6. Resultats de la bateria d'experiments realitzada per a l'elecció de l'extracte idoni per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.

Extracte	mL d'extracte	NANOPARTÍCULES
Cafè (<i>Coffea</i>)	3	NO
	5	
	7	
	9	
Tè rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>)	3	SI (142nm)
	5	SI (297nm)
	7	SI (406nm)
	9	SI (550nm)
Rapa de raïm (<i>Vitis vinifera</i>)	3	SI (487nm)
	5	SI (1078nm)
	7	NO
	9	NO
Magrana (<i>Punica granatum</i>)	3	NO
	5	
	7	
	9	

Segons l'experimentació realitzada observem que en els únics casos que hem aconseguit sintetitzar nanopartícules de cobalt ha estat quan hem emprat l'extracte de tè rooibos (*Aspalathus linearis*) i l'extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*). Tot i així les partícules obtingudes són d'una mida molt gran per ser considerades nanopartícules.

Tot i això, els resultats de la Taula 6 ens indiquen que els únics extractes que han aconseguit sintetitzar nanopartícules de cobalt són el de tè rooibos i el de rapa de raïm, que conseqüentment és el que té menys contingut polifenòlic. En canvi el més ric en polifenols, el cafè, no ha aconseguit sintetitzar nanopartícules de cobalt.

Això ens indica que el contingut total de polifenols no és el paràmetre més determinant alhora d'escollir l'extracte a utilitzar. Independentment de la concentració de polifenols el que té caràcter determinant per a la síntesi de nanopartícules és la naturalesa dels polifenols, ja que n'hi ha una gran varietat dins els extractes vegetals, i alguns vegetals contenen tipus de polifenols diferents que poden o no actuar com agents reductors i estabilitzants en el cas de la síntesi de cobalt. Els polifenols es divideixen en 4 grans grups segons la seva naturalesa: els tanins, els àcids fenòlics, els flavonoides i els lignans. Cadascun del tipus de polifenols tenen propietats diferents i es troben en diferents vegetals amb més i menys quantitat [Quiñones M. *et al.*, 2012], de manera que per a la síntesi de nanopartícules de cobalt, alguns són més efectius que altres.

El cafè i la magrana, són molt rics en els polifenols antioxidants, que són els àcids fenòlics [Ramirez-Martinez, J.R., 1988]; [Hmid, I. *et al.*, 2017], en canvi, el principal grup de polifenols que contenen el te rooibos entre altres tes i la rapa de raïm són els flavonoides [Beelders, T. *et al.*, 2012]; [Souquet, J.M. *et al.*, 2000]. De manera que, basant-nos amb els resultats de l'apartat de la Taula 6 semblen indicar que són els flavonoides els que són útils per a la síntesi de nanopartícules de cobalt.

Tot i així, les nanopartícules obtingudes són d'una mida bastant gran i en el cas de la rapa de raïm no s'han sintetitzat en tots els casos. Arrel d'això, s'ha decidit augmentar el contingut de sucres reductors de l'extracte afegint 1000mg/L de glucosa als extractes a l'hora de realitzar la optimització de la síntesi.

A partir d'aquests resultats es descarta utilitzar l'extracte de cafè i de pell de magrana per a realitzar la síntesi verda de nanopartícules de cobalt, i es procedirà a la optimització de la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos i de rapa de raïm ja que són els que han aconseguit sintetitzar partícules de cobalt.

4.4. Optimització de la síntesi verda de nanopartícules de cobalt

Per a la optimització de la síntesi verda de nanopartícules de cobalt s'ha portat a terme el disseny d'experiments mostrat en l'apartat 3.2.4, per poder tractar les dades mitjançant la metodologia de superfície de resposta i poder ajustar el comportament del sistema a una equació matemàtica.

S'ha analitzat el sobrenedant obtingut a cada experiment mitjançant l'aparell DLS. Aquestes mostres s'han analitzat després d'estar en un bany d'ultrasons 15 minuts. S'han realitzat tres mesures per a cada mostra per assegurar-ne la seva estabilitat.

A la Taula 7 es mostren els resultats de mida de partícula obtinguts del disseny experimental CCI realitzat per a l'extracte de te rooibos (*Aspalathus linearis*).

Taula 7. Valors de mida de partícula obtinguts en les condicions experimentals del disseny CCI per a l'optimització de la síntesi verda utilitzant extracte de te rooibos (*Aspalathus linearis*)

Experiment	CONDICIONS EXPERIMENTALS			Mida de partícula (nm)
	X1 mL extracte	X2 Temperatura(°C)	X3 Temps (min)	
1	1,8	48	14	0,667
2	4,2	48	14	2,631
3	1,8	72	14	2,483
4	4,2	72	14	1,867
5	1,8	48	26	0,726
6	4,2	48	26	3,456
7	1,8	72	26	2,693
8	4,2	72	26	2,296
9	1	60	20	1,285
10	5	60	20	1,815
11	3	40	20	1,786
12	3	80	20	2,497
13	3	60	10	3,701
14	3	60	30	3,052
15	3	60	20	1,798
16	3	60	20	1,366
17				2,252
18				2,362
19				2,373
20				1,631
21				2,133

Paral·lelament s'ha realitzat el mateix disseny experimental per a l'extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*). El procediment seguit ha estat el mateix que en el cas anterior, i de la mateixa manera el sobrenedant obtingut de cada experiment ha estat analitzat amb l'aparell DLS després de romandre 15 minuts en un bany d'ultrasons. Les mostres han estat analitzades 3 vegades per assegurar-ne la seva estabilitat.

A continuació en la Taula 8 es presenten els resultats de mida de partícula obtinguts amb l'aparell DLS per les mostres del disseny experimental de la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant rapa de raïm (*Vitis vinifera*).

Taula 8. Valors de mida de partícula obtinguts en les condicions experimentals del disseny CCI per a l'optimització de la síntesi verda de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*)

Experiment	CONDICIONS EXPERIMENTALS			Mida de partícula (nm)
	X1 mL extracte	X2 Temperatura(°C)	X3 Temps (min)	
1	1,8	48	14	1,253
2	4,2	48	14	90,19
3	1,8	72	14	2,383
4	4,2	72	14	12,83
5	1,8	48	26	0,637
6	4,2	48	26	93,84
7	1,8	72	26	5,011
8	4,2	72	26	79,55
9	1	60	20	4,745
10	5	60	20	66,25
11	3	40	20	2,328
12	3	80	20	2,312
13	3	60	10	82,95
14	3	60	30	84,43
15	3	60	20	81,78
16	3	60	20	83,12
17				86,47
18				81,36
19				96,23
20				82,19
21				90,74

Les dades obtingudes en els dos dissenys experimentals han estat processades per una funció del Matlab anomenada "stepwiselm".

Aquesta funció de Matlab utilitza una regressió avançada per a determinar un model final ajustat a una funció quadràtica com la que es mostra en l'apartat 3.2.4. Aquesta funció utilitza eines estadístiques com el p-valor per a determinar quins termes de l'equació tenen pes estadístic i quins no, els termes amb un p-valor major de 0,05 es consideren no determinants. D'aquesta manera, provant diferents models de funcions quadràtiques i minimitzant l'error, acaba ajustant a una funció el comportament del sistema estudiat.

