

Treball final de grau

Estudi: Grau en Enginyeria Química

Títol: Síntesi verda de nanopartícules de ferro zero mitjançant extractes vegetals: optimització i caracterització.

Document: Memòria

Alumna: Míriam Escribano Bella

Tutora: Núria Fiol Santaló

Departament: Enginyeria química, agrària i tecnologia agroalimentària

Àrea: Enginyeria Química

Convocatòria (mes/any): Desembre/2020

ÍNDEX

Agraïments.....	I
Abreviatures.....	II
Resum	III
Paraules clau	V
Índex de figures	VI
Índex de taules	VIII
1. INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS	1
1.1. Precedents.....	1
1.1.1. Origen.....	3
1.2. Objectiu.....	3
1.3. Abast.....	5
2. FONAMENTS TEÒRICS.....	6
2.1. Nanotecnologia	6
2.2. Nanometalls	7
2.2.1. Nanopartícules de ferro valència zero	9
2.3. Síntesi verda	10
2.4. Agents reductors – Extractes vegetals.....	12
2.4.1. Rapa de raïm	15
2.4.2. Cafè	16
2.4.3. Té Rooibos.....	17
2.4.4. Citrat de sodi i àcid tànnic.....	18
2.5. Caracterització extractes vegetals i nanopartícules de ferro valència zero.....	18
2.5.1. Extractes vegetals.....	18
2.5.2. Nanopartícules de ferro valència zero	20
2.6. Metodologia d’optimització	26

3. MATERIALS, EQUIPS I MÈTODES	29
3.1. Localització de la realització de la investigació	29
3.2. Extractes reductors	30
3.2.1. Preparació dels extractes reductors	30
3.2.2. Caracterització dels extractes reductors.....	34
3.3. Nanopartícules de ferro valència zero.....	38
3.3.1. Preparació de les nanopartícules de ferro de valència zero.....	39
3.3.2. Caracterització de les nanopartícules sintetitzades	44
3.4. Metodologia d'optimització	47
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	51
4.1. Extractes vegetals	51
4.1.1. Preparació extractes	51
4.1.2. Caracterització dels extractes	52
4.2. Nanopartícules de ferro valència zero.....	58
4.2.1. Síntesi de nanopartícules de ferro valència zero	58
4.2.2. Caracterització de les nanopartícules sintetitzades	60
4.3. Metodologia d'optimització	72
4.3.1. Estudi dels factors que afecten la mida de les nanopartícules de ferro zero.....	72
4.3.2. Disseny centrat en la cara (CCF).....	75
4.3.3. Estudi de l'estabilitat.....	81
5. CONCLUSIONS.....	83
6. PLANIFICACIÓ DEL PROJECTE	85
7. PRESSUPOST	87
8. REFERÈNCIES.....	89

AGRAÏMENTS

Un breu llistat de les persones a les quals vull donar les gràcies per ajudar-me a fer aquest treball final de grau i d'haver fet realitat el gran moment al qual he aconseguit arribar, finalitzar el Grau Enginyeria Química.

Primerament, gràcies a la meva tutora Dra. Núria Fiol Santaló, per la seva supervisió i orientació durant l'elaboració d'aquest treball i per oferir-me la seva ajuda i assessorament quan ha sigut necessari. Tanmateix gràcies al Dr. Florencio De la Torre Yugueros per la seva total disponibilitat i coneixements. Gràcies també al Dr. Jordi Poch Garcia per l'ajuda en la part matemàtica/estadística del treball.

Mil gràcies a tots els professors del grau per atorgar-me tots els coneixements durant el grau i poder elaborar aquesta memòria. Particular agraïment a la Dra. Neus Pellicer i Dra. Marta Verdager, disponibles a tota hora per a respondre als meus dubtes, aconsellar-me i animar-me a estudiar.

Agraïments als companys de curs que em van ajudar i es van demostrar sempre disponibles i atents a les meves necessitats. En especial, Paco i Noelia fidels companys en aquesta aventura.

Finalment milions de gràcies a tota la meva família, per a no haver deixat de donar-me suport i empenyem cap a l'èxit.

“Cuando llegues a la cima...

Tómate un tiempo para disfrutar: el camino ha sido largo y difícil.

Tómate un tiempo para ayudar a otros: mucho se te ha concedido.

Tómate un tiempo para compartir tu triunfo: quienes te aman también subieron a tu lado.

Tómate un tiempo para mirar de dónde partiste: te juzgarás con menos severidad.

Tómate un tiempo para descansar un poco: hay una nueva cumbre para conquistar.”

Lidia María Riba

ABREVIATURES

Abs: Absorbància

CCC: Compost central Circumscrit

CCD: Disseny Compost Central

CCF: Face Composite Centered (Centrat en la cara)

CCI: Compost Central Inscrit

DLS: Dispersió dinàmica de llum

DQO: Demanda Química Oxigen

EQATA: Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària

Fe: Ferro

NADP⁺: Nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat (forma oxidada)

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat (forma reduïda)

nC: Nanociència

nPs: Nanopartícules

nT: Nanotecnologia

nZVI: Nanopartícules ferro zero valent (*nanoscale zero-valent iron particles*)

RSM: Metodologia Superfície de Resposta.

SEM: Microscopi electrònic d'escombratge (*Scanning Electron Microscope*)

UV-VIS: Espectroscòpia Ultraviolada Visible

XRD: Difracció Raig-X (*X-ray Diffraction*)

RESUM

Les nanopartícules de ferro zero (nZVI) sempre han estat sintetitzades usant borohidru de sodi, un procés costós i tòxic. L'actual problemàtica ambiental mundial comporta la necessitat d'investigació pel desenvolupament de processos de química sostenible i l'obtenció de nous materials mitjançant mètodes de síntesi verda.

El present treball presenta els resultats de la síntesi verda de nZVI mitjançant un mètode respectuós amb el medi ambient (procés optimitzat utilitzant clorur fèrric i extracte reductor vegetal), un substitut dels processos convencionals amb protocols no ecològics.

Aquest estudi es pot resumir en dues parts. Inicialment ha consistit en determinar un procediment per la síntesi verda de nanopartícules de ferro zero utilitzant extractes vegetals. Seguidament aconseguir el mètode, s'empra una eina estadística anomenada Metodologia de Superfície de Resposta (MRS), per ajustar a una equació matemàtica el resultat de la síntesi en funció de les variables que l'afecten. La finalitat consisteix a optimitzar el mètode per aconseguir nanopartícules de ferro zero amb el diàmetre de partícula més mínima possible.

L'experimentació del treball ha consistit en primer lloc a la preparació de la síntesi convencional de nZVI amb el propòsit d'estudiar el mètode i caracteritzar tant les propietats del reactiu reductor com les nanopartícules, per utilitzar els resultats obtinguts com a base per l'avaluació de la caracterització dels extractes reductors vegetals i les nZVI obtingudes amb aquests. El mètode de reducció convencional usat ha estat mitjançant el citrat de sodi com agent reductor i àcid tànnic com a estabilitzador. Al realitzar l'anàlisi de la mida de les nZVI amb aquest procediment es va aconseguir la formació de nanopartícules d'una mida propera als 2 nm.

Paral·lelament, i per cercar les millors condicions en temperatura i ràtio de reactius, es va dur a terme amb quatre procediments una bateria d'experiments utilitzant els diferents extractes vegetals. Les tres espècies vegetals font dels extractes estudiades van ser: cafè, te rooibos i rapa de raïm. Tots els extractes van ser obtinguts mitjançant una extracció sòlid-líquid, amb la mateixa proporció de matèria vegetal/aigua mili-Q.

RESUM

La qualitat dels extractes van ser avaluats respecte a la seva capacitat antioxidant i es van realitzar estudis com: del contingut de polifenols en forma d'equivalents d'àcid gàl·lic (mètode Folin-Ciocalteu), mesures del pH, potencial redox i DQO. La mida de les nZVI obtingudes amb els tres extractes es va analitzar mitjançant DLS (Dynamic Light Scattering).

Els resultats van permetre saber que tots els extractes vegetals tenien bones característiques per ser usats com extractes reductors i que produïen nanopartícules, essent l'extracte de te rooibos el que va aconseguir sintetitzar nanopartícules més petites i estables.

Es va seleccionar aquest com a reactiu verd per a la síntesi de nanopartícules de ferro zero.

Una vegada feta l'elecció de l'extracte vegetal, en segon lloc es va fer un estudi per l'optimització de la metodologia de síntesi per aconseguir la mida de partícula més petita. S'ha utilitzat la Metodologia de Superfície de Resposta, en conseqüència cal determinar les variables que influeixen i realitzar un disseny experimental que compregui valors significatius per a cada una d'elles. Es va explorar la modificació de paràmetres com la concentració de l'extracte de ferro, la concentració de polifenols de l'extracte vegetal i el pH per veure els seus efectes en la mida de les nZVI.

Tenint en compte els objectius d'obtenir nanopartícules de ferro zero i estudiar l'optimització del procés, es van estudiar les següents característiques: mida (SEM i DLS), forma (SEM), color (UV-VIS), estabilitat (PotencialZ-DLS) i composició (XRD). Els resultats aconseguits han estat satisfactoris i mostren que: I) les condicions de síntesi de nZVI més favorables per aconseguir mides petites de partícules, són: temperatura alta, medi inert, concentració de la solució de ferro baixa, concentració de polifenols alta a l'extracte reductor vegetal conjuntament amb un pH alt en aquest últim, II) l'anàlisi per microscòpia SEM ha confirmat l'obtenció de nanopartícules de mida 50 nm, amb forma esfèrica i una aglomeració tipus núvol, III) l'anàlisi per UV-VIS ha aconseguit confirmar la presència de ferro zero, IV) la tendència del valor potencial zeta de les nZVI majoritàriament és 0 mV (inestabilitat) i V) la difracció per raigs XRD ha identificat les nanopartícules obtingudes com de ferro zero.

Les dades recopilades en aquest estudi seran útils per a seleccionar les condicions operatives més adequades per a síntesi verda de nZVI amb el diàmetre de partícula desitjat.

PARAULES CLAU

PARAULES CLAU

Nanopartícula · Ferro valència zero · Síntesi verda · Reducció · Extractes vegetals · Uv-Vis

Capacitat antioxidant · Caracterització · Optimització · Estabilitat · Potencial Z · DLS

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1. Escala comparativa de les longituds característiques entre metre i 0,1 nanòmetres.-----	6
Figura 2. Tècniques de síntesi de nanomaterials basades en carboni (8).-----	8
Figura 3. Variants de Top-down i bottom-up (9).-----	8
Figura 4. Model nucli-coberta nZVI per exemple de quimiosorció.-----	9
Figura 5. Procés de síntesi verda de nanopartícules de plata (8).-----	11
Figura 6. Els 12 principis de la química verda.-----	12
Figura 7. Mecanisme de reacció probable. Els grups fenòlics en els tanins s'oxiden a quinines amb el posterior alliberament d'electrons que redueixen els ions de ferro (16).-----	15
Figura 8. Rapa de raïm cooperativa vitivinícola Espolla.-----	16
Figura 9. Cafè Eroski bàsic utilitzat a l'estudi.-----	17
Figura 10. Te rooibos de planeta te.-----	17
Figura 11. Citrat de Sodi i Àcid Tànnic [Scharlau].-----	18
Figura 12. Tècnica de mesura del DLS. www.malvern.com -----	22
Figura 13. Espectrofotòmetre UV-Vis (Brian 1996).-----	23
Figura 14. Interacció feix d'electrons amb la mostra.-----	24
Figura 15. Esquema d'un equip SEM.-----	24
Figura 16. Difracció de raigs X.-----	26
Figura 17. Punt estacionari mínim (esquerre), màxim (centre) i punt de sella (dreta).-----	28
Figura 18. Ruta de realització del treball.-----	29
Figura 19. Caracterització realitzada.-----	29
Figura 20. Molí [Waring] de 230 V, 50 Hz i 200 W.-----	30
Figura 21. Tamisadora electromagnètica i digital. Dimensions: 445x335x200 m. Voltatge: 230 v-50 Hz / 110 v-60 Hz.-----	31
Figura 22. [1]: Balança de pes màx. 620 g i mín. 0,02 g amb una precisió de $\pm 0,01$ g. [2]: Balança de pes màx. 210 g i mín. 10 mg una precisió de ± 1 mg.-----	31
Figura 23. Sistema filtració al buit.-----	31
Figura 24. Equip de reflux.-----	32
Figura 25. Rapa preparada per procedir a l'extracció.-----	32
Figura 26. [1]: Cafè gra natural i cafè triturat.-----	33
Figura 27. Te rooibos preparat.-----	33
Figura 28. Solucions ORP [HannaInst], Folin-Ciocalteu [Scharlau] i Àcid Gàl·lic [Acros].-----	35
Figura 29. Espectrofotòmetre UV-mini-1240 [Shimadzu].-----	35
Figura 30. pH-Meter GLP 21 [Crison].-----	36
Figura 31. pHmetre PH50+ DHS, [Crison]-----	36
Figura 32. Termoreactor Lovibond RD125. www.lovibond.com -----	36
Figura 33. Espectrofotòmetre Lovibond SpectroDirect. www.docplayer.es -----	37
Figura 34. Etapes de la síntesi de nanopartícules (47).-----	39
Figura 35. Muntatge de cables amb quarte capil·lars.-----	39
Figura 36. Centrifuga model Universal 320 [Hettich].-----	40
Figura 37. Estufa model Conterm [Selecta].-----	40
Figura 38. Agitador/calector model Agimatic-n [Selecta].-----	41
Figura 39. Bany termostàtic model Digiterm [Selecta].-----	41
Figura 40. Esquema de la realització per la síntesi de nZVI.-----	42
Figura 41. Equip DLS model zetasiser nano zs90 [Malvern].-----	45
Figura 42. Equip d'ultrasons [Selecta].-----	45
Figura 43. Microscopi Electrònic de Rastreig ZEISS DSM 960A.-----	45
Figura 44. Difractòmetre de Raigs X de Monocristall, model D8 QUEST ECO[Bruker].-----	46
Figura 45. Disseny compost central per a dos factors.-----	47
Figura 46. Descripció de les propietats de les tres varietats de dissenys composts centrals.-----	48
Figura 47. Diagrama CCF per l'optimització de la síntesi de nZVI.-----	49

ÍNDIX DE FIGURES

<i>Figura 48. Muntatge per les síntesis de nZVI.</i>	50
<i>Figura 49. . Extractes: Rapa, Cafè, Rooibos i Àcid tànnic+Citrat de Sodi, d'esquerre a dreta.</i>	51
<i>Figura 50. Patrons d'àcid Gàl·lic.</i>	52
<i>Figura 51. [1] Exemple del canvi de color: extracte rooibos, extracte de FeCl₃ i solució de ferro zero (d'esquerra a dreta).</i>	58
<i>Figura 52. Precipitats de la síntesi utilitzant, a l'esquerre els extractes vegetals i a la dreta l'extracte rooibos.</i>	59
<i>Figura 53. Exemple d'informe que ofereix el programa per assignar el valor de la mida de les nZVI obtingudes.</i>	62
<i>Figura 54. Fotografies obtingudes per SEM de les nanopartícules sintetitzades amb l'extracte de te rooibos.</i>	70
<i>Figura 55. XRD obtingut del precipitat obtingut de la síntesi de nanopartícules de ferro zero emprant extracte rooibos.</i>	71
<i>Figura 56. Solucions de FeCl₃ de concentracions d'esquerra a dreta de 0,01M, 0,05M, 0,1M, 0,25M, 0,5M, 0,75M i 1M.</i>	72
<i>Figura 57. Reaccions obtingudes amb les concentracions d'esquerra a dreta de 0,01M, 0,025M, 0,050M, 0,1M, 0,25M, 0,5M, 0,75M i 1M.</i>	72
<i>Figura 58. Extractes de Rooibos de 3g, 6g, 9g, 12g, 15g, 18g, 21g, i 24g /100mL, d'esquerra a dreta respectivament.</i>	73
<i>Figura 59. Resolució de la primera i segona opció (Esquerra l'abans i dreta el després).</i>	74
<i>Figura 60. Experiments: Primera fila de 1 al 10, Segona fila de 11 al 15 i Tercera fila del 15 al 20 (6 repeticions).</i>	75
<i>Figura 61. Exemple d'informe que ofereix el programa per assignar el valor de potencial Z de les solucions de nZVI obtingudes.</i>	81
<i>Figura 62. Diagrama de Gantt del treball de fi de grau Síntesi verda de nanopartícules de ferro zero.</i>	86

ÍNDEX DE TAULES

<i>Taula 1. Procediments per la síntesi de nZVI.</i>	42
<i>Taula 2. Mètodes usats per la caracterització de nZVI.</i>	44
<i>Taula 3. Descripció de les propietats de les tres varietats de dissenys composts centrals.</i>	48
<i>Taula 4. Valors de cada nivell de les variables independents del sistema.</i>	48
<i>Taula 5. Condicions i repeticions de cada experiment del dis</i>	49
<i>Taula 6. Absorbància dels patrons d'àcid gàl·lic.</i>	52
<i>Taula 7. Abs. de les mostres diluïdes 5 vegades i el resultat de polifenols totals.</i>	53
<i>Taula 8. Resultat de pH dels extractes.</i>	54
<i>Taula 9. Potencials de reducció estàndard del ferro.</i>	54
<i>Taula 10. Resultats de la mesura del potencial de reducció dels extractes.</i>	55
<i>Taula 11. Resultats de la mesura de la DQO dels extractes.</i>	56
<i>Taula 12. Anàlisi dels extractes amb ràtio 6g/100mL.</i>	56
<i>Taula 13. Valors dels paràmetres normalitzats.</i>	57
<i>Taula 14. Valors de pH de: l'extracte rooibos, extracte de ferro 0,1 M i de la reacció.</i>	59
<i>Taula 15. Resultats del diàmetre de partícula amb diferents extractes reductors i procediments en presència d'oxigen.</i>	63
<i>Taula 16. Resultats del diàmetre de partícula amb els diferents extractes reductors i procediments en el medi inert.</i>	64
<i>Taula 17. Abs. mostres diluïdes 5 vegades i resultat polifenols totals.</i>	73
<i>Taula 18. Valors de mida de partícula obtinguts en les condicions experimentals del disseny CCF per l'optimització de la síntesi verda de nanopartícules de ferro zero.</i>	76
<i>Taula 19. Valors de les constants de la funció que defineix l'equació de la mida de les nanopartícules de ferro zero.</i>	77
<i>Taula 20. Resultats del potencial Z de les vint mostres de l'estudi CCF.</i>	82
<i>Taula 21. Pressupost del TFG.</i>	87
<i>Taula 21. Pressupost del TFG.</i>	88

1. INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

1.1. PRECEDENTS

Tots, hem sentit a parlar o vist en algun moment de la nostra vida els termes "Nanociència" i "Nanotecnologia", i l'hem relacionat amb objectes molt petits. Malgrat això, són poques les persones que realment coneixen l'autèntic significat d'aquests termes i les implicacions tan ètiques i legals com a socials, econòmiques i mediambientals que aquestes comporten.

En l'actualitat la nanotecnologia és d'interès en sectors d'investigació i s'aplica pels beneficis o avantatges que ofereix en disciplines com: química, biologia, enginyeria, medicina, entre d'altres. L'agència estatunidenca NSF (National Science Foundation) predeia abans de la pandèmia, que el mercat de productes i serveis basats en aquesta tecnologia aconseguiria facturar tres mil milions de dòlars l'any 2020 (1). Existeix un gran consens en què la nT ens portarà a una segona revolució industrial en el segle XXI tal com va manifestar fa uns anys, Charles Vest (expresident del MIT, Massachusetts Institute of Technology). Suposarà nombrosos avanços per a moltes indústries i nous materials amb propietats extraordinàries. Podem dir que molts progressos de la nC estaran entre els grans avanços tecnològics que canviaran el món.

La nT defineix les ciències i tècniques que s'apliquen a un nivell de nanoescala, unes dimensions que implica treballar les estructures moleculars i els seus àtoms. S'utilitza per crear materials, aparells i sistemes amb propietats singulars i úniques. A la pràctica, són els mateixos materials ja coneguts (metalls, ceràmiques i vidres, polimèrics...), però que l'avanç en els mètodes permet processar-los en una escala nano [10^{-9}].

Els nanomaterials és una branca de la nT i l'enorme interès creat per aquests prometedors materials té el seu origen en les propietats que presenten, en general molt superiors i sovint diferents, quan es comparen amb les dels mateixos materials a grandàries majors.

MEMÒRIA

Aquestes propietats es deuen a tres característiques comunes a tots ells: la petita grandària de partícula, l'elevat percentatge de fracció atòmica en un entorn interfacial i la interacció entre les diferents unitats estructurals (2).

El ferro és un metall de transició, segon metall més abundant de l'escorça terrestre per darrere de l'alumini. En estar present de manera natural i disposar d'una resistència i una mal-leabilitat senzilles, ha estat utilitzat per la humanitat des de fa segles. En la naturalesa es troba en nombrosos minerals, entre ells molts òxids, els estats d'oxidació més comuns són +2 i +3. També es troba en estat d'oxidació càrrega zero amb una àrea superficial altament reactiva.

Convergent els temes dels dos últims paràgrafs, la preparació de les nanopartícules de ferro zerovalent (nZVI) actualment es realitza utilitzant productes químics convencionals, com el borohidrur de sodi, per a reduir els ions metàl·lics (3). Encara que al principi sembla ser un procediment molt simple i ràpid sense el requisit d'un equip específic, existeixen problemes de seguretat i salut associats amb aquest mètode. L'ús d'un compost tòxic com el borohidrur de sodi requereix d'accions específiques durant el procés de producció per a protegir als operadors, i l'eliminació del compost tòxic restant al final de la síntesi. A més d'això, en el mètode tradicional es produeix hidrogen que també requereix mesures de seguretat per a reduir/eliminar els riscos de combustió/explosió (4).

És per això d'especial interès el desenvolupament de mètodes de síntesi sostenible, que redueixin a un mateix temps costos i impacte ambiental.

No obstant això, aquest camp l'aplicació està encara poc estudiat i manca de coneixements que permetin una comprensió completa de la producció i processos d'aplicació. L'objectiu del present treball és avaluar la viabilitat de la utilització de diversos vegetals per a produir extractes capaços de reduir el ferro (III) en solució aquosa per a formar nZVI's en reemplaçament de reactius tòxics com a reductor.

1.1.1. ORIGEN

La formació de drenatge àcid de mina, un lixiviat àcid d'altres concentracions de metalls tòxics, produït per l'explotació dels jaciments miners, provoca grans problemes ambientals. Per aquest motiu, entre altres, és important poder valorar els residus generats. Una manera que s'ha plantejat per a valorar aquests residus metàl·lics és utilitzar-los com a reactius per a obtenir nanopartícules metàl·liques. Un dels metalls que es troba habitualment i en més elevada concentració en aquests tipus d'aigües és el ferro en forma d'ions trivalents, ions que podrien ser utilitzats com a reactius de síntesi de nZVI.

El primer pas és identificar el protocol més adequat per a realitzar aquestes síntesis, en la bibliografia s'ha trobat que s'han dut a terme síntesis de nanopartícules metàl·liques usant reactius reductors i estabilitzants. Amb l'objectiu de poder obtenir-les de la forma menys contaminant, aquests reactius poden ser reemplaçats per materials naturals, com a residus vegetals, donant lloc la síntesi verda de nanopartícules.

El present Treball de Fi de Grau forma part del projecte de recerca: "Síntesi verda de nanopartícules metàl·liques a partir d'aigües àcides de mina i extractes de residus agroalimentaris" (MinNano) desenvolupat per la Universitat de Girona (UdG).

Aquest estudi també forma part d'una col·laboració de la politècnica de Girona amb un equip de recerca de l'àrea d'enginyeria electrònica de l'UPC. El destí de les nanopartícules obtingudes a partir d'extractes vegetals és aplicar-les com a material per la realització de sensors electroquímics.

1.2. OBJECTIU

La finalitat d'aquest treball està centrat en la caracterització i síntesi verda de nanopartícules de ferro zero el més petites possibles, fet que, comporta a la preparació dels extractes vegetals reductors i la caracterització d'aquests abans de ser empleats en la síntesi de nanopartícules.

Aquesta recerca descriu la síntesi ecològica de nanopartícules de ferro mitjançant un procés optimitzat i utilitzant clorur fèrric i extracte de plantes i fruites.

MEMÒRIA

Aquests extractes contenen molècules amb grups funcionals alcohòlics, principalment de tipus fenòlic i poden utilitzar-se per a la reducció i la formació de complexos estables amb ferro. Els polifenols dels extractes, quan es barregen amb solucions aquoses de clorur de ferro, redueixen els cations de ferro i produeixen nanopartícules de ferro. A més, aquests compostos també poden actuar com a estabilitzants de les nanopartícules.

Per a aquesta síntesi s'utilitzen diferents tipus d'extractes, per a procedir de seguida, amb la selecció dels més adequats mitjançant una relació òptima de la mínima mida de partícula i màxima estabilitat.

Aquestes nanopartícules han estat caracteritzats tant en composició i estructura com a textura i morfologia. L'ús d'aquestes tècniques de caracterització té per objecte conèixer de manera profunda les nanopartícules obtingudes, de cara a conèixer les seves possibilitats d'aplicació.

En aquest context, aquest estudi se centra en el desenvolupament d'una síntesi econòmica, simple i amigable de les nanopartícules de ferro.

Els objectius concrets són:

- L'obtenció d'extractes naturals a partir d'espècies vegetals i identificar, mitjançant anàlisis de caracterització, el vegetal que origina els extractes amb major capacitat antioxidant i reductora. Les quatre espècies estudiades reductores són els extractes de cafè, rapa de raïm, té roibos i citrat de sodi+àcid tànnic. Aquest últim usat com a l'extracte de referència per comparar amb els demes.
- La síntesi verda de nanopartícules metàl·liques de ferro basada en el poder reductor o capacitat antioxidant dels extractes vegetals naturals obtinguts i la seva caracterització.
- Optimització del sistema, per trobar les millors condicions per la producció de nZVI el més petites possibles.

1.3. ABAST

Inicialment, en aquest treball final de grau es durà a terme un estudi previ de la síntesi de nZVI. A efecte de portar a terme aquest procés, s'utilitzaran diferents extractes reductors, tres extractes vegetals i un extracte convencional (paral·lelament serveix de referència), i diferents condicions: medi (amb presència o no d'oxigen), temperatura (70°C o 100°C) i ràtio (2/3 o 1/2). Paral·lelament, es caracteritzaran completament d'acord amb la bibliografia consultada, els extractes vegetals usats.

Adicionalment, també es quantificaran les propietats de les nZVI sintetitzades per determinar el nivell de qualitat del diàmetre de la partícula, característica amb més importància.

Un cop obtinguts els resultats dels diferents experiments i havent adquirit suficients coneixements i experiència del i en el procés, es continuarà per l'elecció de l'extracte vegetal i condicions amb millor producte (nZVI tan petites com sigui possible).

