



INSTITUTO DE
TECNOLOGÍA
QUÍMICA

EXCELENCIA
SEVERO
OCHOA

 **CSIC**
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

DESARROLLO DE NUEVOS MATERIALES BASADOS EN METALES NOBLES Y SEMINOBLER PARA CATÁLISIS MEDIOAMBIENTAL Y APLICACIONES BIOCIDAS

Tesis doctoral

Presentada por:
José Luis Cerrillo Olmo

Dirigida por:
Prof. Fernando Rey García
Prof. Antonio Eduardo Palomares Gimeno

Valencia, mayo 2019

AGRADECIMIENTOS

Desde que ojeé por primera vez una tesis, siempre imaginaba como decidiría qué poner, a quién nombrar y como, sin ser vanidoso, reflejar a todas esas personas que me han acompañado y ayudado durante la realización de esta etapa. Sin embargo, escribir estas líneas ha sido muy fácil, ya que este largo camino no habría sido posible sin vosotros. Todos vosotros habéis compartido, sufrido, colaborado y enseñado algo que ha influido en mi y en esta tesis.

Gracias a Edu y Fernando, mis tutores y jefes durante esta etapa, que siempre han tenido un hueco para enseñarme los entresijos de la investigación, un momento para guiarme y focalizar mi atención en lo importante, por aguantar mis dudas y preguntas de todo tipo, y sobre todo, por confiar en mi para llevar a cabo otras tareas (docencia, congresos, dirección de trabajo, etc)

Gracias a Christian por todas las horas de sincrotrones, los consejos, las vivencias compartidas y por ser amigo antes que compañero de trabajo. A Irene, la insular del grupo, por los cafés terapéuticos a primera hora de la mañana, por las charlas de todo tipo (con o sin cervezas) y por ayudarme en todo, incluso dejando lo suyo para después. También, gracias a Candela por transmitirme su entusiasmo en todo lo que hace y en especial a Alberto, por todas las charlas científicas o no, y por ser un amigo incluso desde Bélgica. Por último, gracias a Eli por ayudarme con su visión artística y por siempre estar dispuesta a sonreír.

Gracias a los ITQnian@s por enseñarme tanto dentro como fuera del laboratorio, tanto profesional como personalmente, por estar tanto en los buenos, pero más en los malos, y por hacerme reír todos los días, sin

excepción. Gracias Cris C. por tranquilizarme y por tu confianza, gracias Rocio por ser cómplice de todos los “saraos”, gracias Massó por estar para todo, gracias Cris G. por escucharme y apoyarme y gracias Chelo por escucharme, reñirme, aconsejarme y ser incluso más hater que yo. Gracias a Javi, Miguel, Jorge y Jose por los viajes, charlas, cervezas patriarcales y por el apoyo. Gracias por ser compañeros, pasar a ser amigos y convertirnos en familia.

Gracias a mis padres (Mati y Charol) por darme las herramientas para llegar donde yo quiera, por educarme, por quererme y por apoyarme en todas las decisiones, incluso cuando no estabais de acuerdo. A mis “tíos” Nuria y Pepenando, por ejercer de padres sin tenerlo que hacer, gracias por vuestro apoyo. A mi hermano elegido, Josito, por estar siempre, por los whatsapps sin sentido, por “tente” y por preocuparse de mis problemas como si fueran suyos. Gracias a mi sensei, Jose, por inculcarme perseverancia, trabajo y constancia como forma de vida, y como no a Chris, por ser un amigo incondicional y un compañero tanto dentro como fuera del tatami.

Gracias a Mireia, la que más ha sufrido todo esto pero que siempre me ha apoyado, me ha animado, me ha empujado cuando me hundía y que incluso, ha recortado horas de sus días para regalármelas a mi, te quiero!! Gracias por compartir tu vida conmigo, mis logros son también tuyos.

Por último, gracias a mi pequeña Carmen, que sin saberlo, me has dado la fuerza día a día para superarme y conseguir todo lo que me propongo, para que cuando puedas entenderlo, estés orgullosa de tu padre.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. QUÍMICA VERDE Y DESARROLLO SOSTENIBLE	13
1.2. CATÁLISIS	21
1.3. EL AGUA.....	28
1.3.1. Distribución y usos del agua	28
1.3.2. La contaminación del agua.....	32
1.3.3. La problemática de los bromatos en el agua.....	33
1.3.4. Técnicas para la eliminación de bromatos	38
1.3.5. Técnicas catalíticas para la eliminación de bromatos.....	47
1.4. MATERIALES BIOCIDAS.....	62
1.4.1. Aplicaciones de los materiales biocidas.....	65
1.4.2. Plata como sustancia biocida	70
1.4.3. Mecanismos de actuación de la plata frente a microorganismos.....	74
1.4.4. Materiales multifuncionales con plata.....	77
1.4.5. Zeolitas con plata como compuestos y aditivos biocidas	79
2. OBJETIVOS	87
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	91
3.1. MATERIALES.....	93
3.1.1. Gases.....	93
3.1.2. Líquidos	93
3.1.3. Sólidos	94
3.1.4. Material biológico.....	95
3.2. PREPARACIÓN DE LOS MATERIALES.....	97
3.2.1. Síntesis de zeolitas	97
3.2.2. Síntesis de hidrotalcitas.....	107
3.2.3. Modificaciones post-síntesis.....	108
3.2.3.1. Impregnación húmeda (catalizadores Pd/Al ₂ O ₃)	108
3.2.3.2. Impregnación a volumen de poro (catalizadores Pd/ACF)	110
3.2.3.3. Intercambio iónico (zeolitas e hidrotalcitas).....	111
3.3. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....	112
3.3.1. Análisis elemental.....	113
3.3.2. Espectroscopia de emisión atómica	113
3.3.3. Difracción de Rayos X.....	114
3.3.4. Análisis textural. Determinación de superficie específica.....	116
3.3.5. Espectroscopia de reflectancia difusa en la región UV-visible	118
3.3.6. Reducción termoprogramada.....	119
3.3.7. Quimisorción de CO.....	120
3.3.8. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X	121
3.3.9. Espectroscopia de absorción de rayos X.....	121
3.3.10. Microscopia electrónica.....	125

•	Microscopia electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM).....	126
•	Microscopía electrónica de transmisión.....	129
3.4.	ENSAYOS CATALÍTICOS.....	133
3.4.1.	<i>Condiciones de reacción</i>	133
3.4.2.	<i>Sistemas de detección y análisis</i>	135
•	Electrodo selectivo de iones.....	135
•	Cromatografía iónica.....	136
3.5.	ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOCIDA.....	138
3.5.1.	<i>Efecto bactericida. Determinación de la concentración mínima inhibitoria</i>	139
3.5.2.	<i>Efecto fungicida. Parámetros de crecimiento fúngico</i>	142
3.5.3.	<i>Estudios estadísticos</i>	146
3.5.4.	<i>Estudios de lixiviación</i>	146
4.	ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS.....	149
4.1.	Catalizadores basados en Pd/Al ₂ O ₃	151
4.1.1.	<i>Influencia del contenido en Pd</i>	152
4.1.1.1.	Caracterización de los catalizadores.....	153
4.1.1.2.	Actividad catalítica.....	166
4.1.1.3.	Estudios de desactivación.....	174
4.1.2.	<i>Influencia de la sal precursora</i>	177
4.1.2.1.	Caracterización de los catalizadores.....	177
4.1.2.2.	Actividad catalítica.....	195
4.1.2.3.	Estudios de desactivación.....	197
4.1.3.	<i>Catalizadores 1%Pd/Al₂O₃</i>	200
4.1.3.1.	Caracterización de los catalizadores.....	200
4.1.3.2.	Actividad catalítica.....	206
4.1.3.3.	Estudios cinéticos.....	209
4.2.	Catalizadores basados en Pd/ACF.....	213
4.2.1.	<i>Caracterización de los catalizadores Pd/ACF</i>	214
4.2.2.	<i>Actividad catalítica</i>	229
4.2.3.	<i>Estudios de desactivación</i>	235
5.	MATERIALES BIOCIDAS.....	239
5.1.	ESTUDIOS BACTERICIDAS.....	241
5.1.1.	<i>Zeolitas LTA con plata</i>	243
5.1.1.1.	Caracterización.....	244
5.1.1.2.	Actividad bactericida.....	263
5.1.2.	<i>Zeolitas FAU con plata</i>	269
5.1.2.1.	Caracterización.....	270
5.1.2.2.	Actividad bactericida.....	274
5.1.3.	<i>Actividad biocida de zeolitas con diferente estructura</i>	276
5.1.4.	<i>Mecanismo de acción</i>	279
5.1.5.	<i>Incorporación de las zeolitas con plata en materiales poliméricos</i> ...	288
5.2.	ESTUDIOS FUNGICIDAS.....	296
5.2.1.	<i>Estudios in vitro</i>	298

5.2.2.	<i>Estudios in vivo</i>	311
5.2.2.1.	Estudios fungicidas en naranjas	311
5.2.2.2.	Estudios fungicidas en ciruelas.....	341
6.	CONCLUSIONES	349
7.	BIBLIOGRAFÍA	355
	ANEXOS	373

1. INTRODUCCIÓN

“No le evitéis a vuestros hijos las dificultades de la vida, enseñadles más bien a superarlas”
LOUIS PASTEUR

Esta tesis se lleva a cabo dentro del programa de doctorado de Química Sostenible, por ello, en este apartado se realiza un recorrido que va desde una introducción de la Química Verde y de la Catálisis como base de la sostenibilidad, hasta el análisis del estado del arte de los principales temas abordados: la eliminación de un contaminante inorgánico del agua (bromatos) mediante catalizadores basados en metales nobles y el estudio de materiales biocidas con metales nobles y seminobles.

1.1. QUÍMICA VERDE Y DESARROLLO SOSTENIBLE

Según la Real Academia de la Lengua Española, la Química es la ciencia que estudia la estructura, propiedades y transformaciones de los cuerpos a partir de su composición [1]. La Química pues, interviene de modo directo en nuestra calidad de vida, en el desarrollo económico y en el bienestar de la sociedad actual [2, 3]. Por consiguiente, cualquiera de los aspectos que caracterizan la forma de vida actual está relacionado con los conocimientos y avances que la Química proporciona. Por ejemplo, la síntesis de fármacos para combatir enfermedades o la producción de nuevos materiales son impensables sin una previa investigación química.

Estos avances y beneficios promovieron una visión muy positiva de la Química, en la sociedad, hasta la década de los 60. A partir de esta fecha y en un intervalo breve de tiempo, la visión cambió radicalmente. La Química pasó a ser una actividad indeseable debido a los efectos nocivos generados por la industria química tanto para los seres humanos como para el medio ambiente [4, 5]. Esta nueva visión aparece como consecuencia de diferentes catástrofes ambientales producidas por la industria química,

1.- INTRODUCCIÓN

como por ejemplo el escape de metilisocianato de la empresa Union Carbide en la India en 1984, que afectó a más de 600000 personas, provocando la muerte de 22000 de ellas [6]. A esto se une la aparición de nuevos problemas medioambientales asociados al uso de ciertos productos químicos, como son la destrucción de la capa de ozono o la lluvia ácida.

Además, muchos procesos químicos generan muchos kilogramos de residuos por kilogramos de producto deseado (Factor E) [7, 8]. Por ejemplo, la industria farmacéutica genera entre 25 y 100 Kg de productos secundarios e indeseados por cada kilogramo de producto de interés (Tabla 1.1).

Tabla 1.1: Índice de producción de desechos por la industria [9]

SECTOR INDUSTRIAL	TONELAJE DE PRODUCTO	FACTOR E*
Refinación de petróleo	10^6 - 10^8	<0.1
Industria Química	10^4 - 10^8	<1 - 5
Química Fina	10^2 - 10^4	5 - 50
Farmacéutica	10 - 10^8	25 - 100

*Factor E = kg de producto secundario/ kg productos deseado

Paradójicamente, muchos de estos problemas que poseen un origen químico pueden, a su vez, ser corregidos y controlados mediante tratamientos, también, químicos [3]. Persiguiendo esta meta, aparece en la década de los 90 el concepto de “Química Verde” [10], que se puede definir como una Química cuyos productos y procesos buscan alcanzar un equilibrio ambiental, siendo económicamente rentables, energéticamente viables, y social y éticamente aceptables [11].

Sin embargo, el inicio de la Química Verde es mucho más antiguo y se puede situar en 1962 cuando se publicó la “Primavera silenciosa” de Rachel Carson [12], primer estudio científico que mostró los peligros asociados al uso de pesticidas químicos. Esta publicación coincidió con la aparición de

las primeras agencias de protección ambiental, y provocó un importante cambio legislativo. Diez años después, se publicó el “Informe sobre los límites del desarrollo”, creado por el denominado *Club de Roma* formado por científicos, investigadores y políticos de 30 países, cuyo objetivo fue discutir los cambios que se estaban produciendo en nuestro planeta a causa de las actividades humanas. Gracias a estas dos publicaciones y a otros movimientos, la UNESCO incluyó progresivamente la Ecología y la Educación Ambiental en sus programas [13], mientras que la ONU, en 1988, impulsó la firma de la “Declaración Internacional sobre una Producción más Limpia” como una estrategia preventiva basada en conceptos como eco-eficiencia, producción ecológica y prevención de la contaminación [2]. En 1991, aparece por primera vez el término Química Verde, término atribuido a Paul Anastas y John Warner, los cuales en 1998 publican “*Green Chemistry: theory and practice*” [10], un referente de la Química Sostenible donde se recoge un protocolo con 12 principios (Tabla 1.2) que persiguen la prevención de la contaminación, utilizando el avance científico y tecnológico [13].