Processades les dades amb el Matlab hem aconseguit una funció quadràtica que s'ajusta al sistema de síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te roibos (*Aspalathus linearis*). En la Taula 9 es mostren els valors de les constants de la funció obtingudes amb el Matlab.

Taula 9. Valors de les constants de la funció quadràtica que defineix el sistema de síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de te roibos (*Aspalathus linearis*)

	Valor estimat	SE	t-stat	p-valor
β_0	-5,4753	2,2424	-2,4417	2,849E-02
β_1	4,1614	0,7232	5,7538	4,991E-05
β_2	0,1670	0,0302	5,5360	7,336E-05
β_3	-0,4824	0,1151	-4,1917	9,049E-04
β_{12}	-0,0494	0,0096	-5,1434	1,493E-04
β_{11}	-0,1518	0,0711	-2,1363	5,000E-02
β_{33}	0,0122	0,0028	4,2893	7,489E-04

Quedant finalment el model del sistema de la següent forma:

$$\phi_p (nm) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{33} x_3^2$$

Obtinguts els valors de les constants, podem construir la funció matemàtica que descriu el sistema. De manera que podem estudiar el sistema i determinar quines són les variables que més li afecten.

Amb el software Matlab podem representar gràficament la forma del sistema, obtenint diferents distribucions de mida de partícula en tres dimensions, de manera que podem analitzar més fàcilment el sistema observant la forma que pren aquest i localitzant els seus mínims, és a dir les condicions de síntesi de nanopartícules de cobalt més petites.

S'ha introduït la funció en el Matlab i s'han obtingut les següents gràfiques tridimensionals per a l'estudi del sistema (Figura 17, Figura 18, Figura 19). En totes les gràfiques es mostra la mida de partícula a depenent de dues de les variables, considerant-ne una constant.

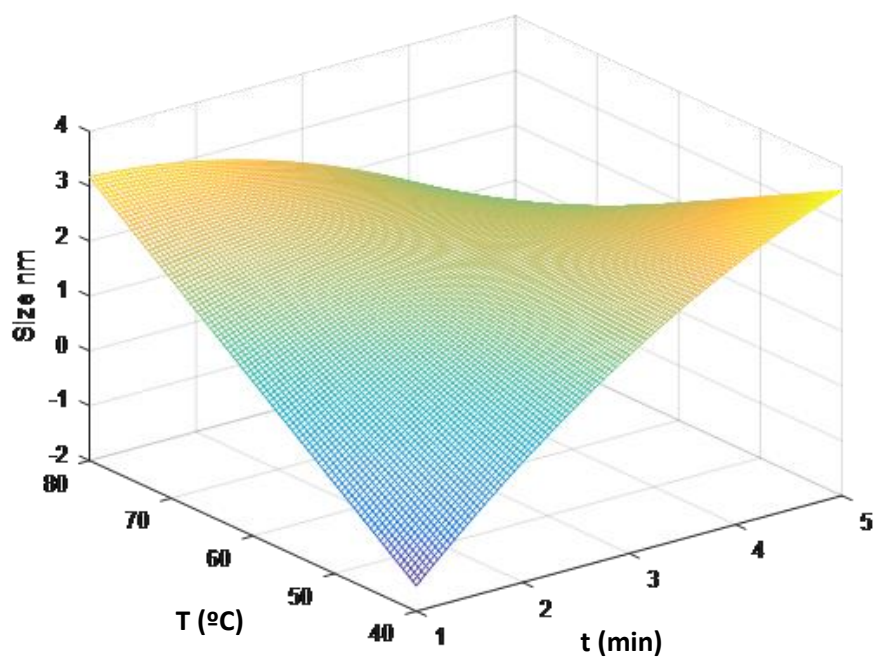


Figura 17. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temperatura de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (*Aspalathus linearis*)

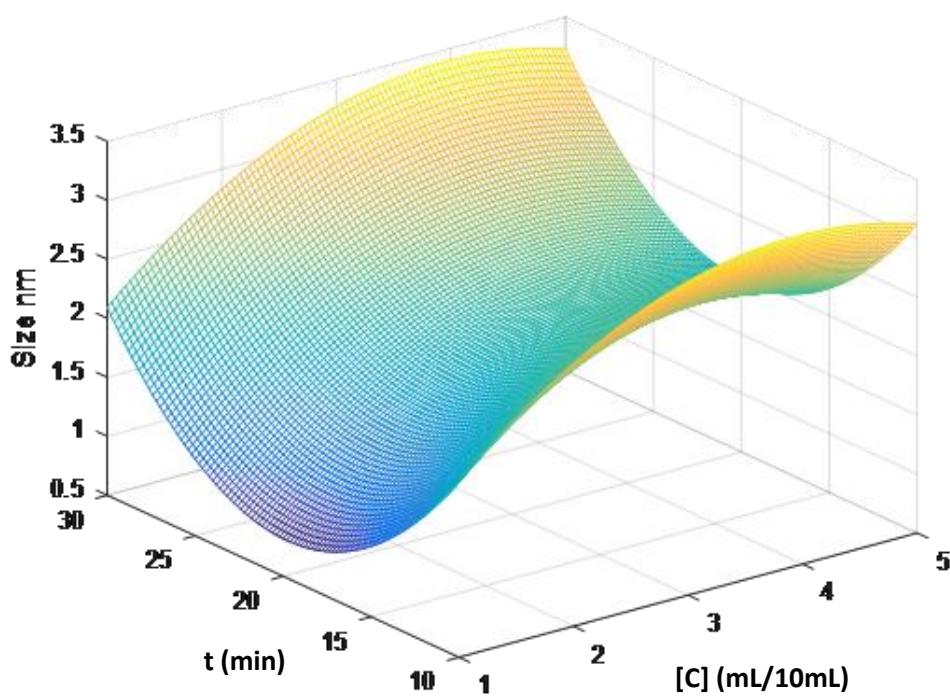


Figura 18. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (*Aspalathus linearis*).

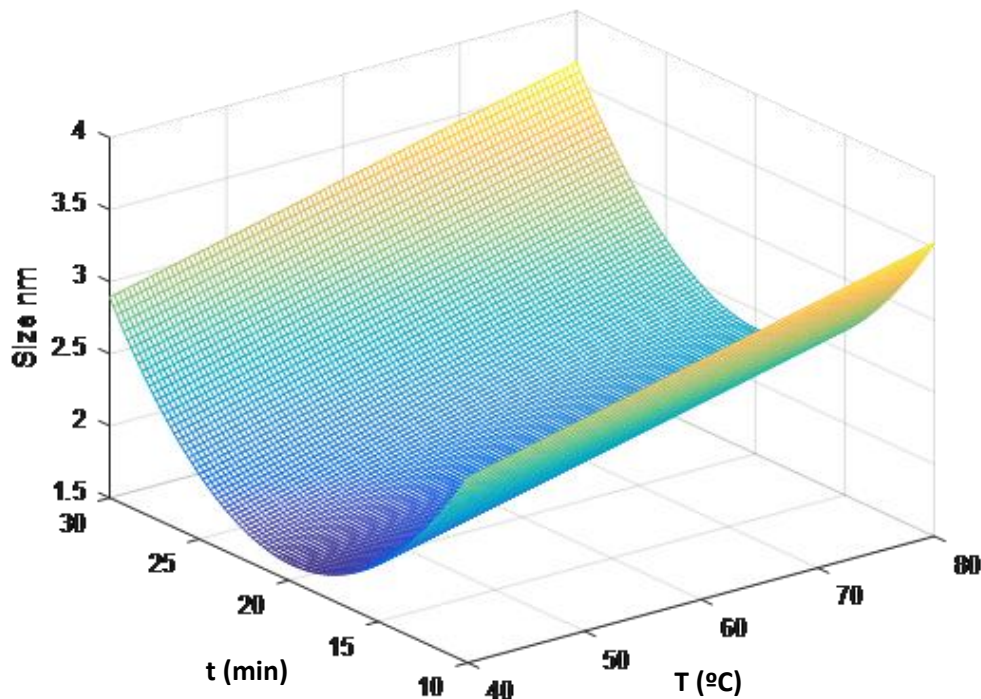


Figura 19. Distribució de la mida de partícula segons temperatura de reacció i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (*Aspalathus linearis*)