Posteriorment, es portarà a terme un estudi d'optimització del sistema (tècnica matemàtica i estadística) amb les variables que hi ha indicis que afecten la síntesi i no s'han estudiat prèviament, per tal d'esbrinar les millors propietats i així, millorar la competitivitat de les nanopartícules produïdes

Finalment, es conclourà si les nZVI obtingudes tenen les suficients propietats, per tal de substituir els reactius convencionals provinents de fonts tòxiques i perilloses.

2. FONAMENTS TEÒRICS

2.1. NANOTECNOLOGIA

Els científics no han arribat a un acord unànim sobre una definició precisa de la nanotecnologia, però a la web oficial de United States National Nanotechnology Initiative la descriu com: “La nanotecnologia és la comprensió i el control de la matèria en dimensions entre aproximadament 1 i 100 nanòmetres, on fenòmens únics permeten aplicacions noves. La nanotecnologia, que abasta la ciència, l'enginyeria i la tecnologia a nanoescala, inclou la creació d'imatges, el mesurament, el modelatge i la manipulació de la matèria en aquesta escala de longitud” (5).

Nota: Recordi's que un nanòmetre equival en escala a la bilionèsima part d'un metre ($1 \text{ nm} = 1 \cdot 10^{-9} \text{ m}$).

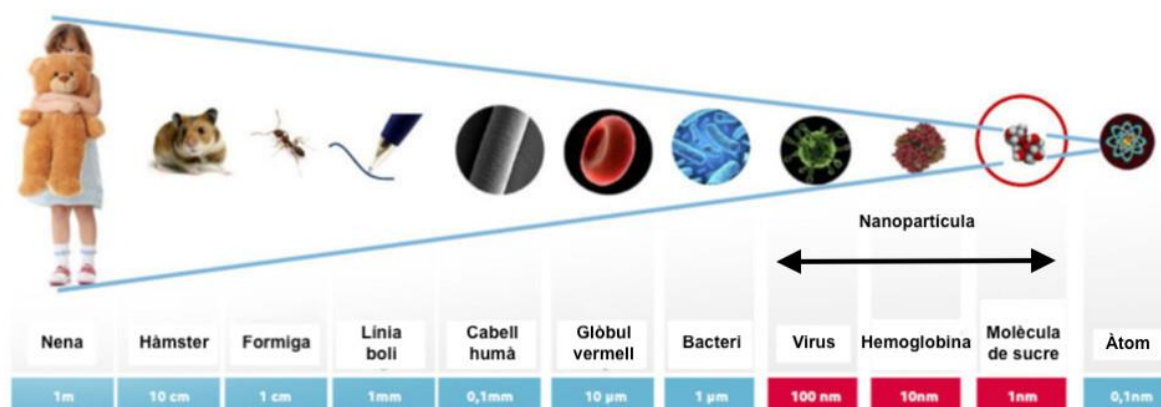


Figura 1. Escala comparativa de les longituds característiques entre metre i 0,1 nanòmetres.

Aquesta mida els atorga propietats específiques: major eficiència catalítica, conductivitat elèctrica, duresa i resistència, que són resultat de la seva gran àrea superficial per unitat de volum.

Les nanopartícules formen part d'una àrea intensa de recerca científica, per l'àmplia aplicació en diferents branques de la ciència. Dins de tot el camp de les nanopartícules hi ha diverses formes de classificació i la més recurrent: quatre tipus segons pel material que les componen.

MEMÒRIA

- Materials de base de carbó: tenen formes esfèriques, el·lipsoidals o tubulars. Té propietats fonamentals que són el seu reduït pes i la seva major duresa, elasticitat i conductivitat elèctrica.
- Materials de base metàl·lica: poden ser quàntum dots (punts quàntics o transistors d'un sol electró) o nano partícules d'or, plata o de metalls reactius com el diòxid de titani, entre altres.
- Dendròmetres: són polímers manomètrics construïts en forma d'arbre, les branques creixen a partir d'unes altres i així successivament; les terminacions de cada cadena de branques poden dissenyar-se per executar funcions químiques (una propietat útil per als processos catalítics).
- Compòsits: combinació de certes nanopartícules amb diferents grandàries; el cas d'argiles nanoestructurades és un exemple d'ús (6).

El tipus de nP que afecta la realització d'aquest estudi són materials de base metàl·lica.

Al següent apartat es realitza una explicació en detall.

2.2. NANOMETALLS

Les nanopartícules metàl·liques són agregats ultrafins de matèria que poden ser amorfs o cristal·lins amb propietats conductores o aïllants depenent de la seva composició. Els materials típics inclouen metalls o òxids metàl·lics, semiconductors o polímers amb fins al 90% dels àtoms totals que constitueixen la superfície. Per tant, gairebé totes les nanopartícules poden participar tant en reaccions físiques com químiques, la qual cosa explica la seva cinètica de reacció ràpida (7).

Els materials que corresponen a nanoescala en general s'agrupa en tres categories: naturals (produïts per arbres, plantes, volcans o espècies marines), accidentals (sorgeixen durant la combustió en vehicles i en processos industrials) i d'enginyeria, és el més comú, artificial produït per dos processos de fabricació: descendents (top-down) o ascendents (bottom-up) (8).

Com mostra la Figura 2, en el primer cas s'aconsegueix una disminució de la grandària del material, en canvi, el segon cas es produeix nanomaterials partint del nivell atòmic.

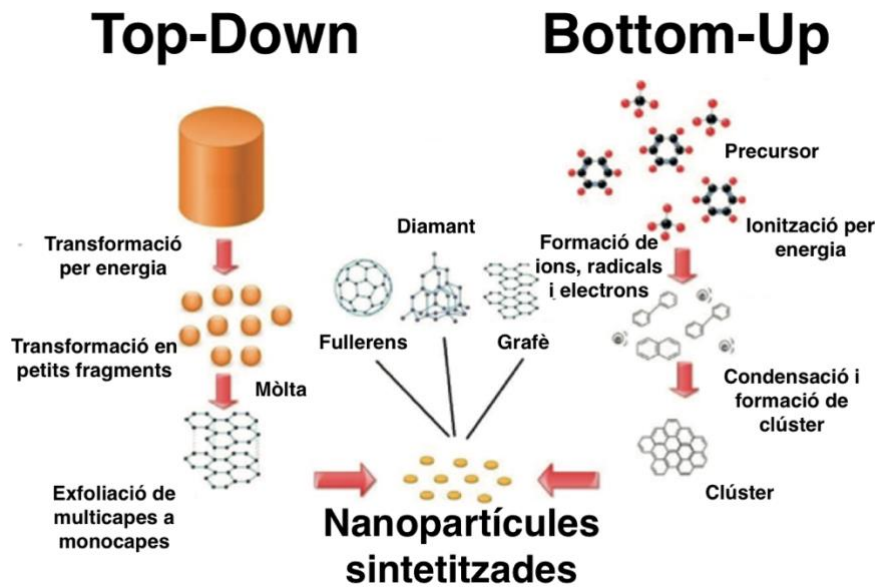


Figura 2. Tècniques de síntesis de nanomaterials basades en carboni (8).

Aquests procediments tenen diferents variants amb diversos graus d'eficiència.

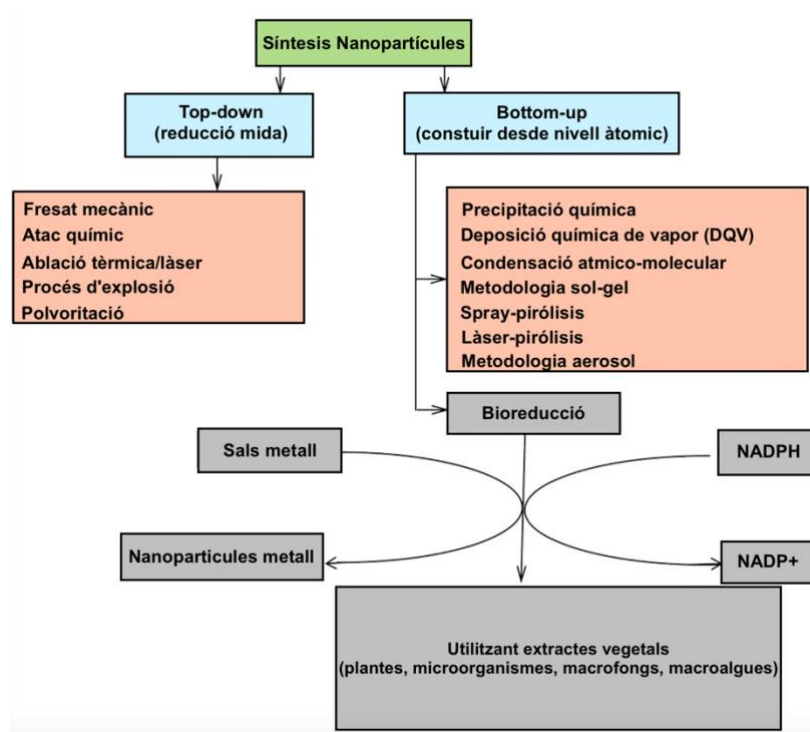


Figura 3. Variants de Top-down i bottom-up (9).

El mètode convencional més emprat per a la síntesi de nanopartícules metàl·liques és la reacció d'una sal o complex del metall en dissolució amb un fort reductor com el borohidrur sòdic (NaBH_4) en presència d'algun agent estabilitzant o dispersant (polímer, col·loide, surfactant o agent complexant) per a evitar l'agregació i formació del metall per aglomeració (3). Aquest procés presenta diversos desavantatges, com l'alta toxicitat del borohidrur o la generació de gasos inflamables d'hidrogen com a subproducte.

La reacció és la següent:



S'ha utilitzat un model normalitzat que funciona per obtenir nZVI, el mètode amb citrat de sodi amb àcid tànnic, com a extracte reductor per comparar posteriorment les mides de les nanopartícules amb els tres extractes vegetals preparats.

2.2.1. NANOPARTÍCULES DE FERRO VALÈNCIA ZERO

El ferro és un metall abundant a la terra, específicament el ferro existeix en el medi ambient com a òxids de ferro II i III, com una resposta de l'oxidació del ferro metàl·lic i com zero valent, el qual, és un material sintetitzat (10).

L'ús de les nanopartícules de $\text{Fe}(0)$ és una de les tècniques que s'ha investigat pel fet que és un agent reductor moderadament fort, a més que no és tòxic i ambientalment compatible.

Observant la Figura 4, les nZVI es caracteritzen per tenir un nucli principalment de ferro zero que proporciona el seu gran poder reductor i una superfície que consisteix en òxids/hidròxids de ferro formats a partir de la ràpida oxidació que pateix el ferro. La coberta proporciona llocs per a la formació de complexos químics (11).

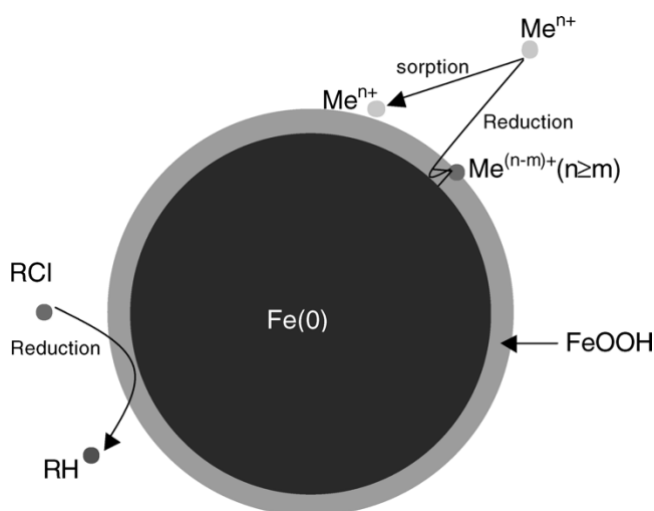


Figura 4. Model nucli-coberta nZVI per exemple de quimiosorció.

MEMÒRIA

La nanoestructura de les nanopartícules de ferro és una dels més importants i útils en diversos tipus de camps de la ciència i tecnologia a causa de propietats úniques com la biocompatibilitat i alta relació superfície/volum. Aquesta relació dels nanomaterials fa que una gran part dels àtoms resideixin en la superfície en comparació amb els dels materials a granel. La presència d'un gran percentatge d'àtoms exposats, en gran manera, augmenta l'activitat superficial (12).

En els últims anys, la biosíntesi de nanopartícules metàl·liques s'ha estudiat com una alternativa de síntesi enfront dels processos convencionals. Aquesta alternativa no només constitueix un mètode sostenible i respectuós amb el medi ambient sinó que també és més econòmic respecte als processos químics i físics esmentats anteriorment (13). Mètode fàcilment aplicable per a la síntesi a gran escala no és necessari usar alta pressió, energia, temperatura i tòxics (14).

El desenvolupament d'aquests mètodes respectuosos amb l'ecosistema per a la síntesi de nanopartícules s'ha convertit en una important branca de la nanotecnologia: "síntesi verda".

2.3. SÍNTESI VERDA

L'interès en les nanopartícules de ferro de valència zero ha augmentat significativament des del descobriment d'un desenvolupament de mètode de producció verda en el qual s'utilitzen extractes de productes naturals o residus (4).

Hi ha molts informes sobre la síntesi verda de nanopartícules de metall com les d'Ag, Au i Pt utilitzant extractes de plantes. No obstant això, informes de la síntesi verda de nZVI no n'hi ha molts de publicats, ja que és un objectiu desafiador, difícil d'aconseguir a causa del baix potencial de reducció estàndard dels ions Fe (II/III) i la ràpida oxidació del ferro.

La síntesi verda es basa en la reducció de metalls mitjançant espècies naturals amb poder antioxidant. Durant l'última dècada s'ha demostrat que molts sistemes biològics poden reemplaçar els agents químics reductors incloent: plantes, algues, diatomees, bacteris, llevats, fongs, virus i cèl·lules humanes.

Els microorganismes són capaços de transformar els ions inorgànics metàl·lics en nanopartícules de metall per mitjà de les capacitats reductores dels metabòlits i de les proteïnes d'aquests mateixos, comportament que s'observa a la Figura 5.

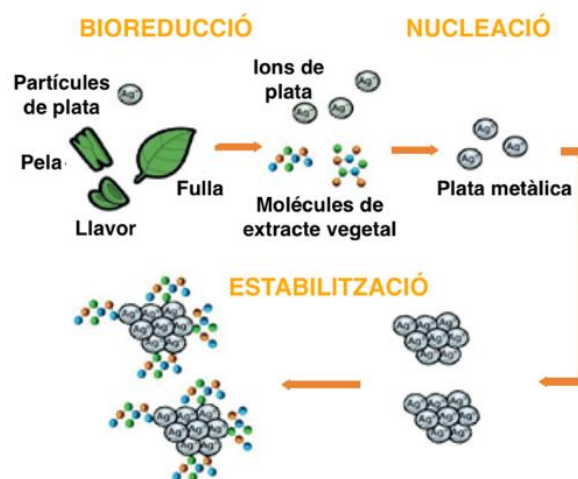


Figura 5. Procés de síntesi verda de nanopartícules de plata (8).

La síntesi de nanopartícules és un tipus d'enfocament ascendent (bottom-up) on la reacció principal que es produeix és la reducció/oxidació. Amb les propietats antioxidants o reductores dels extractes de plantes, generalment són responsables de la reducció dels compostos metàl·lics i la formació en les seves respectives nanopartícules.

Han estat desenvolupades diferents estratègies amb plantes per a la síntesi de nanopartícules, algunes usen sals de metalls (exemple: nitrat de plata) o òxids metàl·lics (exemple: òxid de titani) durant el creixement de les plantes on finalment les nanopartícules són extretes del material sec de les plantes. Una altra manera per a sintetitzar directament les nanopartícules és mitjançant l'ús de l'extracte aquós de plantes, els quals contenen un o més ingredients actius d'una planta específica (8). Aquesta última estratègia és la utilitzada en aquest estudi.

En el 1998, Paul Anastas (Director del programa de la química verda de US EPA) i John C. Warner (conegut com un dels fundadors del camp de la química verda) van publicar un conjunt de principis per guiar la pràctica de la química verda (15)

Els dotze principis de la química verda són els de la Figura 6.



Figura 6. Els 12 principis de la química verda.

Aquest treball compleix diversos principis verds com: disseny d'una metodologia de síntesi per la generació d'una substància segura amb escassa toxicitat humana i ambiental (principi 3 i 4) i ús de substàncies auxiliars innòcues amb matèries de partida renovables i no extingibles (principi 5 i 7).

2.4. AGENTS REDUCTORS – EXTRACTES VEGETALS

El mètode mitjançant l'ús de l'extracte aquós de plantes, utilitza un d'ells produït a partir de matèria vegetal seca (normalment residu), el qual pot actuar tant com d'agent reductor com de recobriment. En la síntesi, el procés de reducció d'ions per biomolècules, tal com: enzims, proteïnes, aminoàcids, polisacàrids i vitamines és respectuós amb el medi ambient. Aquesta tècnica pot ser dividida en dues categories depenent del lloc on es creen les nanopartícules, ja que molts microorganismes redueixen materials inorgànics intra- o extracel·lularment.

Encara que els mètodes mitjançant vegetals es consideren segurs, rendibles, sostenibles i ambientalment benignes, tenen alguns inconvenients en el cultiu dels microorganismes, com l'elevat temps requerit i la dificultat a tenir un bon control en la distribució de la grandària, la forma i la cristal·linitat de la nanopartícula.

MEMÒRIA

Malgrat això, l'òptima selecció de l'organisme, l'optimització de les condicions tals com el pH, la temperatura d'incubació, el temps, la concentració d'ions metàl·lics i la quantitat de material vegetal, ha arribat a donar esperança en l'aplicació d'aquests enfocaments a gran escala. També, existeixen les possibilitats de produir microorganismes genèticament modificats que continguin agents reductors específics i, per tant, controlen la grandària i la forma de les nanopartícules sintetitzades.

Les interaccions entre els metalls i els microorganismes han estat explotats per a diverses aplicacions biològiques en els camps de la bioremediació, biomineralització, biolixiviació, i biocorrosió. La síntesi microbiana de nanopartícules s'ha convertit en un camp de recerca prometedora (16).

Per a disminuir l'energia que resulta de l'alta relació superfície-volum de les partícules nanos, tendeixen a formar aglomerats. A més, les nanopartícules de metall són altament reactives químicament i poden ser oxidades fàcilment en l'aire, la qual cosa, en general, dona com a resultat una pèrdua de magnetisme i dispersibilitat. Per tant, des del punt de vista de les aplicacions, és essencial formular estratègies de protecció per a estabilitzar les nanopartícules magnètiques nues contra la degradació durant o després de la síntesi.

Com a resultat, l'ús de plantes per a sintetitzar les nanopartícules podrien ser útils, ja que les plantes són recursos biorenovables i possiblement poden oferir solucions sostenibles per al desplegament a gran escala. Fins ara, s'han proposat poques tècniques per a la preparació de ZVIN (17).

L'ús d'aquests extractes vegetals proporciona diversos avantatges en comparació amb el mètode tradicional:

- La matriu polifenòlica pot actuar com un agent de cobertura que protegeix les nanopartícules de ferro de l'oxidació prematura i aglomeració. Les nanopartícules preparades solen estar recobertes de compostos biològics de les plantes. Aquest recobriments fa que les partícules preparades siguin més estables i biocompatibles. La síntesi verda ofereix una millor manipulació, control sobre el creixement dels cristalls i la seva estabilització.
- Es pot utilitzar com a font de nutrients i microorganismes. Per a una possible acció de bioremediació posterior al tractament químic.
- La valorització de productes naturals que, en alguns casos es consideren residus o no tenen cap valor afegit.

MEMÒRIA

Probable mecanisme involucrat en la reducció i estabilització de nZVI pels extractes vegetals

La síntesi de nZVI es pot explicar en termes dels polifenols que hi ha en l'extracte, els principals són els tanins hidrolitzables. Aquests tanins quan es troben en condicions alcalines es converteixen en àcid el·làgic, àcid gàl·lic i glucosa, els quals en la seva forma aniònica poden donar electrons (poder reductor) en comparació amb la seva forma no aniònica (forma habitual) i transformar-se en la seva forma de quinona. Aquesta transformació dels fenòlics a les seves formes de quinona permet la reducció d'una sal de ferro a valència zero (17).

D'altra banda, la glucosa, l'altre producte hidrolitzat dels tanins, és un reductor ben conegut, però la glucosa només pot reduir Fe^{3+} a Fe^{2+} , s'acaba reduint en Fe^0 per les formes aniòniques dels altres productes hidrolitzats. Els polifenols oxidats funcionen com un bon agent de cobertura/estabilització en la síntesi i dispersió de nZVI que ajuden la seva estabilitat sostinguda.

La reducció i l'estabilització dels productes hidrolitzats dels tanins també estan sostingudes pel principi de la base d'àcid dur (HSAB), el qual descriu com els àcids tous reaccionen més ràpidament i formen enllaços més forts amb bases toves, mentre que els àcids durs reaccionen més de pressa i formen enllaços més forts amb bases dures (18).

La formació de nZVI pot explicar-se basant-nos en el concepte HSAB: quan el lligant dur ($-\text{OH}$) que existeix en els productes hidrolitzats dels tanins entra en contacte amb el ferro metàl·lic, en resulta en la reducció dels ions Fe^{3+} i Fe^{2+} a Fe^0 . El grup carbonil ($-\text{C}=\text{O}$) en forma de quinina (IV, V, VI, Figura 7) és un lligant feble que es coordina amb Fe^0 i ajuda a estabilitzar a través de la detenció del seu creixement (17).

En la Figura 7 s'ha proporcionat una fórmula estructural representativa per a un dels tanins hidrolitzables en l'extracte.

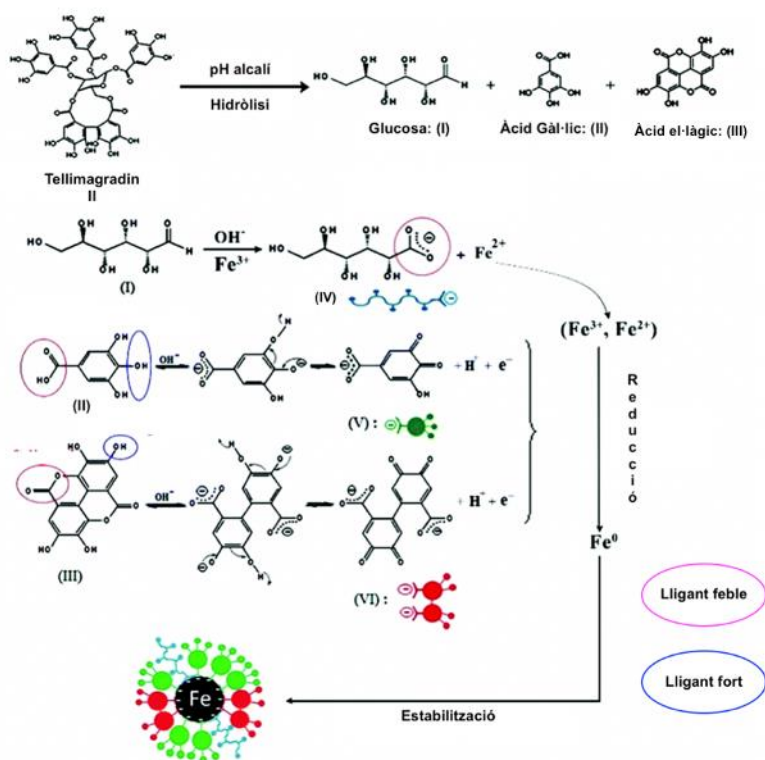


Figura 7. Mecanisme de reacció probable. Els grups fenòlics en els tanins s'oxiden a quinines amb el posterior alliberament d'electrons que redueixen els ions de ferro (17).

En aquest treball, s'han utilitzat com a agent reductor i estabilitzant, diferents extractes vegetals explicats seguidament.

2.4.1. RAPA DE RAÏM

La rapa de raïm, és un residu vegetal de la indústria vitivinícola, el qual es genera en el procés del desrapat dels raïms i representa entre el 2,5 i 7,5% del pes del raïm (19). La rapa de raïm s'obté en gran quantitat en la producció de vi a la zona mediterrània. Concretament, Catalunya produeix una mitjana de 5.000.000 hL de vi a l'any, a partir de 400.000 tones de raïm. En aquest procés s'obtenen més de 10.000 tones de rapa de raïm com a subproducte (20).

Aquest producte de deixalla té un alt grau de fibres (lignina i cel·lulosa) i un alt percentatge de nitrogen i potassi. També, les tiges contenen quantitats significatives de compostos polifenòlics, especialment àcids fenòlics (21).

MEMÒRIA

L'ús de la rapa de raïm com a reactiu per a sintetitzar nanopartícules de ferro zero, és possible perquè s'ha demostrat que els polifenols que conté juguen un paper clau en aquest procés, ja que són bons agents reductors i estabilitzants.

La rapa de raïm utilitzada té origen d'una cooperativa vitivinícola d'Espolla (Alt Empordà).



Figura 8. Rapa de raïm cooperativa vitivinícola Espolla.

2.4.2. CAFÈ

"El cafè és una col·lecció increïblement potent de compostos biològicament actius", va dir el Dr. Walter Willett, de l'Escola de Salut Pública de Harvard (22).

El cafè conté compostos complexos, algun d'ells la cafeïna i àcid clorogènic. La cafeïna és un alcaloide ($C_8H_{10}O_2N_4 \cdot H_2O$) és diürètic, mentre que l'àcid clorogènic és un polifenol i funciona com un fort antioxidant. Una tassa de 10 g de cafè en pols Robusta conté aproximadament 100 mg de cafeïna i 200 mg d'àcid clorogènic (23).

Un estudi japonès publicat l'any 2007, va concloure que el contingut en polifenols en el cafè, evita fenòmens oxidatius (24). La temperatura de l'aigua és un dels factors que s'ha de controlar, ja que, s'ha observat que influeix a l'extracció de l'àcid polifenòlic en el cafè (25).

El cafè també conté compostos orgànics com cel·lulosa, àcids grassos, lignina, sucres i tanins que es poden utilitzar com a agents reductors (26).

El cafè utilitzat a l'estudi ha estat el del gra natural EROSKI bàsic, paquet 500 g, fabricat per Cafès Baqué S.L.



Figura 9. Cafè Eroski bàsic utilitzat a l'estudi.

2.4.3. TÉ ROOIBOS

Fa temps que es coneix que els derivats d'origen vegetal tenen activitat biològica (27). Rooibos (*Aspalathus linearis*) és un arbust lleguminós i té el seu ús comercial com te d'herbes.

El producte no fermentat es manté de color verd, durant la fermentació, el color canvia de verd a vermell amb l'oxidació dels polifenols constituents (28). Segons Habu et al, 1985 (29), són uns 99 compostos els presents en el te rooibos. Els que interessen en aquest estudi són els diversos compostos polifenols que hi són presents, però la concentració total de flavonoides en cadascun dels diferents tipus de te rooibos, pot diferir per més de deu vegades.