Tabla 1.2: Los doce principios de la Química Verde [10]

Nº	PRINCIPIOS QUÍMICA VERDE
1	Prevención
2	Economía Atómica
3	Uso de tecnologías más seguras
4	Diseño de productos químicos más seguros
5	Uso de disolventes y productos auxiliares más seguros
6	Eficacia energética
7	Uso de materias primas renovables
8	Reducción de derivados
9	Catálisis
10	Degradación controlada
11	Análisis en tiempo real para la prevención de la contaminación
12	Reducción del potencial de accidentes químicos

1.- INTRODUCCIÓN

Estos principios fueron exportados al campo de la Industria Química, transformándolos en los 12 principios de la Ingeniería Verde (Tabla 1.3):

Tabla 1.3: Los doce principios de la Ingeniería Verde [14]

Nº	PRINCIPIOS INGENIERÍA VERDE
1	Buen diseño para que las entradas y salidas de materia y energía no sean peligrosas
2	Preferible prevenir la contaminación que tratar o limpiar el residuo ya producido
3	Operaciones de separación y purificación diseñadas para minimizar el gasto de energía y materiales
4	El sistema debe ser diseñado para maximizar la eficiencia, reduciendo la toxicidad
5	El uso de la energía y la materia es satisfecho por la demanda final
6	La entropía y complejidad de un sistema deben suponer una inversión
7	Diseñar para la durabilidad, no para la inmortalidad
8	Satisfacer la necesidad, minimizar el exceso
9	Minimizar la diversidad de materiales
10	El diseño de procesos y sistemas debe de incluir la relación de los flujos de materia y energía disponibles
11	La medida de la efectividad de un diseño debe incluir su uso tras la vida comercial
12	El diseño debe de estar basado en entradas renovables y disponibles durante todo el ciclo de vida

En general la Química e Ingeniería Verde se basan en tres conceptos fundamentales [15]:

- *Prevención de la causa del riesgo*: este es el mensaje principal, evitar siempre que sea posible todo tipo de sustancias y/o materiales peligrosos en su misma fuente [14].
- *Metodologías químicas*: la propia Química debe dar solución a la contaminación y a los peligros que tienen su origen en las sustancias y procesos químicos.
- *Acción de acuerdo con un diseño*: se deben conseguir procesos más eficientes, limpios y seguros, con un propósito definido y

una planificación orientada, es decir, se necesita un diseño previo adecuado.

Estos principios o ideas han permitido mejorar procesos industriales y diseñar nuevas metodologías, que minimizan el impacto sobre el medio ambiente [16]. Pero además, el concepto de Química Verde se encuentra íntimamente ligado con el de Desarrollo Sostenible. Este concepto se define como aquel desarrollo capaz de satisfacer las necesidades actuales sin comprometer los recursos y posibilidades de las generaciones futuras. Dicha definición apareció por primera vez en 1987 en el informe “Nuestro Futuro en Común” de la ONU [17]. Este informe, denominado habitualmente “Informe Brundtland”, planteaba un crecimiento económico basado en políticas de sostenibilidad y expansión a partir de recursos ambientales, buscando un equilibrio entre crecimiento económico, equidad social y utilización racional de los recursos naturales [18], es decir entre lo social, lo económico y lo ambiental (Figura 1.1):



Figura 1.1: Los tres pilares fundamentales del Desarrollo Sostenible [13]

En base a ello, la ONU aprobó en 2015 la “Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible” que recoge 17 objetivos [19, 20], que incluyen desde

1.- INTRODUCCIÓN

la eliminación de la pobreza hasta la lucha contra el cambio climático o la defensa del medio ambiente (Figura 1.2).



Figura 1.2: Objetivos de Desarrollo Sostenible para el periodo 2015-2030, ONU

El sector químico es imprescindible para la consecución de muchos de los 17 objetivos de la Agenda para el Desarrollo Sostenible, siendo además un sector fundamental en la economía mundial. Así, según la Federación Empresarial de la Industria Química Española (FEIQUE), la industria química genera el 12,8% del producto industrial bruto español, más de 660000 empleos en más de 3000 empresas y una cifra de negocio conjunta que supera los 63000 millones de euros [21]. Este sector supone el 5,6% del producto interior bruto (PIB) y engloba al 3,5% de la población activa ocupada. Además, la industria química española lidera la inversión y el gasto en I+D+i, así como la contratación de personal investigador (Figura 1.3). Al mismo tiempo, esta industria tiene un alto compromiso con la Química Verde, y la aplicación de sus conceptos y principios ha llevado a conseguir varios éxitos medioambientales, como por ejemplo, una

reducción aproximada de un 37% de las emisiones de gases con efecto invernadero en 15 años (Figura 1.4) o una menor generación de residuos por producto elaborado (Figura 1.5), disminuyendo esto en un 42% en 9 años.

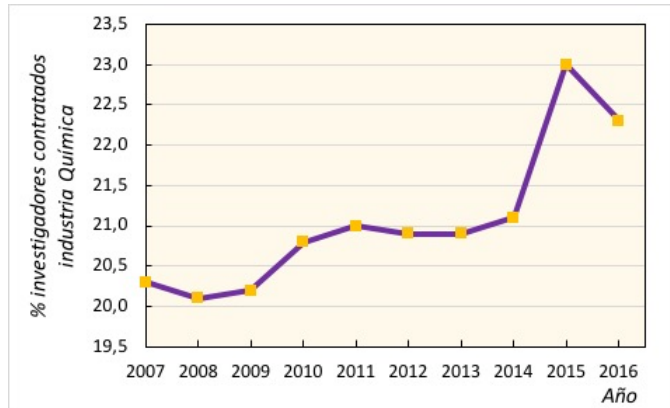


Figura 1.3: Personal investigador contratado por la Industria Química respecto al total industrial [22]

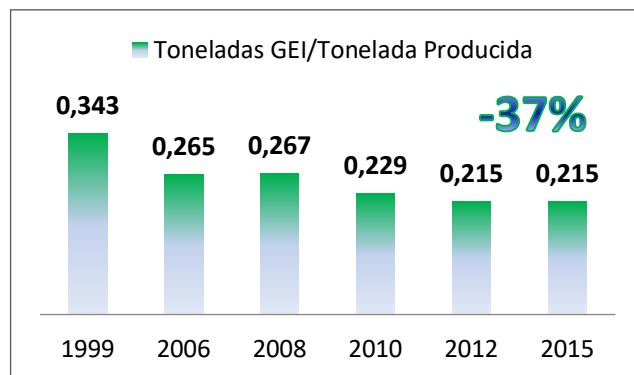


Figura 1.4: Toneladas de gases con efecto invernadero emitidos a la atmósfera por tonelada de producto generado en el sector químico español [23]

1.- INTRODUCCIÓN

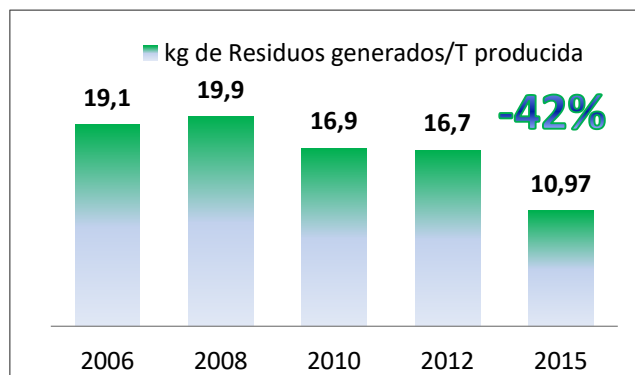


Figura 1.5: Kg de residuos generados por tonelada de producto producido en el sector químico español [23]

Asimismo, la industria química está consiguiendo hacer frente a retos sociales y económicos relacionados con la energía, el cambio climático, el tratamiento de aguas, la alimentación o la salud, empleando cada vez más materias primas renovables y utilizando procesos menos contaminantes y más eficaces. Es por ello que, la Química Verde está siendo y va a ser una de las principales herramientas para conseguir el Desarrollo Sostenible de nuestro planeta. En este entorno se desarrolla la presente tesis, que empleando los principios, conceptos e ideas de la Química Verde, busca obtener resultados que contribuyan al Desarrollo Sostenible y a los objetivos de la Agenda 2030. Así, en la tesis se propone el uso de la catálisis para eliminar problemas medioambientales como es la presencia de contaminantes inorgánicos en agua (objetivo 6 de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible) y el uso de nuevos materiales con propiedades biocidas que permitan alargar la vida de los alimentos frescos y minimicen la transmisión de enfermedades por microorganismos patógenos (objetivos 2 y 3 de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible).

1.2. CATÁLISIS

Como se ha mencionado anteriormente, el noveno principio de la Química Verde apuesta por el uso de la catálisis, la cual está considerada como una de las piedras angulares de la Química Verde [16]. La catálisis es un área de la Química que trata de conseguir que un proceso o reacción se lleve a cabo con el mayor grado de conversión posible, con la mayor selectividad al producto de interés y en el menor tiempo posible, empleándose para ello un catalizador que no se consume ni se modifica en el transcurso de la reacción. Se puede decir que la catálisis es un proceso cíclico donde los reactivos interaccionan con el catalizador, lo que provoca una disminución de la energía de activación y permite que la reacción transcurra más rápidamente (Figura 1.6). Tras la reacción, los productos generados se separan del catalizador, y éste queda listo para un nuevo ciclo catalítico. Según esto, se puede definir la catálisis como un fenómeno molecular, que no afecta a la termodinámica de la reacción, es decir, no modifica la constante de equilibrio, sino que, simplemente facilita la transformación química hacia el producto de interés [24].

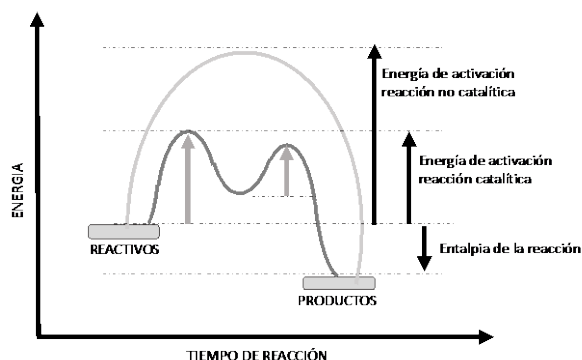


Figura 1.6: Diagrama de energía potencial para una reacción catalítica y una no catalítica

1.- INTRODUCCIÓN

La primera aparición del término Catálisis se remonta a 1836, cuando fue utilizado por Jöns Jacob von Berzelius para describir ciertas reacciones de descomposición. Dicho término proviene del griego “katalyein” que se puede traducir por ablandar o disminuir una fuerza [25]. Sin embargo, no se describió la catálisis tal y como se conoce en la actualidad hasta 1894, cuando el premio Nobel Wilhelm Ostwald la definió como:

“... the acceleration of a chemical reaction, which proceeds slowly, by a foreign substance. ...after the end of the reaction the foreign body can again be separated from the field of the reaction ... ”[26].

Numerosos procesos naturales ocurren mediante procesos catalíticos, asimismo, en nuestro cuerpo existen ciertos compuestos denominados enzimas que son biocatalizadores ya que incrementan la velocidad de las reacciones químicas del organismo. Estos compuestos son polipéptidos de elevado peso molecular que permiten que las reacciones químicas se produzcan de forma selectiva y eficaz. Así, procesos como el movimiento muscular o la digestión se encuentran regulados por procesos enzimáticos, es decir, catalíticos [18]. Además, la catálisis es esencial para la industria química debido a que favorece las reacciones a través de una acción directa y selectiva, consiguiendo mejores rendimientos a los productos de interés, disminuyendo el coste energético, minimizando los costes económicos y reduciendo el impacto medioambiental [18].

Aunque cada reacción química emplea catalizadores distintos con diferentes características, en general, un buen catalizador debe poseer las siguientes propiedades [27]:

- Actividad: debe aumentar considerablemente la velocidad de la reacción.
- Selectividad: debe dirigir la reacción hacia el producto deseado.

- Durabilidad: debe tener una buena estabilidad, de forma que mantenga sus propiedades catalíticas en el tiempo.

Aproximadamente el 80% de los productos químicos industriales son producidos a través de reacciones catalíticas [24] y los catalizadores se emplean en muchos y diferentes campos como el control de emisiones gaseosas en vehículos móviles, la fabricación de productos farmacéuticos o de química fina o la obtención de combustibles a partir del petróleo. Datos extraídos del informe “*Catalyst Market Analysis and Segment Forecast to 2020*” (*Market Research & Consulting*), muestran que la demanda mundial de catalizadores en 2013 fue de 6259,6 kilotoneladas, lo que conllevó unos ingresos de 20550,4 millones de dólares (Figura 1.7), y cuya distribución mundial por sectores industriales se muestra en la Figura 1.8

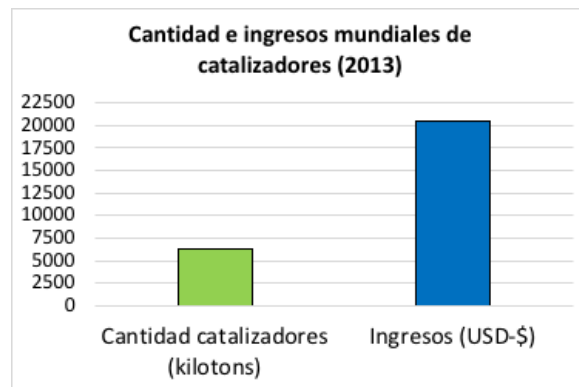


Figura 1.7: Cantidad de catalizadores utilizados por la industria (kilotoneladas) y los ingresos generados por el mercado de catalizadores (USD). Datos 2013 [28]

1.- INTRODUCCIÓN

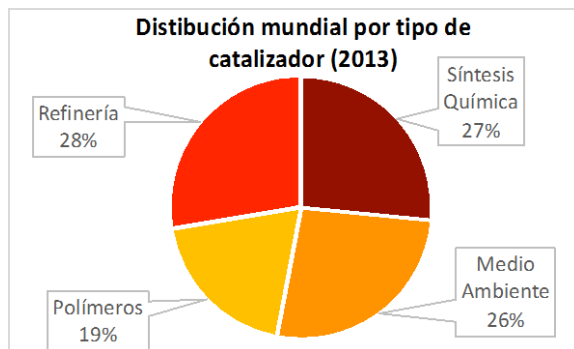


Figura 1.8 Distribución mundial del mercado de catalizadores por sectores. Datos 2013 [28]

Tradicionalmente los procesos catalíticos se han clasificado en homogéneos y heterogéneos. En la catálisis homogénea, tanto los catalizadores como los reactivos se encuentran en la misma fase, mientras que en la catálisis heterogénea, éstos se encuentran en fases distintas.