Analitzant el sistema de la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de te rooibos (*Aspalathus linearis*). Observem com la mida de partícula obtinguda en tots els casos és molt petita, al voltant de 2nm de mida.

En la Figura 17 podem veure com el sistema té una forma de sella de muntar, on la mida de partícula mínima s'obté quan la temperatura i la concentració d'extracte és més baixa. En la Figura 19 es corrobora l'afirmació de que les variables de concentració i temperatura han de ser baixes per a la mida de partícula mínima, i a més en la Figura 18 s'observa com la mida de partícula té un mínim respecte la variable del temps de reacció a 20 minuts.

Aquests resultats juntament amb els valors numèrics de l'equació obtinguda, confirmen que la variable que més influeix en la mida de partícula és la concentració d'extracte, seguida del temps de reacció i la temperatura. De manera que l'augment de la concentració d'extracte utilitzat en la síntesi és el que pot provocar l'obtenció de partícules de mida més gran. I que per un temps diferent al mínim trobat també podem obtenir una mida de partícula major que el desitjat.

Les mostres obtingudes en els valors centrals, amb valors de mida de partícula entre 2 i 3 nm s'han analitzat per STEM i una part s'ha posat al forn durant un dia a 60°C de temperatura per a obtenir un sòlid per analitzar amb XRD.

En la Figura 20 es mostra l'espectre obtingut de l'anàlisi amb raigs X d'un dels precipitats obtinguts durant la síntesi de nanopartícules amb rooibos. Els resultats indiquen que els compostos majoritaris que formen el precipitat són clorurs de cobalt i no s'observa presència de cobalt metàl·lic ni òxid de cobalt. Per tant l'extracte de

rooibos (*Aspalathus linearis*) no té prou poder reductor per a reduir la sal de clorur de cobalt que es troba en el precipitat, però pel que si és adequat, i amb molt bons resultats, és actuar com agent nucleador i estabilitzant, de manera que s'han obtingut nanopartícules de cobalt de mida molt petita a l'entorn de 2nm.

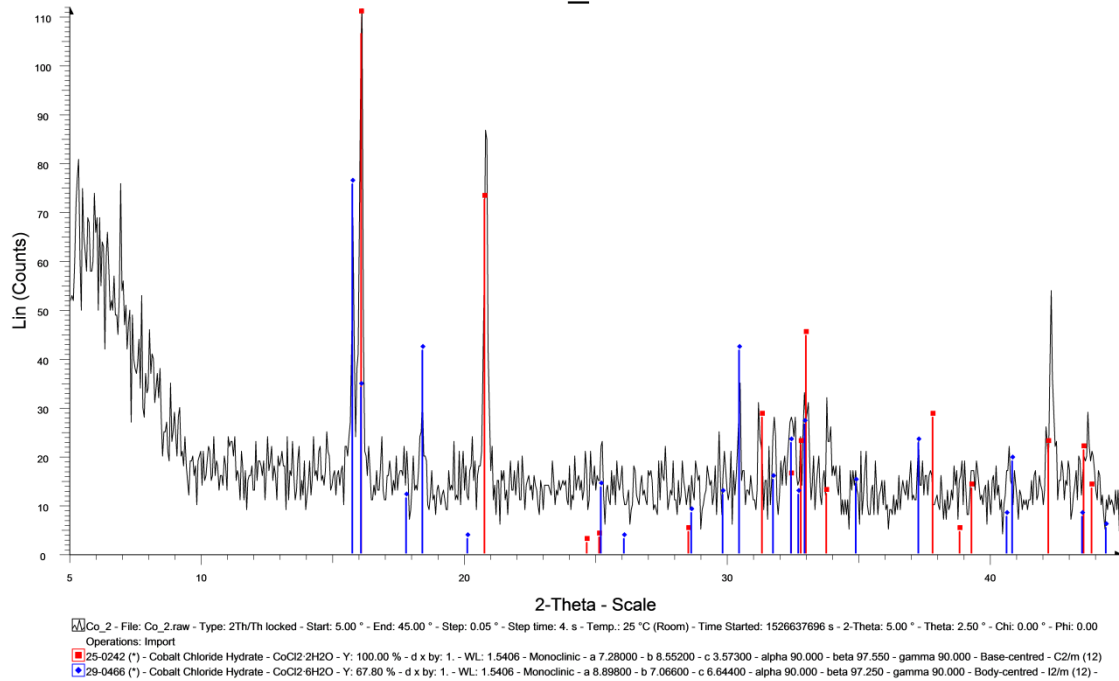


Figura 21. XRD obtingut del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rooibos (*Aspalathus linearis*), juntament amb patrons de clorur de cobalt.

En la Figura 21 podem veure els bons resultats obtinguts amb aquest extracte on es mostra la distribució de partícula obtinguda amb DLS de 2,285 nm.

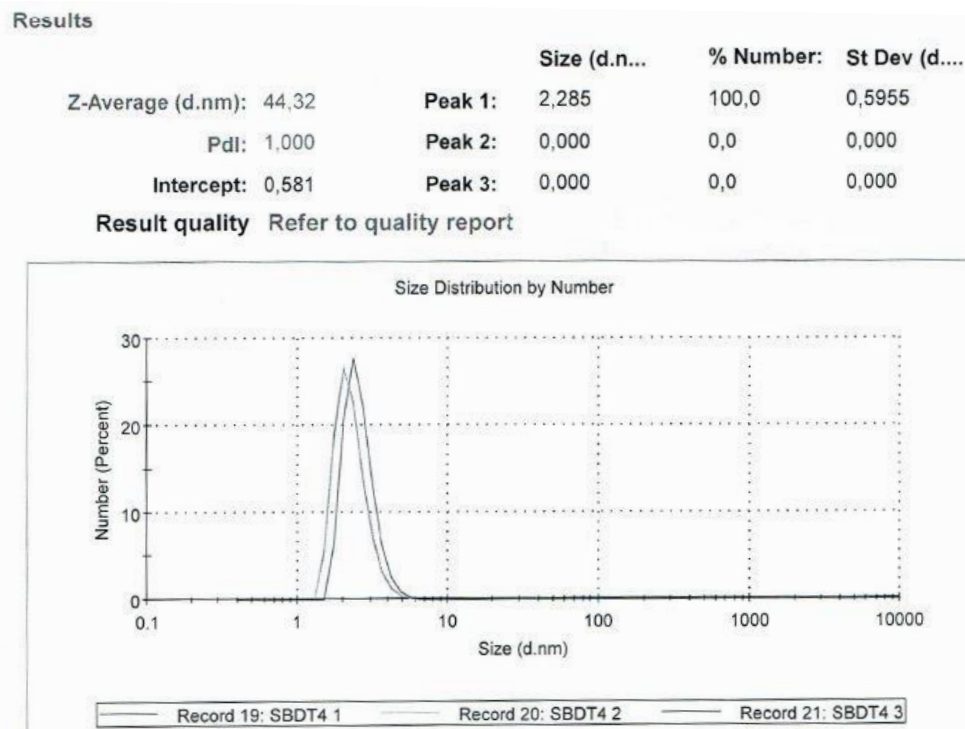


Figura 20. Distribució de mida de partícula segons nombre obtinguda amb DLS per el producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt amb extracte de rooibos (*Aspalathus linearis*).