Aquestes diferències són atribuïbles a les modificacions químiques que es produeixen durant la fermentació i als mètodes de processament. Aquest interès amb els polifenols recau pel potencial de reducció i antioxidant que té.

El té rooibos utilitzat en aquest treball va ser comprat a un comerç local al carrer ciutadans de Girona, El té de ciutadans <https://eltedelsciutadans.wixsite.com/tedelsciutadans>.



Figura 10. Te rooibos de planeta te.

2.4.4. CITRAT DE SODI I ÀCID TÀNNIC

El citrat sòdic te la formula $Na_3C_6H_5O_7$ i és la sal sòdica de l'àcid cítric. El citrat de sodi s'utilitza principalment com acidulant, aromatitzant i preservatiu en aliments i begudes. També serveix com a antioxidant i és per aquesta característica que s'ha utilitzat com agent reductor.

L'àcid tànnic la seva formulació és $C_{76}H_{52}O_{46}$ i el benefici és com a l'agent estabilitzant, a més d'evitar l'aglomeració de les nanopartícules, exerceix un paper important en el control de la grandària i forma de les nanopartícules.



Figura 11. Citrat de Sodi i Àcid Tànnic [Scharlau].

2.5. CARACTERITZACIÓ EXTRACTES VEGETALS I NANOPARTÍCULES DE FERRO VALÈNCIA ZERO

Per realitzar la caracterització, es va consultar bibliografia de diversos autors per obtenir informació sobre els instruments i mètodes que es poden utilitzar per a l'anàlisi tant dels extractes com per les nZVI.

2.5.1. EXTRACTES VEGETALS

L'aspecte més important de l'extracte és que, aquest conté compostos orgànics que poden reduir el metall de la solució. Les tècniques utilitzades se centren en la determinació de la quantitat de compostos orgànics presents. Donada la complexitat de la matriu orgànica dels extractes, es fa difícil la determinació dels seus components. A la caracterització dels extractes es va determinar paràmetres com: la capacitat antioxidant (quantificació polifenols), el pH, el potencial redox, i la DQO.

2.5.1.1. Contingut total de polifenols

Un antioxidant és una molècula capaç de retardar o prevenir l'oxidació d'altres molècules. Com a antioxidants, els polifenols poden protegir les cèl·lules contra el mal oxidatiu i per tant limitar el risc de diverses malalties degeneratives associades a l'estrès oxidatiu.

Un dels mètodes més usat per a determinar i quantificar polifenols totals en vegetals és l'assaig de Folin-Ciocalteu. És un mètode colorimètric, basat en el fet que els compostos fenòlics reaccionen amb aquest reactiu, a pH bàsic, donant lloc a una coloració blava susceptible de ser determinada espectrofotomètricament a 760 nm. Aquest reactiu conté una mescla de wolframat sòdic i molibdat sòdic que reacciona amb els compostos fenòlics presents en la mostra formant complexos fosfomolibdic-fosfotúngstic (format per les dues sals en el mitjà àcid), de color groc i a conseqüència de ser reduït pels grups fenòlics dóna lloc a un complex de color blau intens, la intensitat del qual és la que mesurem per a avaluar el contingut en polifenols. Es quantifica sobre la base d'una recta patró d'àcid gàl·lic (30).

2.5.1.2. pH

Les alteracions en el pH té un gran efecte sobre el potencial zeta i la mida de les nano. Alguns autors com Wang et al, 2010 (31), indiquen que per a l'obtenció de les nanopartícules és necessari realitzar un control de pH per a evitar l'oxidació del Fe (III) i la formació d'algun hidròxid ferrós durant la reacció.

A pH baix, la majoria dels lligands estan protonats i hi ha pocs llocs d'enllaç disponibles per als ions Fe_3^+ . Mentre que, un augment del pH, la desprotonació augmenta i proporciona més llocs d'unió per Fe^{3+} (32).

El pH també influeix en l'aglomeració de les nanopartícules. A pHs baixos s'obtenen estructures poligonals (triangulars i hexagonals) i a pHs alts nanofils (33). El temps de reacció varia de manera directa, les reaccions més lentes es produeixen a pHs inferiors. Un augment del pH redueix el temps de reacció, ja que a pHs elevats abunden les espècies bàsiques afavorint la reducció i modifica la grandària de les nanopartícules (34).

2.5.1.3. Potencial redox

Una manera de quantificar si una substància és un fort agent oxidant o reductor, és utilitzant el potencial redox., una mesura que es pot fer mitjançant un elèctrode REDOX, que mesura l'activitat dels electrons, l'energia química oxidació-reducció convertint-la en energia elèctrica. Els agents reductors forts tenen un alt potencial de transferència d'electrons. Està relacionat amb el pH. És anàleg al pH, ja que, el mateix mesura l'activitat de protons i el potencial redox mesura la dels electrons mitjançant un elèctrode, convertint l'energia química oxidació-reducció en energia elèctrica (35). El potencial redox és positiu quan es produeix una oxidació i negatiu quan és una reducció. El resultat dona una mesura en mil·livolts per comparació amb un elèctrode de referència.

2.5.1.4. DQO

La demanda química d'oxigen, el valor es presenta com a la demanda d'oxigen de la totalitat d'aquesta matèria orgànica i s'expressa mg O₂/L requerit per a l'oxidació.

2.5.2. NANOPARTÍCULES DE FERRO VALÈNCIA ZERO

Com es poden identificar els nanomaterials?

La descripció d'un nanomaterial ha d'incloure la grandària mitjana de les seves partícules, tenint en compte l'agrupació i la grandària de les partícules individuals i una descripció de la distribució per grandària de les partícules (el rang de les partícules presents en la preparació, des de la més petita a la major).

Les valoracions detallades poden incloure la següent informació:

Propietats físiques:

- Grandària, forma, superfície específica i proporció entre amplària i altura.
- Si s'adhereixen unes a altres.
- Distribució segons la grandària.
- El llis o rugositat de la seva superfície.
- Estructura, inclosa l'estructura de cristall i qualsevol defecte de cristall.
- La seva capacitat per a dissoldre's.
- Canvi de color de la solució.

Propietats químiques:

- Estructura molecular.
- Composició, inclosa la seva puresa i qualsevol additiu o impuresa coneguts.
- Química de superfície.
- Atracció de molècules d'aigua i d'olis o greixos.

Existeixen diverses tècniques per a rastrejar nanopartícules i s'estan desenvolupant altres noves (36).

Les nanopartícules en aquest treball van ser caracteritzades amb els següents procediments.

2.5.2.1. Dispersió dinàmica de llum (DLS)

La tècnica físico-química de dispersió dinàmica de llum (DLS) és una eina per a la determinació de la distribució de grandàries de partícules en suspensió. "Dynamic light Scattering", es fomenta en la variació en el temps de les fluctuacions de la intensitat de la llum dispersada.

La llum làser en aconseguir contactar amb les nombroses partícules que hi ha en una suspensió, es dispersa en totes les direccions possibles. Si se separa una direcció, els feixos de llum dispersats per diferents partícules interfereixen entre si i s'obté una intensitat de dispersió determinada. El principi de la dispersió dinàmica de la llum es basa en el fet que les partícules i molècules estan en constant moviment tèrmic aleatori, anomenat moviment Brownià. A conseqüència d'aquest moviment, les posicions relatives de les partícules varien constantment entre si, cosa que també provoca canvis en les condicions d'interferència i en la mateixa intensitat de dispersió. Si les partícules es mouen ràpidament (partícules petites), també s'accelera la variació de la intensitat de dispersió. Per contra, les partícules lentes (grans) porten a variacions més lentes. Per norma general, en la dispersió de llum dinàmica la suspensió de la mostra roman en repòs (37).

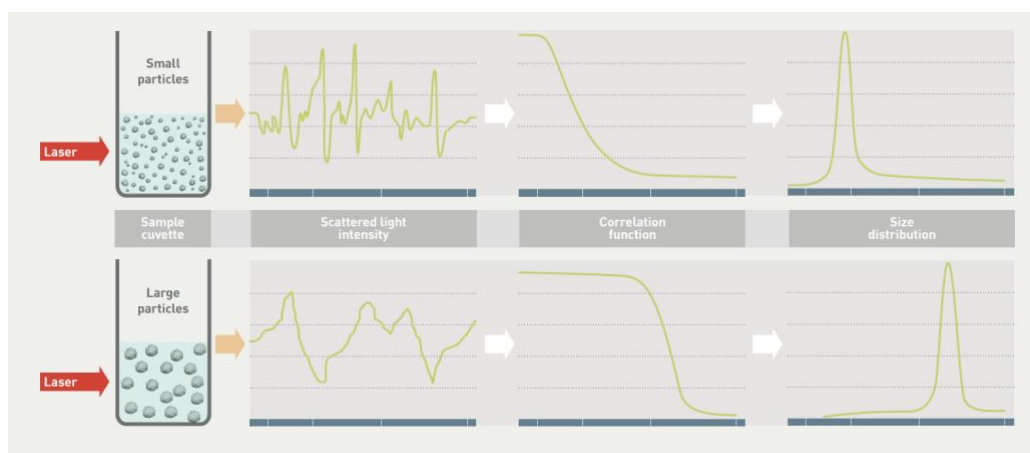


Figura 12. Tècnica de mesura del DLS. www.malvern.com

Pel treball s'ha utilitzat Zetasizer Nano ZSP, és un analitzador de grandària de partícula i grandària molecular de dos angles d'alt acompliment per a la detecció millorada d'agregats i el mesurament de mostres petites o diluïdes i de concentració molt baixa o alta.

L'equip DLS també incorpora un analitzador de potencial zeta. És un criteri per mesurar la magnitud de la repulsió o atracció electrostàtica entre les partícules en una suspensió líquida. És un dels principals paràmetres per caracteritzar l'estabilitat de les nanopartícules en un entorn aquós.

Les partícules amb potencials zeta superiors a +30 mV i inferiors a -30 mV es consideren estables (38).

2.5.2.2. ***Espectroscòpia ultraviolada-visible (UV-vis)***

La majoria de les solucions amb nanopartícules metàl·liques són acolorides i és possible fer un espectre d'absorció. En aquest cas, el color del ferro zero valent és negre. La intenció d'aquest experiment és trobar una connexió entre el color i la presència d'un tipus de nanopartícules, perquè normalment el color depèn de la presència de diferents tipus de partícules.

Aquesta tècnica es basa en la quantificació de la quantitat de llum absorbida i dispersa per una mostra. La intensitat d'un feix de llum és comparada a diferents longituds d'ona, abans i després de passar a través de la mostra per a crear un espectre d'extinció (39).

El rang entre 200-700 nm és usat en la caracterització de les nanopartícules metàl·liques.

Com s'indica en diversos articles sobre el tema, la formació de NZVI es caracteritza pel canvi en el color de la solució a negre després de l'addició de l'extracte vegetal a una solució de FeCl_3 . Segons alguns informes disponibles expliquen que la formació de nZVI es confirma mitjançant mesuraments d'absorció en la longitud d'ona d'aproximadament 230-250 nm (40).

Per a confirmar que la banda ocorre a causa de la formació de nZVI, es van registrar els espectres: de l'extracte de fulla, la solució de FeCl_3 i les nZVI sintetitzades.

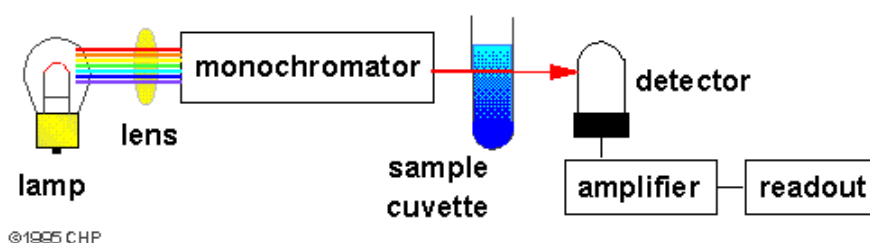


Figura 13. Espectrofotòmetre UV-Vis (Brian 1996).

2.5.2.3. Microscopi electrònic d'escombratge (SEM)

Amb bona il·luminació i a 30 cm de distància, l'ull humà pot distingir dos punts separats 0,1 mm. Amb el microscopi òptic es pot magnificar fins a 2000 vegades la grandària d'un objecte i resoldre detalls de fins a 0,2 μm . Aquest límit està donat per la naturalesa ondulatoria de la llum visible, ja que la física diu que en cap instrument es poden resoldre detalls més petits que la longitud d'ona de la radiació amb la qual s'està observant. En el cas de la llum visible, la longitud d'ona més petita que pot detectar l'ull és precisament, de 0,2 μm . Per poder sobrepassar el límit de resolució d'un microscopi òptic són necessaris instruments que utilitzin altres radiacions diferents de la llum visible per a formar la imatge (41).

Per aconseguir una tècnica de microscòpia electrònica, capaç de produir imatges d'alta resolució de la superfície d'una mostra, se substitueix el feix de llum per un feix d'electrons. La interacció entre electrons de la mostra i del feix genera un conjunt de senyals (electrons secundaris, electrons retro dispersats, electrons Auger, catodoluminescència i raigs X) que es recullen en diversos detectors a partir dels quals és possible construir una imatge topogràfica.

MEMÒRIA

Si es té tot l'equip treballant en una atmosfera interna pràcticament inexistent (alt buit), es podrà prendre imatges de mostres "difícils" de tractar (42).

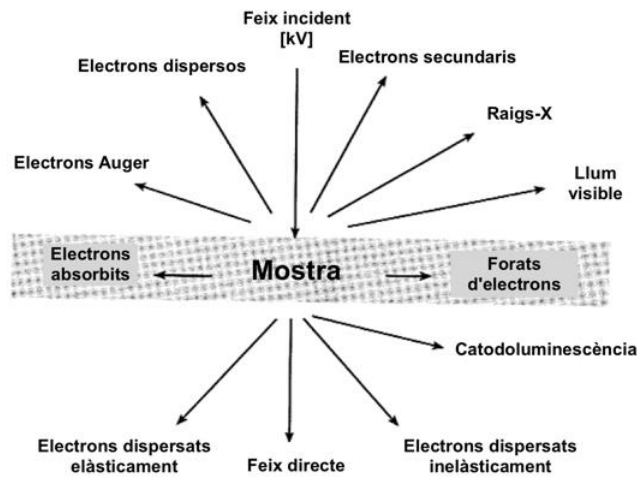


Figura 14. Interacció feix d'electrons amb la mostra.

El funcionament de l'aparell consisteix en primer lloc, de l'escalfament d'un filament de wolframi combinat, a vegades, amb hexaborur de lantani, és el responsable de generar el feix d'electrons.

El feix és accelerat mitjançant un camp elèctric fins que finalment penetra en la mostra i s'obtenen les imatges. La mostra està situada sobre una cambra de buit equipada amb diversos detectors que permeten analitzar diferents tipus d'electrons emesos, tal com s'ha mostrat en la Figura 14 (43) Aquest procés té lloc en una columna del microscopi mitjançant una diferència de potencial 1 a 30 kV. (44).

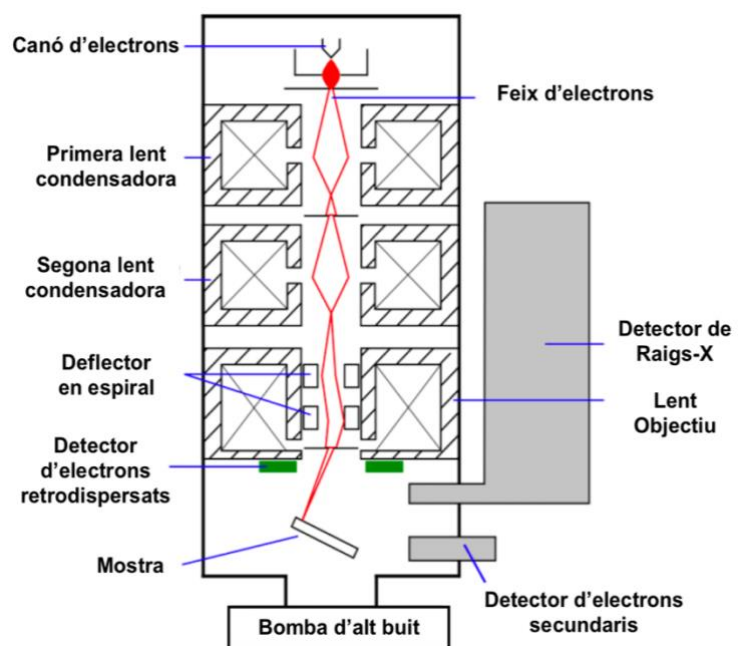


Figura 15. Esquema d'un equip SEM.

2.5.2.4. *Difracció de raigs X (XRD)*

X-ray Diffraction és un equip que ens brinda informació qualitativa i quantitativa de la mostra a analitzar. Tècnica basada en el fenomen de difracció d'ones, interferència causada per un objecte de dimensions similars a la longitud d'ona (λ) de la radiació amb què irradia el material a analitzar. S'utilitza com a radiació els raigs X, els quals presenten longituds d'ona de l'ordre dels 10^{-10} m, el mateix ordre que presenten els enllaços moleculars i les distàncies atòmiques, els mateixos que són capaços de difractar els raigs X. La desviació generada per la difracció provoca que els raigs X interfereixin entre ells, hi hagi variacions en la intensitat de la radiació. S'amplifica quan els desplaçaments estan en fase, coincideixen els màxims o els mínims entre si (interferència constructiva) o es redueixen/anul·len quan els desplaçaments no estan en fase, coincideixen els màxims amb els mínims (interferència destructiva). Per poder observar la difracció dels raigs X és necessari que es produeixi un feix intens generat per una interferència constructiva, la diferència entre els seus recorreguts ha de ser un número múltiple de la longitud d'ona.

A la vegada, això depèn de l'angle d'incidència (θ), el qual és format entre el feix incident i el pla de la xarxa que reflecteix en ell.

Quan l'angle (θ) compleix la llei de Bragg ($n\lambda = 2d \cdot \sin\theta$) es genera interferència constructiva, la qual cosa al seu torn produeix un augment de la intensitat que es correspon amb un pic en el perfil de difracció, s'exemplifica en la Figura 16. Això es repeteix amb cada angle que compleixi la llei de Bragg per a un pla cristal·lí en particular. Aquests plans es distingeixen mitjançant una sèrie d'índexs coneguts com a índexs de Miller (hkl), corresponents als recíprocs de les distàncies d'intersecció del pla amb els eixos x, y i z donats pels costats de la unitat de cel·la. Per tant són capaços d'indicar la ubicació i orientació espacial dels plans dins de l'estructura cristal·lina. Al seu torn aquests índexs s'associen amb els pics presents en els perfils de difracció, per tant aquesta tècnica és capaç de brindar una important quantitat d'informació estructural.

Com s'observa a la Figura 16, (A) s'irradia la mostra amb raigs X, sent l'angle del raig incident θ , i l'angle difractat 2θ . (B) s'observen les molècules i els seus respectius plans determinats pels índexs hkl .

MEMÒRIA

El raig difractat 2 presenta un recorregut de $2 \cdot d \cdot \sin\theta$ major que el raig difractat 1. Si la diferència de recorreguts és múltiple de λ , llavors es compleix la llei de Bragg, es genera interferència constructiva entre els raigs difractats donant un senyal de major intensitat. (C) aquest senyal és registrat pel detector i expressat com un perfil d'intensitat en funció de l'angle 2θ . El patró d'intensitats de l'espectre és una "empremta dactilar" de la mostra i l'ample de mitja banda marcat com ample de pic, és el que permet calcular la cristal·linitat de la mostra (45).

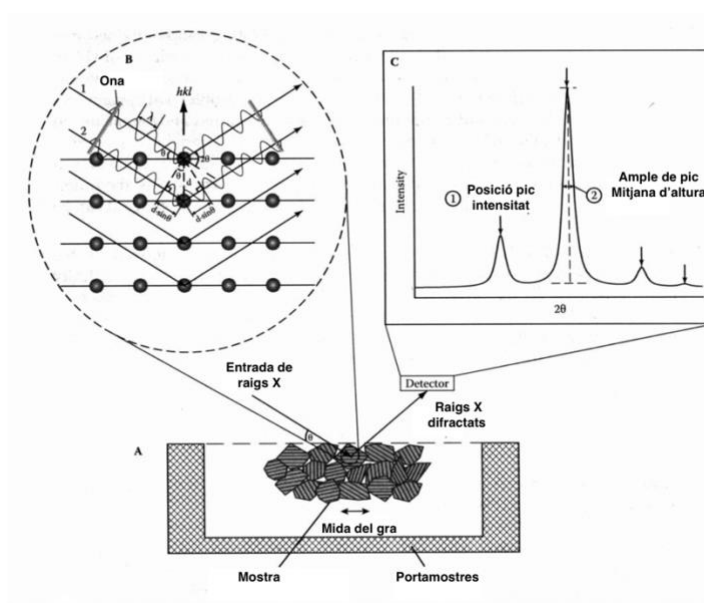


Figura 16. Difracció de raigs X.

2.6. METODOLOGIA D'OPTIMITZACIÓ

El diccionari de la llengua catalana de l'Institut d'Estudis Catalans defineix l'optimització com: dissenyar o modificar un sistema per tal d'obtenir-ne la màxima eficiència. El terme s'utilitza molt a l'àmbit de la química. Podem estar interessats en la síntesi de determinada substància i la producció d'aquesta dependrà de diferents factors o propietats, com ara: concentració dels reactius que participen en la síntesi, temperatura, pressió, pH, etc.

No obstant això, podem considerar que algunes d'aquestes propietats no han d'interferir significativament en el resultat final i en conseqüència, amb la finalitat d'obtenir resultats significatius i un rendiment màxim, es selecciona un conjunt restringit de propietats que es creu ser les responsables per la major o menor obtenció del producte desitjat.

MEMÒRIA

La correlació de tots aquests factors poden ser expressats a través de mètodes matemàtics que permeten maximitzar o minimitzar alguna propietat específica del sistema en estudi.

La metodologia que s'ha utilitzat a l'estudi és la Superfície de Resposta (RSM) és un conjunt de tècniques matemàtiques i estadístiques utilitzades per a modelar i analitzar problemes en els quals una variable d'interès és influenciada per unes altres. El propòsit inicial d'aquestes tècniques és dissenyar un experiment que proporcioni valors raonables de la variable resposta i, a continuació, determinar el model matemàtic que millor s'ajusta a les dades obtingudes. L'objectiu final és establir els valors dels factors que optimitzen el valor de la variable resposta. Això s'aconsegueix en determinar les condicions òptimes d'operació del sistema.

La diferència entre RSM i un disseny experimental corrent consisteix en el fet que aquest últim, només té com a objectiu localitzar el tractament "guanyador" entre tots aquells que s'han provat. En canvi, RSM pretén localitzar les condicions òptimes d'operació del procés. Això suposa un repte per a l'investigador, requereix una estratègia més completa i inclou la possibilitat d'efectuar diversos experiments seqüencials i l'ús de tècniques matemàtiques més avançades.

Aquesta tècnica estadística multivariant va ser originada pel treball de Box i Wilson (1951) (46). En aquest mètode s'utilitzen diferents models matemàtics: un de caràcter lineal per a cada variable, un altre de funció de segon ordre per les interaccions entre les diferents variables i per últim un quadràtic per determinar els punts crítics (màxims, mínims o una sella). La funció el model queda de la següent forma:

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

Constant
Principal influent
Curvatura
Interaccions
Error

- y és variable resposta
- x_i i x_j són les variables independents
- β_i coeficient lineal
- β_{ij} el coeficient de les variables creuades
- ϵ l'error experimental
- β_0 el coeficient d'intersecció
- β_{ii} el coeficient quadràtic

β els coeficients que mesuren la influència que les variables tenen sobre la y

MEMÒRIA

Es determina el valor d'aquests coeficients per esbrinar quines variables són les que més influeixen en el sistema (47).

Si hi ha una bona correlació estadística de les dades obtingudes, s'obté una funció quadràtica pròpia del sistema estudiat amb una distribució concreta. A continuació es mostra les diferents formes més ocurrents i aporten millor informació de distribució que poden succeir.

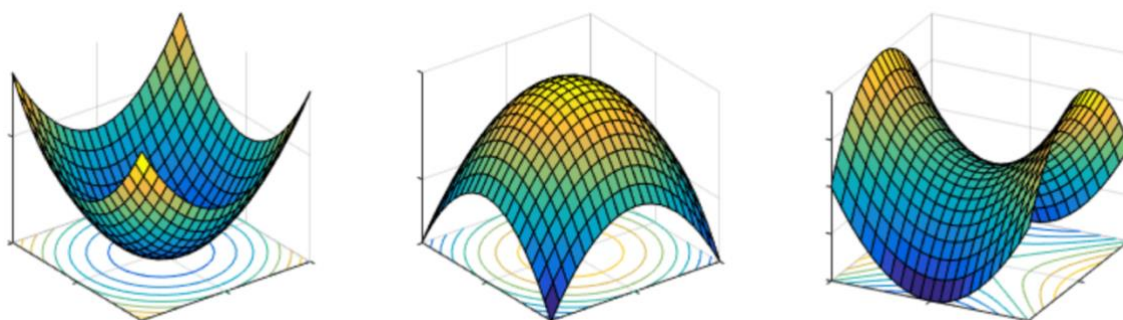


Figura 17. Punt estacionari mínim (esquerra), màxim (centre) i punt de sella (dreta).

A l'apartat 3.4 s'explica el mètode RSM realitzat en aquest treball, així com s'informa de quines són les variables influents en la mida de nZVI amb els seus nivells i valors.

3. MATERIALS, EQUIPS I MÈTODES

El present treball s'ha fragmentat en dues parts. Inicialment, en la preparació dels extractes i síntesis de nZVI. En segon terme, en la caracterització de les propietats d'aquests.

La Figura 18, exhibeix l'itinerari seguit durant l'execució del treball, diagrama de Gantt. La Figura 19, es destaquen les anàlisis realitzats per la caracterització

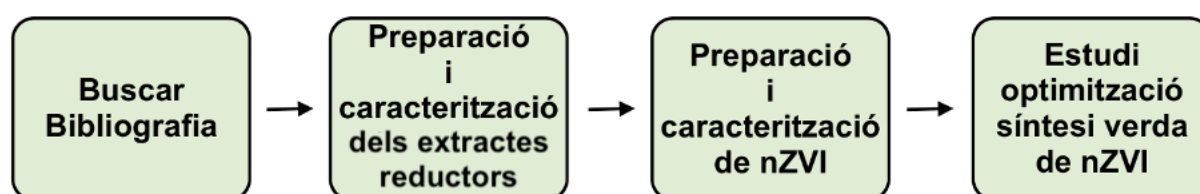


Figura 19. Ruta de realització del treball.