La catálisis homogénea es muy empleada en síntesis orgánica, permitiendo utilizar condiciones más suaves que las empleadas en reacciones convencionales. Existe un gran número y variedad de catalizadores homogéneos desde sofisticados complejos metálicos hasta simples ácidos inorgánicos, que permiten catalizar procesos muy diversos (Figura 1.9). Sin embargo, todos ellos presentan problemas debido a la dificultad de separación y recuperación de los catalizadores, lo que hace que sean procesos menos sostenibles ya que es necesaria la utilización de más etapas y tratamientos [29].

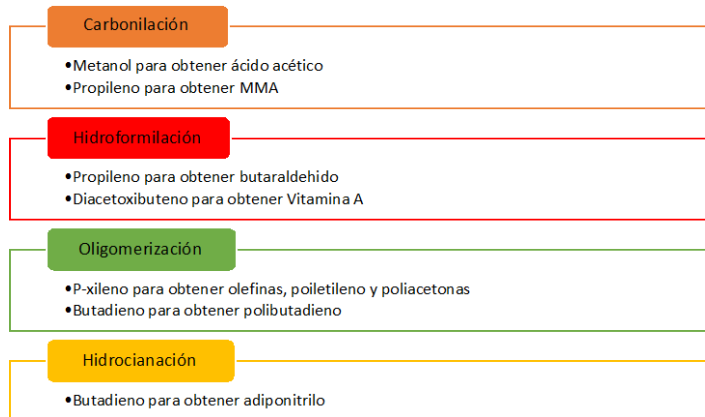


Figura 1.9: Ejemplos de catálisis homogénea utilizados actualmente [30]

Por ello, y debido también a la toxicidad de muchos de los catalizadores homogéneos, en las últimas cuatro décadas se han intentado sustituir alguno de ellos por catalizadores heterogéneos [31]. Un ejemplo de esto es la sustitución de ácidos inorgánicos (corrosivos, muy contaminantes y que requieren métodos de eliminación muy caros) por zeolitas ácidas [18].

Por otro lado, la catálisis heterogénea presenta una gran ventaja desde el punto de vista industrial, ya que facilita la separación y recuperación de los catalizadores, y con ello, la posibilidad de regenerarlos y reutilizarlos. Este tipo de catálisis se emplea aproximadamente en el 80% de los procesos catalíticos industriales actuales [32] y se basa en fenómenos de superficie que transcurren por varias etapas físicas y químicas [33]:

- 1) Difusión externa de reactivos hacia la superficie del catalizador, seguido de una difusión interna hacia los centros activos del catalizador
- 2) Adsorción de los reactivos en los centros activos
- 3) Reacción química catalítica superficial

1.- INTRODUCCIÓN

4) Desorción de los productos desde los centros activos, y difusión hacia el seno de la disolución

Normalmente, los catalizadores heterogéneos están compuestos por tres componentes: la fase o especie activa, el soporte y los promotores o inhibidores. Éstos pueden ser muy diversos y pueden catalizar reacciones de muchos tipos como hidrogenaciones, oxidaciones, isomerizaciones, deshidrataciones, oligomerizaciones, reducciones, etc. Por ello, la catálisis heterogénea es empleada en la fabricación de muchos productos necesarios en el campo de la petroquímica, la química fina, la eliminación de contaminantes o incluso, en la industria alimentaria (Tabla 1.4).

Tabla 1.4: Algunos de los procesos químicos producidos mediante catalizadores heterogéneos

Reactivos	Productos	Catalizador
Crudo del petróleo	Combustibles	Pt/SiO ₂ , Pd/Al ₂ O ₃ ; Metal/zeolita
SO ₂ , O ₂	Ácido Sulfúrico	V ₂ O ₅
N ₂ , H ₂	Amoniaco	Fe
NH ₃ , O ₂	Ácido nítrico	Pt - Rh
CO ₂ , H ₂	Metanol	Cu - ZnO
C ₂ H ₄	Polietileno	Ag
CH ₃ OH, O ₂	Formaldehido	Fe Mo
C ₃ H ₆ , NH ₃ , O ₂	Acrlonitrilo	Bi - Mo
O-xileno, O ₂	Anhídrido ftálico	V ₂ O ₅
n-butano, O ₂	Anhídrido maleico	V ₂ O ₅
Gases de escape de motores en automoción (NO _x , CO, HCs)	Gases depurados, CO ₂ , H ₂ O, N ₂	Pt - Rh - Ag/Al ₂ O ₃

Por último, existe un tercer tipo de catálisis que ha alcanzado una gran importancia en la última década, la biocatálisis. Este tipo de catálisis se basa en replicar o copiar la forma de trabajo de las enzimas de los seres vivos, empleándose para ellos las propias enzimas, proteínas naturales o moléculas sintéticas semejantes a las anteriores [34]. El uso de estos catalizadores posee ciertas ventajas respecto a los catalizadores tradicionales, y es que son mucho más eficaces a menores concentraciones

y mucho más selectivos. Diferentes sectores industriales como el petroquímico, el agrícola, el polimérico o incluso el electrónico los han aplicado, pero es en la industria farmacéutica y la química fina donde más se ha investigado y la que más la ha utilizado, consiguiendo disminuir los factores E de algunos procesos de forma drástica [35]. Algunos de los ejemplos más conocidos del uso de la biocatálisis de manera industrial son la producción de penicilinas semisintéticas o la producción de glucosa mediante la hidrólisis enzimática del almidón (amilasas). Sin embargo, estos biocatalizadores presentan un elevado coste y una limitada estabilidad, lo que hace que no siempre puedan ser empleados [36].

Entre los tres tipos de catálisis, la catálisis heterogénea es la que en la actualidad presenta un mayor interés industrial, debido a ser la más viable en términos de eficacia y respeto por el medio ambiente. Así, según datos extraídos del informe de 2013 “Catalyst Market Analysis and Segment Forecast to 2020” [28], la catálisis heterogénea genera un volumen de ingresos 3,5 veces superior a la catálisis homogénea (Figura 1.10) y es la que presenta una mayor cuota de mercado (Figura 1.11).

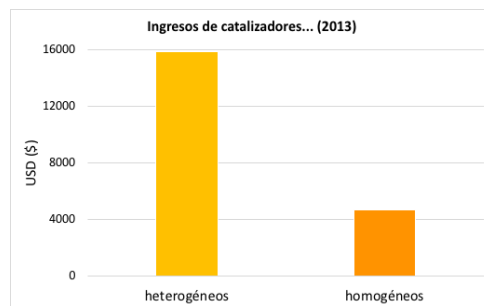


Figura 1.10: Ingresos por catalizadores utilizados por la industria (USD). Datos 2013 [28]

1.- INTRODUCCIÓN

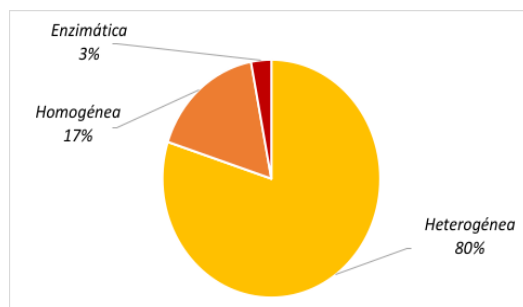


Figura 1.11: Cuota de mercado global de cada tipo de catalizador [33]

En esta tesis se utiliza la catálisis heterogénea para la eliminación de bromatos en agua mediante la reducción catalítica de este contaminante. Pero además, se van a preparar materiales similares a los utilizados en catálisis heterogénea para conferir propiedades biocidas a otros materiales de uso industrial. Por ello, en los siguientes apartados se profundizará en estos temas.

1.3. EL AGUA

El agua es un bien natural estratégico para el hombre, ya que de ella dependen numerosas actividades económicas, sociales y culturales necesarias para el desarrollo de la vida. El agua es el recurso natural más importante, ya que en ella se originó la vida y de ella depende la misma. Desde el inicio de los tiempos, todas las civilizaciones han utilizado el agua como un recurso y han investigado sobre ella. Claro ejemplo de esto es la frase atribuida a Leonardo Da Vinci: *“El agua es la fuerza motriz de toda la naturaleza”*. Sin embargo, este bien no siempre se ha cuidado y compartido de forma adecuada [37].

1.3.1. Distribución y usos del agua

Se calcula que el volumen total de agua en el planeta ronda los 1386 millones de km³. De estos, aproximadamente el 97% se encuentra en los mares y océanos como agua salada y no potable. El otro 3% es agua dulce, del cual, el 2,4% está congelada formando parte de los polos y los glaciares, y el 0,6% restante se puede clasificar como agua dulce disponible [38]. En la Tabla 1.5 se detallan las diferentes localizaciones del agua dulce disponible [39, 40].

Tabla 1.5: Disposición del agua dulce [40]

SITUACIÓN DEL AGUA DULCE	VOLUMEN km³
Casquetes y glaciares polares	24064000
Acuíferos subterráneos	10000000
Lagos naturales	91000
Depósitos artificiales / pantanos	5000
Ríos	2120

Esta distribución se mantiene constante gracias al ciclo hidrológico del agua, que es un modelo conceptual que describe el almacenamiento y movimiento de agua en la Tierra. El agua se mueve de unos depósitos a otros debido a diferentes procesos como: evaporación, condensación, precipitación, sedimentación, escorrentía, infiltración, sublimación, transpiración, fusión y flujos de agua subterránea (Figura 1.12). Dos motores primordiales llevan a cabo estos procesos: la energía solar y la gravedad [41]. Por tanto, se puede decir que la naturaleza ha creado una máquina insuperable, regulando y gestionando las necesidades hídricas. Sin embargo, la aparición del hombre ha alterado el ciclo hidrológico, disminuyendo la calidad del agua y alterando la distribución de la misma.

1.- INTRODUCCIÓN

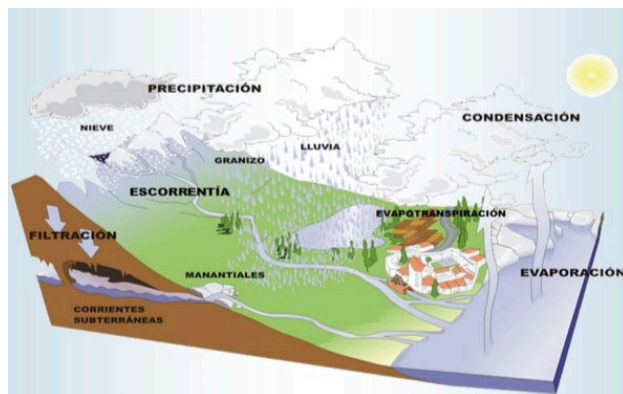


Figura 1.12: Ciclo hidrológico del agua [41]

Se estima que menos de diez países poseen más del 60% de los suministros de agua dulce en el mundo: Brasil, Rusia, China, Canadá, Indonesia, Estados Unidos, India, Colombia, y la República Democrática del Congo. Esta desigual distribución es fuente de numerosos conflictos en el mundo relacionados con la posesión o el acceso al agua potable. Por otro lado, se calcula que anualmente se extraen 4600 km³ de agua dulce [42], lo que está muy cerca de los niveles máximos sostenibles de extracción en nuestro planeta. Este valor es seis veces mayor al de hace 100 años y sigue creciendo de manera constante. Todo ese volumen de agua dulce se utiliza en tres grandes sectores: agricultura, industria y uso doméstico, y la distribución entre estos sectores varía dependiendo del nivel económico y de desarrollo de cada país. Como se puede observar en la Figura 1.13, a nivel mundial el mayor gasto de agua es para la agricultura, aunque este porcentaje varía mucho dependiendo del clima de cada país. En segundo lugar, se encuentra la industria y finalmente, el uso doméstico o urbano, comprendiendo actividades tan diversas como higiene personal, alimentación o tareas de limpieza.

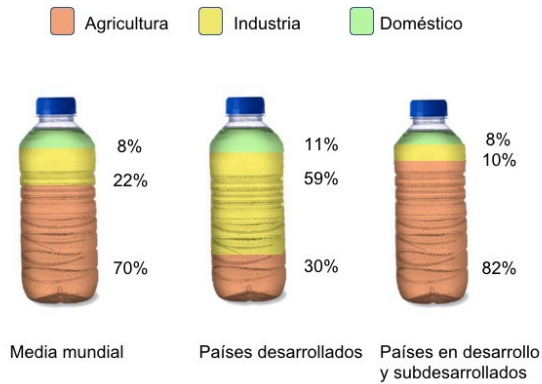


Figura 1.13: Usos del agua por sectores [40]

En España, desde 1988 a 2012 se ha mantenido el consumo total de agua en un valor próximo a 35 km³ anuales, con la distribución indicada en la Figura 1.14.