En la Figura 22 es mostren les imatges de les nanopartícules de cobalt obtingudes de mides entre 2 i 3nm que corroboren la mesura realitzada amb DLS.

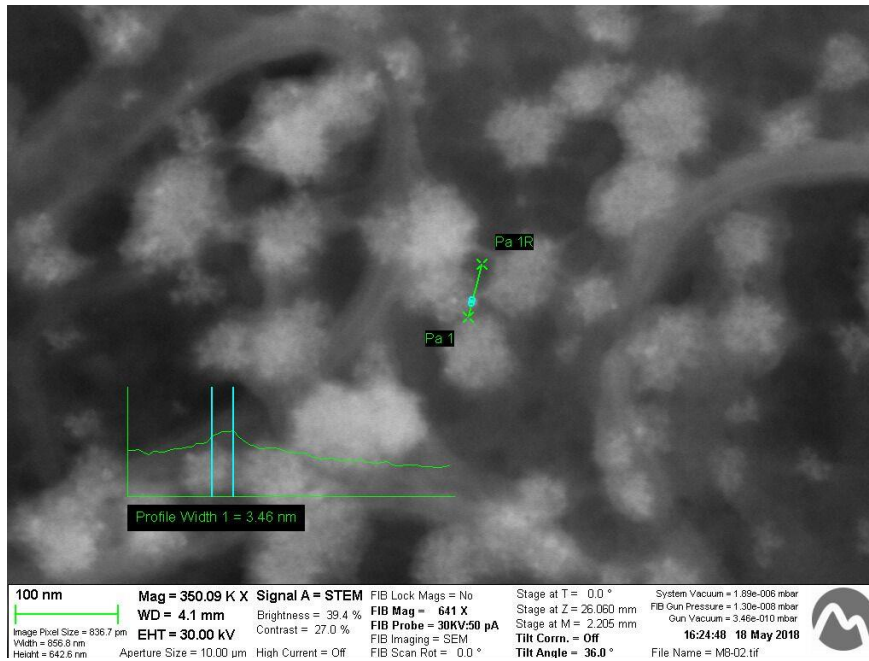


Figura 22. Imatge obtinguda per STEM del producte obtingut en la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de te roibos (*Aspalathus linearis*).

L'extracte de roibos és molt bon agent nucleador i estabilitzant que ens ha permès sintetitzar nanopartícules de cobalt d'una mida de partícula menor a 5nm.

Les dades per el disseny experimental emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*) també s'han processat de la mateixa manera, obtenint una distribució que s'ajusta a una funció quadràtica. A la Taula 10 es mostren els valors de les constants que donen forma a la funció quadràtica que descriu el sistema de síntesi de nanopartícules de cobalt emprant rapa de raïm.

Taula 10. Valors de les constants de la funció quadràtica que defineix el sistema de síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*)

	Valor estimat	SE	t-stat	p-valor
β_0	-791,37	134,6168	-5,8786	7,496E-05
β_1	127,22	26,8756	4,7335	4,856E-04
β_2	25,21	3,2249	7,8164	4,765E-06
β_3	-9,791	4,2812	-2,2869	4,116E-02
β_{12}	-0,8376	0,3159	-2,6517	2,111E-02
β_{13}	1,1938	0,6318	1,8895	8,322E-02
β_{23}	0,1192	0,0632	1,8864	8,367E-02
β_{11}	-13,010	2,3348	-5,5725	1,213E-04
β_{22}	-0,2132	0,0233	-9,1315	9,470E-07

Quedant finalment el model del sistema de la següent forma:

$$\begin{aligned} \phi_p \text{ (nm)} = & \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 \\ & + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 \end{aligned}$$

Obtinguts els valors de les constants, podem construir la funció matemàtica que descriu el sistema. De manera que podem estudiar el sistema i determinar quines són les variables que més li afecten.

Igual que amb les dades anteriors, s'ha introduït la funció en el Matlab i s'han obtingut les següents gràfiques tridimensionals per a l'estudi del sistema (Figura 23, Figura 24, Figura 25). En totes les gràfiques es mostra la mida de partícula a depenent de dues de les variables, considerant-ne una constant.

Pels valors de les constants de l'equació podem veure com el que més influeix en la mida de partícula és la concentració d'extracte seguit de la temperatura de reacció. De manera que al utilitzar una baixa concentració d'extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*) i realitzant la síntesi a una temperatura baixa, s'obtenen les nanopartícules més petites.

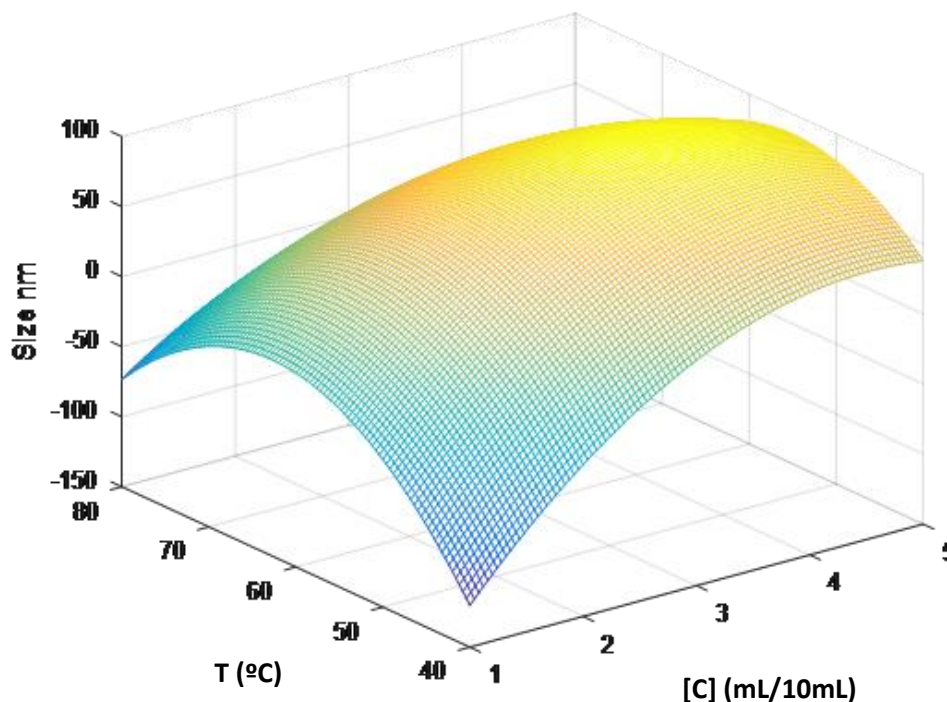


Figura 23. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temperatura de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*)