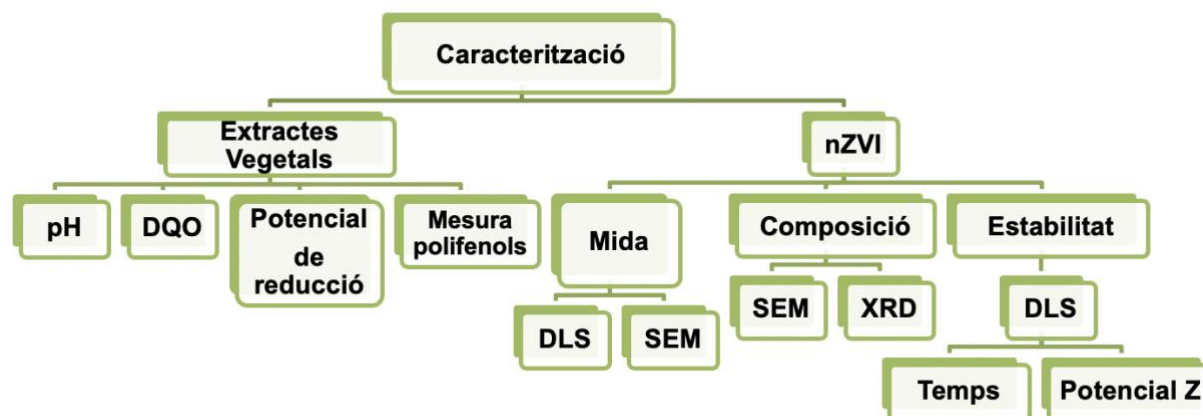


Figura 18. Caracterització realitzada.

3.1. LOCALITZACIÓ DE LA REALITZACIÓ DE LA INVESTIGACIÓ

Referent tant als extractes vegetals com a les nZVI, la part experimental del treball s'ha dut a terme als laboratoris d'Enginyeria Química (Lab. 2.5), d'Instrumentació (Lab.2.3) i Metalls i Medi Ambient (D 2.10 I), del departament EQATA, a l'Escola Politècnica Superior (EPS). També al laboratori de l'aulari comú de la Universitat de Girona.

Les mesures de XRD i SEM les van fer tècnics especialitzats en unitat d'anàlisi químic i estructural a Serveis tècnics de recerca del Parc Científic i Tecnològic de la UdG.

3.2. EXTRACTES REDUCTORS

Es va preparar quatre tipus d'extractes: cafè, rooibos, rapa (extractes vegetals) i àcid cítric amb àcid tànnic. Seguidament es van caracteritzar per esbrinar quin d'ells conté les millors propietats com a reactiu reductor.

3.2.1. PREPARACIÓ DELS EXTRACTES REDUCTORS

L'elaboració d'extractes es va dur a terme per a cada espècie mitjançant un procés d'extracció sòlid-líquid, en les mateixes condicions de temperatura, temps de contacte i proporció biomassa-dissolvent.

3.2.1.1. Materials

- Àcid cítric (180mM) + àcid tànnic (4,1mM)
- Té rooibos
- Cafè
- Rapa raïm
- Aigua mili-Q

3.2.1.2. Equips

- Molí de Ganivetes

Per triturar la rapa de raïm es va utilitzar el molí de ganivetes de la marca *Waring Comercial*.



Figura 20. Molí [Waring] de 230 V, 50 Hz i 200 W.

MEMÒRIA

- Tamisador

Per seleccionar la mida més petita possible del producte verge, es van utilitzar tamisos de: 3,15 mm, 1,00 mm, 500 μm i 250 μm . S'ha tamisat lots de 100 g durant 15 minuts amb un cicle 5" en marxa i 5" apagat i amb una amplitud de 2 mm.



Figura 21. Tamisadora electromagnètica i digital. Dimensions: 445x335x200 m. Voltatge: 230 v-50 Hz / 110 v-60 Hz.

- Balança analítica

Per la mesura del pes, en funció de la precisió exigida, es van usar diferents models.

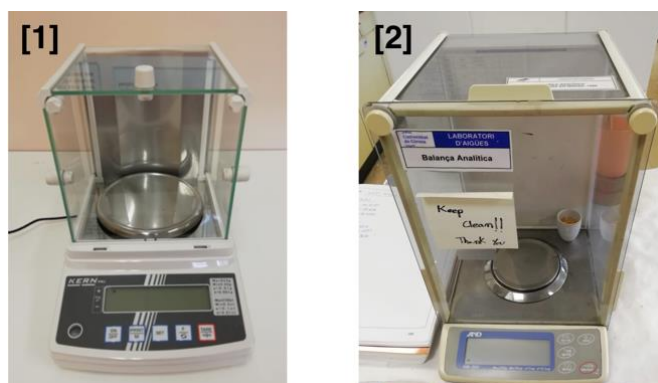


Figura 22. [1]: Balança de pes màx. 620 g i mín. 0,02 g amb una precisió de $\pm 0,01$ g.

[2]: Balança de pes màx. 210 g i mín. 10 mg una precisió de ± 1 mg.

- Filtre al buit

Tècnica per la separació del sòlid-líquid. La mescla s'introdueix en un embut Büchner amb el paper de filtre acoblat al fons. L'embut Büchner es col·loca sobre un matràs Kitasato.



Figura 23. Sistema filtració al buit.

MEMÒRIA

- Equip de reflux

Per a l'obtenció d'extractes es va utilitzar el mètode de maceració. El sistema va comptar amb un equip de reflux per a evitar pèrdues per evaporació amb la manta calefactora per baló de fons arrodonit de la marca BOECO, model Serie KM-ME.



Figura 24. Equip de reflux.

3.2.1.3. **Mètode d'obtenció dels extractes reductors**

Primerament es va preparar la matèria primera vegetal per treure el millor rendiment i poder extreure el màxim el poder antioxidant d'elles. A mida més petita hi ha major extracció de polifenols en els sòlids vegetals.

La preparació de la rapa de raïm que s'ha dut a terme és la següent:

En primer lloc es va assecar la rapa de raïm en contacte amb l'aire. Llavors es va eliminar les impureses i triturar amb un molí de ganivetes, eliminant les parts més llenyoses. Posteriorment, es van separar les partícules obtingudes en funció de la seva granulometria utilitzant tamisos de diferents mides.



Figura 25. Rapa preparada per procedir a l'extracció.

Per la preparació del cafè, únicament es va triturar amb l'aparell de la Figura 26.[2]

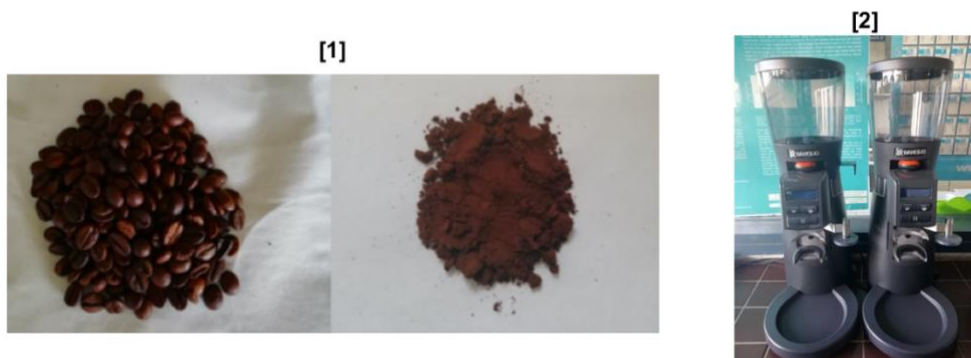


Figura 26. [1]: Cafè gra natural i cafè triturat.

[2]: Molí de cafè marca Rancilio

El condicionament del te rooibos va consistir amb moldre'l en un molí de ganivetes (Figura 20), seguidament tamisar-lo per aconseguir la mínima magnitud de partícula.



Figura 27. Te rooibos preparat.

La matèria vegetal preparada es va guardar en el dessecador per evitar la seva oxidació i s'anava agafant quan es necessitava.

Cada extracte va estar elaborat amb material sòlid, el qual es mesclà amb aigua mili-Q a temperatura d'ebullició. La relació sòlid/aigua és important per tenir la concentració d'extracte de compostos orgànics en l'extracte, com els polifenols. Per decidir l'extracte que s'ha utilitzat per a la síntesi de nZVI, la relació sòlid/aigua utilitzada ha estat 6 g sòlid/100 ml aigua, proporció més usada en els informes consultats. Més endavant s'explica l'optimització realitzada, per esbrinar en quina proporció obteníem els polifenols òptims, ja que és un factor addicional que pot influir en la mida de partícula de les nanopartícules.

MEMÒRIA

En un metràs aforat, es van pesar els grams del vegetal verge que es volia preparar i seguidament va ser mesclat amb l'aigua. Tot seguit mitjançant el mètode de maceració, la mostra, per no haver-hi pèrdues per evaporació, bullia a l'equip de reflux mostrat a la Figura 24 durant uns seixanta minuts, aproximadament a 100°C. Es deixava refredar i tot seguit passava per dos tipus diferents de filtre. En el primer filtrat es va passar l'extracte per paper filtre estàndard, per a eliminar les partícules grans. El segon, consistia en passar la solució per l'equip de filtració al buit amb un paper de filtre de microfibra, Figura 23, d'aquesta manera asseguràvem que la reacció es realitzava amb les partícules més petites de l'extracte

Finalment, s'enrasava a 100 ml per a obtenir el mateix volum en tots els extractes i es mantenia en el frigorífic a 4°C aproximadament per a posteriors anàlisis de caracterització i síntesi de nZVI.

Una vegada escollit l'extracte utilitzat per la síntesi es va realitzar una extracció de gran volum. Es va separar en alíquotes que van ser congelades per evitar el deteriorament de la matèria orgànica i l'aparició de fongs. Es descongelaven en funció de la demanda del projecte.

3.2.2. CARACTERITZACIÓ DELS EXTRACTES REDUCTORS

Els extractes es van obtenir posant la matèria verge vegetal en contacte amb l'aigua a una temperatura durant un cert temps de contacte. L'extracte conté compostos orgànics que redueixen el metall i ajuden a sintetitzar nanopartícules metàl·liques. Es determina paràmetres com: la capacitat antioxidant (quantificació polifenols), el pH, el potencial redox i la DQO.

3.2.2.1. Materials

Tots els productes químics utilitzats van ser de qualitat i es van utilitzar sense purificació addicional.

- **Quantificació polifenols**
 - Folin-Ciocalteu
 - Mili-Q
 - Àcid gàl·lic
 - Carbonat de sodi
- **Potencial Redox**
 - Solució ORP 270 mV i 470 mV
- **DQO**
 - Vials DQO



Figura 28. Solucions ORP [Hannalnst], Folin-Ciocalteu [Scharlau] i Àcid Gàl·lic [Acros].

3.2.2.2. Equips

- **Quantificació polifenols**
 - Espectrofotòmetre UV-Vis.

L'UV-mini-1240 combina l'excel·lència en electrònica amb l'última tecnologia de producció de xarxes de difracció hologràfiques per bombardeig iònic i un sistema òptic de feix dividit amb monitoratge de les fonts de llum. Mode fotomètric per a mesurar absorbància o transmitància a longitud d'ona fixa. També permet anàlisi quantitatiu simple usant el mètode del factor K. L'UV Mini permet adquirir espectres entre 200 i 1100 nm.



Figura 29. Espectrofotòmetre UV-mini-1240 [Shimadzu].

MEMÒRIA

- **pH**

• pHmetre

El GLP 21 és un mesurador pH de laboratori més complet amb resolució entre 0,1, 0,01 i 0,001 pH.



Figura 30. pH-Meter GLP 21 [Crison].

- **Potencial Redox**

• Potenciòmetre PH50 + DHS

És un instrument per a mesurar pH i mV, resolució de 1/0,1 mV. Mesura per estabilitat, quan el senyal de l'elèctrode roman invariable durant un cert temps aquesta es fixa en la pantalla, mesura estable.



Figura 31. pHmetre PH50+ DHS, [Crison]

- **DQO**

• Termoreactor

Termoreactor flexible per al condicionament de mostres per a la determinació fotomètrica de DQO. Disgregació amb possibilitat de tres rangs de temperatura i tres temps de reacció preprogramats, per una l'oxidació completa de dues hores a 150 °C de les mostres i el blanc.



Figura 32. Termoreactor Lovibond RD125. www.lovibond.com

- *Espectrofotòmetre*

El SpectroDirect és un modern fotòmetre espectral monofeix especialment per l'anàlisi d'aigua. Compta amb una sèrie de mètodes preprogramats basats en l'acreditada gamma de proves de cubetes, tauletes de reactiu, reactius líquids i reactius en pols.



Figura 33. Espectrofotòmetre Lovibond SpectroDirect. www.docplayer.es

3.2.2.3. Procediment de caracterització dels extractes

- Contingut total de polifenols

Els fenols totals es determinen mitjançant el mètode espectrofotomètric de Folin-Ciocalteu, utilitzant l'àcid gàl·lic com a material de referència.

Es va preparar una solució d'àcid gàl·lic de 1000 mg/L, i es van fer patrons de 200, 400, 600, 800, 1000 mg/L per la preparació de la corba de calibratge. Seguidament es va preparar una dissolució de carbonat de sodi al 10%. La solució final es va realitzar amb la mescla de 1800 µL de Na₂CO₃ 10%, 200 µL d'extracte o mostra patró, 7800 µL aigua mili-Q i 1200 µL de reactiu Folin-Ciocalteu i s'ha deixat reposar unes 2 hores. Passat el temps, amb l'espectrofotòmetre (Figura 29) es va analitzar l'absorbància a 760 nm, amb cubeta de quars, dels patrons i el blanc per fer la recta de calibratge mitjançant la recta de regressió lineal. Per acabar es va mesurar l'absorbància de la mostra per obtenir el contingut de polifenols expressats com àcid gàl·lic amb la recta obtinguda.

- ***pH***

La mesura de pH es va realitzar sobre l'extracte recentment sintetitzat, una vegada aconseguida la temperatura ambient i posteriorment al calibratge de l'equip de la Figura 30 amb els reactius patrons que s'observen amb el tap verd i vermell.

- ***Potencial Redox***

La mesura del potencial redox es va realitzar sobre l'extracte recentment sintetitzat, una vegada aconseguida la temperatura ambient. Per a fer la mesura es van utilitzar un elèctrode de platí i or 270 mV i 470 mV pel calibratge de l'equip, primer reactiu de la Figura 28 connectat al potenciòmetre de la Figura 31 de pH/mV.

- ***DQO***

Per a realitzar la determinació de la DQO es va emprar amb tubs de test de DQO, els quals contenen el reactiu de determinació de DQO ja preparat.

El contingut de cada tub és una mescla d'àcid sulfúric, dicromat potàssic i sulfat de mercuri donada en unes proporcions adequades per a l'addició directa de 2ml de mostra de concentració estimada en el rang de 100-1500 mg/L DQO.

Els tubs de mostra i un blanc es van escalfar a 150 °C durant 2h en un digestor RD 125 Lovibond Figura 32 per a una oxidació completa, després de la qual cosa es deixen temperar abans de realitzar les mesures d'absorbància a 600 nm.

3.3. NANOPARTÍCULES DE FERRO VALÈNCIA ZERO

En el present treball s'ha realitzat la síntesi de manera sintètica, amb el reactiu mix de citat de sodi i àcid tànnic, com a experiment per poder comparar el tipus de síntesi amb l'opció via verda, que és la que ens interessa. S'han sintetitzat les nanopartícules mitjançant els extractes vegetals i $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i tot seguit la seva caracterització.

MEMÒRIA

La síntesi de les nanopartícules, es divideix en tres etapes: la nucleació, el creixement i l'estabilització (48).

Diversos paràmetres, com el temps de reacció, la concentració de precursor de metall, la quantitat d'extracte de fulla, la temperatura de reacció i pH són paràmetres clau per a la síntesi de nanopartícules en un enfocament ecològic. La importància d'aquests paràmetres varia en diferents extractes de plantes. Mentre s'usa un extracte de planta particular, s'han de fer diverses recerques per avaluar els efectes de cada paràmetre en els trets característics de les partícules obtingudes. Finalment, un estudi d'optimització determinaria l'estat òptim de cada paràmetre per a determinar el millor resultat de nZVI més petites.

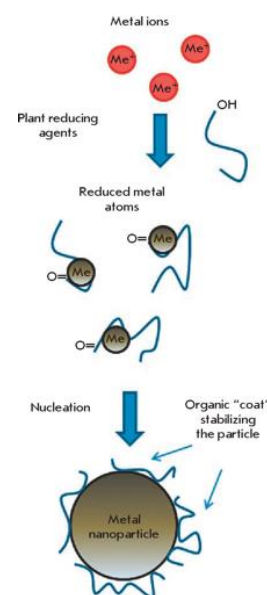


Figura 34. Etapes de la síntesi de nanopartícules

3.3.1. PREPARACIÓ DE LES NANOPARTÍCULES DE FERRO DE VALÈNCIA ZERO

Es van sintetitzar les nZVI amb els diferents reactius reductors. A causa de la inestabilitat del ferro, les nZVI es van preparar en dos medis, en presència o no d'oxigen (gas nitrogen) per evitar l'oxidació.

3.3.1.1. Materials

- nZVI
 - Extracte de rapa
 - Extracte de cafè
 - Extracte de rapa
 - $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,1M
 - Nitrogen gas
 - Extracte de citrat de sodi i àcid tànnic
- Muntatge de cables amb quatre capil·lars

Per aconseguir que la reacció succeís en un medi inert, es va fer un muntatge de cables amb quatre capil·lars per connectar la boca de sortida del gas nitrogen amb els quatre tubs d'assaig on succeïa la síntesi de nZVI.

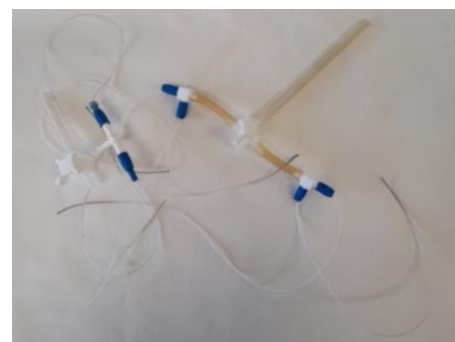


Figura 35. Muntatge de cables amb quatre capil·lars.

3.3.1.2. Equips

Per la filtració de la síntesi de nZVI, es va usar l'equip de filtre al buit de la Figura 23.

- Centrífuga

Equip separador del sòlid/líquid en acabar la reacció. També va servir per alliberar les nanopartícules de l'agrupament entre elles i neteja del precipitat format per facilitar la posterior anàlisi XRD d'ell. Centrífuga de 8 tubs cònics de 50 ml, velocitat màx. 15000 Rpm i voltatge 115-127 V.



Figura 36. Centrífuga model Universal 320 [Hettich].

- Estufa

Estri que va evaporar l'aigua del precipitat centrifugat. Estufa Sèrie Premier, d'assecatge i esterilització a convecció natural amb temperatures regulables des de 40°C fins a 250°C.



Figura 37. Estufa model Conterm [Selecta].

- *Agitador magnètic amb calefactor*

L'utensili que pot agitar i escalfar solucions al mateix temps. Regulació electrònica de la velocitat 60 a 1600 Rpm i temperatura màxima de 350°C.



Figura 38. Agitador/calefactor model Agimatic-n [Selecta].

- *Bany termostàtic*

La seva funció es basa a transferir calor indirectament, per convecció tèrmica i escalfar la substància que no pot ser exposada a fonts directes de calor. La qual és submergida en un recipient major, en aquest cas el bany, amb aigua que es porta fins a la temperatura desitjada. Mètode amb el qual es pot tenir una temperatura constant de reacció. L'equip té una cubeta de capacitat de 20 L i amb temperatura màxima de 150°C.



Figura 39. Bany termostàtic model Digiterm [Selecta].

3.3.1.3. Procediment de síntesis de nanopartícules ZVI

S'han sintetitzat les nZVI utilitzant quatre procediments amb un temps de reacció de quinze minuts. La temperatura i la ràtio s'han escollit en referència a les utilitzades en diferents articles consultats. Referències d'articles que usen: ràtio 2/3 (49,50) i ràtio 1/2 (51,52).

La Taula 1 mostra les condicions per cada procediment.

Taula 1. Procediments per la síntesi de nZVI.

Procediment	Ràtio FeCl ₃ /Reactiu redox.	Temperatura (°C)
1	2/3	100
2	2/3	70
3	1/2	100
4	1/2	70

A conseqüència de disposar d'un bany amb control de temperatura es van realitzar els experiments en funció la temperatura de reacció i del muntatge de cables amb quatre capil·lars. Es van realitzar els procediments en quatre preparacions de quatre tubs d'assaig cada preparació. Dues preparacions a 100°C cadascuna d'elles amb dos dels diferents extractes vegetals i la quantitat d'ells a afegir. Els dos procediments restants es van fer amb el mateix procés, però a 70°C. Per fer-ho més entenedor, la Figura 40 mostra un esquema de la realització per la síntesi de les nZVI.

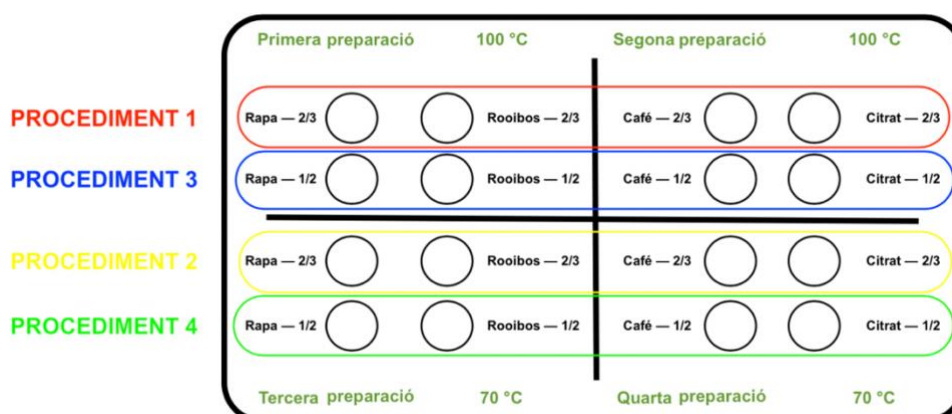


Figura 40. Esquema de la realització per la síntesi de nZVI.

MEMÒRIA

En totes aquestes síntesis es va realitzar la mateixa metodologia variant els paràmetres diferencials de cadascun d'ells. Tot seguit s'explica la metodologia.

Primerament es va introduir en el bany els quatre tubs d'assaigs nets i marcats, els quals, se'ls hi va afegir la quantitat d'extracte vegetal que representa a cada procediment. En observar amb la sonda PT100 que l'extracte i el bany aconseguien la temperatura desitjada de reacció es procedia a tancar els tubs amb paper *parafilm*, realitzant un forat per introduir el capil·lar d'entrada del gas nitrogen per mantenir un bombolleig constant. Passats cinc minuts, per assegurar l'homogeneïtat de la temperatura i una atmosfera inerta completa es va tancar la bombona del gas. Tot seguit a cada mostra se li va afegir FeCl_3 amb la seva proporció, se la va tancar bé amb un tap i es va deixar reaccionar durant quinze minuts. La velocitat d'addició de la solució de clorur fèrric a l'agent reductor ha de ser constant per a assegurar una adequada distribució de les nZVI i evitar aglomeracions. Una ràpida addició de l'agent reductor causa la formació de nanopartícules grans, mentre que una addició lenta provoca l'oxidació d'aquestes (53). En aquest treball de recerca es va addicionar aproximadament a una gota per segon l'agent reduït. En acabar els temps de reacció, finalment per una ràpida refrigeració, es van introduir els tubs en un recipient amb gel. Es va fer servir un muntatge semblant al mostrat a la Figura 48

Immediatament després dels quinze minuts de repòs de la reacció, es va procedir a separar les fases de la solució amb l'ajuda de la centrífuga. Es va dividir el producte en volums iguals, ja que l'equip és sensible a la diferència de pes i es pot desnivellar el rotor, per la posterior centrifugació a 5000 rpm durant 10 minuts.

Acabada la centrifugació, es van obtenir 2 fases: un sobrenedant líquid i un precipitat sòlid. Es procedir a separar el sobrenedant i el precipitat, pipetejant i filtrant el primer deixant suficient líquid com per a cobrir el precipitat. El qual, netejat amb aigua mili-Q va ser tornat a ser centrifugat pel fet d'eliminar les impureses de matèria orgànica existents en ell. Finalment, el cristall sòlid va ser obtingut evaporant l'aigua mili-Q a l'estufa a uns 70°C durant tot un dia.

La solució líquida obtinguda es va conservar a la nevera i el sòlid al dessecador, per ser analitzats amb els seus mètodes respectius de caracterització.

3.3.2. CARACTERITZACIÓ DE LES NANOPARTÍCULES SINTETITZADES

Per a la caracterització de les nanopartícules es van realitzar anàlisis que requerien que la mostra es trobés en estat líquid i en estat sòlid.

Els procediments que requereixen la mostra en estat líquid són:

- UV-VIS
- DLS
- SEM

Els procediments que requereixen la mostra en estat sòlid són:

- XRD

La següent taula informa dels paràmetres avaluats i en l'estat que havien d'estar les mostres de nZVI en les diferents tipus d'anàlisis de caracterització realitzades

Taula 2. Mètodes usats per la caracterització de nZVI.

Tipus de Caracterització	Funció	Estat mostra
UV-VIS	Concentració, forma, mida i homogeneïtat	Líquid
DLS	Diàmetre mig i estabilitat	Líquid
SEM	Textura i mida	Líquid
XRD	Estat d'oxidació	Sòlid

3.3.2.1. *Materials*

- Aigua mili-Q
- Sobrenadant
- Precipitat

3.3.2.2. *Equips*

La concentració, forma, mida i homogeneïtat s'han caracteritzat amb el mateix l'espectrofotòmetre, Figura 29, utilitzat per la caracterització dels extractes .

- Dynamic Light Scattering (DLS)

La caracterització de la mida de la partícula obtinguda i la seva estabilitat s'han realitzat amb l'aparell de DLS. Equip amb un rang de mesurament 0,3 nm a 5,0 micres (diàmetre).



Figura 41. Equip DLS model zetasizer nano zs90 [Malvern].

- Bany ultrasons

Consisteix a introduir ones d'ultrasò en l'aigua, a través d'una sèrie de transductors. És útil per dispersar la mostra i així activar les nanopartícules.



Figura 42. Equip d'ultrasons [Selecta].

- Microscopi electrònic d'escombrat (SEM)

L'equip de la Figura 43, Scanning electron microscopy (SEM) proporciona unes imatges de la mostra d'alta resolució i elevada profunditat de camp per observar la textura, la forma i mesurar la mida del diàmetre de partícula de la mostra en estat líquid lliurada als serveis tècnics de recerca.



Figura 43. Microscopi Electrònic de Rastreig ZEISS DSM 960A.

- Unitat de difracció de raigs X (XRD)

La Tècnica de Raigs-X de Monocristall s'utilitza per a la determinació estructural a partir d'un cristall. Es va entregar mostres sòlides del precipitat format en la síntesi de nZVI a serveis tècnics de recerca, on utilitzen l'equip de la Figura 44 per la mesura d'estat d'oxidació del cristall.