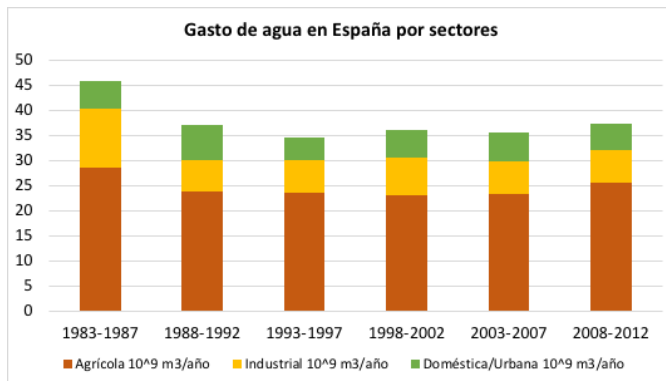


Figura 1.14: Gasto de agua por sectores entre 1983 y 2012 en España [42]

No obstante, no solamente importa la disponibilidad del agua, otro gran problema es la calidad de la misma. Se estima que el 80% del total de las aguas residuales se liberan en el medio ambiente sin ser tratadas previamente, lo que supone que 2 millones de toneladas de aguas residuales y otros vertidos van a parar diariamente al medio [43]. Además, se calcula que 663 millones de personas en el mundo carecen de acceso a

1.- INTRODUCCIÓN

fuentes de agua mejoradas (datos 2017) y que 1,8 millones de personas mueren cada año en el mundo por enfermedades que son adquiridas a través de aguas en mal estado [44]. Todo ello, pese a que la ONU establece el acceso al agua de calidad como un derecho universal. Por ello, la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible del planeta incluyó como sexto objetivo, el garantizar la disponibilidad de agua de calidad, su gestión sostenible y el saneamiento para todos los habitantes del planeta (Figura 1.2) [44].

Por ello, se puede afirmar que, aunque actualmente nuestro planeta dispone de la cantidad de agua suficiente para las actividades humanas, es necesario buscar un uso más responsable y sostenible de los recursos hídricos, que aumente la calidad del agua, y que permita su reutilización tras su depuración.

1.3.2. La contaminación del agua

Como se ha comentado anteriormente, hacer frente al desafío mundial de la calidad del agua es un requisito imprescindible para la sostenibilidad del planeta.

En general, la contaminación del agua se puede definir como un cambio en la calidad de la misma, que hace que no sea adecuada para un determinado uso o que genera un efecto perjudicial sobre los organismos vivos. Los contaminantes del agua se suelen clasificar según su naturaleza en contaminantes físicos, biológicos o químicos, o según su procedencia en agrícolas, industriales o urbanos. Estos contaminantes son sustancias muy diversas entre las que se encuentran compuestos orgánicos biodegradables, nitratos y fosfatos, metales pesados, organismos patógenos, sedimentos, etc, a los que recientemente se ha unido un amplio

abanico de sustancias nuevas conocidas como contaminantes emergentes, que van desde los antibióticos y hormonas, a los percloratos y bromatos [45]. Todas ellas suponen un riesgo muy importante para el Medio Ambiente y su eliminación es un desafío necesario para el mantenimiento de la calidad del agua [43].

De forma global, se estima que se ha producido una reducción de un tercio de la biodiversidad mundial como consecuencia de la degradación de los ecosistemas de agua dulce, ocasionada principalmente por la contaminación de los recursos hídricos y los ecosistemas acuáticos [46]. Por todo ello, es necesario continuar investigando para mejorar los tratamientos y la gestión de las aguas contaminadas, buscando soluciones que sean social, económica y medioambientalmente viables, y que permitan considerar a las aguas residuales como un recurso y no como un desecho.

1.3.3. La problemática de los bromatos en el agua

En esta tesis se tratará sobre el control de uno de los contaminantes emergentes del agua, específicamente de los bromatos.

Los bromatos son oxoaniones del grupo de los oxihaluros, compuesto por tres átomos de oxígeno y un átomo de bromo en estado de oxidación V, con muy baja volatilidad, elevada solubilidad y estabilidad en agua y de difícil eliminación mediante métodos convencionales [47]. Los bromatos son contaminantes inorgánicos que suelen aparecer en el agua durante los procesos de desinfección, al oxidarse los bromuros, que de forma natural están en el agua.

1.- INTRODUCCIÓN

La desinfección de las aguas es necesaria para obtener agua potable de calidad [45], siendo la cloración el método más ampliamente utilizado desde principios del siglo XX. Sin embargo, en 1974 diferentes investigaciones descubrieron que este tratamiento también podía generar trihalometanos, por la reacción de bromuros o cloruros con la materia orgánica del agua, aparte de conferir sabor y olor al agua [48]. Por ello, se han desarrollado otros métodos alternativos para el tratamiento de aguas [49]. Entre estos procesos se encuentra los procesos de oxidación avanzada (AOP), que utilizan los radicales hidroxilos (OH⁻) como agentes oxidantes para eliminar contaminantes orgánicos del agua, como la ozonización, los tratamientos con radiación ultravioleta (UV), los tratamientos con peróxido de hidrógeno o combinaciones de los anteriores [50]. Estos métodos consiguen combatir un amplio rango de microorganismos patógenos y también, degradar contaminantes persistentes a moléculas más fácilmente biodegradables.

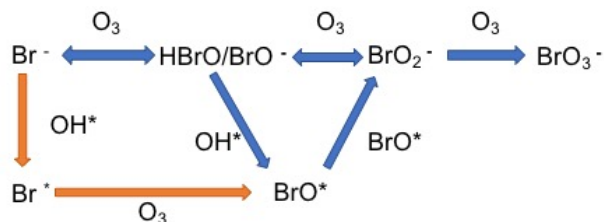
La ozonización es uno de los métodos más eficientes y se utiliza tanto en tratamientos de potabilización como en tratamientos para la depuración de aguas residuales [50, 51]. Este proceso elimina color, olor y sabor de las aguas, así como sustancias contaminantes como fármacos o pesticidas [52] y además, consigue destruir bacterias y virus [53, 54]. Este proceso es hasta tres veces más eficaz que la cloración y es económicamente viable. Sin embargo, presenta ciertas desventajas pues el ozono ha de ser producido *in situ* debido a que no puede ser transportado, además precisa de altas medidas de seguridad debido a que el ozono es un compuesto altamente tóxico. Finalmente, su gran poder oxidante provoca que se formen subproductos no deseados, como son los bromatos, al oxidarse los bromuros que de forma natural se encuentran en el agua. Existen diversos informes e investigaciones en experimentación con animales que aseguran

que los bromatos son cancerígenos [55-60]. Por ello, la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer clasificó, en 1986, a los bromatos en el grupo de sustancias 2B, es decir, sustancias posiblemente cancerígenas para humanos [61]. Todo ello, junto a los efectos mutagénicos *in vivo* e *in vitro* de los bromatos, provocó que en la directiva de la Unión Europea 98/83/EC adoptada en noviembre de 1998, se limitara la concentración de bromatos en agua potable a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ para 2003, y a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ para 2008, permaneciendo este límite en la actualidad [62].

El mecanismo principal de formación de los bromatos durante la ozonización consta de cuatro etapas básicas (Figura 1.15 - camino azul):

- 1) Oxidación inicial del bromuro (Br^-) que de forma natural se encuentra en el agua, a hipobromito (BrO^-) con O_3 .
- 2) Oxidación del hipobromito con radicales hidroxilos (OH^*), generando el radical hipobromito (BrO^*), o una segunda oxidación con O_3 de BrO^- a BrO_2^- .
- 3) Desproporción de dos radicales hipobromitos produciendo el anión bromito (BrO_2^-)
- 4) Oxidación del anión bromito (BrO_2^-) hasta el anión bromato (BrO_3^-)

Pero además, puede tener lugar un segundo mecanismo a través de reacciones radicalarias (Figura 1.15- camino naranja).



1.- INTRODUCCIÓN

Figura 1.15: Reacciones de formación de bromatos en la ozonización de aguas que contienen bromuros [50, 63]

Aunque la ozonización es el principal proceso responsable de la aparición de bromatos en agua, no es el único. Durante la desinfección de aguas empleando soluciones muy concentradas de hipoclorito, también pueden aparecer bromatos. El hipoclorito sódico como agente oxidante se genera a partir de la electrólisis de salmueras que contienen también iones bromuro, y estos se oxidan produciendo bromatos, que terminan disueltos en las aguas desinfectadas [55]. Hutchinson et al. describieron concentraciones de bromato en disoluciones comerciales de hipoclorito sódico que variaban entre 50 y 1150 mg L⁻¹ [64].

Existen también otras fuentes de contaminación de las aguas por bromatos. Así, en mayo del 2000, una empresa de tratamiento de aguas descubrió que dos de las fuentes de extracción de agua (Hatfield y Essendon) del acuífero de Chalk, uno de los más importante del Reino Unido, estaban contaminadas por bromatos. La investigación detectó altos valores de bromatos y bromuros en distintos pozos de la zona, determinándose como origen una antigua fábrica de productos químicos que había sido reconvertida en una zona residencial. El gobierno inglés rápidamente paralizó las extracciones de estas fuentes y se vio obligado a cerrar diferentes pozos de la zona contaminada. En 2004, las diferentes compañías y organismos oficiales responsables decidieron tratar este foco de contaminación empleando cloruro ferroso para intentar reducir el bromato a bromuro. Esta corriente fue posteriormente descargada a una cloaca troncal, para la dilución del cloruro y del bromuro. La corriente de desechos fue posteriormente sometida a un tratamiento normal en las plantas de tratamiento de aguas residuales, antes de regresar a uno de los ríos de la zona (Colne) [65]. Sin embargo, años después, la contaminación

continuaba avanzando tal y como se observa en la Figura 1.16, este agua tuvo que seguir tratándose.

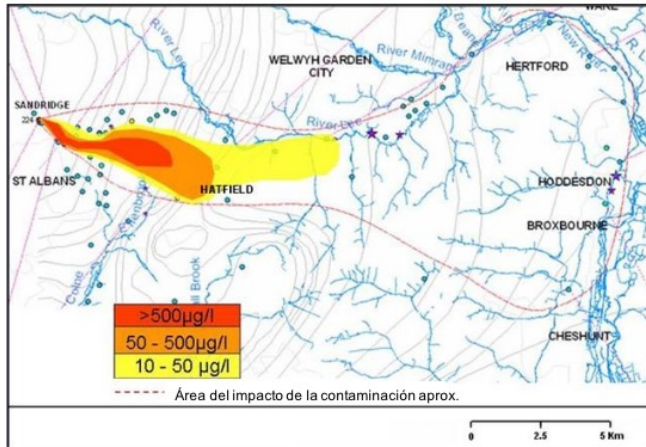


Figura 1.16: Mapa del área contaminada en 2006 del acuífero Chalk [65]

Por otro lado, Xie y Shang [57] realizaron una recopilación de los datos de concentración de bromatos en aguas de diferentes países, tratadas mediante distintos métodos de desinfección (Tabla 1.6). La concentración variaba de 0 a $127 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ lo que, claramente indica que algunas de estas aguas se encontraban por encima de lo establecido por la legislación y debían de ser tratadas.

Tabla 1.6: Concentración de bromatos en diferentes tipos de agua en distintos países [57]

País	Tipo agua	Desinfección	Intervalo BrO_3^- ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
EE.UU.	Potable	O_3	0 - 60
EE.UU.	Potable	O_3	0,3 - 40
Japón	Potable	O_3	30 - 127
Canadá	Potable	O_3	0,73 - 8
Canadá	Embotellada	Sin O_3	0,2 - 12,9
Canadá	Embotellada	O_3	4,28 - 37,2
Reino Unido	Potable	O_3	10 - 20
Reino Unido	Potable	NaOCl	3 - 28
Alemania	Potable	O_3	15 - 25

1.- INTRODUCCIÓN

El Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad de España ha analizado el contenido en bromatos de 2187 muestras de agua potable en España recogidas en plantas potabilizadoras, depósitos, acuíferos, etc. Los resultados (Figura 1.17) muestran que el 93,3% de los muestreos ofrecieron concentraciones de bromatos menores a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ y solamente el 0,2% de las medidas ofrecieron resultados por encima del límite legal ($10 \mu\text{g L}^{-1}$). Además, en la propia Figura 1.17 también se puede observar la evolución de la concentración media de bromatos en aguas potables en España, observándose que, de momento, dicha concentración se mantiene por debajo de los límites legales establecidos por el Real Decreto 140/2003.

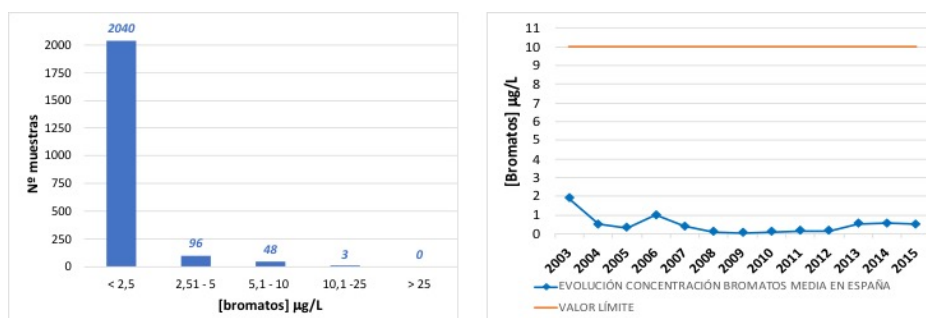


Figura 1.17: Muestreo de bromatos en aguas potables en España (izquierda) y concentración media de bromatos en España de 2003 a 2015 (derecha). FUENTE: Ministerio de Sanidad

1.3.4. Técnicas para la eliminación de bromatos

Los datos mostrados anteriormente indican que la contaminación de las aguas por bromatos empieza a perfilarse como un problema medioambiental y para la salud humana, especialmente si se tiene en cuenta que las técnicas de potabilización de aguas pueden causar un aumento considerable de la concentración de estos iones en aguas destinadas a consumo humano.