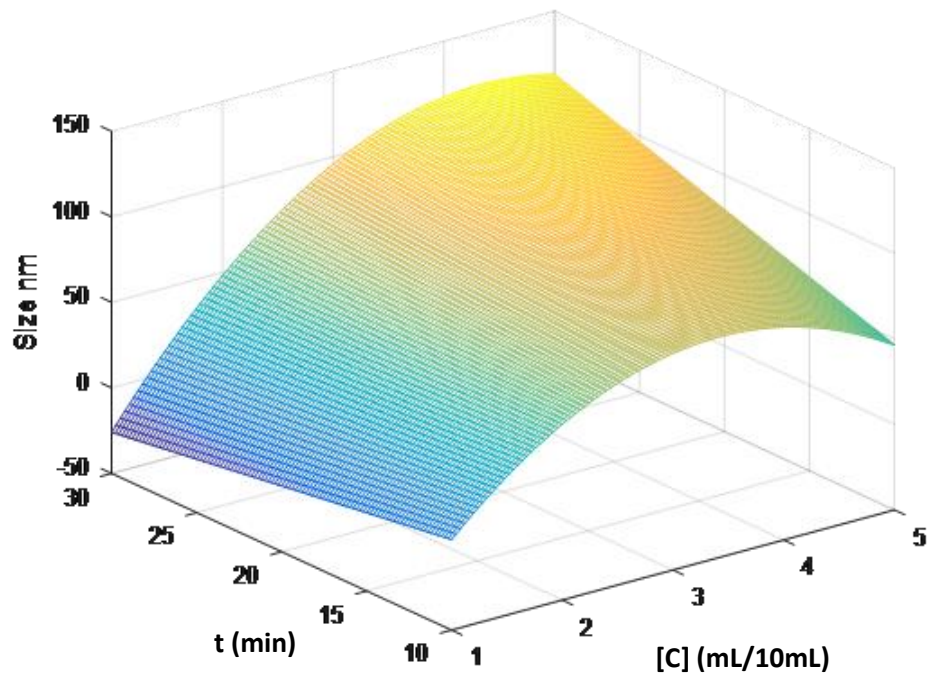


Figura 24. Distribució de la mida de partícula segons concentració d'extracte i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*)

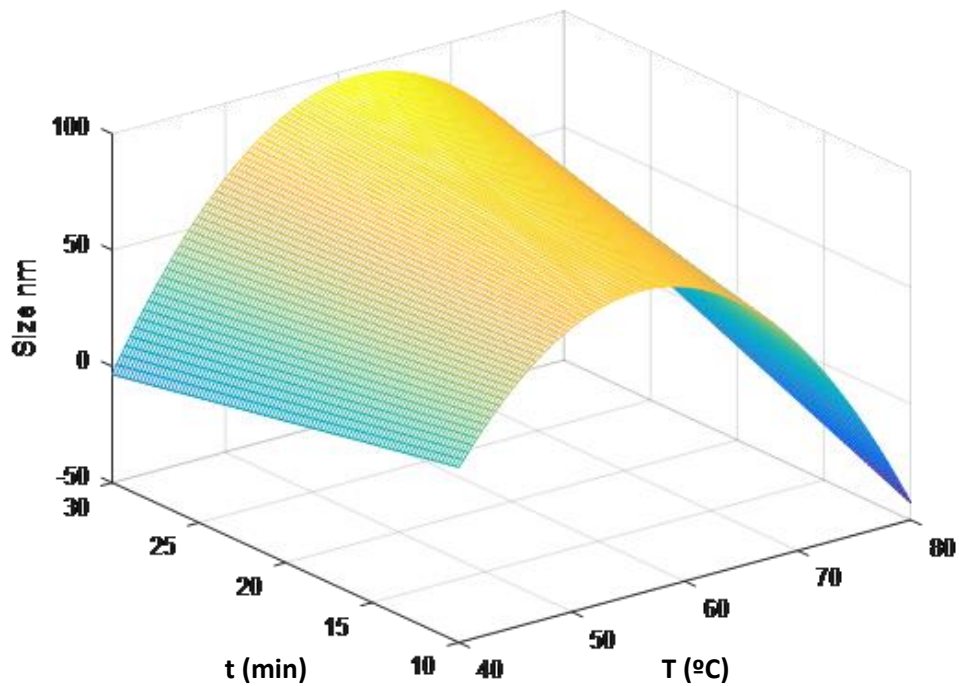


Figura 25. Distribució de la mida de partícula segons temperatura de reacció i temps de reacció per a la síntesi de nanopartícules de cobalt utilitzant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*)

Pel que fa al sistema de la síntesi de nanopartícules utilitzant l'extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*) podem observar en la Figura 23 com la concentració de extracte ha de tenir un valor baix per aconseguir els mínims de mida de partícula, pel que fa a les altres variables, observem com la temperatura té un màxim a l'entorn de 65°C i que és en els extrems tant superior com inferior on obtenim les nanopartícules més petites. Tot i així determinem també una temperatura baixa com a òptima ja que s'obtenen mides de partícules semblants sense necessitat d'aportar calor a la reacció. En la Figura 25 s'intueix que el temps no és una variable molt influent en el sistema ja que va molt lligada a la temperatura, essent creixent el valor de mida de partícula al créixer les dues variables i decreixent quan les dues disminueixen de valor. Però en la Figura 24 on observem el sistema des de un punt de vista amb la temperatura constant, veiem que a menors temps per una mateixa concentració de extracte, s'aconsegueixen nanopartícules de menor mida.

En la Figura 26 es mostra el resultat obtingut de l'anàlisi amb raigs X del producte obtingut amb la síntesi utilitzant rapa de raïm (*Vitis vinifera*). Igual que en el cas anterior, s'han analitzat les mostres corresponents als valors centrals del disseny experimental. El resultat de l'anàlisi XRD és igual que en el cas del te roibos, on s'identifica el producte obtingut de la síntesi com a una mescla de clorurs de cobalt hidratats. Per tant l'extracte de rapa de raïm tampoc és capaç de reduir la sal de cobalt a cobalt metàl·lic, però els resultats de mida de partícula obtinguts ens indiquen que l'extracte actua com agent nucleador i estabilitzant, de manera que s'han obtingut nanopartícules de cobalt d'una mida a l'entorn de 85nm.