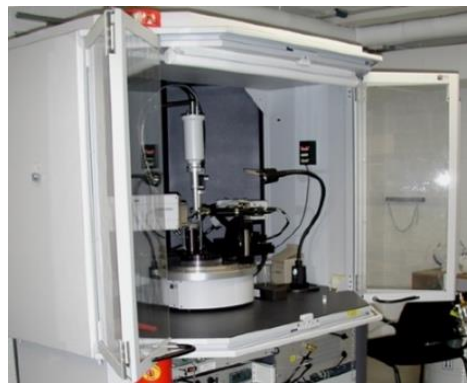


Figura 44. Difractòmetre de Raigs X de Monocristall, model D8 QUEST ECO [Bruker].

3.3.2.3. Procediment de caracterització de les nanopartícules ZVI

Després de cada síntesi realitzada amb els diferents procediments, es va analitzar el sobrenedant que contenia les nanopartícules, així com els reactius de la síntesi, quan va ser necessari.

- **UV-Vis**

Els espectres d'absorció òptica de les solucions, van ser obtinguts en un rang de longitud d'ona de 700 nm a 200 nm. La línia base va ser obtinguda emprant aigua desionitzada com a referència. Les solucions van ser diluïdes 1:10 amb aigua desionitzada previ a l'anàlisi, perquè és important per evitar soroll que l'absorbància sigui inferior a 2,5, en cas contrari no es pot veure el pic. En una cel·la de quars, es va inserir la mostra per obtenir l'espectre d'absorció.

- **DLS**

A conseqüència del color fosc de totes les mostres, es va pipetejar 1 mL i diluir en un metrès aforat de 100 mL. Com també, prèviament a l'anàlisi de la mostra, se l'hi va aplicar un bany ultrasons durant 15 minuts.

Per aquest procediment es va necessitar introduir en una cubeta de poliestirè 1 mL aproximadament de la mostra diluïda, filtrada amb filtre d'aire de 0.20 μm i finalment començar la mesura.

3.4. METODOLOGIA D'OPTIMITZACIÓ

L'estudi d'optimització s'ha portat a terme mitjançant la metodologia de superfície de resposta, tal com s'ha explicat en l'apartat 2.6, per adaptar l'actuació del sistema a una funció quadràtica i poder representar el seu comportament.

Com ja és conegut, hi ha variables que poden influenciar amb més o menys mesura a la mida de diàmetre de la partícula. Conforme els resultats obtinguts en les proves prèvies, l'elecció de l'extracte i les condicions més òptimes, s'ha dissenyat un model experimental amb dos tipus de condicions: fixes (extracte reductor el te roibos, temperatura 100°C i ràtio de 3/2) i unes de variables com: la concentració del ferro (X_1), la concentració de l'extracte (X_2) i el pH de l'extracte reductor (X_3)

A partir de donar valor a les variables independents s'ha realitzat un disseny factorial d'experiments, anomenat disseny compost central (CCD). Conté uns punts centrals (rodones) que s'incrementa amb un grup de punts extrems (estrelles) que definiran el rang i permetran l'estimació de la curvatura. Els valors combinats anomenats α (distància des del centre de l'espai de disseny a un punt estrella), definiran diferents nivells experimentals. En la Figura 45 es representa amb una vista en planta.

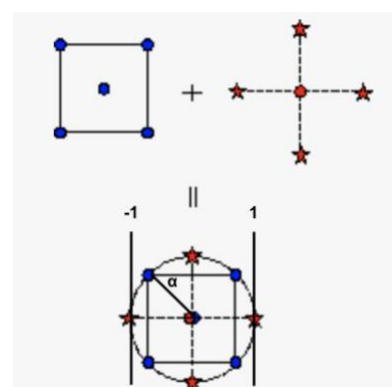


Figura 45. Disseny compost central per a dos factors.

Un disseny compost central sempre conté el doble de punts estrella que els factors del disseny. Els punts estrella representen nous valors extrems (màxim i mínim) per a cada factor en el disseny.

La Taula 3 resumeix les propietats de les tres varietats de dissenys composts centrals i la Figura 46 il·lustra les relacions entre elles.

Taula 3. Descripció de les propietats de les tres varietats de dissenys composts centrals.

Tipus de CCD	Terminologia	Descripció
Circumscribit	CCC	Els dissenys del CCC són la forma original del CCD. Disseny on els punts estrella tenen una distància α del centre en funció de les característiques desitjades per al disseny i el nombre de factors del disseny.
Inscrit	CCI	Els paràmetres del factor s'utilitzen com a punts estrella provocant un disseny factorial dins dels límits
Centrat en la cara	CCF	Els punts estrella es troben al centre de cada espai factorial, per tant $\alpha = 1$. Aquesta varietat necessita tres nivells de cada factor

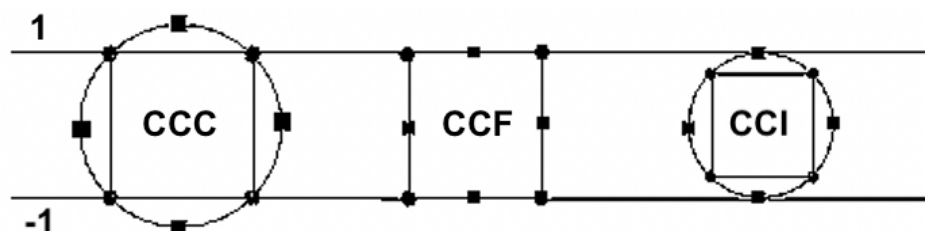


Figura 46. Descripció de les propietats de les tres varietats de dissenys composts centrals.

El disseny usat ha estat el CCF, ja que, resulta ser el que té els valors més enters per una bona precisió per preparar la concentració tant de la solució de ferro com de l'extracte reductor. Aquest disseny manté el número de tres nivells per factor (-1, 0, +1).

A la següent taula s'expressen per a cada nivells experimentals els valors centrals i els valors extrems dels rangs per a cada variable.

Taula 4. Valors de cada nivell de les variables independents del sistema.

Variables independents	Nivells		
	-1	0	1
X ₁ Concentració del ferro (M)	0,05	0,1	0,15
X ₂ Grams de rooibos per cada 100 mL	6	12	18
X ₃ pH de l'extracte vegetal	4	7	10

A l'apartat 4.3.1 es veurà l'estudi fet per definir els valors de cada nivell.

MEMÒRIA

Un cop conegudes les variables i els seus nivells amb els seus respectius valors es realitza un disseny on els factors d'interès varien sistemàticament del seu valor més baix al més alt i s'executen totes les combinacions de factors possibles en el mateix conjunt d'experiments. Finalment, resulta una bateria de vint experiments on sis d'ells són repeticions del valor central.

Més específic queda definit a la següent Taula 5 i la Figura 47.

Taula 5. Condicions i repeticions de cada experiment del dis

Experiment	Repeticions	X ₁	X ₂	X ₃
1	1	-1	-1	-1
2	1	1	-1	-1
3	1	-1	1	-1
4	1	1	1	-1
5	1	-1	-1	1
6	1	1	-1	1
7	1	-1	1	1
8	1	1	1	1
9	1	-1	0	0
10	1	1	0	0
11	1	0	-1	0
12	1	0	1	0
13	1	0	0	-1
14	1	0	0	1
15	6	0	0	0

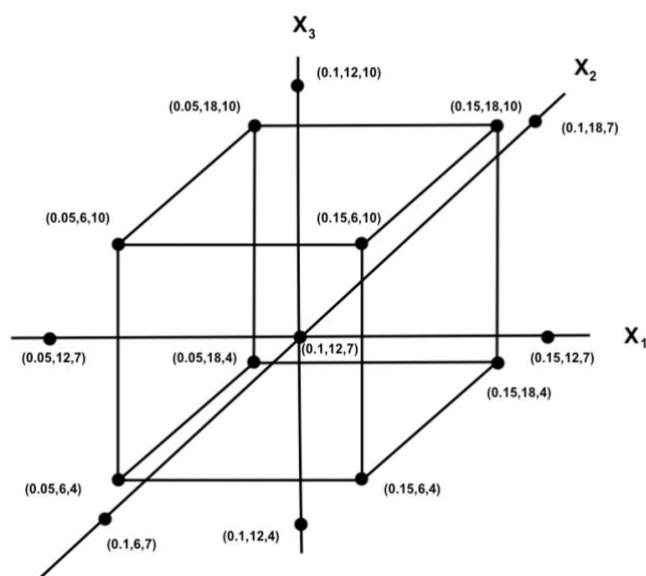


Figura 47. Diagrama CCF per l'optimització de la síntesi de nZVI.

MEMÒRIA

Les síntesis es van realitzar totes amb les condicions d'una ràtio de 2/3 (FeCl_3 /extracte) amb temperatura de 100°C , la qual va ser controlada usant un bany amb control de temperatura amb boles de poliestirè expandit per evitar el vapor d'aigua, equip que forma part de la instal·lació de la Figura 48 que constava d'un muntatge de cables per aconseguir un medi inert amb un bombolleig de nitrogen per evitar l'oxidació i un cubell amb gel per refredar els experiments després de quinze minuts de reacció.



Figura 48. Muntatge per les síntesis de nZVI.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

En aquesta secció, es mostren i es discuteixen els resultats obtinguts en el treball. Inicialment, s'assenyala la preavaluació realitzada per l'elecció del reactiu reductor amb la caracterització extensa dels tres extractes vegetals. Addicionalment, també s'hi han inclòs resultats del reactiu no vegetal per poder justificar amb major fermesa les propietats requerides de l'extracte vegetal reductor final a produir.

Determinades i conegudes les característiques que defineixen un bon reductor d'extracte vegetal, s'ha avançat per la producció i avaluació de la síntesi de nZVI usant els extractes preparats. En aquest apartat, s'ha fet un estudi previ anant caracteritzant com influeix diferents condicions (medi, ràtio i temperatura) a la mida de les nanopartícules, amb la finalitat de conèixer i determinar quines són les millors situacions per assolir l'objectiu del treball.

Finalment amb les millors condicions, s'ha dut a terme una anàlisi d'optimització per tal de conèixer el valor òptim de diferents variables que influeixen en el diàmetre de la partícula i poder aconseguir mides les més petites possibles.

4.1. EXTRACTES VEGETALS

4.1.1. PREPARACIÓ EXTRACTES

Seguidament, es presenten a la Figura 49 mostres dels extractes obtinguts, filtrats i preparats per a la síntesi de nZVI. Com es pot comprovar, tenen diferent color.



Figura 49. . Extractes: Rapa, Cafè, Rooibos i Àcid tànnic+Citrat de Sodi, d'esquerre a dreta.

4.1.2. CARACTERITZACIÓ DELS EXTRACTES

- *Contingut de polifenols totals*

Els compostos fenòlics com els àcids fenòlics, els flavonoides i els tanins estan àmpliament distribuïts en les plantes i han estat objecte de gran atenció a causa de les seves activitats antioxidants.

Com s'ha explicat anteriorment a l'apartat 3.2.2.3 la mesura dels polifenols en els extractes es va mesurar mitjançant el mètode Folin-Ciocalteu. Mitjançant aquest assaig, no exclusivament es mesuren composts polifenòlics, sinó qualsevol compost orgànic que presenti anells aromàtics hidroxilats i altres compostos antioxidants com a sucres reductors i proteïnes.

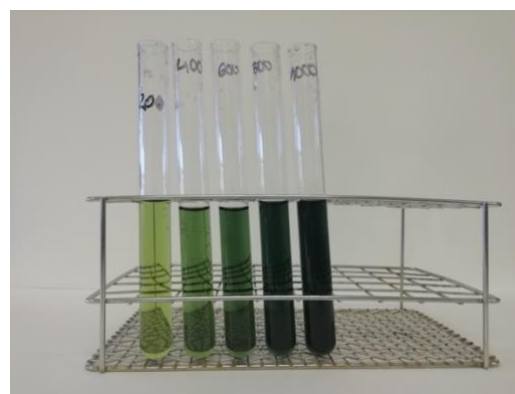
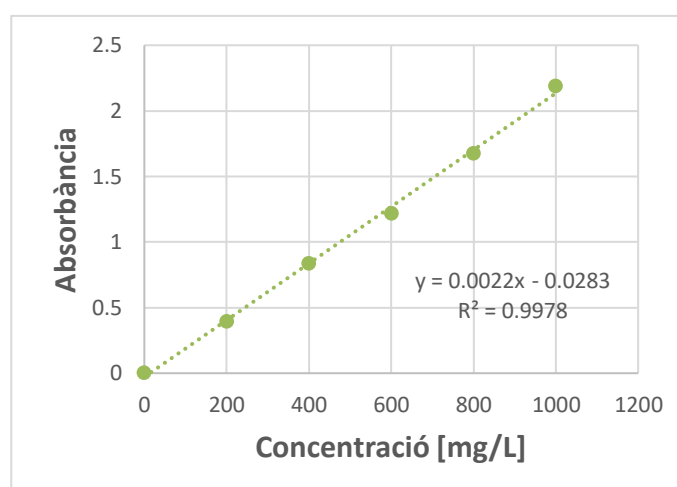


Figura 50. Patrons d'àcid Gàl·lic.

A la següent Taula 6, es presenta l'absorbància que els patrons de la Figura 50 van presentar a l'equip Uv-Vis. El Gràfic 1 mostra la recta de calibratge obtinguda amb els valors d'absorbància i amb la qual, s'ha pogut calcular el contingut polifenòlic total en els extractes vegetals.

Taula 6. Absorbància dels patrons d'àcid gàl·lic.

Concentració (mg/L)	Abs.
0	0,004
200	0,396
400	0,836
600	1,290
800	1,674
1000	2,188



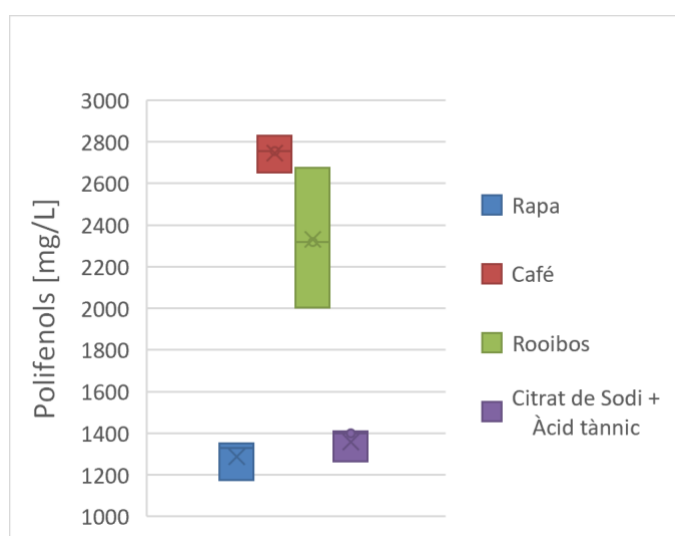
Gràfic 1. Recta de calibratge contingut polifenòlic total.

MEMÒRIA

A la Taula 7 es presenten els resultats en tres rèpliques dels polifenols totals que hi ha en cada un dels extractes vegetals preparats. En el Gràfic 2 es visualitza la mitjana i la desviació dels tres valors de polifenols a cadascun dels extractes vegetals per observar la posició en què es troben i la diferència entre elles i poder fer una avaluació més visible.

Taula 7. Abs. de les mostres diluïdes 5 vegades i el resultat de polifenols totals.

Mostra	Abs.	Polifenols totals [mg/L]
Rapa	0,566	1350,681
	0,489	1175,681
	0,557	1330,2273
Café	1,184	2755,227
	1,139	2652,954
	1,217	2830,227
Rooibos	1,149	2675,681
	0,992	2318,863
	0,853	2002,954
Citrat de sodi + Àcid tànnic	0,587	1398,409
	0,591	1407,500
	0,528	1264,318



Gràfic 2. Polifenols totals miliequivalent a àcid gàl·lic dels extractes.

Els resultats de la Taula 7 reflectits en el Gràfic 2, ens indiquen que l'extracte amb un contingut de polifenols més elevat és el café, seguit del te rooibos, mentre que la rapa i la combinació de citrat sòdic amb àcid tànnic presenten un valor molt semblant entre ells, però quasi la meitat que el contingut present en els altres extractes.

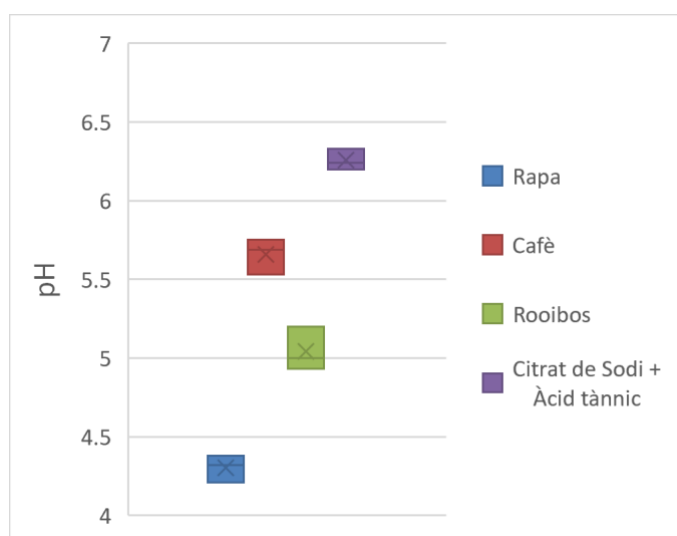
En el Gràfic 2, on es presenta la mitjana de contingut amb polifenols amb la desviació estàndard es pot observar que l'extracte de rooibos mostra una variació important en el seu contingut en polifenols, probablement causat per la baixa uniformitat de la forma i composició de les fulles i parts en que es troben en el vegetal.

- pH

A la Taula 8 es presenten els resultats de pH de tres rèpliques dels extractes vegetals on en el Gràfic 3 es visualitza la mitjana i la desviació.

Taula 8. Resultat de pH dels extractes.

Mostra	pH
Rapa	4,38
	4,21
	4,32
Cafè	5,53
	5,69
	5,75
Rooibos	5,2
	5
	4,93
Citrat de sodi + Àcid tànnic	6,24
	6,33
	6,2



Gràfic 3. Mitjana i desviació del pH dels extractes.

S'observa que els extractes es troben entre un rang de pH de 4,2 a 6,3. Els tres extractes vegetals estudiats tenen un pH semblant, sent el cafè el valor més alt. Coneixent que un medi bàsic afavoreix la reducció i l'aparició de nanopartícules, la solució amb citrat de sodi que s'utilitza com a referència, seria la més adequada.

- Potencial de reducció

El potencial redox, ens permet determinar si el procés de reducció de ferro serà o no espontani. A la Taula 9 s'observen tots els potencials de reducció que pot tenir el ferro (54).

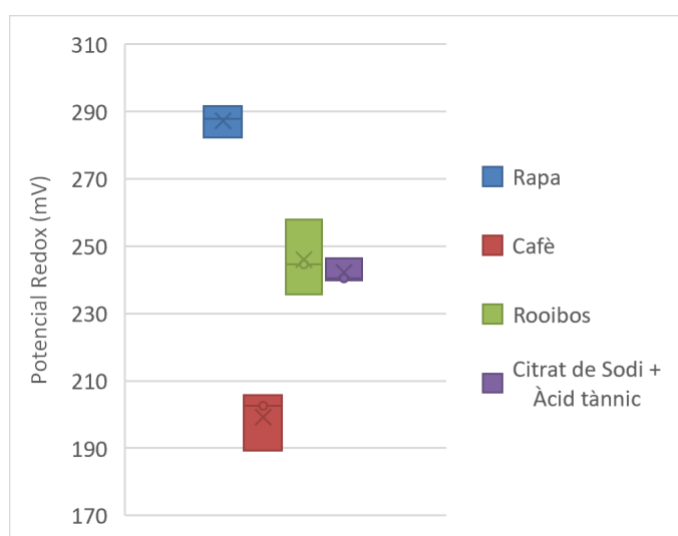
Taula 9. Potencials de reducció estàndard del ferro.

Semireacció de reducció	Potencial Redox (mV)
$\text{Fe}^{3+} + 1\text{e}^- \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$	+ 548,7
$\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Fe}^0$	- 662,3
$\text{Fe}^{3+} + 3\text{e}^- \leftrightarrow \text{Fe}^0$	- 259,3

Seguidament, a la Taula 10 es mostra les tres rèpliques amb la mitjana del potencial de reducció dels extractes reductors preparats.

Taula 10. Resultats de la mesura del potencial de reducció dels extractes.

Mostra	Potencial Redox (mV)
Rapa	291,7
	282,2
	287,9
Cafè	205,7
	189,2
	202,5
Rooibos	235,7
	257,9
	244,6
Citrat de sodi + Àcid tànnic	240,5
	246,4
	239,8



Gràfic 4. Mitjana i desviació del potencial redox (mV) dels extractes.

En vista del valor del potencial de reducció del Fe^{3+} a Fe^0 de la Taula 9 i dels potencials redox dels extractes reflectits en la Taula 10, es pot concloure que les nanopartícules sintetitzades amb l'extracte de rapa poden tenir segur un procés espontani. L'extracte del te rooibos també té el potencial de reducció necessari per passar de Fe^{3+} a Fe^0 . Els altres dos extractes restants no mencionats, recalcar que tampoc tenen un potencial de reducció molt diferent al de la rapa i el rooibos.

- **DQO**

La Taula 11, mostra el valor de demanda d'oxigen dels extractes preparats per la síntesi de nZVI.

Taula 11. Resultats de la mesura de la DQO dels extractes.

Mostra	DQO (ppm)
Rapa	13000
Cafè	443
Rooibos	12990
Citrat de sodi + Àcid tànnic	690

Els extractes amb una demanda química més elevada, són la rapa i el rooibos. El compost de citrat de sodi amb àcid tànnic i el cafè presenten aproximadament la meitat de demanda que els altres dos extractes.

La Taula 12 mostra el recull dels resultats obtinguts en totes les anàlisis realitzades per la caracterització dels extractes reductors preparats per la síntesi de nZVI.

Taula 12. Anàlisis dels extractes amb ràtio 6g/100mL.

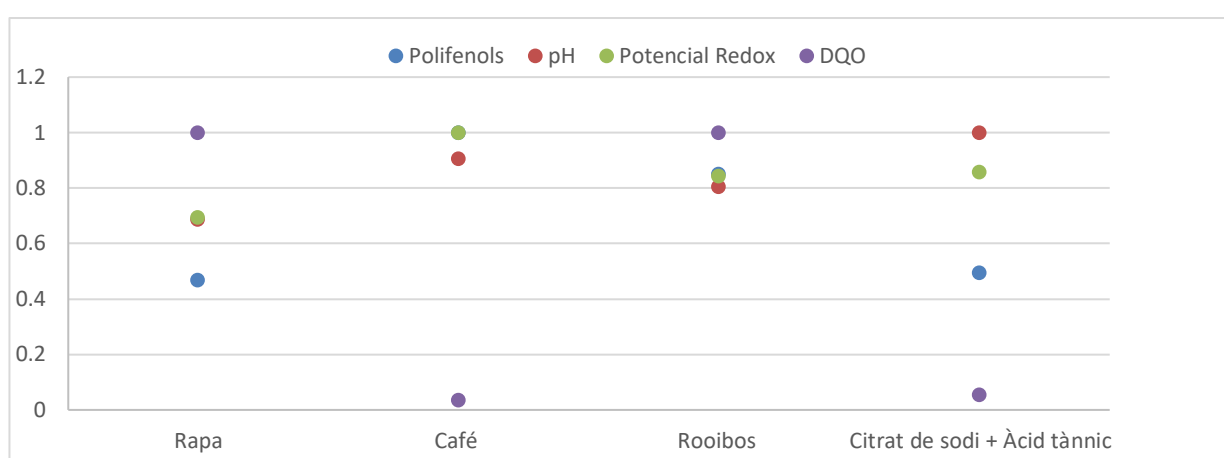
Mostra	Polifenols totals (mg/L)	pH	Potencial Redox (mV)	DQO (ppm)
Rapa	1285,530	4,30	287,27	13000
Cafè	2746,136	5,66	199,13	443
Rooibos	2332,500	5,04	246,07	12990
Citrat de sodi + Àcid tànnic	1356,742	6,26	242,23	690

Per a realitzar la comparació dels resultats, es van representar en un mateix gràfic normalitzant els valors de cada paràmetre per a englobar-los en una mateixa escala entre 0 i 1.

La Taula 13 engloba els valors, adjudicant 1 a la variable amb el valor més gran o més petit segons sigui més favorable a la síntesi de nZVI.

Taula 13. Valors dels paràmetres normalitzats.

	Polifenols totals	pH	Potencial Redox	DQO
Rapa	0,468	0,686	0,693	1,000
Cafè	1,000	0,904	1,000	0,034
Rooibos	0,849	0,805	0,843	0,999
Àcid tànnic+ Citrat de sodi	0,494	1,000	0,856	0,053



Gràfic 5. Representació dels valors normalitzats dels polifenols, pH, potencial redox i DQO per tots els extractes.

El cafè destaca com a extracte amb més contingut de polifenol. Un pH bàsic afavoreix la reacció, els tres extractes vegetals tenen un semblant valor àcid, el cafè té un nivell menys àcid que els altres. La tija de raïm té un nivell més àcid i pot ser degut al fet que el raïm té un pH baix quan es troba a les branques i és per això que la seva tija també pot tenir compostos àcids. Els valors del potencial redox diuen que l'extracte amb més capacitat reductora és el cafè. Quan es feia la prova DQO, el rooibos proporcionava una DQO més alta, el que indica que hi ha una quantitat més gran de material orgànic present a la mostra.

Basant-nos únicament en els resultats obtinguts amb la caracterització dels extractes, com representa el Gràfic 5 l'extracte amb els millors paràmetres per la síntesi de nZVI, és el rooibos.

Així doncs, analitzant les dades, els tres extractes preparats tenen valors favorables als requisits per a la síntesi de nZVI comparant-los amb l'extracte de referència poder utilitzar-los com a agent reductor per fabricar nanopartícules de ferro zero.

Seguidament es reflecteixen els resultats que es van assolir amb la caracterització de les nZVI sintetitzades, per observar el comportament de la reacció i les seves mides per poder decidir l'extracte que es va acabar usant per procedir a l'estudi de l'optimització.

4.2. NANOPARTÍCULES DE FERRO VALÈNCIA ZERO

4.2.1. SÍNTESI DE NANOPARTÍCULES DE FERRO VALÈNCIA ZERO

Amb l'addició del precursor de ferro (sal de Fe^{3+}) a l'extracte vegetal en una proporció de 2:3 i 1:2 (ràtio utilitzada a bibliografia), de sobte es va observar canvi en el color groc brillant del clorur de ferro a la formació d'una suspensió negra fosca. Aquest canvi instantani en el color de reacció i l'aparença del negre intens de la suspensió és un fenomen comú en la síntesi de nZVI i considerat com un indicador de la reducció d'ions de ferro i formació de nZVI (55). Recordar que la solució de nZVI, va ser centrifugada per obtenir les dues fases resultants de la reacció, el sobrenadant i el precipitat.