La formación de bromatos por la oxidación de bromuros durante el proceso de ozonización ha sido estudiada por diversos autores [66, 67], observándose que algunas condiciones de operación como la dosis de ozono, la concentración de bromuros y la temperatura, influyen en la formación de bromatos. En base a ello, se han propuesto diversas estrategias para minimizar la formación de bromatos [63], entre ellas cabe resaltar:

a) La disminución del pH por debajo de 6, consiguiendo aumentar la concentración de ácido hipobromoso, lo que limita ampliamente la formación de bromatos [66, 68, 69].

b) La adición de peróxido de hidrógeno, consiguiendo aumentar la descomposición de O_3 , lo que en principio limita la formación del ion bromato [50]. Sin embargo, esto no está muy claro y existen otros estudios que afirman lo contrario [68].

c) La adición de NH_4^+ , que disminuye la formación de bromatos debido a su reacción con el ion hipobromito formando NH_2Br , tras la primera oxidación del bromuro [67, 70]. Con este tratamiento se consiguen reducciones del 50% de la concentración de bromatos, aunque siempre en estudios en los que se trata agua con concentraciones inferiores a $200 \mu g \cdot L^{-1}$ de bromato [71].

Sin embargo, estas técnicas de prevención no son lo suficientemente eficaces y poseen un gran número de limitaciones, por lo que es preciso la búsqueda de otro tipo de métodos para la eliminación de los bromatos, una vez se han formado.

Se han estudiado diferentes técnicas de eliminación, entre ellas se encuentran:

1.- INTRODUCCIÓN

- *Filtración y/o adsorción*

La filtración es la técnica más común de eliminación de contaminantes en agua y se ha empleado para separar y eliminar muchos tipos de sustancias en diversos escenarios. En el caso de los bromatos, se han empleado membranas de nanofiltración (con apertura de poro de 10 a 100 Å) o de ósmosis inversa [70, 72] obteniéndose eficacias entre el 70-100 % trabajando en planta piloto. Sin embargo, estas técnicas provocan la desionización completa del agua, por lo que se requiere de un tratamiento extra que vuelva a preparar el agua para el consumo.

Otros estudios propusieron el uso de nanotubos de carbono funcionalizados y nanotubos de carbono impregnados con Fe que eran capaces de adsorber los aniones en superficie, ofreciendo buenos resultados en la eliminación de bromatos ($0,3460 \text{ mg BrO}_3^- \cdot \text{g cat}^{-1}$) [73]. Otros investigadores como Yang et al. emplearon hidrotalcitas Mg/Al como material adsorbente, aunque con no tan buenos resultados [74].

Estos métodos de eliminación física aunque son eficaces, producen un desecho que ha de ser tratado, lo que conlleva, en general, un aumento en los costes y hace que estos procesos sean menos sostenibles.

- *Intercambio iónico*

Diferentes procesos de intercambio iónico empleando membranas han sido usados para la eliminación de bromatos y otros contaminantes del agua. Wisniewsky et al. obtuvo rendimientos del 96 % en la eliminación de bromatos en agua utilizando membranas AMX/CMX y electrodiálisis. Además, empleando otro proceso de diálisis denominado diálisis Donnan, que intercambia los aniones por iones cloruros, se obtuvieron rendimientos de eliminación de bromatos entre un 93 y un 97% [75].

Otros estudios emplearon hidróxido de hierro granular (GFH) conteniendo cloruros en su estructura, consiguiendo un intercambio de 16,5 mg de $\text{BrO}_3^- \cdot \text{g cat}^{-1}$, mostrando una elevada selectividad hacia este oxoanión [76].

Sin embargo, a pesar de las elevadas eficacias, estas técnicas precisan de sistemas complejos y de elevado coste, y como en el caso anterior, se genera un producto secundario que ha de ser tratado, encareciendo el método y haciéndolo menos sostenible.

- *Radiación UV*

Siddiqui et al. emplearon lámparas de mercurio de baja presión con longitudes de onda entre 180 y 254 nm para tratar aguas con concentraciones de bromatos entre 50 y 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, obteniendo rendimientos entre 3 y 38 % en la conversión de bromatos a bromuros. Además, modificando variables como el tipo de lámpara o el tiempo de contacto, se mejoraron los rendimientos con eficacias entre 50-100 % a escala laboratorio y casi del 50 % a escala industrial [77]. No obstante, la mayor desventaja de esta técnica es que requiere de tiempos demasiados largos, así como de equipos muy costosos.

Otra alternativa propone la generación de una descarga eléctrica que se hace pasar a través de la corriente de agua contaminada, lo que produce un plasma de muy alta temperatura que provoca ráfagas de radiación UV [78]. Esta radiación reduce los bromatos hasta bromuros, a través de la formación de radicales y átomos de hidrógeno. Este método de eliminación de bromatos consigue eficacias máximas del 45% en pruebas de laboratorio. Aunque esta técnica es más barata que la anterior, su eficacia es inferior y precisa de elevados aportes energéticos.

1.- INTRODUCCIÓN

- *Haz de electrones de alta energía*

Esta técnica genera una radiación ionizante que produce especies reductoras como radicales, átomos de hidrógeno y electrones disueltos en el agua, que consiguen reducir los bromatos a bromuros, eliminando este contaminante con rendimientos cercanos al 100 % en el laboratorio y cercano al 40 % en planta piloto [79]. Aunque esta técnica posee una amplia eficacia, su alto coste y la necesidad de mayores dosis del haz de electrones, cuando el agua contiene otros contaminantes como los nitratos, hacen de esta técnica un método económicamente inviable.

- *Coagulación*

La coagulación es un proceso de desestabilización química que neutraliza las fuerzas que mantiene separadas a las partículas. Los coagulantes más comúnmente utilizados en las plantas de tratamientos de agua son el cloruro de aluminio (Al^{3+}) y el cloruro de hierro III (Fe^{3+}). Estos coagulantes han sido evaluados para la eliminación de bromatos, con eficacias de 5 y 20 % respectivamente [56]. La aplicación de este método, aunque interesante, presenta una baja eficacia en la eliminación de bromatos.

- *Reducción química*

La utilización de sustancias con poder reductor para convertir los bromatos en bromuros y así eliminar el anión del agua, es otra de las opciones más empleada. Compuestos como el tiosulfato, el óxido de azufre o el sulfito han sido estudiados, y entre ellos, el sulfito ha obtenido los mejores resultados llegando a eficacias máximas del 63 % [72]. También se ha estudiado el uso de MOFs como soporte para grupos tioles que actúan

como agentes reductores eliminando bromatos y generando bromuros [80].

Sin embargo, es el uso de hierro II (Fe^{2+}) como agente reductor el que mejores resultados ha ofrecido. El catión Fe^{2+} reduce los bromatos a bromuros oxidándose el mismo a Fe^{3+} , dicha reducción alcanza el equilibrio en 15 minutos [56] con rendimientos de eliminación de bromatos del 100 % a escala laboratorio [81] y menores al 70 % a escala planta piloto, dependiendo de la concentración de Fe^{2+} y del tiempo de contacto [82].

A pesar de la gran efectividad de esta técnica, la incorporación del hierro obliga a un post-tratamiento de las aguas para la eliminación del Fe^{3+} formado y por tanto, un encarecimiento en los costes.

También se ha estudiado el uso de hierro metálico (Fe^0), como agente reductor para convertir los bromatos en bromuros. Este método ha sido estudiado para eliminar nitratos, cloratos y bromatos empleándose diversas fuentes de hierro [83]. Los resultados para la eliminación de bromatos fueron los mejores, llegando aproximadamente a un 90 % de efectividad en la eliminación de este contaminante a escala laboratorio [84]. Debido a los buenos resultados obtenidos, esta técnica ha sido estudiada con diferentes modificaciones como por ejemplo la funcionalización de fibras de polipropileno con partículas de $\text{Fe}(0)$ y ácido acrílico, que ofreció conversiones completas en experimentos tipo batch en laboratorio en tiempos inferiores a 40 minutos [85]. También se ha estudiado el uso de otros metales como el zinc cero-valente o el aluminio con valencia cero, que posee un poder reductor mayor. Además, se han llevado a cabo experimentos con diversas fuentes de Al como por ejemplo, latas de refrescos [86]. Los resultados ofrecen eficacias superiores al 75% en menos de dos horas, utilizando ácido oxálico para evitar la formación de

1.- INTRODUCCIÓN

los óxidos e hidróxidos de Al. También se ha estudiado la reutilización de estos materiales reactivando la superficie del aluminio cero-valente con diferentes ácidos fuertes que restituyen los centros activos [87].

Aunque los resultados son muy prometedores, los materiales usados se deben reactivar tras cada proceso, lo que supone un gasto elevado, además de la necesidad de post-tratamiento de las aguas tratadas.

- *Técnicas biológicas*

Este tipo de técnicas no han sido muy estudiadas hasta la fecha, aunque existen ciertas investigaciones como la realizada por Hijnen et al. que demuestran que los aniones bromatos pueden ser eliminados mediante bacterias desnitrificantes con eficacias elevadas, pero empleando tiempos muy largos [88]. Asimismo, Ginkel et al. emplearon una mezcla de microorganismos que pueden servirse de bromatos como aceptores de electrones para el crecimiento anaeróbico, de forma que estos aniones son transformados y eliminados [89].

Una segunda opción biológica es el uso de biorreactores de membrana que combinan la tecnología de membranas con los reactores biológicos y que han sido ampliamente utilizados en los últimos 30 años [90]. El desarrollo de reactores de biofilms de membranas de fibra hueca han permitido la eliminación casi completa de bromatos en agua, utilizando tiempos largos de reacción en condiciones de planta piloto. Esta técnica se encuentra todavía en proceso de desarrollo y posee un coste moderado.

Otra posibilidad es el empleo de biorreactores de membrana de intercambio iónico. Este método se basa en permitir el transporte de bromatos a través de una membrana de intercambio aniónico hasta un biofilm compuesto por un cultivo microbiano anóxico, que reduce los

bromatos a bromuros. Este método es eficaz pero precisa de largos tiempos de contacto y solo es efectivo tras la completa reducción de los posibles nitratos presentes en el agua, es decir, no es selectivo [91].

- *Técnicas basadas en carbón activo*

En este caso el carbón activo no solamente actúa como adsorbente, sino que se produce una reducción de los bromatos a bromuros en su superficie [75]. De manera general, la eficacia de adsorción de bromatos empleándose carbón activo ronda el 65 %, pero ésta disminuye con el tiempo [92] y su eficacia se ve severamente reducida cuando se emplea en aguas naturales que contienen materia orgánica, la cual compite por los centros activos del carbón activo [69, 70]. Los estudios mecanísticos indican que los bromatos se acoplan a ligandos puente de la superficie del carbón activo y se reducen gracias a electrones cedidos desde el propio carbón [56]. Por ello, la eficacia de la eliminación depende de las propiedades del carbón activo utilizado. Estudios empleando carbón activo en grano (GAC) mostraron que es posible la eliminación de bajas concentraciones de bromatos [93], mientras que otros estudios estudiaron la influencia del tipo de GAC utilizado (entre otras variables) empleándolo en procesos en continuo [94]. En todos los casos, el empleo de GAC permite la eliminación de bromatos por periodos de tiempo limitados en reactores de lecho fijo, viéndose afectada la eficacia por factores como la temperatura, el pH, el flujo utilizado, la concentración inicial de bromatos o la presencia de otros aniones [95]. Por otro lado, el uso de carbón activo en polvo (PAC) en condiciones de reactor tipo *batch* fue menos eficaz, [96]. En todos estos estudios se evidenció la influencia negativa de la presencia de otros aniones, restando eficacia al proceso de eliminación de bromatos.

1.- INTRODUCCIÓN

Farooq et al. emplearon PAC cuya superficie estaba funcionalizada con surfactantes catiónicos, es decir, carbón activo funcionalizado (FAC), observando diferentes velocidades de eliminación de bromatos según los grupos funcionales incorporados [97]. Otros autores emplearon carbón activo al que se le añadió akaganéita (β -FeOOH), lo que mejoró la eficacia de la eliminación de bromatos respecto al mismo material sin funcionalizar, ya que el hierro consigue reducir los bromatos debido a la transferencia de electrones desde la superficie del carbón activo [98].

Por último, se ha propuesto también el uso de carbón activado biológicamente (BAC). Esto se consigue a través del contacto con aguas naturales, al colonizarse la superficie del carbón activo por microorganismos. Los microorganismos provocan una posterior reducción biológica de los contaminantes, obteniendo resultados cercanos al 86 % de eficacia en la eliminación de bromatos [99]. Otros estudios empleando filtros de BAC ofrecieron resultados de eliminación de bromatos entre el 37 y el 41 % durante un año de empleo continuado [100].

Este tipo de técnicas, aunque efectivas y económicas, requieren de grandes superficies para ser efectivas, además de que generan subproductos que han de ser tratados.

- *Técnicas electroquímicas*

El uso de celdas electroquímicas también ha sido estudiado para la eliminación de bromatos en agua. Entre otros cabe destacar el estudio de Zhao et al. donde se lograron conversiones del 90 % en dos horas, en aguas artificiales con bajo contenido en bromatos, empleándose para ello una celda de dos compartimentos electrolíticos separados por una membrana

de intercambio catiónico junto con dos electrodos: un cátodo de diamante dopado con boro y un ánodo de platino [101].