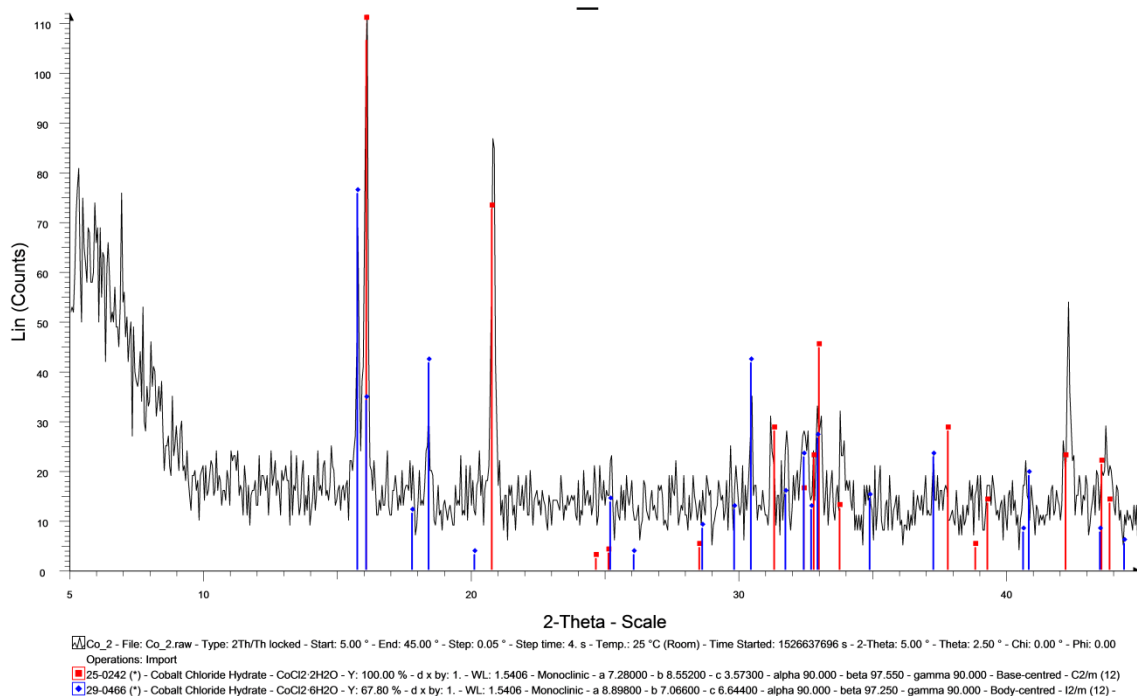


Figura 26. XRD obtingut del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*). S'observa com el resultat de l'anàlisi és igual que el de la Figura 21 corresponent a una barreja de clorurs de cobalt hidratats.

En la Figura 28 es mostra la lectura de l'aparell DLS del producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm on s'obté una distribució de mida de partícula centrada a 86,19nm. Finalment la Figura 27 correspon a la imatge obtinguda per STEM de la mateixa mostra, on s'observen les nanopartícules obtingudes d'una mida a l'entorn de 80nm que corroboren els resultats obtinguts per DLS.

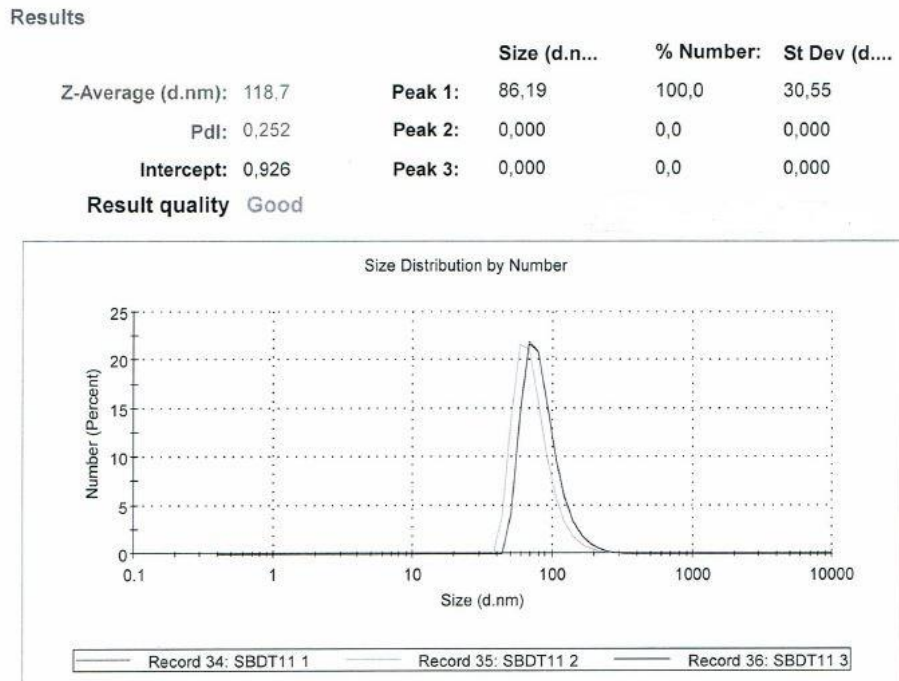


Figura 28. Distribució de mida de partícula segons nombre obtinguda amb DLS per el producte obtingut de la síntesi de nanopartícules de cobalt amb extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*).

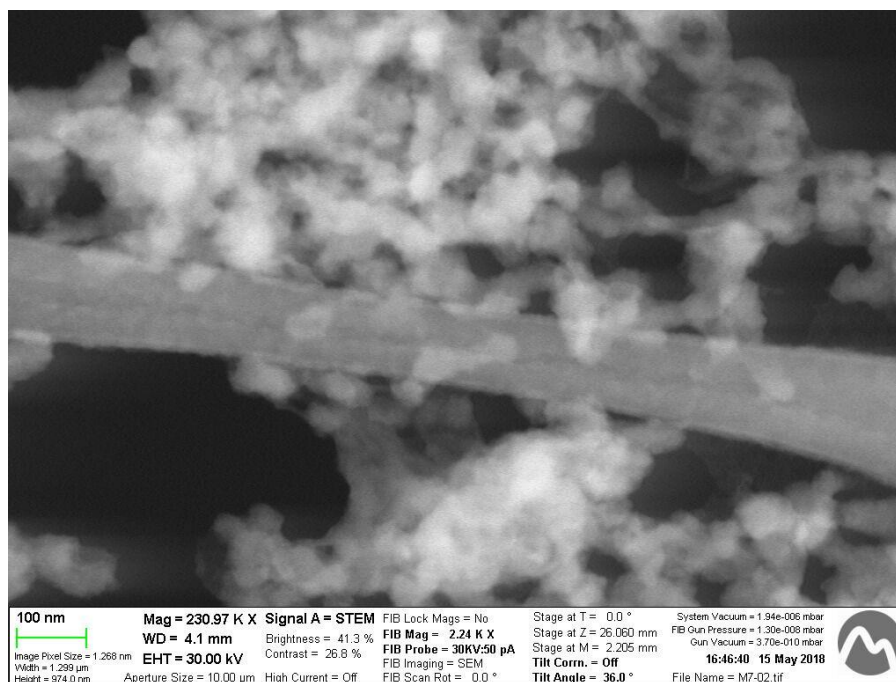


Figura 27. Imatge obtinguda per STEM del producte obtingut en la síntesi de nanopartícules de cobalt emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*).

5. Conclusió

S'ha aconseguit establir un mètode per a la síntesi verda de nanopartícules de cobalt, ja que s'ha aconseguit substituir els reactius convencionals de caràcter tòxic i poc respectuosos amb el medi ambient per reactius totalment naturals i biodegradables com són els extractes vegetals.

Els extracte de te roobios (*Aspalathus linearis*) i rapa de raïm (*Vitis vinifera*) són adequats per a la síntesi de nanopartícules de cobalt estables, probablement gràcies al seu alt contingut en flavonoides.