Tot seguit, a la Figura 51, es mostra la fase líquida del sobrenadant amb l'exemple de canvi de color usant extracte de rooibos (51.1) i la solució final usant els diferents extractes reductors usats (51.2) en el medi d'oxigen.



Figura 51. [1] Exemple del canvi de color: extracte rooibos, extracte de FeCl_3 i solució de ferro zero (d'esquerra a dreta).
[2] Síntesis filtrades usant: rapa, cafè, rooibos i Àcid tànnic+Citrat de sodi (d'esquerra a dreta).

MEMÒRIA

Així mateix, remarcar que els productes de les reaccions utilitzant els extractes de cafè, rooibos i citrat de sodi són més foscos. La solució amb un color marronós és l'obtinguda emparant l'extracte de rapa i no és degut al fet que hi hagi menys ions Fe^{3+} reduïts, sinó conseqüència d'una ràpida oxidació d'aquests, ja que el color inicial de la reacció és semblant al dels altres. També comentar que el color negre de la síntesi mitjançant l'extracte de cafè pot genera dubtes de que el color final sigui degut a la formació de nZVI pel propi color del cafè i que no hi ha un canvi de color tan brusc com amb les altres reaccions.

A la següent figura, es mostra la fase sòlida que va precipitar en les reaccions.



Figura 52. Precipitats de la síntesi utilitzant, a l'esquerra els extractes vegetals i a la dreta l'extracte rooibos.

A la Figura 52, a l'esquerra es mostra la barreja dels precipitats originats amb els extractes vegetals. S'observa multiplicitat, sòlid rugós, amb una forma difícil de definir i més gruixut. En oposició, el precipitat de la dreta, és el format mitjançant l'extracte rooibos. S'observa un sòlid homogeni, llis, té una forma rectangular allargada i de gruix fi.

La reducció és seguida també d'un canvi en el pH de la solució, en aquest experiment s'observa que canvia d'un pH alt a baix.

La següent taula mostra l'exemple del canvi de pH de la síntesi de nZVI mitjançant l'extracte de rooibos preparat amb un pH 10 i l'extracte de clorur de ferro amb una concentració 0,1 M.

Taula 14. Valors de pH de: l'extracte rooibos, extracte de ferro 0,1 M i de la reacció.

Extracte	pH
Rooibos	10
FeCl_3	1,4
Després de la síntesi	1,7

MEMÒRIA

En l'anterior taula es comprova el canvi sobtat, d'un pH bàsic alt de 10 a l'extracte de rooibos al pH àcid de 1,7 final de la reacció amb el clorur de ferro (III). Fet que concorda amb el procediment explicat i observat a la Figura 7. L'extracte alcalí redueix el ferro de valència 3 a 0 a causa dels electrons reductors formats del grup (-OH), on també s'alliberen H^+ i la solució s'esdevé àcida.

4.2.2. CARACTERITZACIÓ DE LES NANOPARTÍCULES SINTETITZADES

Realitzats els experiments amb els quatre extractes reductors utilitzats i obtinguts els seus respectius sobrenedants, es va procedir amb ells a la caracterització de les nZVI obtingudes mitjançant l'equip espectrofotòmetre ultraviolat-visible per comprovar la formació de ferro zero com també amb l'equip DLS per mesurar la mida de diàmetre de les nanopartícules.

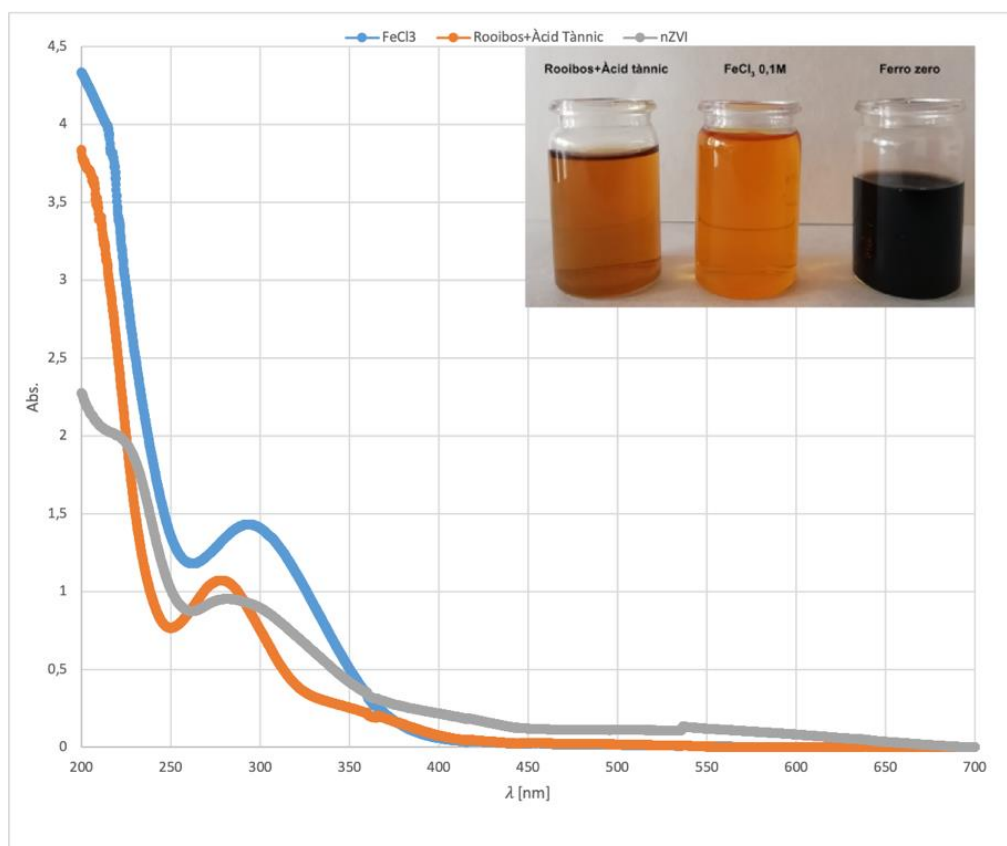
Seguidament es mostren els resultats aconseguits de la caracterització de les nZVI.

- *UV-Vis*

La reducció dels ions Fe^{+3} purs a Fe^0 es va controlar mesurant l'espectre UV-Vis per mostreig d'alíquotes, diluint la mostra deu vegades amb d'aigua mili-Q. Tal com s'observa a la figura del següent gràfic, es va suggerir la formació de nZVI pel canvi del color de la solució a negre després de l'addició de l'extracte de rooibos a una solució de $FeCl_3$. Fet que permet aplicar aquesta anàlisi per donar certesa a la formació de nZVI.

El progrés de la reacció de síntesi de nanopartícules de ferro zero s'observa en el Gràfic 6, es mostra els canvis en els espectres UV-Vis entre l'extracte de ferro i l'extracte de rooibos amb després la reacció entre ells formant ferro zero.

Seguint l'espectre de color blau, el pic a uns 300 nm és característic de Fe^{3+} . L'espectre taronja, el pic de 205 nm i 275 nm correspon a agents orgànics com grups polifenòlics i cafeïna respectivament (55). El pic que dóna existència a la formació de ferro zero i més importa és l'observat a l'espectre color gris a aproximadament a uns 210-240 nm, resultat obtingut que coincideix amb el mateix experimentat per articles que estudien aquesta síntesi de S. Dhuper (56), E. Morgada (57) i M. Pattanayak (58).



Gràfic 6. Espectres UV-Vis de l'extracte de FeCl_3 , extracte reductor i nZVI, diluïts 10 vegades.

- DLS

L'aparell DLS va ser utilitzat per verificar la producció de nanopartícules en els sobrenadants obtinguts.

Recordar que, les nanopartícules han estat sintetitzades en medis amb presència o no d'oxigen a partir de quatre extractes reductors mitjançant dues temperatures (70°C i 100°C) i dues relacions entre la solució de ferro 0,1 M i solució d'extracte reductor (1/2 i 2/3), condicions convidades entre elles (procediment) analitzades en diferent temps per veure l'estabilitat (immediatament després de la filtració de la reacció i passats deu dies).

Aquest equip avalua amb tres mesures, la mida de les nanopartícules. Seguidament es mostra un exemple d'informe que ofereix el programa per assignar el valor de la mesura de la mida de les nZVI.

MEMÒRIA

Size Distribution Report by Number
v2.2

Sample Details

Sample Name: 1.2-Rooibos 1

SOP Name: GENERAL.NANOPARTICLES.SIZE.sop

General Notes:

File Name: Rooibos+fec13.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 4	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,59	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorption: 0,010	Measurement Date and Time: jueves, 13 de febrero de 2...

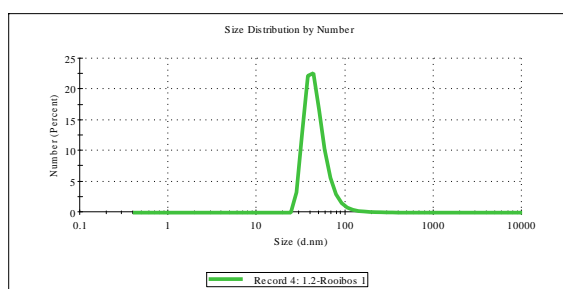
System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 279,4	Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 11

Results

	Size (d.n...)	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 151,5	Peak 1: 48,24	100,0	19,51
PdI: 0,359	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,859	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Good**



El resultat de la grandària de partícula es presenta com un histograma amb una corba acumulativa (si la solució és monodispersa), en funció del nombre de partícules. L'àrea sota la corba ens indica la proporció de cada fracció de nZVI en la solució aquosa determinada i la mitjana és el valor de la mida en (nm).

L'informe també inclou informació interessant de conèixer com un valor de la qualitat del resultat, el Z-Average i el Pdi. La mitjana Z, indica la mida mitjana general basada en un ajust específic i l'índex de polidispersitat o Pdi és una indicació de l'amplada de la distribució global. Els índexs de polidispersitat inferiors a 0,1 indiquen que la mostra és monodispersa.

Malvern Instruments Ltd
www.malvern.comZetasizer Ver: 7.11
Serial Number: M041167097File name: Rooibos+fec13.dts
Record Number: 4
23 sep. 2020 10:28:06

Figura 53. Exemple d'informe que ofereix el programa per assignar el valor de la mida de les nZVI obtingudes.

Seguidament s'observen els resultats de les nZVI sintetitzades en el medi en presència d'oxigen.

- **Medi Oxigen**

A continuació a la Taula 15 es mostren els tres resultats amb la seva mitjana, obtinguts per la bateria d'experiments en el medi amb presència d'oxigen, immediatament i deu dies després de la síntesi.

Taula 15. Resultats del diàmetre de partícula amb diferents extractes reductors i procediments en presència d'oxigen.

Extracte	Procediment	Mida (nm)				Mida (nm) 10 dies després			
					Mitjana				Mitjana
Rapa	1(100°C) 2/3	44,37	37,13	54,03	55,17	11,52	12,03	2,17	8,57
	2 (70°C) 2/3	47,98	63,81	88,53	66,77	5,46	7,84	6,81	6,70
	3(100°C) 1/2	110,7	95,66	110,50	105,62	107,40	93,95	103,50	101,61
	4 (70°C) 1/2	11,48	15,80	7,04	11,44	23,82	8,56	11,16	14,51
Cafè	1(100°C) 2/3	87,14	70,37	94,88	84,13	78,35	68,64	75,58	74,14
	2 (70°C) 2/3	86,02	48,65	68,18	67,61	87,40	83,22	81,46	84,02
	3(100°C) 1/2	45,02	51,06	57,41	51,16	85,42	79,62	81,61	82,21
	4 (70°C) 1/2	70,37	106,10	109,10	95,19	87,08	84,86	84,23	85,39
Rooibos	1(100°C) 2/3	48,24	51,44	22,66	40,78	62,11	51,52	53,18	55,60
	2 (70°C) 2/3	39,08	39,39	39,18	39,21	30,27	28,66	14,03	24,32
	3(100°C) 1/2	38,03	46,50	21,27	35,26	17,45	21,75	11,47	16,89
	4 (70°C) 1/2	84,84	76,19	84,13	81,72	33,99	19,82	41,47	31,76
Àcid	1(100°C) 2/3	1,16	0,76	1,47	1,13	1,15	1,73	1,75	1,54
	2 (70°C) 2/3	1,13	0,99	1,09	1,07	1,15	1,08	1,08	1,10
	3(100°C) 1/2	0,68	1,55	1,36	1,19	3,25	1,48	0,81	1,84
	4 (70°C) 1/2	1,82	0,69	0,86	1,12	26,94	39,47	43,94	36,78

Com que es vol fer una avaluació de l'efecte del medi a la mida de les nZVI, a continuació s'observen els resultats de les nZVI sintetitzades en el medi inert aconseguit amb el gas nitrogen i per finalitzar es discutiran els resultats obtinguts.

- **Medi Nitrogen**

A la Taula 16 es mostren els tres resultats amb la seva mitjana, obtinguts per la bateria d'experiments en el medi inert, immediatament i deu dies després de la síntesi.

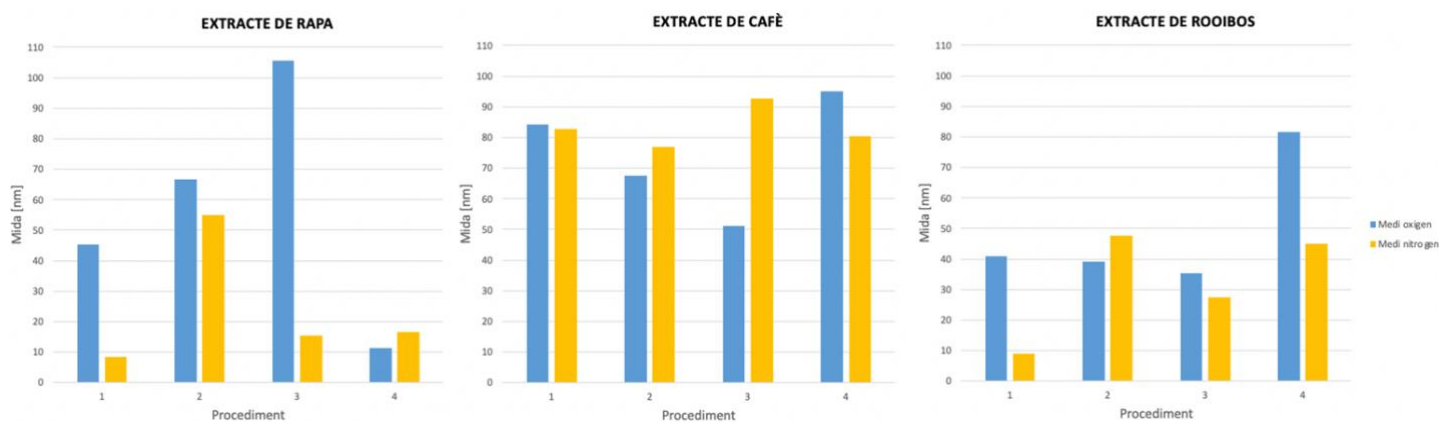
Taula 16. Resultats del diàmetre de partícula amb els diferents extractes reductors i procediments en el medi inert.

Extracte	Procediment	Mida (nm)			Mitjana	Mida (nm) 10 dies després			Mitjana
Rapa	1(100°C) 2/3	5,25	7,00	12,54	8,26	7,88	6,52	27,39	13,93
	2 (70°C) 2/3	52,22	62,98	49,68	59,96	56,98	75,38	87,08	73,14
	3(100°C) 1/2	15,80	12,10	18,11	15,33	7,02	15,55	5,62	9,39
	4 (70°C) 1/2	12,64	19,03	17,74	16,47	74,66	91,18	55,58	73,80
Cafè	1(100°C) 2/3	87,58	84,37	76,17	82,70	84,99	86,83	86,72	86,18
	2 (70°C) 2/3	82,96	73,35	74,71	77,00	72,53	75,78	65,61	71,30
	3(100°C) 1/2	93,18	91,51	93,52	92,73	82,81	52,78	101,90	79,16
	4 (70°C) 1/2	76,27	77,35	87,54	80,38	72,00	70,27	71,61	71,29
Rooibos	1(100°C) 2/3	3,34	19,22	4,13	8,89	52,60	23,88	48,38	41,62
	2 (70°C) 2/3	54,88	60,31	27,57	47,58	81,56	88,24	88,24	86,01
	3(100°C) 1/2	15,51	38,56	28,17	27,41	33,04	19,98	49,27	34,09
	4 (70°C) 1/2	45,79	55,00	34,45	45,08	15,92	28,84	53,52	32,76
Àcid	1(100°C) 2/3	1,38	0,73	0,72	0,94	1,06	1,15	0,78	0,99
	2 (70°C) 2/3	0,72	0,65	0,66	0,67	0,96	0,74	2,18	1,29
	3(100°C) 1/2	2,79	1,03	0,68	1,50	3,25	1,48	0,80	1,84
	4 (70°C) 1/2	1,28	1,26	0,87	1,13	1,83	0,76	0,87	1,15

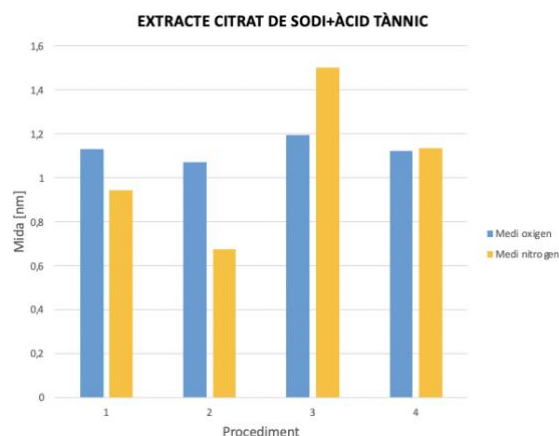
A primera vista dels resultats de les dues taules anteriors, la inicial conclusió és que amb qualsevol extracte utilitzat sintetitza nanopartícules.

Amb tants valors és complicat treure conclusions, cal fer un estudi més detallat i que es manifesti visualment la relació que guarden entre si. A les següents figures es representen les mides de partícules en funció de l'extracte en dos medis. També es presenten figures per comparar els valors de mida passat el temps per conèixer l'estabilitat de les nZVI.

Dels quatre gràfics que es mostren a continuació, fer constar que hi ha un canvi dels valors de l'eix vertical a causa del gran canvi d'escala que hi ha entre la mida de les nanopartícules obtingudes amb els tres extractes reductors vegetals i les obtingudes amb l'extracte reductor de referència.



Gràfic 7. Mida de partícula de les nZVI obtingudes mitjançant els dos medis i els quatre procediments:
 [1] Temperatura 100°C i ràtio 2/3 [2] Temperatura 70°C i ràtio 2/3
 [3] Temperatura 100°C i ràtio 1/2 [4] Temperatura 70°C i ràtio 1/2



Gràfic 8. Mida de partícula de les nZVI obtingudes mitjançant els dos medis i les quatre condicions, amb l'extracte citrat de sodi amb àcid tànnic

Les condicions que permeten formar partícules més petites són a temperatura més alta (processos 1 i 3). La qual cosa significa que no hi ha degradació significativa dels antioxidants per aquesta temperatura. S'observa que entre els processos de major temperatura, la ràtio 2/3 (procés 1) experimentava millor resposta amb valors de diàmetre de partícula més petit.

No s'observa cap tendència i cada extracte reductor ha actuat diferent enfront de les condicions que hi ha hagut a cada procediment.

MEMÒRIA

Amb l'extracte de rapa, les nZVI més petites s'han originat amb les condicions de temperatura 70°C i ràtio 1/2 (procediment 4).

L'extracte de cafè es pot veure que els canvis de les condicions no influeixen gairebé a la mida de les nanopartícules, però amb el tercer procediment s'ha obtingut la mida de partícula més petita. Recordar que com s'ha pogut confirmar, l'extracte de cafè és el més ric en polifenols i és el que s'observa que sintetitza nanopartícules de ferro zero més grans. Aquest fet indica que el contingut de polifenols totals no és un paràmetre determinant a l'hora d'escollir l'extracte a utilitzar, ja que n'hi ha una gran varietat de polifenols i alguns vegetals contenen diferents tipus de polifenols que poden o no ser afectius i actuar com agents reductors i estabilitzants.

L'extracte vegetal de te rooibos, mostra mides de nZVI petites, com també sembla ser bastant independent als canvis de condicions i hi ha poques modificacions en les mides de les nanopartícules.

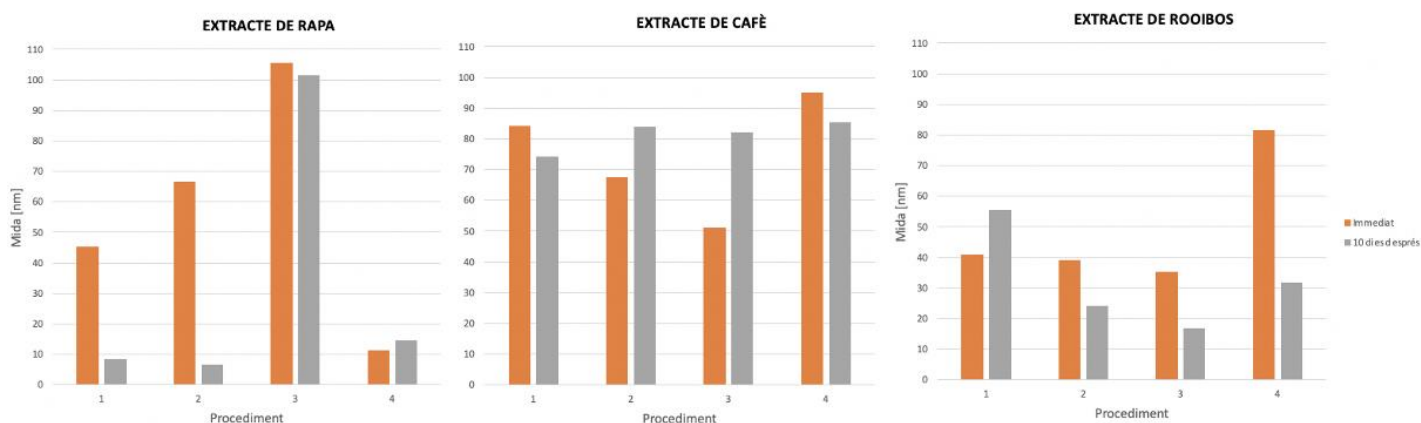
Referent a l'extracte de citrat de sodi amb àcid tànnic, aquests valors de mida de diàmetre tan petits demostren que l'extracte actua com un bon reductor i es confirma haver fet una bona elecció com l'extracte de referència per poder caracteritzar els extractes vegetals obtinguts per la síntesi de nZVI.

Una altra constatació és referent a la síntesi amb presència o no d'oxigen, no es veu efecte a la mida de les partícules, majoritàriament no hi ha valors de mida destacadament desiguals entre els dos medis, sobretot usant l'extracte de referència.

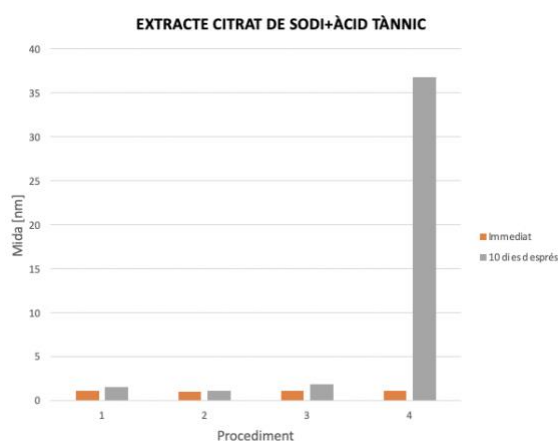
Per finalitzar, deixant de banda el reductor convencional, els millors extractes vegetals per formar nanopartícules més petites i amb similars valors són obtinguts amb la rapa i sobretot el te rooibos.

Com s'ha dit anteriorment, seguidament es mostren per cada medi quatre gràfics per comprovar l'estabilitat de les nanopartícules mitjançant la mida deu dies posteriors a la síntesi. Altre cop hi ha variacions del valor en l'eix vertical.

• **Medi Oxigen**

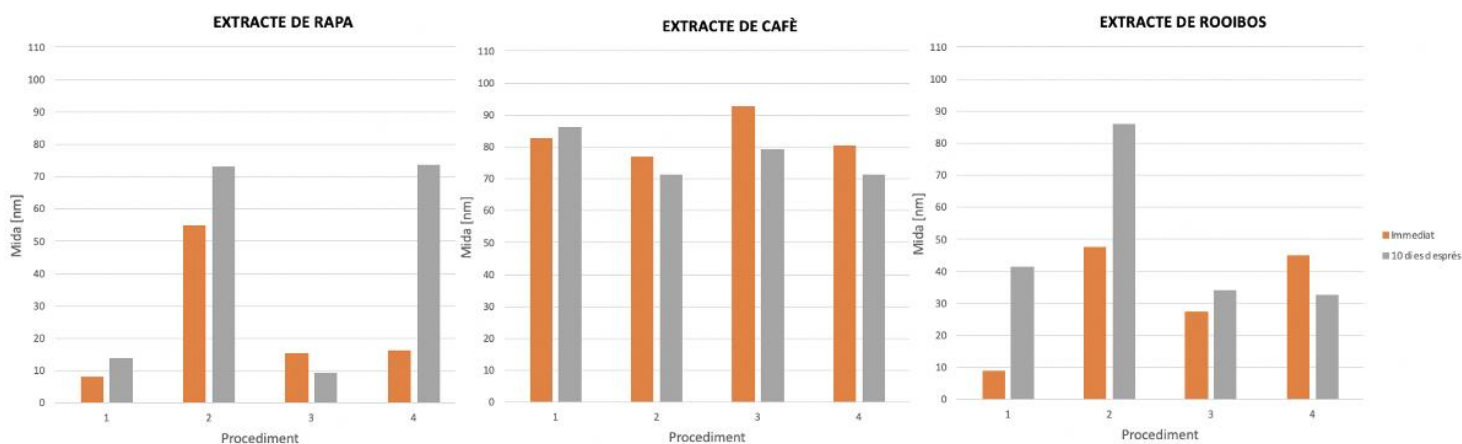


Gràfic 9. Mida de partícula de les nZVI obtingudes, immediatament i passats deu dies en el medi oxigen mitjançant els quatre procediments: [1] Temperatura 100°C i ràtio 2/3 [2] Temperatura 70°C i ràtio 2/3 [3] Temperatura 100°C i ràtio 1/2 [4] Temperatura 70°C i ràtio 1/2

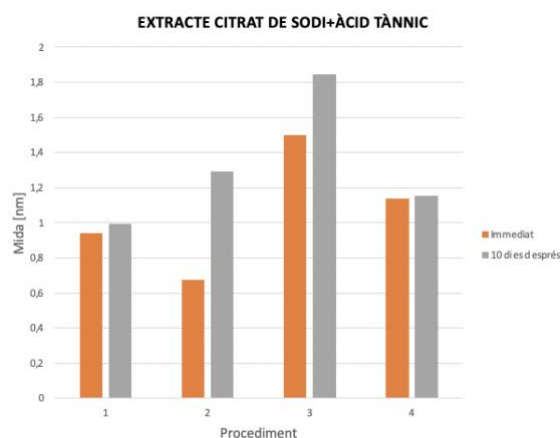


Gràfic 10. Mida de partícula de les nZVI obtingudes immediatament i passats deu dies mitjançant els quatre procediment en el medi oxigen usant l'extracte de referència.