Sin embargo, aunque los resultados son satisfactorios, el elevado tiempo necesario, junto con la necesidad de aportar cierta energía para que la reacción electroquímica tenga lugar, hacen de esta técnica un método poco atractivo.

- *Técnicas catalíticas*

Se basan en el uso de un catalizador para conseguir reducir los bromatos a bromuros con elevada eficacia, alta selectividad y en el menor tiempo posible. Como esta es la técnica que se propone en esta tesis, se desarrollará más ampliamente en el siguiente apartado.

1.3.5. Técnicas catalíticas para la eliminación de bromatos

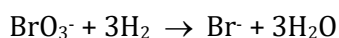
La opción catalítica para la eliminación de contaminantes en agua parece, *a priori*, una de las opciones más adecuadas desde el punto de vista medioambiental, ya que permitiría obtener altos rendimientos con reacciones rápidas en las que no se formarían productos secundarios que precisen de tratamientos.

En el caso de los bromatos, se ha descrito el uso de radiación UV, empleando óxido de titanio como catalizador para la reducción de bromatos a bromuros [102]. Los estudios a escala laboratorio ofrecieron resultados prometedores obteniendo eficacias en la eliminación de bromatos que variaban entre un 50-100%, dependiendo del tipo de agua utilizada. Otros sistemas fotocatalíticos donde se utiliza luz UV junto con

1.- INTRODUCCIÓN

catalizadores de Pt sobre TiO_2 , ofrecieron eficacias cercanas al 100% en la eliminación de bromatos [103]. Otros autores han empleado luz visible junto con catalizadores basados en óxidos de grafeno funcionalizados con plata obteniendo eficacias del 99% en una hora, pero tratando aguas con concentraciones muy bajas de bromatos [104]. También se han empleado fotocatalizadores homogéneos añadiendo distintas dosis del anión sulfito junto con luz UV, para reducir los bromatos a bromuros obteniendo eficacias cercanas al 90% según la dosis de sulfito utilizada [105]. Sin embargo, los tiempos de reacción en todos estos ejemplos son demasiado largos para su implementación en tratamientos reales.

Otra de las técnicas catalíticas más prometedoras, propone el uso de agentes reductores como hidrógeno, alcoholes [106] o borohidruro de sodio [107, 108], para la reducción de bromatos a bromuros. Entre todos ellos, el más adecuado sería el hidrógeno [109-112] debido a que su empleo no conlleva modificaciones en las condiciones de las aguas tratadas y no genera subproductos, produciéndose la reacción química:



Los catalizadores más empleados en esta reacción contienen metales con propiedades hidrogenantes soportados en diferentes materiales, de forma que tanto la naturaleza del metal como las propiedades físicas, químicas y estructurales del soporte influirán en la actividad del catalizador. Así se han estudiado una gran variedad de catalizadores basados en metales nobles (Pd, Pt, Ir, Rh, Ru, ...) soportados en diversos materiales (zeolitas, MCM-41, óxidos inorgánicos, etc) [113].

Entre todos ellos, los catalizadores de Pd son los más utilizados [114-116], debido a la capacidad que tiene este metal para activar la molécula de H_2 . El Pd metálico posee una gran afinidad por adsorber H_2 de forma

disociativa [117], formando especies de hidrógeno adsorbido en la superficie del metal (Figura 1.18), que son las especies activas para la reducción de otras sustancias [118]. Así, existe un elevado número de aplicaciones de catalizadores heterogéneos basados en Pd para diferentes reacciones de hidrogenación, de distintos procesos industriales, que engloba áreas tan diversas como la síntesis orgánica [119, 120], la valorización de biomasa [121, 122], la petroquímica [123, 124] el tratamiento de gases de escape en fuentes móviles [125-128] y la eliminación de contaminantes en agua [116].

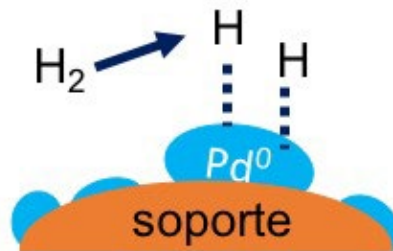


Figura 1.18: Esquema adsorción disociativa de H_2 en catalizadores de Pd soportado [115]

Esta particularidad hace que el Pd sea idóneo para su aplicación en la reacción de reducción catalítica de oxoaniones en agua. Chaplin et al. describen el uso de catalizadores de Pd soportados como una de las estrategias más prometedoras para la eliminación de contaminantes, tanto orgánicos como inorgánicos, en agua (Figura 1.19) [115].

Sin embargo, esta actividad también depende del método de preparación [129]. Así, en los estudios llevados a cabo por Gao et al. se comparó la actividad de distintos catalizadores Pd- Al_2O_3 preparados por impregnación y por deposición mediante spray [130]. Los resultados en un sistema tipo *batch* ofrecían mejores actividades cuando el Pd estaba depositado mediante el método de spray, debido a la mayor dispersión del

1.- INTRODUCCIÓN

Pd, indicando que la dispersión del metal es un factor clave en la actividad del catalizador.

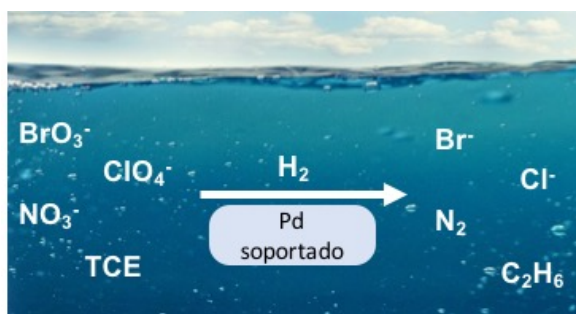


Figura 1.19: Esquema del tratamiento de diferentes contaminantes del agua con catalizadores de Pd y usando hidrógeno como agente reductor [116]

También se ha propuesto el uso de otros metales como especies catalíticamente activas para la reducción de bromatos a bromuros. Así, Chen et al. [109] compararon la actividad de diversos catalizadores basados en nanopartículas de Pd y nanopartículas de Pt soportadas sobre óxido de aluminio, obteniendo muy buenos resultados en ambos casos. Sin embargo, la efectividad de las nanopartículas de Pd fue mayor que la de Pt, lo que podría deberse a la diferente afinidad en la adsorción de hidrógeno por parte de ambos metales. De igual manera, se ha estudiado la actividad de otros metales soportados sobre Al_2O_3 como Rh, Ru, Pt e Ir, siendo los catalizadores basados en Rh los que ofrecieron mejores resultados en la reducción catalítica de bromatos en fase acuosa [116]. Sin embargo, el uso del Rh no se contempla como una alternativa debido a su elevado precio y a las propiedades explosivas que puede presentar. Pereira et al. [131, 132] realizaron diferentes estudios empleando una serie muy amplia de metales (Pd, Pt, Ir, Rh, Ru, Fe, Sn, Cu, Zn y Ni) para sintetizar catalizadores monometálicos y bimetálicos sobre carbón activo en reactores *semi-batch*. Los mejores resultados fueron obtenidos con el catalizador bimetálico

Pd/Cu, que ofreció las mayores velocidades iniciales de reacción, aunque tras esto la reacción se ralentiza y la conversión completa de los bromatos se alcanza al mismo tiempo que cuando se usa un catalizador monometálico de Pd. Análogamente, se ha estudiado el uso de diferentes metales (Pd, Pt, Ru y Rh) en varios soportes como carbón activo, TiO_2 y nanotubos de carbono pero, en un reactor flujo pistón, obteniéndose los mejores resultados al emplearse catalizadores de Pd y Pt sobre TiO_2 [133].

Otro factor importante es el tipo de soporte utilizado, ya que este puede modificar la morfología, distribución y tamaño de las partículas metálicas soportadas, influyendo así en la actividad catalítica [134]. Sun et al. describieron el uso de nanopartículas de Pd dispersadas sobre la superficie de microesferas superparamagnéticas de Fe_3O_4 . Los resultados obtenidos fueron prometedores y además, las propiedades magnéticas de este catalizador posibilitan su fácil recuperación [110]. Por otro lado, Chen et al. compararon los resultados obtenidos empleando nanopartículas de Pd soportadas sobre Al_2O_3 con otros soportes como SiO_2 o carbón activo, siendo más activos los catalizadores soportados en Al_2O_3 , probablemente por sus adecuadas propiedades eléctricas superficiales.

Otros grupos de investigación han centrado sus estudios en el uso de catalizadores soportados en carbón funcionalizado, aprovechando el efecto sinérgico del poder adsorbente del carbón y la actividad reductora del metal. Palomares et al. [111] estudiaron el uso de catalizadores de Pd sobre nanofibras de carbón crecidas sobre fibras sinterizadas de metal, en diferentes tipos de aguas y en varios tipos de sistemas de reacción (discontinuo y continuo), obteniendo buenos resultados. Asimismo, se estudió el empleo de monolitos de fibras de carbón funcionalizadas con grupos amino que servían de soporte a nanopartículas de Pd y Ru. Los resultados obtenidos muestran que la funcionalización de las fibras con

1.- INTRODUCCIÓN

grupos amino mejora notablemente la actividad catalítica, debido a la modificación de las propiedades eléctricas de la superficie del catalizador [135]. Otros estudios fueron llevamos a cabo por el mismo grupo, en los que se mostró que es posible la eliminación conjunta de nitratos y bromatos, con catalizadores bimetálicos Pd/Sn y Pd/Cu sobre soportes monolíticos con fibras de carbón activo [136].

Perez-Coronado et al. [114] prepararon nanopartículas de Pd por microemulsión, que posteriormente soportaron en carbón activo, en nanotubos de carbono y en óxido de titanio. El estudio en reactores tipo *semi-batch*, determinó que las nanopartículas soportadas presentan una mayor actividad que las nanopartículas sin soportar y que el catalizador basado en CNT era el más activo.

Por otro lado, otras líneas de investigación han centrado sus estudios en la utilización de materiales mesoporosos. Algunos ejemplos son el empleo de MCM-41 funcionalizada con grupos amino y con partículas de Pd soportadas mediante distintos métodos (impregnación y deposición-precipitación) [137], el empleo del material mesoporoso SBA-15 con nanopartículas de Pd o Pt soportadas [138, 139], el empleo del mismo material funcionalizado con CeO₂ y nanopartículas de Pd soportadas [140] o el empleo de nitruro de carbono mesoporoso como soporte para nanopartículas de Pd [141], todos ellos con prometedores resultados. Otros investigadores han estudiado el uso de nanopartículas de Pd en materiales con estructura *core-shell*, donde nanopartículas de Pd son soportadas sobre nanoesferas no porosas de sílica y posteriormente, se recubren con sílica mesoporosa generando una corteza porosa que logra impedir la agregación y lixiviación de las nanopartículas de Pd, pero que permite que los reactivos alcancen los centros activos metálicos [142]. Todos estos estudios basados en materiales mesoporosos han obtenido

buenos resultados, aunque muchos de ellos han precisado de la funcionalización de la superficie del soporte. Además, no debemos olvidar que la síntesis de estos materiales mesoporosos poseen un coste elevado, si se compara con los materiales carbonosos o los óxidos inorgánicos descritos anteriormente.

Finalmente, otros autores han considerado el empleo de catalizadores Pd, Cu, Rh, Th o combinaciones duales de estos metales soportados sobre materiales inorgánicos microporosos como las zeolitas. Así, se ha descrito el uso de zeolitas de poro grande, como la faujasita [143], y zeolitas de poro medio, como la ZSM-5 [112], obteniendo mejores resultados con los catalizadores bimetálicos Pd/Cu soportados en zeolita ZSM-5.

Así pues y tal y como se ha descrito, existen muchas y distintas opciones para preparar catalizadores activos en la reacción de reducción de bromatos a bromuros usando hidrógeno como agente reductor. En la Tabla 1.7 se realiza un resumen comparativo de los diferentes tipos de catalizadores descritos en bibliografía para la reacción de estudio, junto con las condiciones de trabajo y las eficacias relativas obtenidas.