S'ha aplicat la Metodologia de Superfície de Resposta per a optimitzar la mida de partícula obtinguda mitjançant la síntesi verda amb els dos extractes. Les variables estudiades, temperatura de reacció, la concentració d'extracte i el temps de reacció, influeixen en la mida de les nanopartícules de cobalt obtingudes. En els dos casos s'ha aconseguit ajustar satisfactòriament i amb bona correlació estadística el comportament del sistema a una funció matemàtica de tipus quadràtic que ha permès determinar-ne les condicions més òptimes per a l'obtenció de la mida de partícula mínima.

Comparant els resultats de mida de partícula per a cada extracte, s'ha pogut determinar que l'extracte amb millors propietats nucleadores i estabilitzant ha estat el de te roiboos (*Aspalathus linearis*) que és el que permet obtenir nanopartícules més petites.

En els dos casos, s'ha pogut determinar que la concentració de l'extracte és la variable que més afecta a la síntesi essent en concentracions baixes quan s'obté la mida de partícula més petita. La temperatura també té un pes estadístic important, essent a temperatures baixes, quan s'obtenen les nanopartícules de menor mida.

Pel que fa a l'efecte del temps de reacció, varia en funció del l'extracte utilitzat. En la síntesi emprant extracte de te roiboos (*Aspalathus linearis*) es localitza un mínim molt ben definit als 20 minuts de reacció. Per a temps superiors o inferiors a aquest valor la mida de partícula obtinguda experimenta un augment considerable. Per a contra, en la síntesi emprant extracte de rapa de raïm (*Vitis vinifera*) l'estudi estadístic indica que el temps de reacció només és una variable influent en l'obtenció de nanopartícules de menor mida quan es troba en relació a les demés variables.

L'anàlisi de la mida de partícula amb l'aparell DLS ha estat molt eficaç en la realització d'aquest treball ja que s'han pogut obtenir resultats immediats durant la fase experimental que han agilitzat el replantejament i la variació dels paràmetres de les proves i els experiments realitzats. Tot i així el mètode més rellevant per a la caracterització de les nanopartícules obtingudes ha estat la STEM que ens ha permès veure la imatge dels resultats i corroborar la obtenció de nanopartícules.

Els resultats obtinguts per XRD han determinat la composició de les nanopartícules obtingudes en el precipitat identificant-les com a clorurs de cobalt. Per tant podem dir que els extractes utilitzats no tenen suficient caràcter reductor per aconseguir reduir cobalt elemental però els polifenols que contenen són un perfecte agent nucleador i estabilitzador per a la síntesi de nanopartícules metàl·liques.

6. Pressupost i planificació del treball

6.1. Planificació

Per a dur a terme la planificació del treball s'ha utilitzat el software informàtic MSPProject. Aquest software permet distribuir les tasques a realitzar en una escala temporal i assignar recursos a aquestes tasques per estimar-ne els costos. Una vegada decidit el tema del treball, les tasques d'aquest s'han dividit en tres etapes. La primera etapa ha estat la de investigació prèvia, on s'ha dut a terme la recerca bibliogràfica sobre la temàtica escollida. Llavors s'ha procedit a la fase experimental que ha estat la de major durada, on s'han realitzat proves de la síntesi convencional de nanopartícules de cobalt i de la síntesi verda finalitzant acabat amb el disseny experimental per aconseguir la optimització de la reacció de síntesi. Finalment la última etapa ha estat la de la redacció de la memòria del treball.

L'únic recurs assignat a les tasques ha estat la figura de Enginyer Júnior, que representa la meua persona, amb una disponibilitat horària de mitja jornada laboral que ha estat la que realment s'ha disposat per a realitzar el treball. El cost d'hora de treball d'aquest enginyer júnior ha estat fixada a 9€.

En la Figura 29 podem veure les tasques del treball definides en el temps amb la seva durada i cost, juntament amb les tasques predecessores. En la figura observem com la durada del treball ha estat de 100 dies laborals, començant aquest el dia 24 de Gener de 2018 i finalitzant el dia de la data d'entrega del treball el dia 12 de Juny de 2018. El cost total per hores treballades de l'enginyer júnior és de 5.360,00€.

Modo de	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin	Predecesoras	Nombres de los recursos	Costo
1	TREBALL FI DE GRAU	100 días	mié 24/1/18	mar 12/6/18			5.364,00 €
2	Recerca Bibliogràfica	3 sem.	mié 24/1/18	mar 13/2/18		ENGINYER JUNIOR[50%]	540,00 €
3	Experiments previs	49 días	mié 14/2/18	lun 23/4/18	2	ENGINYER JUNIOR[50%]	3.528,00 €
4	Síntesi convencional	23 días	mié 14/2/18	vie 16/3/18		ENGINYER JUNIOR[50%]	828,00 €
5	Síntesi verda	26 días	lun 19/3/18	lun 23/4/18		ENGINYER JUNIOR[50%]	936,00 €
6	Disseny experimental	19 días	mar 24/4/18	vie 18/5/18	3	ENGINYER JUNIOR[50%]	684,00 €
7	Redacció de la Memòria	17 días	lun 21/5/18	mar 12/6/18	6	ENGINYER JUNIOR[50%]	612,00 €

Figura 29. Graella de les tasques del treball final de grau configurada amb MSPProject.

A continuació en la Figura 30 es mostra el Diagrama de Gant del treball realitzat amb MSPProject amb les tasques definides en la Figura 29. El diagrama mostra gràficament la distribució temporal d'aquestes tasques.

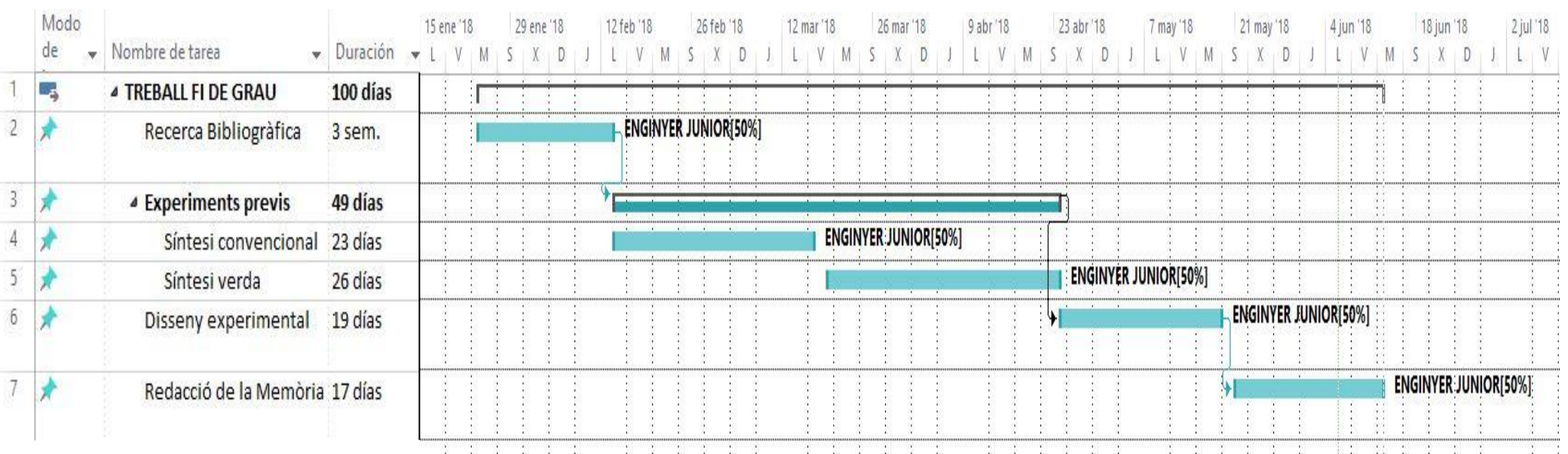


Figura 30. Diagrama de Gannt del treball de fi de grau Síntesi verda de nanopartícules de cobalt

6.2. Pressupost

Per a la realització d'aquest treball s'han de contemplar diferents costos apart de les hores de treball aportades.