• **Medi nitrogen**



Gràfic 12. Mida de partícula de les nZVI obtingudes, immediatament i passats deu dies en el medi nitrogen mitjançant els quatre procediments:
 [1] Temperatura 100°C i ràtio 2/3 [2] Temperatura 70°C i ràtio 2/3
 [3] Temperatura 100°C i ràtio 1/2 [4] Temperatura 70°C i ràtio 1/2



Gràfic 11. Mida de partícula de les nZVI obtingudes, immediatament i passats deu dies mitjançant els quatre procediment en el medi nitrogen usant l'extracte de referencia.

S'observa en els vuit gràfics anteriors, un canvi de la mida del diàmetre de les nanopartícules al pas del temps. Tanmateix, no hi ha una tendència, la mida de les partícules tant creix com disminueix en els dos medis. Es pot assignar la inestabilitat a les nZVI obtingudes mitjançant els dos medis, els quatre procediments i els diferents extractes reductors.

MEMÒRIA

A partir de tots els resultats mostrats fins ara, es descarta utilitzar l'extracte de rapa i de cafè per a realitzar la síntesi verda de nanopartícules de ferro zero. Amb el primer se sintetitzen nZVI amb mida petita, però té el gran inconvenient que és molt inestable i el ferro zero s'oxida ràpidament amb l'oxigen. L'extracte de cafè a part d'observar que és amb el que es creen nanopartícules més grans, amb el color negre del cafè no s'aconsegueix veure el canvi de color de la reacció de l'extracte vegetal amb el de ferro.

Un cop escollit el rooibos com el reactiu reductor per la síntesi, es va fer analitzar pels serveis tècnics de recerca una mostra líquida per confirmar la presència, i determinar la forma i mida de les nanopartícules amb el microscopi electrònic. Així com també es va analitzar una mostra sòlida per demostrar la presència de ferro zero al precipitat format a la síntesi mitjançant l'aparell de difracció de raig X.

Les dues mostres van ser sintetitzades mitjançant l'extracte de te rooibos com a reactiu reductor.

Tot seguit es mostren els resultats obtinguts.

- **SEM**

Per determinar la morfologia, les nZVIs produïdes amb l'extracte de te rooibos van ser analitzades per SEM.

La metodologia de preparació per analitzar la mostra líquida va ser la següent: primerament es va sonicar la mostra, seguidament es va diluir en una proporció 1:100 per tornar a ser tractada mitjançant ultrasons i per acabar posant un volum de 40uL de solució sobre membrana nuclepore de 0,21um i procedir a la realització de l'anàlisi.

A continuació es mostren les nZVI a les imatges formades en el microscopi electrònic de rastreig.

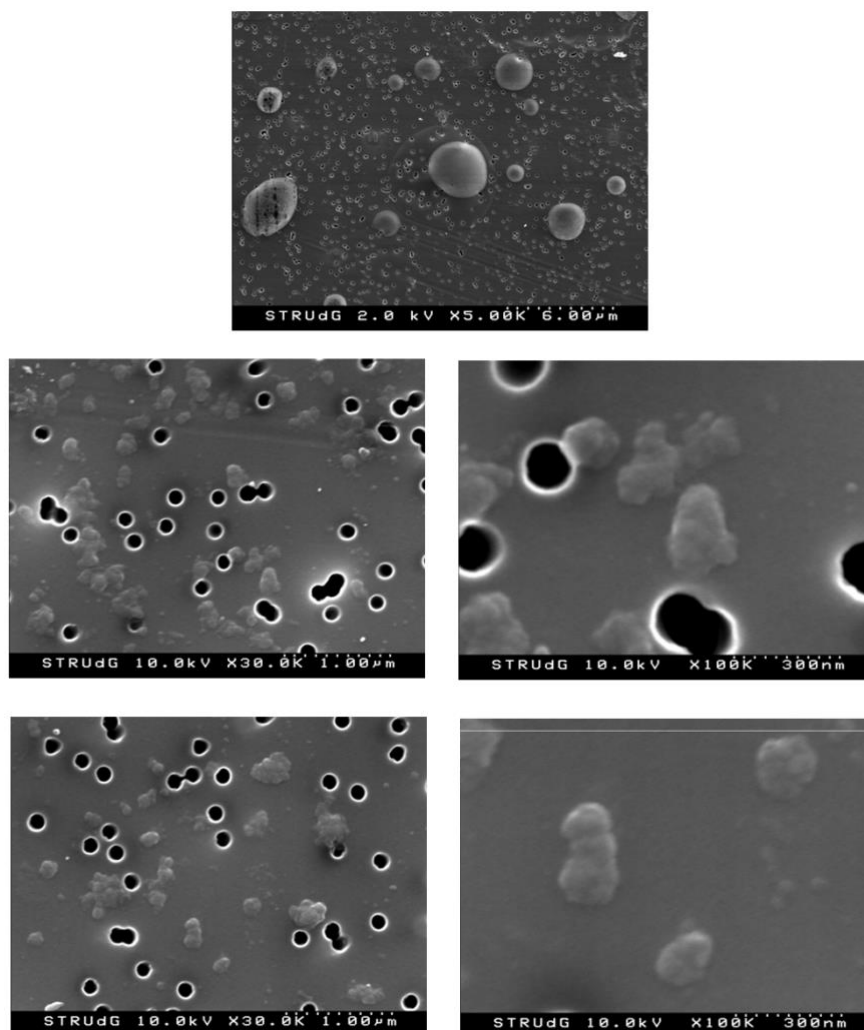


Figura 54. Fotografies obtingudes per SEM de les nanopartícules sintetitzades amb l'extracte de te rooibos.

Avaluant l'aspecte visual de les nZVI preparades, les partícules obtingudes són predominantment esfèriques. També s'observa aglomeració entre les nanopartícules de tipus núvol i de gran estructura.

En les figures s'observa com la mida de partícula obtinguda realment és petita i es troba a l'entorn als 50 nm, mentre que els agregats no tenen una mida uniforme.

Aquest resultat de mida de partícula concorda amb els obtinguts amb l'aparell DLS i ens li permet validar com una tècnica fiable a l'hora de determinar la mida de partícula, tot i que cal destacar que les mesures per DLS donen un valor de radi hidràulic de la partícula que és superior al radi de les partícules seques.

- XRD

Es va caracteritzar l'estructura mineral del precipitat format per la reacció entre el ferro i l'extracte mixt de rooibos i àcid tànnic mitjançant l'equip de difracció de pols de raigs X.

A la Figura 55, es mostra el resultat obtingut de la mostra sòlida precipitada.

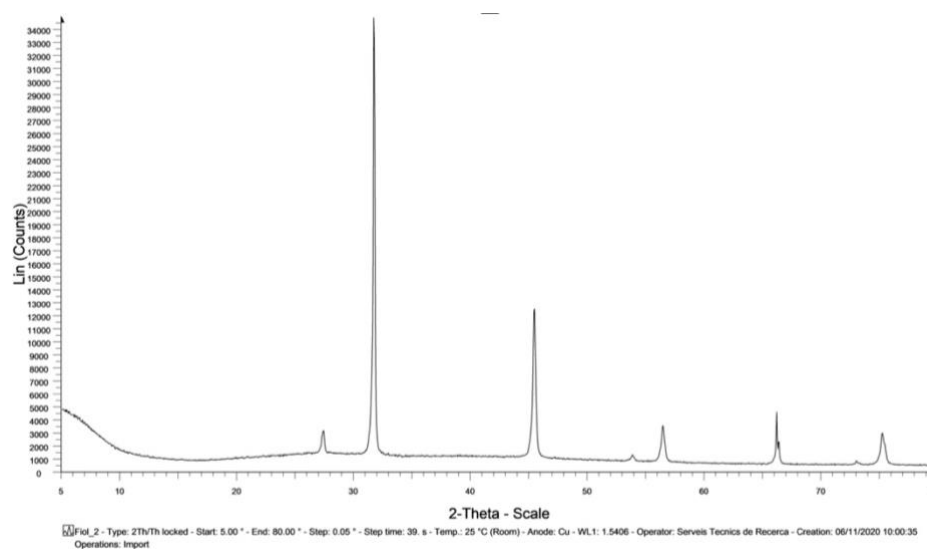


Figura 55. XRD obtingut del precipitat obtingut de la síntesi de nanopartícules de ferro zero emprant extracte rooibos.

El patró XRD del precipitat de ferro zero que es proporciona a la Figura 55, s'observa un pic predominant a 44,9°- 45° i es pot atribuir a la presència de ferro zero (53,60,62,63). Així com els pics a 66,5° i 75° també confirmen la presència de ferro zero (61).

Seguidament es va procedir a l'optimització de la síntesi de nanopartícules de ferro utilitzant extracte de te rooibos, ja que és el més òptim perquè ha aconseguit sintetitzar nanopartícules petites, és estable en el sentit de què no hi ha ràpida oxidació i es veu clarament el canvi instantani de color en la reacció. En observar la inestabilitat de les nZVI obtingudes, es va decidir l'addició d'àcid tànnic a l'extracte de te rooibos per millorar la permanència del valor de la mida de diàmetre de partícula.

Referent al procediment, s'ha considerat que les condicions més favorables per la sinterització de nZVI mitjançant l'extracte de rooibos són amb la temperatura a 100°C i la ràtio de 2/3. També comentar que, el medi inert és l'escollit, no pel fet que es formin diàmetres de partícules més petites, sinó per evitar la ràpida reacció amb l'oxigen que pateix el ferro.

4.3. METODOLOGIA D'OPTIMITZACIÓ

Acabada l'avaluació de l'elecció del reactiu reductor, escollint el del te roibos com a reductor i l'anàlisi previ de trobar les millors condicions, el pròxim pas era realitzar l'optimització mitjançant el disseny CCF d'experiments explicat a l'apartat 3.4, per poder ajustar el comportament del sistema a una equació matemàtica.

Inicialment s'havia de fer un estudi per valorar i definir el rang de cada variable independent.

4.3.1. ESTUDI DELS FACTORS QUE AFECTEN LA MIDA DE LES NANOPARTÍCULES DE FERRO ZERO

Respecte a X_1 (concentració del ferro) es va fer una sèrie de preparacions de diferents concentracions de FeCl_3 (0,01M a 1M) mostrats a la Figura 56, per veure el comportament de les reaccions amb l'extracte de roibos usat per l'elecció del reactiu reductor i observar quin era el millor rang de la concentració del ferro per formar ferro zero Figura 57.



Figura 56. Solucions de FeCl_3 de concentracions d'esquerra a dreta de 0,01M, 0,05M, 0,1M, 0,25M, 0,5M, 0,75M i 1M.



Figura 57. Reaccions obtingudes amb les concentracions d'esquerra a dreta de 0,01M, 0,025M, 0,050M, 0,1M, 0,25M, 0,5M, 0,75M i 1M.

S'observa que les solucions amb un color més negre són les solucions FeCl_3 de 0,05M, 0,1M i 0,25M. Per tant, es decideix que els valors de rang de concentració de Fe^{3+} escollits són 0,05M, 0,1M i 0,15M, ja que entre ells hi ha la mateixa proporció.

Per la variable X_2 (concentració de polifenols) es va determinar la concentració màxima de concentració de polifenols possibles en un extracte de te rooibos.

A la Figura 58, es mostra els diferents extractes preparats per determinar la saturació de polifenols en un extracte de te rooibos.

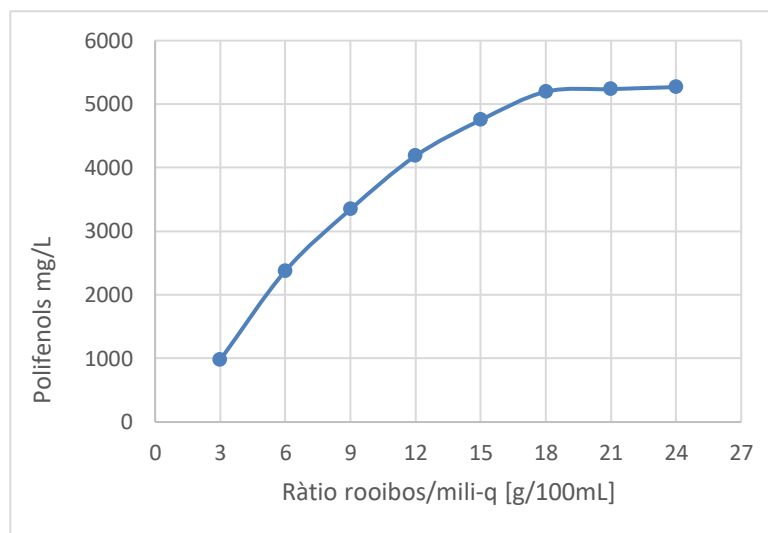


Figura 58. Extractes de Rooibos de 3g, 6g, 9g, 12g, 15g, 18g, 21g, i 24g /100mL, d'esquerra a dreta respectivament.

A la Taula 17 hi ha els valors d'absorbància obtinguts i els polifenols totals que hi ha a cadascun dels extractes de rooibos preparats. El Gràfic 13 mostra la corba de saturació obtinguda amb els polifenols totals dels extractes de rooibos preparats.

Taula 17. Abs. mostres diluïdes 5 vegades i resultat polifenols totals.

Pes rooibos (g/ 100 mL)	Abs.	Polifenols totals (mg/L)
0	0,066	428,636
3	0,281	977,272
6	0,589	2377,272
9	0,802	3345,45
12	0,987	4186,363
15	1,111	4750,000
18	1,209	5195,454
21	1,218	5236,363
24	1,225	5268,181



Gràfic 13. Corba de saturació del polifenols totals a l'extracte de rooibos.

MEMÒRIA

S'observa al Gràfic 13 que el te roibos arriba a saturar-se amb la ràtio 18g/100mL a una concentració de polifenols d'uns 5200 [mg/L] aproximadament El rang es defineix de 6g/100mL (ràtio usada al preestudi de l'elecció extracte) a 18g/100mL amb el valor mitjà de 12g/100mL.

Per finalitzar, la variable X_3 (pH) es va agafar de referència el resultat obtingut de pH de l'extracte vegetal roibos, com també el de l'extracte model citrat de sodi+àcid tànnic, conjuntament amb el valor aproximat de pH 10 d'un altre extracte referencial (borohidrur de sodi) per definir els valors: màxim (10), mig (7) i mínim (5).

Coneguts els valors de pH, es va realitzar un estudi amb les condicions més extremes (temperatura 100°C, concentració ferro 0,15M i pH de 10) per esbrinar la millor situació per introduir la variable en el sistema.

- Primera opció va ser elevar el pH a la solució de FeCl_3 .
- Segona opció consistia a pujar el pH a l'extracte de roibos.
- Tercera opció va ser en alçar el pH en l'acabar la reacció entre el ferro i l'extracte.



Figura 59. Resolució de la primera i segona opció (Esquerra l'abans i dreta el després).

Com mostra la Figura 59, el ferro precipita a elevada temperatura i pH (vas 1), també es comprova que no es produeix precipitat ni hi ha canvi de color de l'extracte roibos quan es modifica el pH d'aquest (vas 3) que indica que no hi ha destrucció de polifenols. Per reforçar aquesta última afirmació, l'extracte vegetal de pH 10 va ser reaccionat favorablement amb FeCl_3 per comprovar que hi havia formació de ferro zero.

Es descarta l'última opció perquè és un canvi important segons el mètode actual de síntesis de nZVI.

4.3.2. DISSENY CENTRAT EN LA CARA (CCF)

Per l'optimització de la síntesi verda de nanopartícules de ferro zero es va realitzar el disseny d'experiments amb les condicions descrites a l'apartat 3.4. Les condicions constants de la sintetització de les nZVI van ser amb una temperatura a 100°C, una ràtio Fe/extracte de 2/3 i en un medi inert. El sobrenedant obtingut a cada experiment després d'estar en un bany d'ultrasons 15 minuts, la mida de partícula va ser analitzada mitjançant l'aparell DLS. Es van realitzar tres mesures per a cada mostra.

La Figura 60 mostra les vint síntesis obtingudes, les mateixes que filtrades i diluïdes deu vegades van ser analitzades.



Figura 60. Experiments: Primera fila de 1 al 10, Segona fila de 11 al 15 i Tercera fila del 15 al 20 (6 repeticions).

S'observen algunes mostres més color negre que d'altres, on hi ha hagut ràpida oxidació i s'observen de color marró. Fet que indica que la reacció ha tingut un rendiment inferior al 100% i la solució obtinguda és formada de ferro zero conjuntament amb compostos secundaris com òxids de ferro (II y III).

MEMÒRIA

La Taula 18 mostra el valor que van tenir cadascuna de les variables influents en cada experiment de nZVI, conjuntament amb els tres valors de mida de diàmetre de partícula d'aquestes, els quals van ser processats mitjançant un programa matemàtic per obtenir una equació matemàtica amb la qual es pot calcular la mida de nanopartícula que s'obtindrà amb qualsevol valor en les variables (X_1 , X_2 i X_3).

Taula 18. Valors de mida de partícula obtinguts en les condicions experimentals del disseny CCF per l'optimització de la síntesi verda de nanopartícules de ferro zero.

Experiment	X_1	X_2	X_3	Mida (nm)		
1	0,05	6,00	4,00	21,67	8,65	11,88
2	0,15	6,00	4,00	183,9	109,0	150,7
3	0,05	18,00	4,00	23,62	25,99	19,81
4	0,15	18,00	4,00	106,2	119,4	104,0
5	0,05	6,00	10,00	77,19	63,36	51,00
6	0,15	6,00	10,00	73,98	67,09	74,33
7	0,05	18,00	10,00	77,73	80,91	91,95
8	0,15	18,00	10,00	34,31	84,63	65,47
9	0,05	12,00	7,00	10,69	24,00	32,67
10	0,15	12,00	7,00	147,7	161,9	158,5
11	0,10	6,00	7,00	108,3	97,53	81,76
12	0,10	18,00	7,00	23,08	14,00	17,52
13	0,10	12,00	4,00	105,8	95,16	89,78
14	0,10	12,00	10,00	49,60	64,83	55,36
15	0,10	12,00	7,00	121,7	96,25	38,01
16	0,10	12,00	7,00	111,5	100,5	104,5
17	0,10	12,00	7,00	116,1	110,4	102,4
18	0,10	12,00	7,00	101,7	37,65	109,7
19	0,10	12,00	7,00	91,42	80,27	100,1
20	0,10	12,00	7,00	101,5	97,40	96,95

MEMÒRIA

Les dades obtingudes van ser processades per una funció del Matlab anomenada “*stepwiselm*”.

Aquesta funció genera una equació com l'esmentada en l'apartat 2.6, que descriu la relació estadística de les tres variables independents (X_i) i la variable resposta (y) després d'ajustar un model de regressió. Aquesta funció utilitza eines estadístiques com el p -valor, coeficient que s'utilitza per a determinar els termes que s'han de conservar en el model de regressió. Un p -valor $< 0,05$ indica que es pot rebutjar el terme i es considera no determinant.

Definitivament és un model de regressió múltiple, que en aquest treball de final de grau, descriu la relació entre la resposta (mida de les nZVI) i les predictores (la concentració de Fe, concentració de polifenols a l'extracte reductor i el pH).

En la Taula 19 es mostren els valors de les constants de la funció obtinguts amb el programa matemàtic Matlab.

Taula 19. Valors de les constants de la funció que defineix l'equació de la mida de les nanopartícules de ferro zero.

	Valor Estimad	SE	t-Stat	pValue
β_0	-206,77	42,891	-4,820	1,24E-01
β_1	2434,1	331,66	7,339	1,28E-05
β_2	15,926	47,611	3,345	0,001
β_3	17,733	37,837	4,686	1,98E-01
β_4	-32,118	17,27	-1,859	0,068
β_5	-195,53	34,54	-5,660	6,24E-03
β_6	-0,5973	0,18204	-3,281	0,002

El valor de SE és l'error estàndard de la determinació de cada coeficient β , el t-Stat és l'estadístic que es fa servir per fer el test de confiança del coeficient i es calcula dividint el valor estimat entre SE. A partir del valor de SE favorable es calcula el p Value corresponent.

Coneguts els valors de les constants, es pot determinar quines són les variables més influenciables i construir la funció matemàtica que descriu el sistema. El resultat de l'equació de regressió polinòmica per saber la mida del diàmetre de partícula d'acord amb els factors seleccionats va ser la següent.

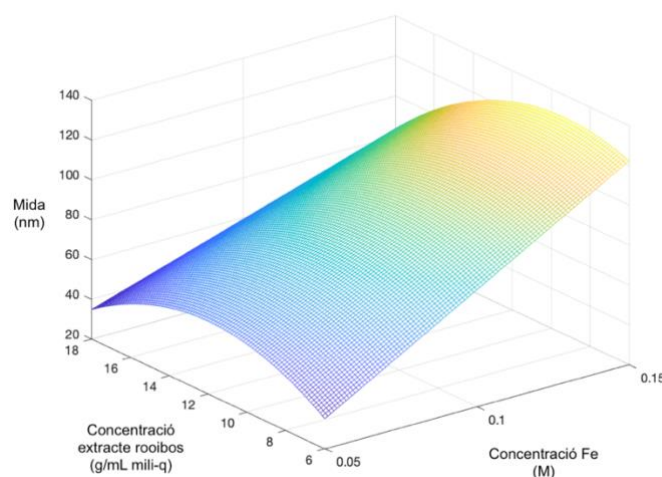
MEMÒRIA

$$\phi_{nzVI}(nm) = -206,77 + 2434,10 X_1 + 15,92 X_2 + 17,73 X_3 - 32,12 X_1 X_2 - 195,53 X_1 X_3 - 0,59 X_2^2$$

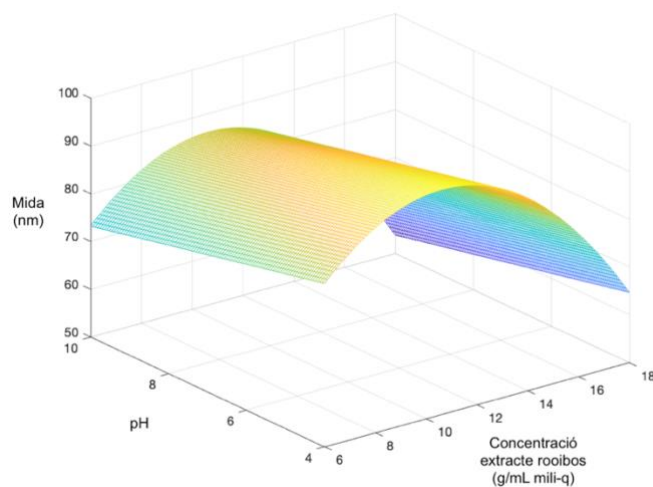
Com es pot constatar a l'anterior taula, existeixen termes que no tenen un efecte significatiu ($X_2 X_3$, X_1^2 i X_3^2) pel que són eliminats amb la finalitat de millorar el model.

El software Matlab també permet representar gràficament la forma del sistema, obtenint diferents distribucions de mida de partícula. La relació entre la y i els nivells dels factors ($y=f(X_1, X_2, \dots, X_k)$) representa una superfície. Amb k factors, la superfície està en $k+1$ dimensions, en el nostre cas particular la superfície està en quatre dimensions.

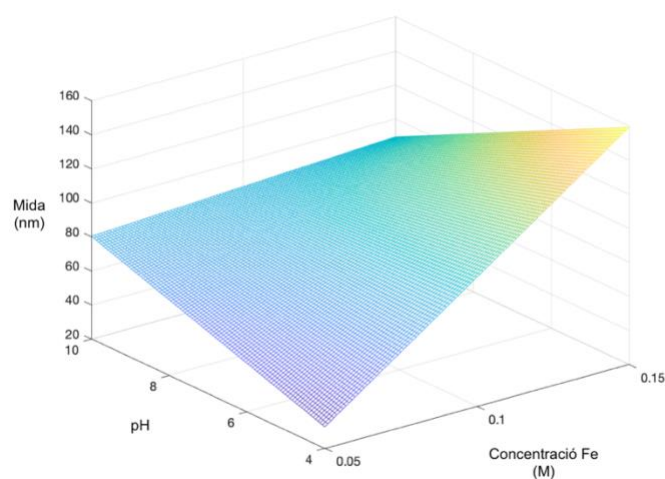
Amb la dificultat d'aconseguir gràfiques de quatre dimensions, les següents gràfiques són tridimensionals i en totes elles es mostra la mida de partícula, depenent de dues de les variables i considerant-ne una constant. Aquestes gràfiques ens ajudaran a analitzar més fàcilment el sistema, observant la forma que pren aquest i localitzant els seus mínims i així poder concretar quines són les condicions de síntesi més òptimes per obtenir nanopartícules de ferro zero més petites.



Gràfic 14. Distribució de la mida de partícula segons la concentració d'extracte rooibos i concentració Fe per a la síntesi de nZVI.



Gràfic 15. Distribució de la mida de partícula segons el pH i la concentració d'extracte rooibos per a la síntesi de nZVI.



Gràfic 16. Distribució de la mida de partícula segons el pH i la concentració d'extracte de ferro per a la síntesi de nZVI.

Analitzant els tres gràfics observem altre cop, com la mida de partícula obtinguda correspon en tots els casos a nanopartícules.

MEMÒRIA

En el Gràfic 14, no ha sortit una distribució idònia com les de la Figura 17, però s'observa una tendència. Es pot observar la importància que té la concentració de ferro, així com el factor de la de concentració de polifenols a l'extracte a l'efecte a la mida de la nanopartícula. En tots els casos per a obtenir els millors resultats es suggereix treballar amb concentracions de ferro baixes conjuntament amb un extracte rooibos amb una concentració extrema (alta o baixa de polifenols). A mesura que la concentració de ferro van pujant a 0,15M i entra en contacte amb extracte rooibos de concentració mitjana resulta formar nZVI més grans.

En el Gràfic 15, podem veure com el sistema té una forma on surt una tendència al màxim, es corrobora l'afirmació del paràgraf anterior de què s'aconsegueix quan l'extracte reductor té una concentració mitjana de polifenols (aprox. 4200 mg/L). També podem veure que el pH influeix poc sobre la concentració del reductor vegetal, però pot afavorir a formar nanopartícules més petites, un medi àlcali. Constata en part l'afirmació de què els polifenols tanins hidrolitzables es desprotonen amb medis bàsics formant electrons que redueixen el ferro.

En el Gràfic 16, es torna a observar que a concentracions altes de ferro creix el diàmetre de partícula i la mida més petita s'obté quan la concentració de ferro i el pH és baix. Això, pot ser degut al fet que quan succeeix la reacció el medi s'esdevé àcid, tant com s'observa a la Figura 7 on s'observa que s'allibera H^+ .