1.- INTRODUCCIÓN

Tabla 1.7: Análisis bibliográfico de la reducción catalítica de bromatos en agua empleando H_2 como agente reductor

SopORTE	Metal	% Metal	Incorporación metal	Sistema de reacción	$[BrO_3^-]$ inicial (mmol·L ⁻¹)	Conversión a 5 min (%)	Eficacia a 5 min (mmol BrO_3^- · mol Pd ⁻¹)	Minutos para Conversión total	Conversión en continuo	Bibliografía
TiO ₂	Pd	3,6	microemulsión	SB/D	0,078	96	17,74	10		Perez-Coronado et al. [114]
SBA-15 modificado con CeO ₂	Pd	0,91	adsorción electroestática fuerte	SB/D	0,6	30	760,14	50		Sun et al. [140]
Carbón activo	Pd	5	Comercial	SB/D	1	15	3,19	60 (90%)		Chen et al. [116]
	Rh	5	Comercial	SB/D	1	100	21,28	5		
	Ru	5	Comercial	SB/D	1	2	0,43	60 (50%)		
	Pt	5	Comercial	SB/D	1	5	1,06	60 (72%)		
	Ir	1	Comercial	SB/D	1	10	10,64	60 (78%)		
Al ₂ O ₃	Pd	5	Comercial	SB/D	1	10	2,13	60(77%)		
	Rh	5	Comercial	SB/D	1	50	10,64	12		
	Ru	5	Comercial	SB/D	1	7	1,49	60 (87%)		
	Pt	5	Comercial	SB/D	1	9	1,92	60 (90%)		

1.- INTRODUCCIÓN

SopORTE	Metal	% Metal	Incorporación metal	Sistema de reacción	[BrO ₃ ⁻] inicial (mmol·L ⁻¹)	Conversión a 5 min (%)	Eficacia a 5 min (mmol BrO ₃ ⁻ · mol Pd ⁻¹)	Minutos para Conversión total	Conversión en continuo	Bibliografía
SBA-15 modificado con -NH ₂	Pt	4	adsorción	SB/D	0,78	63	47,89	20		Zhang et al. [139]
fibras de carbón activo sobre fibras metálicas sinterizadas (CNF/SMFs)	Pd	0,3	impregnación	SB/D	0,39	60	49,66	30		Yuranova et al. [136] Palomares et al. [111]
				C 5mL·min ⁻¹	0,39	-		-	80 % durante 40 horas	
CNF sobre monolitos	Pd	0,5	adsorción	SB/D	0,39	35	57,47	48		Marco et al. [135]
CNF sobre monolitos	Pd	0,3	adsorción	C 5mL·min ⁻¹	0,39	-		-	75 % durante 40 horas	

1.- INTRODUCCIÓN

SopORTE	Metal	% Metal	Incorporación metal	Sistema de reacción	[BrO ₃ -] inicial (mmol·L ⁻¹)	Conversión a 5 min (%)	Eficacia a 5 min (mmol BrO ₃ ⁻ · mol Pd ⁻¹)	Minutos para Conversión total	Conversión en continuo	Bibliografía
Carbón activo	Pt	1	impregnación	SB/D	0,078	30	1,06	20		Restivo et al. [132]
	Pd	1	impregnación	SB/D	0,078	60	2,13	15		
	Sn	1	impregnación	SB/D	0,078	69	3,19	45 (90%)		
	Rh	1	impregnación	SB/D	0,078	50	2,13	20		
	Ru	1	impregnación	SB/D	0,078	67	3,19	25		
	Pd/Cu	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	78	3,19	15		Restivo et al. [131]
	Pd/Fe	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	65	3,19	15		
	Pd/Sn	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	50	2,13	25		
	Pd/Zn	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	50	2,13	45		
	Cu	1	impregnación	SB/D	0,078	57	2,13	45		
	Ir/Cu	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	50	2,13	25		
	Pt/CU	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	65	3,19	15		
	Ru/Cu	1 y 1	impregnación	SB/D	0,078	48	2,13	30		

1.- INTRODUCCIÓN

SopORTE	Metal	% Metal	Incorporación metal	Sistema de reacción	[BrO ₃ ⁻] inicial (mmol·L ⁻¹)	Conversión a 5 min (%)	Eficacia a 5 min (mmol BrO ₃ ⁻ · mol Pd ⁻¹)	Minutos para Conversión total	Conversión en continuo	Bibliografía
FAU	Pd	0,92	intercambio iónico	SB/D	0,078	18	3,47	60		Soares et al. [143]
	Cu	0,6	intercambio iónico	SB/D	0,078	10	3,55	120		
	Rh	0,14	intercambio iónico	SB/D	0,078	5	7,60	120 (75%)		
	Th	0,17	intercambio iónico	SB/D	0,078	5	6,26	120 (80%)		
	Pd/Cu	1,60/0,84	intercambio iónico	SB/D	0,078	75	7,98	10		
	Cu/Pd	0,64/1,80	intercambio iónico	SB/D	0,078	85	7,69	10		
	Rh/Cu	0,10/0,60	intercambio iónico	SB/D	0,078	7		120 (85%)		
	Th/Cu	0,10/2,30	intercambio iónico	SB/D	0,078	15		120 (85%)		

1.- INTRODUCCIÓN

SopORTE	Metal	% Metal	Incorporación metal	Sistema de reacción	[BrO ₃ ⁻] inicial (mmol·L ⁻¹)	Conversión a 5 min (%)	Eficacia a 5 min (mmol BrO ₃ ⁻ · mol Pd ⁻¹)	Minutos para Conversión total	Conversión en continuo	Bibliografía
ZSM-5	Pd	1,5	intercambio iónico	SB/D	0,078	20	3,19	90		Freitas et al. [112]
	Cu	0,85	intercambio iónico	SB/D	0,078	12		90		
	Pd/Cu	1,40/1,00	intercambio iónico	SB/D	0,078	80	9,88	10		
	Cu/Pd	0,55/1,90	intercambio iónico	SB/D	0,078	88	7,84	10		
	Th	0,4	intercambio iónico	SB/D	0,078	5	2,66	60		
	Rh	0,45	intercambio iónico	SB/D	0,078	15	4,73	90		
	Th/Cu	0,35/1,30	intercambio iónico	SB/D	0,078	85		20		
	Rh/Cu	0,30/1,60	intercambio iónico	SB/D	0,078	15		120 (85%)		
MCM-41 magnet. con grupos amino	Pd	2	impregnación	SB/D	0,78	5	41,50	120 (30%)		Chen et al. [137]
			Deposición - precipitación			12,5	103,76	120		

1.- INTRODUCCIÓN

SopORTE	Metal	% Metal	Incorporación metal	Sistema de reacción	[BrO ₃ ⁻] inicial (mmol·L ⁻¹)	Conversión a 5 min (%)	Eficacia a 5 min (mmol BrO ₃ ⁻ · mol Pd ⁻¹)	Minutos para Conversión total	Conversión en continuo	Bibliografía
Nitruro de carbono mesoporoso	Pd	2,2	impregnación	SB/D	0,78	12,5	157,21	50		Zhang et al. [141]
Carbón mesoporoso CMK-3	Pd	2,09				5	66,19	50 (12,5%)		
Carbón activo	Pd	2,01				3	41,30	50 (7,5%)		
SiO ₂ "core-shell"	Pd	3	impregnación	SB/D	0,1	33	14,54	40		Wang et al [142]
SiO ₂	Pd	3	impregnación	SB/D	0,1	8	10,64	60 (45%)		
NPs	Pd	3	-	SB/D	0,1	15	20,22	60 (60%)		

SB/D: semibatch/discontinuo

C: continuo

Del análisis de estos datos se concluye que el Pd es el principal metal utilizado para catalizar la reacción de hidrogenación de bromatos en agua. Sin embargo, el Pd es uno de los elementos más raros de la Tierra, lo que le ha llevado a estar incluido en la lista de la Comunidad Europea de materias primas críticas [144]. El Pd se utiliza en muchas y diferentes áreas industriales [145] como electrónica, joyería o catálisis (Figura 1.20-dcha), y atendiendo a datos de 2017, el consumo mundial de Pd ascendió a 331 toneladas, siendo la producción global solamente de 214 toneladas. Este déficit entre producción y consumo, junto con su escasez, justifica su elevado coste, siendo el precio medio anual de una onza de Pd de 869 USD, en 2017. Como se puede observar en la Figura 1.20(izq.), en la última década el precio del Pd ha experimentado un crecimiento importante, debido al aumento de la demanda y al limitado suministro del mismo [146].

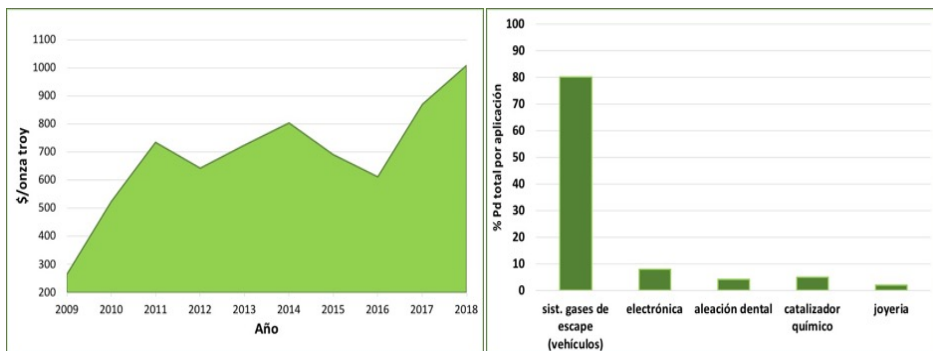


Figura 1.20: Precio medio anual de onza de Pd (izquierda) y distribución del consumo de Pd mundial por áreas (derecha)

Por lo tanto, el empleo de Pd como catalizador para la reducción de bromatos exige la obtención de excelentes resultados utilizando la mínima cantidad de este metal precioso. Por ello, hay que seguir diferentes estrategias para optimizar su uso. Además, la amplitud y variedad de resultados obtenidos no permiten determinar las condiciones necesarias para obtener un catalizador activo en esta reacción, siendo necesario un

1.- INTRODUCCIÓN

estudio más sistemático, donde factores como la preparación del catalizador y su caracterización, sean exhaustivamente analizados para así poder diseñar catalizadores que permitan eliminar los bromatos del agua contaminada mediante su reducción a bromuros en presencia de H₂.

1.4. MATERIALES BIOCIDAS

La otra problemática que se aborda en esta tesis es el desarrollo de aditivos que pueden ser incorporados en otros materiales para conferirles propiedades biocidas. Los materiales biocidas son aquellos capaces de destruir organismos patógenos que pueden provocar enfermedades a otros seres vivos. Entre estos organismos patógenos se encuentran ciertos mohos, hongos, virus y bacterias, que pueden ser encontrados en cualquier zona y ambiente de nuestro planeta, causando diversas enfermedades y siendo una de las amenazas más habituales para plantas, animales y seres humanos [147]. Es por ello que el desarrollo y utilización de materiales biocidas ha tomado, día a día, una mayor relevancia como sistema de prevención y control del desarrollo de enfermedades infecciosas y los microorganismos que las producen.

Las sustancias con propiedades biocidas son conocidas desde la Antigüedad. El poeta griego Homero (s.VIII a.C.) ya describe la utilización de azufre como potente biocida en algunas de sus obras y muchos otros ejemplos pueden encontrarse en diferentes épocas y civilizaciones. No obstante, el desarrollo de nuevos materiales biocidas se asocia a graves problemas en la historia, como la hambruna sufrida en Irlanda alrededor de 1845 que causó la muerte de 1,5 millones de personas debido a la destrucción de la cosecha de patatas causada por *Phytophthora infestans*.

Pero no solamente fueron problemas relacionados con la salud pública lo que llevó al desarrollo de nuevos materiales con propiedades biocidas, así la podredumbre que afectó a postes telefónicos y a travesías de ferrocarriles durante la primera mitad del siglo XX, impulsó su uso en otras áreas. En el siglo XX se emplearon compuestos de cobre como sustancias fungicidas, ácido sulfúrico como herbicida o incluso, compuestos de arsénico como insecticidas. Otros compuestos sintéticos como el dicloro difenil tricloroetano (DDT) también fueron empleados a mediados del siglo XX como insecticida para exterminar piojos e insectos transmisores del tifus entre otras enfermedades. Sin embargo, tal como había ocurrido con otras sustancias, su aplicación se prohibió a finales de este siglo por su persistencia en el medio. Otros materiales biocidas empleados han sido el triclosan [148] o el cloruro de benzalconio [149], los cuales no presentaban los problemas del DDT, pero poseían otras desventajas como su baja resistencia a la temperatura, su fácil descomposición y sus breves tiempos de vida y actuación. También, se han empleado sustancias inorgánicas como hipoclorito sódico o diferentes metales [150], que pueden ser aplicados en diversos medios y materiales sustituyendo a los tradicionales biocidas orgánicos [151].

En la actualidad, debido a las estrictas medidas legales para la utilización de materiales biocidas [152] y a la necesidad de tratamientos más sostenibles, se ha producido una intensificación en la investigación de nuevos materiales biocidas, buscando el uso de sustancias químicas que sean activas en concentraciones muy bajas, sin posibles efectos secundarios y que sean inocuas para la salud humana y el medio ambiente. Además, se intenta que estas sustancias biocidas puedan ser incorporadas a otros materiales, dotándolos de nuevas características, creando lo que se denominan materiales multifuncionales. Estos materiales polivalentes se

1.- INTRODUCCIÓN

caracterizan por presentar propiedades adicionales que no son necesarias para su correcto funcionamiento, pero que los diferencian de sus competidores. Este es el caso de los materiales con propiedades biocidas, cuyo mercado se evaluó en 7,9 billones de dólares en 2014, incrementándose a 10,6 billones de dólares (*Radiant Insight Inc.*) en 2016. El aumento de mercado se debe a su uso en nuevos campos tanto a nivel doméstico como industrial [153].

No obstante, la aplicación de sustancias biocidas a diversos materiales no es sencilla y presenta serios problemas relacionados con la corta duración de su efecto, existiendo, por tanto, un gran interés en el desarrollo de materiales biocidas que consigan un control de los microorganismos prolongado en el tiempo. Además, se espera que los compuestos biocidas tengan una alta resistencia a la temperatura, a la radiación y al estrés mecánico [154], ya que se deben incorporar en otros materiales como polímeros, pinturas, fibras, vidrios o superficies de trabajo [152]. Existen diferentes estrategias para inmovilizar los agentes biocidas en otros materiales consiguiendo una liberación prolongada en el tiempo. Estos procedimientos son [155]:

- **Graph-to:** consiste en unir de forma covalente el agente biocida en la superficie del material a modificar. Para ello, se suelen emplear ligandos covalentes químicos (Figura 1.21 - A)
- **Adsorción física:** es la fisisorción del compuesto o agente biocida en la superficie del material. No existen interacciones covalentes, aunque se dan uniones fuertes y múltiples interacciones con la superficie del material (Figura 1.21- A)

- Inicialización en superficie: se basa en conseguir la síntesis del agente biocida a partir de un precursor que ya se encuentra dispuesto en la superficie del material (Figura 1.21 - B)
- Directo: es la creación del propio material con el agente biocida en su propia composición (Figura 1.21 - C)

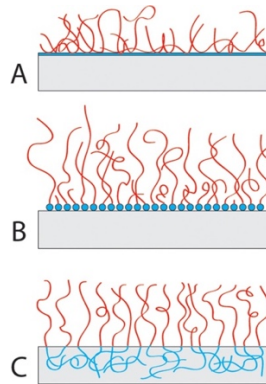


Figura 1.21: Estrategias para inmovilizar agentes biocidas en diferentes materiales [155]

1.4.1. Aplicaciones de los materiales biocidas

Los materiales y/o sustancias biocidas presenta muchos campos de aplicación, desde la medicina hasta la agricultura, pasando por el tratamiento de aguas, la construcción, la cosmética o la industria alimentaria [156-158].