La integritat d'aquest treball s'ha realitzat en el laboratori de Metalls i Media Ambient de la UdG on es disposava de tot el material de laboratori i els equips necessaris per a la investigació.

Per tant contemplarem com a costos tot el que s'ha invertit directament per aquest treball: reactius i material. En la Taula 11 es presenta el pressupost del treball. L'IVA aplicat en tots els costos és del 21%.

Taula 11. Pressupost del Treball de fi de Grau (Síntesi verda de nanopartícules de cobalt)

Descripció	Quantitat	Cost brut	IVA (21%)	Cost final
Reactius				
CoCl ₂ ·6H ₂ O <i>Merck</i>	1 kg	49,54€	10,40€	59,94€
NaBH ₄ <i>Panreac</i>	500g	37,50€	7,88€	45,38€
Àcid Cítric <i>Probus</i>	1 kg	34,06€	7,15€	41,21€
N ₂ H ₄ H ₂ SO ₄ <i>Carlo erba</i>	500g	88,00€	18,48€	106,48€
Glucosa <i>Panreac</i>	1 kg	35,02€	7,35€	42,37€
A. Folin-Ciocalteu <i>Merck</i>	250mL	45,65€	9,59€	55,24€
Na ₂ CO ₃ <i>Sharlau</i>	1 kg	43,00€	9,03€	52,03€
NaOH (sòlid) <i>Sharlau</i>	1 kg	32,90€	6,91€	39,81€
N ₂ (g)	5m ³	55,00€	11,55€	66,55€
TOTAL REACTIUS		420,67€	88,34€	509,01€
Material				
Màscara protectora de gasos	1ud.	30,00€	6,30€	36,30€
Filtres xeringa 0,2µL	1000ud.	612,35€	128,59€	740,94€
Xeringues 1mL	100ud.	7,87€	1,65€	9,52€
Cubetes de poliestirè	100ud.	48,00€	10,08€	58,08€
TOTAL MATERIAL		698,22€	146,62€	844,84€
Mà d'obra				
Enginyer Junior	626 h	5.634,00€	1.183,14€	6817,14€
TOTAL MA D'OBRA		5.634,00€	1.183,14€	6.817,14€
PRESSUPOST TOTAL		6.752,89€	1.418,10€	8.170,99€

7. Bibliografia

- Almeida-Bezerra, M. et al. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, Volume 76, pp 965-977.
- Araújo, P.W. & Brereton, R.G.. (1996). Experimental design II. Optimization. *Trends in Analytical Chemistry*, Volume 15, pp 63-70.
- Beelders, T. et al. (2012). Comprehensive two-dimensional liquid chromatographic analysis of roibos (*Aspalathus linearis*) phenolics. *Journal Separation Science*, Volume 35, pp 1808-1820.
- Bibi, I. et al. (2017). Green and eco-friendly synthesis of cobalt-oxide nanoparticle: Characterization and photo-catalytic activity. *Advanced Powder Technology*, Volume 28, pp 2035-2043.
- Campbell, F.W. & Compton, R.G. . (2010). The use of nanoparticles in electroanalysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Volume 396, pp 241-259.
- Chen, X. & Mao, S.S. (2007). Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications and applications. *Chemical Reviews*, Volume 107, pp 2891-2959.
- Diallo, A. et al. (2015). Green synthesis of Co₃O₄ nanoparticles via *Aspalathus Linearis*: Physical properties. *Green Chemistry Letters and Reviews*, Volume 8, pp 30-36.
- Guo, F. et al. (2002). Synthesis of cobalt nanoparticles in ethanol hydrazine alkaline system (EHAS) at room temperature. *Materials Letters*, Volume 56, pp 906-909.
- Hmid, I et al. (2017). Comparative study of phenolic compounds and their antioxidant attributes of eighteen pomegranate (*Punica granatum*) cultivars grown in Morocco.
- Kharissova, O.V. et al. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, Volume 31, pp 240-248.
- Khodakarami, M. et al. (2014). Role of temperature in the growth of cobalt nanoparticles through a reduction synthesis approach. *Hydrometallurgical Processes*, Volume 4, pp 22-26.
- Kusada, K. & Kitagawa, H. (2016). A Route for Phase Control in Metal Nanoparticles: A Potential Strategy to Create Advanced Materials. *Advanced Materials*, Volume 28, pp 1129-1142.
- Lee, J.M. & Kim, S.O. . (2016). Enhancing organic solar cells with plasmonic nanomaterials. *ChemNanoMat*, Volume 2, pp 19-27.
- Li, Su-Juan et al. (2014). A glassy carbon electrode modified with a film composed of cobalt oxide nanoparticles and grapheme for electrochemical sensing of H₂O₂. *Microchimica Acta*, Volume 181, pp 631-638.
- Lundstedt, T. et al. (1998). Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, Volume 42, pp 3-40.
- Macwan, D.P. et al. (2011). A review on nano-TiO₂ sol-gel type syntheses and its applications. *Journal of Materials Science*, Volume 46, pp 3669-3686.
- Patil, K.C. et al. (2002). Combustion synthesis. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, Volume 6, pp 507-512.

Peralta-Videa, J.R. et al. (2016). Plant-based Green synthesis of metallic nanoparticles: scientific curiosity or a realistic alternative to chemical synthesis. *Nanotechnology for Environmental Engineering, Volume 1, pp 1-4.*

Quiñones, M. et al. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria, Volume 27, pp 76-89.*

Ramirez-Martinez, J.R. . (1988). Phenolic compounds in coffee pulp: Quantitative determination by HPLC. *Journal of the science of Food and Agriculture, Volume 43, pp 135-144.*

Salgueiriño-Maceira, V. et al. (2005). Synthesis and Characterization of Large Colloidal Cobalt Particles. *Langmuir, Volume 22, pp 1455-1458.*

Souquet, J.M. et al. (2000). Phenolic Composition of Grape Stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, Volume 48, pp 1076-1080.*

Teófilo, R.F. & Ferreira, M.M.C. . (2006). Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Química Nova, Volume 29, pp 338-350.*

Tietze, R. et al. (2015). Magnetic nanoparticle-based drug delivery for cancer therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 468, pp 463-470.*

Tukur, S.A. & Azahyusof, N. . (2015). Metallic nanoparticles for modification of elèctrodes for heavy metals detection. *Asian J.Chemistry, Volume 27, pp 1967-1969.*

Zeisberger, M. et al. (2007). Metallic cobalt nanoparticles for heating applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Volume 311, pp 224-227.*