La representació dels gràfics juntament amb els valors numèrics de l'equació obtinguda, confirmen que la variable que més influeix a augmentar la mida de partícula és la concentració de ferro, seguida de lluny per la variable del pH i la concentració de polifenols de l'extracte de rooibos, que no afecten tant per elles mateixes a la mida de les nanopartícules, en aquest ordre respectivament. De manera que per la síntesi de nZVI, les concentracions altes en la solució de ferro, és el que pot provocar l'obtenció de partícules de mida més gran.

S'ha trobat també que les combinacions de la variable de la concentració de ferro conjuntament amb els dos altres termes, influeixen a disminuir la mida de les nZVI, sent l'associació amb el pH més dominant a reduir el diàmetre de partícula que no pas la combinació amb la concentració de polifenols de l'extracte.

4.3.3. ESTUDI DE L'ESTABILITAT

Per reforçar l'anàlisi de l'estabilitat de les nZVI, es va mesurar també el potencial Z de la bateria dels vint experiments realitzats per l'estudi de l'optimització del procés amb l'equip DLS.

Es mostra un exemple d'informe que ofereix el programa Zetasizer de l'aparell

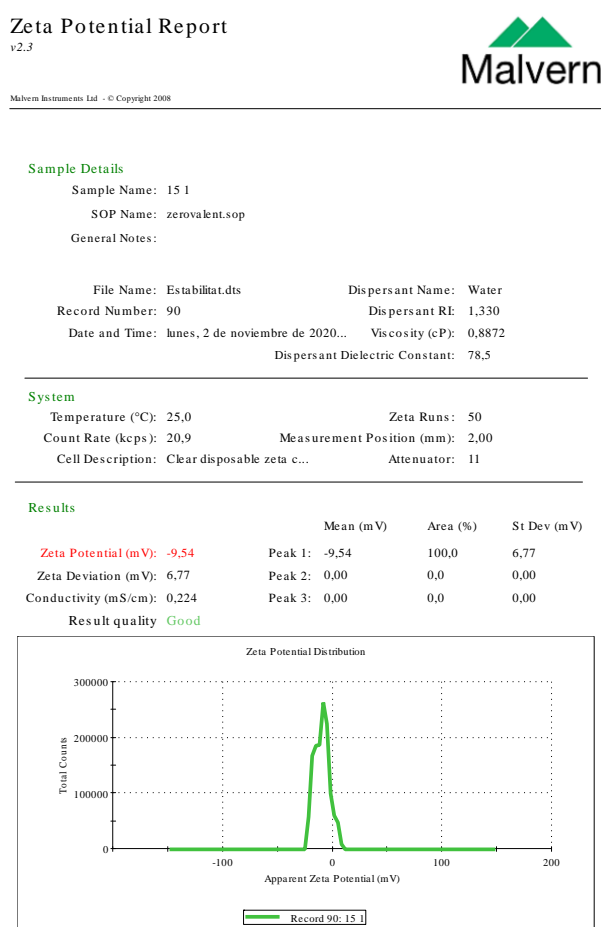


Figura 61. Exemple d'informe que ofereix el programa per assignar el valor de potencial Z de les solucions de nZVI obtingudes.

El resultat es presenta similar a l'informe d'exemple de la mida del diàmetre de partícula. Ara la corba acumulativa depèn del potencial Z en funció del nombre de recomptes totals. A part de la qualitat del resultat, l'informe també inclou informació de la desviació i la conductivitat de la solució de nZVI.

MEMÒRIA

La següent taula mostra els resultats obtinguts del potencial Z dels experiments de nZVI.

Taula 20. Resultats del potencial Z de les vint mostres de l'estudi CCF.

Exp.	Potencial Z (mV)	Exp.	Potencial Z (mV)
1	0,1	11	-0,01
2	0	12	0
3	-0,01	13	4,2
4	-0,17	14	0,05
5	0	15	-9,83
6	-0,13	16	-2,6
7	0,01	17	-12,53
8	-0,01	18	-7,71
9	0,1	19	-4,89
10	0,12	20	-6,13

Veient els valors de tots els potencials es pot afirmar que les nZVI no són estables, ja que no són superiors a +30 mV ni inferiors a -30 mV (62). La magnitud de la repulsió o atracció electroestàtica (o de càrrega) entre les partícules, està gairebé a totes les mostres al voltant a 0 mV.

5. CONCLUSIONS

Després de l'avaluació dels resultats experimentals obtinguts es pot arribar a les següents conclusions:

- Els valors dels paràmetres de caracterització dels extractes indiquen que la síntesi de nanopartícules de ferro amb extractes vegetals de rapa, cafè i te rooibos funciona com a alternativa d'obtenció de nZVI del procés convencional amb citrat de sodi i àcid tànnic. Tots els extractes reductors tenen valors de paràmetres referents a la capacitat reductora similars.
- Amb tots els extractes vegetals són aptes per formar nZVI. Les condicions òptimes per una bona reacció dels reactius usats i obtenció de nanopartícules de ferro zero més petites, han estat: una temperatura a 100°C, una relació solució/extracte-vegetal de 2/3 i en un medi inert, sense presència d'oxigen, mitjançant el gas nitrogen.
- La matriu d'aquests extractes no impedeix la tendència de les nZVI del ferro a l'aglomeració. Per a obtenir les nZVI més disperses és necessària l'addició d'algun altre agent estabilitzant.
- Comparant els resultats de mida de partícula per a cada extracte, l'extracte amb millors propietats reductores ha estat el preparat amb te roiboos, és el que permet obtenir nanopartícules més petites, les quals pateixen menys oxidació amb l'oxigen.
- Els mètodes més rellevants per a la caracterització de les nanopartícules obtingudes mitjançant l'extracte rooibos, han estat SEM i XRD. El primer mètode ens ha permès veure la imatge i corroborar l'obtenció de nanopartícules, les quals amb el mètode de raigs X ha determinat la seva composició identifiquen-les com de ferro zero.
- L'equació obtinguda a l'estudi d'optimització, ha permès determinar el grau de influència de la concentració de la solució de ferro, la concentració de polifenols de l'extracte reductor i el pH a la mida de les nZVI. La variable més dominant enfront la mida de les nZVI és la concentració de la solució de ferro, seguida del pH i la concentració de polifenols de l'extracte que no ho són tant. El diàmetre de partícula tan petita com sigui possible s'obté reaccionant la solució de ferro de concentració baixa (0,05M) amb l'extracte de te rooibos de concentració en polifenols alt (5200 mg/L) conjuntament amb pH bàsic (10).

MEMÒRIA

La principal limitació que presenta aquesta alternativa de síntesi verda de nZVI, és que no presenten ferro en l'estat d'oxidació zero 100%, cap dels extractes té un valor de potencial que hagi pogut fer aquest procés de reducció total. D'aquesta forma s'arriba a la conclusió que les nanopartícules obtingudes són de ferro zero, però poden estar també formades per diferents òxids o hidròxids de ferro en diversos estats d'oxidació.

6. PLANIFICACIÓ DEL PROJECTE

El projecte s'ha estructurat mitjançant el software informàtic Microsoft Project, programari per planificar i gestionar de forma eficient. Aquest software permet distribuir les tasques a realitzar en una escala temporal.

El treball final de grau s'ha dividit en tres fases: inicial, experimental i teòrica.

La planificació realitzada per aquest treball final de grau es dona a conèixer a partir d'un Diagrama de Gantt (Figura 62). En aquest s'ha tingut en compte que els dilluns no es dedicaven al treball final de grau (dia laboral personal), els dies festius, la capacitat dels recursos, el cost dels recursos, l'ordre cronològic de les tasques i la durada d'aquestes.

Síntesi verda de nanopartícules de ferro amb extractes vegetals: optimització i caracterització

MEMÒRIA

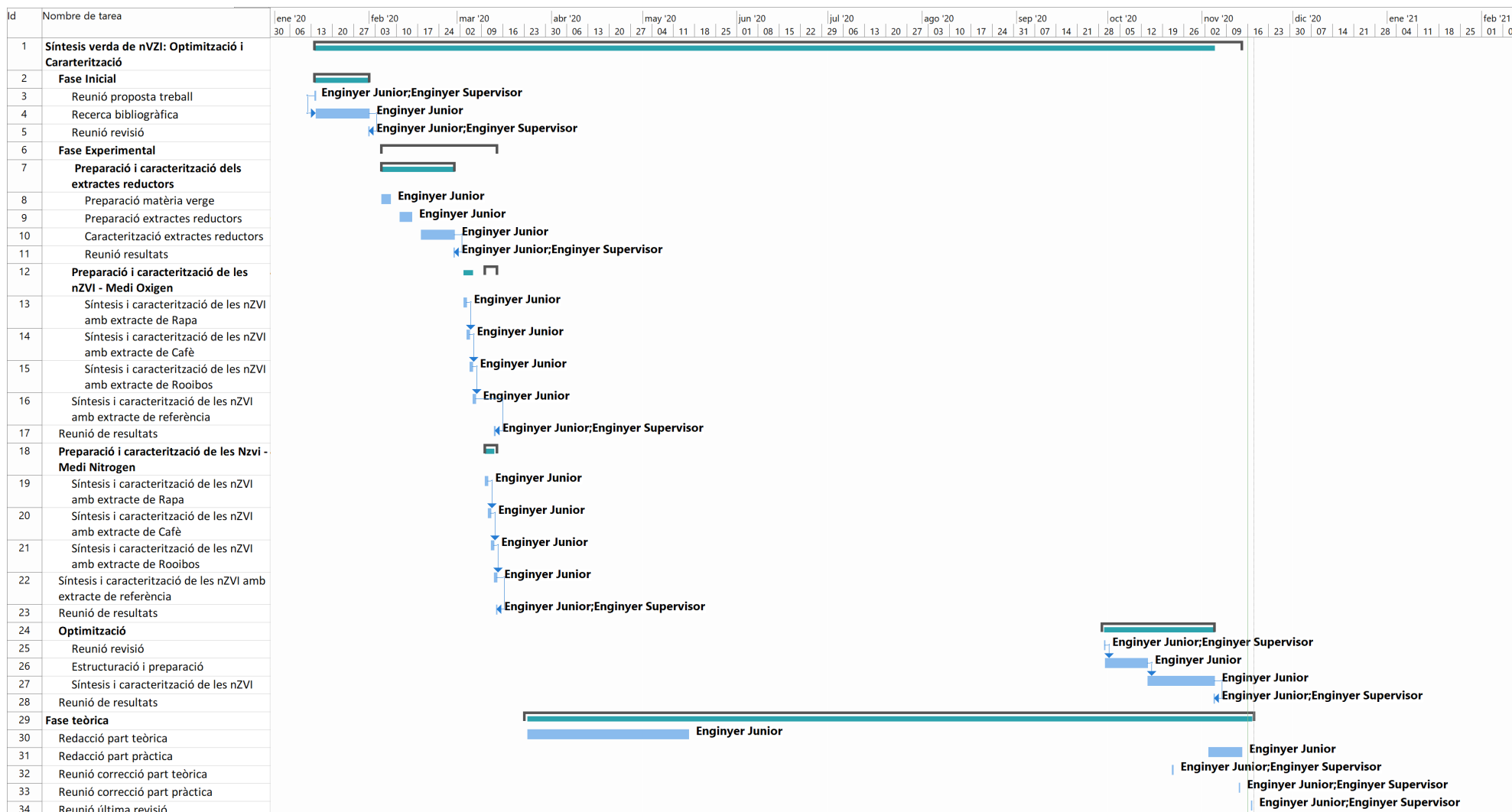


Figura 62. Diagrama de Gantt del treball de fi de grau Síntesi verda de nanopartícules de ferro zero.

7. PRESSUPOST

A continuació, es presenta el pressupost estimat per la realització d'aquest treball final de grau. S'han contemplat diferents costos, exposant i desgranant les dades principalment de material i reactius.

Aquest treball s'ha realitzat completament a les instal·lacions i laboratoris de la universitat de Girona, on es disposava de material de laboratori bàsic i de tots els equips necessaris per a la investigació. Per tant, no s'han adquirit exclusivament (aparells i equips amortitzats) i no s'ha considerat per la realització del pressupost.

S'han contemplat com a costos: els reactius, el material de laboratori exclusiu, anàlisis a laboratoris exteriors i la mà d'obra. Seguidament a la Taula 21 es desglossen els costos en: quantitat (kg, unitats i hores), el seu cost net d'aquest (21% IVA) i el cost total.

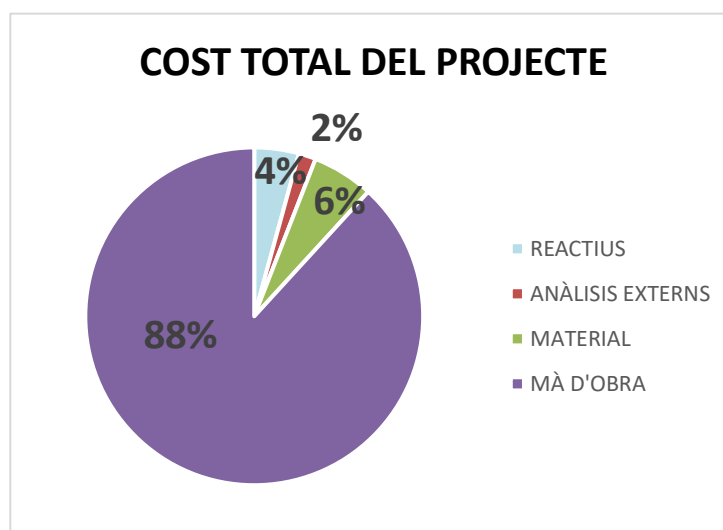
Taula 21. Pressupost del TFG.

	Quantitat	Cost net	Cost final [€]
Reactius	[€/kg o L]		
FeCl ₃	250 g	168,00	42,00
Àcid tànnic	100 g	266,64	26,66
Citrat de Sodi	100 g	42,44	4,25
Rooibos	500 g	40,00	20,00
Cafè	250 g	6,40	1,60
A. FolinCiocalteu	250 mL	220,96	55,24
Solució ORP	20 mL	60,00	1,20
Nitrogen gas	10 L	9,72	97,25
Carbonat de Sodi	100 g	52,03	5,20
Àcid gàl·lic	25 g	179,24	4,48
TOTAL REACTIUS			257,88

Taula 22. Pressupost del TFG.

	Quantitat	Cost net	Cost final [€]
Anàlisis externs	[€/Anàlisi]		
SEM	1	60,00	60
XRD	1	40,00	40
TOTAL ANÀLISIS EXTERNS			100
Material			
	Unitats	[€/ud]	
Cubetes de poliestirè	100	0,67	67,34
Cubetes DTS1070	10	8,05	80,5
Paper de filtre 0,2µm	100	0,40	40,20
Filtres xeringa 0,2µm	200	0,74	148,19
Xeringues 1 mL	100	0,09	9,52
Parafilm	10 m	0,97	9,73
TOTAL MATERIAL			355,48
Mà d'obra			
	Hores	[€/h]	
Enginyera junior	425,50	11,50	4883,25
Supervisora	15,00	30,00	450,00
TOTAL MÀ D'OBRA			5333,25
TOTAL PRESSUPOST			6046,61

S'ha realitzat un diagrama circular per representar la proporció que ha tingut cada tipus de cost en el total. Com s'observa al Gràfic 17, la major part del cost del projecte va ser degut a la mà d'obra, seguit de molt lluny del material, reactius i anàlisis exteriors, respectivament.



Gràfic 17. Gràfic circular del Cost total del projecte.

8. REFERÈNCIES

1. National Science Foundation. NATIONAL SCIENCE FOUNDATION FY 2015 Budget Request to Congress. 2014;
2. Issa B, Obaidat IM, Albiss BA, Haik Y. Magnetic nanoparticles: Surface effects and properties related to biomedicine applications. *Int J Mol Sci.* 2013;14(11):21266-305.
3. Universidad país vasco. NANOTECHNOLOGY AS TOOL FOR SOIL. 2018;56.
4. Machado S, Pacheco JG, Nouws HPA, Albergaria JT, Delerue-Matos C. Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. *Sci Total Environ [Internet].* 2015;533:76-81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.091>
5. American National Nanotechnology Initiative (NNI). About the NNI. *WwwNanoGov [Internet].* 2016;1-2. Disponible en: <http://www.nano.gov/about-nni>
6. EcuRed. Nanopartículas - EcuRed [Internet]. EcuRed. 2017 [citado 22 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Nanopartículas>
7. Nuhn L. Micro- and Nanotechnology in Vaccine Development. Edited by Mariusz Skwarczynski and Istvan Toth. *ChemMedChem.* 2018;
8. Gómez-Garzón M. Nanomateriales, Nanopartículas y Síntesis verde. *Rev Repert Med y Cirugía.* 2018;27(2):75-80.
9. Madkour LH. Chronicles of Pharmaceutical Science Review Article Biogenic-Biosynthesis Metallic Nanoparticles (MNPs) for Pharmacological, Biomedical and Environmental Nanobiotechnological Applications. *Pharmaceutical Science.* 2018.
10. Kharisov BI, Rasika Dias H V., Kharissova O V., Manuel Jiménez-Pérez V, Olvera Pérez B, Muñoz Flores B. Iron-containing nanomaterials: Synthesis, properties, and environmental applications. *RSC Adv.* 2012;
11. Li XQ, Elliott DW, Zhang WX. Zero-valent iron nanoparticles for abatement of environmental pollutants: Materials and engineering aspects. *Crit Rev Solid State Mater Sci.* 2006;31(4):111-22.

MEMÒRIA

12. Ebrahiminezhad A, Zare-Hoseinabadi A, Berenjian A, Ghasemi Y. Green synthesis and characterization of zero-valent iron nanoparticles using stinging nettle (*Urtica dioica*) leaf extract. *Green Process Synth.* 2017;6(5):469-75.
13. Kharissova O V., Dias HVR, Kharisov BI, Pérez BO, Pérez VMJ. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 2013;31(4):240-8.
14. Naghdi M, Taheran M, Brar SK, Verma M, Surampalli RY, Valero JR. Green and energy-efficient methods for the production of metallic nanoparticles. *Beilstein J Nanotechnol.* 2015;6(1):2354-76.
15. 12 Principles of Green Chemistry - American Chemical Society [Internet]. [citado 10 de noviembre de 2020]. Disponible en:
<https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/principles/12-principles-of-green-chemistry.html>
16. Narayanan KB, Sakthivel N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Adv Colloid Interface Sci.* 2010;
17. Eslami S, Ebrahimzadeh MA, Biparva P. Green synthesis of safe zero valent iron nanoparticles by: *Myrtus communis* leaf extract as an effective agent for reducing excessive iron in iron-overloaded mice, a thalassemia model. *RSC Adv.* 2018;8(46):26144-55.
18. Some Remarks on the Concept of Acids and Bases. En: *A Source Book in Chemistry, 1900-1950.* 2014.
19. Pujol D, Liu C, Fiol N, Olivella MÀ, Gominho J, Villaescusa I, et al. Chemical characterization of different granulometric fractions of grape stalks waste. *Ind Crops Prod.* 2013;
20. Escobar C, Aurell M, Agell X. Observatori de la vinya, el vi i el cava Informe sobre el sector vitivinícola a Catalunya [Internet]. 2018 [citado 18 de octubre de 2019]. Disponible en:
http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de_departament/de02_estadistiques_observatoris/08_observatoris_sectorials/02_observatori_vinya_vi_cava/fitxers_estatics/informes/2018_informe-1_GT_v2.pdf

21. Bertran E, Sort X, Soliva M, Trillas I. Composting winery waste: Sludges and grape stalks. *Bioresour Technol.* 2004;
22. Willett W. Nutritional Epidemiology. *Nutritional Epidemiology.* 2013.
23. K. Y, H. O, K.-G. L, T. S. Antioxidative Activities of Fractions Obtained from Brewed Coffee. *J Agric Food Chem.* 2004;
24. Choi HK, Willett W, Curhan G. Coffee consumption and risk of incident gout in men a prospective study. *Arthritis Rheum.* 2007;
25. Lelyana R, Cahyono B. Total phenolic acid contents in some commercial brands of coffee from Indonesia. *JMPHTR [Internet].* 2015 [citado 16 de octubre de 2019];3:27-9. Disponible en:
<https://pdfs.semanticscholar.org/c651/b2314ed9436ec1ba4ebcf6d6717bb2fe9565.pdf>
26. Pujol D, Liu C, Gominho J, Olivella MÀ, Fiol N, Villaescusa I, et al. The chemical composition of exhausted coffee waste. *Ind Crops Prod.* 2013;
27. Robak J, Gryglewski RJ. Bioactivity of flavonoids. *Polish Journal of Pharmacology.* 1996.
28. McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity of South African herbal teas: Rooibos (*Aspalathus linearis*) and honeybush (*Cyclopia intermedia*). *Phytotherapy Research.* 2007.
29. Habu T, Flath RA, Mon TR, Morton JF. Volatile Components of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*). *J Agric Food Chem.* 1985;
30. Peterson GL. Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. *Analytical Biochemistry.* 1979.
31. Wang W, Zhou M, Mao Q, Yue J, Wang X. Novel NaY zeolite-supported nanoscale zero-valent iron as an efficient heterogeneous Fenton catalyst. *Catal Commun.* 2010;
32. Somchaidee P, Tedsree K. Green synthesis of high dispersion and narrow size distribution of zero-valent iron nanoparticles using guava leaf (*Psidium guajava* L) extract. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol.* 2018;9(3).
33. Thambi V, Kar A, Ghosh P, Paital D, Gautam ARS, Khatua S. Synthesis of Complex Nanoparticle Geometries via pH-Controlled Overgrowth of Gold Nanorods. *ACS Omega.* 2019;

MEMÒRIA

34. Caroling G, Vinodhini E, Mercy Ranjitham A, Shanthi P. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous Phyllanthus embilica (Gooseberry) extract-characterisation and study of antimicrobial effects. Int J Nano Chem Int J Nanomater Chem. 2015;
35. Valls JL. El potencial Redox (ORP). aviNews. 2019.
36. Official website of the European Union. Nanomateriales [Internet]. 2009 [citado 3 de mayo de 2019]. Disponible en:
https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/nanomaterials/es/index.htm#2
37. Cuadros-Moreno A, Casañas Pimentel R, San Martín-Martínez E, Yañes Fernandez J. Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas I. INTRODUCCIÓN. Am J Phys Educ [Internet]. 2014 [citado 29 de enero de 2020];8(4). Disponible en: <http://www.lajpe.org>
38. Nayak D, Ashe S, Rauta PR, Kumari M, Nayak B. Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: Evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. Mater Sci Eng C. 2016;
39. nanoComposix. Uv/Vis/Ir Spectroscopy Analysis of Nanoparticles. nanoComposix. 2012.
40. Green Processes for Nanotechnology. Green Processes for Nanotechnology. 2015.
41. Ipohorski M, Bozzano PB. Microscopía electrónica de barrido. Cienc Invest. 2013;
42. Clavijo J. Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM). ELEMENTOS. 2013;
43. Moreno Fina A. " Caracterització microestructural i mecànica de multicapes base zircònia per impressió 3D". 2016;
44. Thaller M. Propiedades Mecanicas, Coeficiente De Friccion Y Efectos De Anisotropía Mecánica Local En Aleaciones Metálicas. 2016;1-84.
45. Xian W. A Laboratory Course in Biomaterials. A Laboratory Course in Biomaterials. 2009.
46. Box GEP, Wilson KB. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. J R Stat Soc Ser B. 1951;

MEMÒRIA

47. Sánchez D. Método de las Superficies de Respuesta. Diseño óptimo laminados en Mater compuestos Apl del método las Superf respuesta [Internet]. 2011;88-97. Disponible en: <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/70238/fichero/Capitulo+7.pdf>.
48. Makarov V V., Love AJ, Sinitsyna O V., Makarova SS, Yaminsky I V., Taliansky ME, et al. «Green» nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*. 2014.
49. Fazlzadeh M, Rahmani K, Zarei A, Abdoallahzadeh H, Nasiri F, Khosravi R. A novel green synthesis of zero valent iron nanoparticles (NZVI) using three plant extracts and their efficient application for removal of Cr(VI) from aqueous solutions. *Adv Powder Technol* [Internet]. 2017;28(1):122-30.
50. Shahwan T, Abu Sirriah S, Nairat M, Boyaci E, Eroğlu AE, Scott TB, et al. Green synthesis of iron nanoparticles and their application as a Fenton-like catalyst for the degradation of aqueous cationic and anionic dyes. *Chem Eng J*. 2011;
51. Murgueitio E, Cumbal L, Abril M, Izquierdo A, Debut A, Tinoco O. Green Synthesis of Iron Nanoparticles: Application on the Removal of Petroleum Oil from Contaminated Water and Soils. *J Nanotechnol*. 2018;2018:1-8.
52. Herlekar M, Barve S, Kumar R. Plant-Mediated Green Synthesis of Iron Nanoparticles. *J Nanoparticles*. 2014;2014:1-9.
53. Carpenter EE, Calvin S, Stroud RM, Harris VG. Passivated iron as core-shell nanoparticles. *Chem Mater*. 2003;
54. Bard AJ, Parsons R, Jordan J. Standard Potentials in Aqueous Solution. *Standard Potentials in Aqueous Solution*. 2017.
55. Huang L, Weng X, Chen Z, Megharaj M, Naidu R. Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: Comparative study of the reactivity. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2014;
56. Dhuper S, Panda D, Nayak PL. Green Synthesis and Characterization of Zero Valent Iron Nanoparticles from the Leaf Extract of *Mangifera indica*. *Nano Trends A J Nanotechnol Its Appl*. 2012;

MEMÒRIA

57. Morgada ME, Levy IK, Salomone V, Farías SS, López G, Litter MI. Arsenic (V) removal with nanoparticulate zerovalent iron: Effect of UV light and humic acids. *Catal Today*. 2009;
58. Pattanayak M, Nayak PL. Ecofriendly green synthesis of iron nano particles from various plants and spices extract. *Int J Plant, Anim Environ Sci*. 2013;
59. Huang L, Weng X, Chen Z, Megharaj M, Naidu R. Synthesis of iron-based nanoparticles using oolong tea extract for the degradation of malachite green. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2014;
60. Kuang Y, Wang Q, Chen Z, Megharaj M, Naidu R. Heterogeneous Fenton-like oxidation of monochlorobenzene using green synthesis of iron nanoparticles. *J Colloid Interface Sci*. 2013;
61. Madhavi V, Prasad TNVKV, Reddy AVB, Ravindra Reddy B, Madhavi G. Application of phytogenic zerovalent iron nanoparticles in the adsorption of hexavalent chromium. Vol. 116, *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013. p. 17-25.
62. CORRELACIÓN DE POTENCIAL ZETA Y PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN EXTRACTOS DE SATURACIÓN DE SUELOS DEL DISTRITO DE RIEGO-03, VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO, MÉXICO. *Trop Subtrop Agroecosystems*. 2009;