La medicina y la odontología son dos de las industrias donde las sustancias y materiales biocidas son más empleados desde hace tiempo [159, 160]. Las aplicaciones médicas de los agentes antimicrobianos suelen hacerse de forma directa a partir de sustancias solubles como por ejemplo aldehídos, alcoholes, triclosan [161] o incluso mediante, la utilización de compuestos de plata [162], sin olvidar el empleo de jabones, detergentes y productos de limpieza especiales para limpiar y descontaminar de forma

1.- INTRODUCCIÓN

adecuada utensilios, manos y superficies que requieren de una desinfección especial [163]. Esto es necesario pues en caso contrario, dichas superficies y utensilios actúan como reservorios de microorganismos patógenos causantes de enfermedades. Tanto es así que, las enfermedades nosocomiales, aquellas adquiridas durante un periodo de hospitalización, son una de las grandes cargas en los sistemas sanitarios mundiales. Datos europeos demuestran que el 8,3% de los pacientes en unidades de cuidados intensivo adquieren este tipo de infecciones [164]. Además, se estima que estas infecciones causan alrededor de 37000 muertes anuales y conllevan un gasto económico de 7 billones de dólares [165]. En España, la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene estima que estas infecciones afectan a cerca de 8 de cada 100 pacientes en los hospitales españoles, lo que supone unas 300000 infecciones al año, con una mortalidad atribuible cercana al 2%. De forma general, la mayoría de estas enfermedades adquiridas en hospitales son causadas por bacterias de distinto tipo, siendo especialmente problemáticas las bacterias resistentes a distintos tipos de agentes bactericidas como, por ejemplo, los antibióticos. Un claro ejemplo de este tipo de bacterias es la *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Esta bacteria provoca graves infecciones cutáneas, sanguíneas e incluso neumonía, siendo una de las principales bacterias causantes de enfermedades nosocomiales más comunes y provocando más de 11000 muertes anuales en todo el mundo [166].

Sin embargo, puede ser mucho más interesante la incorporación de los agentes biocidas en otros materiales hospitalarios, en vez de su uso directo, debido a que dicha incorporación mejora el control de organismos patógenos durante periodos de tiempo más largos [155]. Estos materiales pueden ser tanto recubrimientos, como ciertas herramientas o

instrumentos quirúrgicos [167]. Un ejemplo sería la incorporación de materiales biocidas en implantes dentales y ortopédicos. Esta aplicación es muy importante debido a que las infecciones derivadas de implantes suelen presentar un alto riesgo, ya que los tratamientos con antibióticos habituales no suelen ser efectivos [157, 168].

Otra de las aplicaciones sería el uso de sustancias biocidas en materiales de construcción. Muchos de estos materiales utilizan desde hace mucho tiempo recubrimientos antimicrobianos con resistencia biológica que varía entre 0,5 y 2 años. Sin embargo, la duración de los materiales de construcción debe ser como mínimo de diez años, por ello, es preciso conseguir nuevos tipos de aditivos biocidas que tengan una eficacia más prolongada en el tiempo.

Además, alfombras, papeles adhesivos, guantes, vidrio y otro tipo de objetos cotidianos emplean a veces sustancias o agentes biocidas en su composición, evitando la proliferación de microorganismos patógenos en sus superficies. Así en el año 2000, más de 600 productos habituales contenían algún tipo de material o agente antibacteriano [157].

Estos materiales también se pueden utilizar para tratar la contaminación microbiológica del agua [169, 170]. Así, se pueden aplicar en membranas poliméricas utilizadas por el tratamiento de aguas ya que, los diferentes microorganismos que contaminan el agua crean biofilms sobre estas membranas que impiden el buen uso de las mismas [171-173]. De igual manera, los sistemas de ventilación también pueden contener en alguno de sus componentes materiales biocidas que impidan la colonización de estos sistemas y la posterior dispersión de los patógenos en el ambiente [157].

1.- INTRODUCCIÓN

Por último, la industria alimentaria y la agricultura son las otras dos áreas donde más se emplean este tipo de materiales [174]. Esto es necesario porque se calcula, por ejemplo, que en EE.UU., 76 millones de personas adquieren anualmente patologías transmitidas por alimentos [157, 175]. Este número aumenta año tras año, debido al interés de los consumidores en adquirir productos básicos frescos y mínimamente procesados [152]. Por ello, es preciso un control de los microorganismos que puedan producir dichas enfermedades, pero también de aquellas que provoquen pérdidas de alimentos durante las distintas etapas de la cadena de producción. Esto es muy importante pues la FAO estima que alrededor de un 30% de los cereales, entre un 40-50% de tubérculos, frutas y hortalizas, un 20% de semillas oleaginosas, carnes y productos lácteos y un 35% del pescado, se pierden o desperdician anualmente en el mundo por problemas relacionados con agentes patógenos, lo que equivale aproximadamente a un tercio de los alimentos producidos en el mundo para el consumo humano. Estas pérdidas se producen sobre todo a causa de enfermedades poscosecha y, por ejemplo, se estima que en el mundo entre el 25 y el 50% de la producción de productos hortofrutícolas se pierde, después de la cosecha, como resultado de la descomposición, infestación de insectos y ataques de microorganismos, estimándose que la mayor parte de estas pérdidas son debidas a la actuación de hongos de diversa naturaleza [176]. Esto se traduce en pérdidas económicas cercanas al billón de dólares y evitarlo es uno de los objetivos de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible del planeta de la ONU (Figura 1.2), ya que específicamente, el objetivo número 2 busca poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria, la mejora de la nutrición y, promover la agricultura sostenible[177].

Por ello, es preciso encontrar soluciones, estrategias y tratamientos que consigan mejorar la eficacia y la sostenibilidad en todas las etapas de la cadena de suministro de alimentos [178], siendo una de las principales áreas de acción, la mejora de las tecnologías de conservación y envasado.

Existen diferentes tipos de tratamientos poscosecha que se emplean en la actualidad, como la utilización de procesos físicos con atmósferas modificadas, bajas temperaturas o irradiación, que pueden lograr conservar los alimentos durante periodos de tiempo prolongados. Sin embargo, estos procesos físicos son menos efectivos y más costosos que el empleo de procesos químicos [179, 180]. Normalmente, los tratamientos químicos aplicados en frutas y hortalizas se basan principalmente en la aplicación de ceras, recubrimientos y compuestos biocidas, principalmente fungicidas, que permiten prolongar las cualidades nutritivas y físicas de estos alimentos. Específicamente, la aplicación de agentes o compuestos fungicidas en tratamientos poscosecha consigue reducir las pérdidas en cítricos alrededor de un 80% [181].

Otra de las estrategias para la preservación de los alimentos es lo que se denomina “envase activo” [182]. Este tipo de envasado se caracteriza por presentar cualidades adicionales frente a un envasado tradicional y permiten, por ejemplo, inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos o prevenir la migración de contaminantes [183]. La mayoría de estos envases activos interactúan con el producto o modifican el ambiente interno del envase. Para ello se puede incorporar un material biocida en su propia composición, se puede aplicar como recubrimiento al envase o se puede incorporar en un elemento extra, como bolsitas, almohadillas, etc [184].

1.- INTRODUCCIÓN

En definitiva, se puede afirmar que las posibles aplicaciones de las sustancias biocidas abarcan un gran número de industrias y campos diferentes, obligando a enlazar temas tan diferentes como la ciencia de los materiales, la microbiología y los procesos productivos.

1.4.2. Plata como sustancia biocida

Las propiedades biocidas de ciertos metales como Ag, Zn, Cu, Hg, Au, Sn, Pb, Bi, Cd, Cr, Pd o el Ti son conocidas desde hace mucho tiempo [152, 185, 186]. No obstante, no todos estos metales son inocuos para los seres humanos y solo Ag, Zn, Ti, Pd, Au y Cu pueden ser empleados en bajas concentraciones. Muchos estudios e investigaciones han empleado estos y otros metales como agentes biocidas. Así, se ha descrito el uso del cobre para el control de los hongos que afectan a la madera [187, 188] o el uso del oro en aplicaciones bactericidas o fungicidas [170]. Sin embargo, es la plata tanto como nanopartículas como en forma catiónica y/o compuestos o sales, el metal más estudiado y utilizado para aplicaciones biocidas.

Las primeras referencias del uso de plata datan del año 3000 a.C., en la antigua Turquía. Sus primeras aplicaciones se centraron en la joyería, utensilios y monedas. Sin embargo, las propiedades de este metal brillante, duradero y maleable han permitido una ramificación muy extensa de sus aplicaciones, llegándose a considerar como uno de los elementos indispensables en nuestra vida moderna [189]. Es el metal que mejor conduce la electricidad y es un conductor de calor muy bueno, por lo que es empleada en todos los aparatos eléctricos actuales, así como en muchos trabajos de soldadura. Además, sus propiedades químicas permiten su uso como catalizador en numerosas reacciones de interés industrial como la

oxidación de etileno [190, 191], epoxidaciones [192, 193] o para la eliminación de contaminantes [194]. Asimismo, en los últimos tiempos la plata está siendo utilizada en placas y células solares [195]. Todas estas aplicaciones muestran la gran importancia de la plata en nuestra sociedad, calculándose que, en 2017, se consumieron aproximadamente 31000 toneladas de plata, cuya distribución por aplicaciones se refleja en la Figura 1.22.

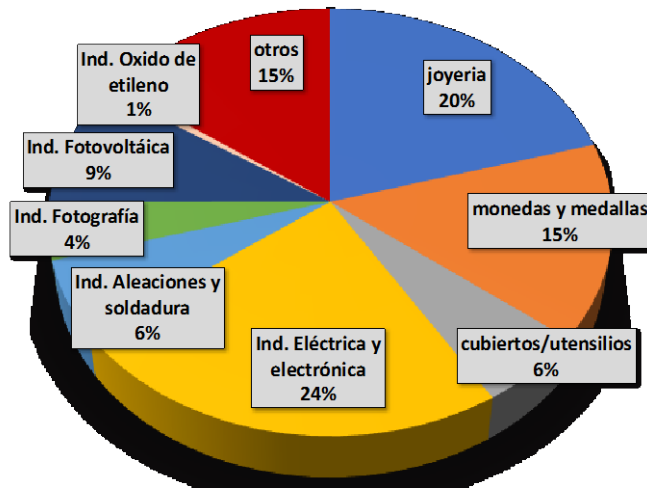


Figura 1.22: Demanda de plata por sectores en 2017

Tal como se observa en la figura anterior, el principal uso de la plata es la industria electrónica, seguida de su uso en monedas y de otras aplicaciones. En la figura aparece, además, un 15% de “otros usos”, donde se encuentra la aplicación de este metal como agente biocida debido a sus propiedades antimicrobianas. Civilizaciones como los griegos, los romanos, los fenicios o los egipcios utilizaron recipientes de plata para almacenar el agua u otros líquidos como la leche o el vino y así alargar su tiempo de vida [196]. El primer documento que se conserva donde aparece una aplicación clínica de la plata data del 750 d.C. [197] y desde entonces se ha continuado utilizando. Así, los exploradores americanos del Lejano Oeste, utilizaban

1.- INTRODUCCIÓN

monedas de plata y cobre para preservar líquidos, sin la aparición de patógenos como algas, hongos o bacterias. A principios de 1800, hilos de plata eran utilizados para suturar heridas, siendo en 1869 cuando Ravelin describió científicamente el poder bactericida de la plata a muy bajas concentraciones [198]. Incluso, durante la I Guerra Mundial se utilizaban hojas de plata en las heridas de los soldados para evitar las infecciones.

Por otro lado, distintas sales de plata se han empleado como agentes biocidas frente a diferentes enfermedades o infecciones como conjuntivitis, gastroenteritis, gonorrea, sífilis o incluso para tratar patologías mentales o la adicción a la nicotina. Así, la primera edición del “Merck Index” de 1889 recogía al menos 18 sales de plata para propósitos farmacológicos. Posteriormente, en la década de 1960, se descubrió la sulfadiazina de plata, el complejo de plata más empleado en medicina desde su descubrimiento, que es utilizado para el tratamiento de quemaduras y otro tipo de infecciones cutáneas, estando incluida en la Lista de Medicamentos Esenciales de la OMS [199]. Además, otros compuestos de plata como el fluoruro de plata son empleados para el tratamiento de caries o la hipersensibilidad dental, mientras que el nitrato de plata es empleado para el tratamiento de quistes, abscesos o en tratamientos antifúngicos [200]. No obstante, hay que tener presente que la ingesta de plata en grandes cantidades no es inocua y puede provocar complicaciones en la salud, lo que es conocido como síndrome de argiria, y por tanto, se debe controlar la cantidad de plata utilizada en los tratamientos.

En la actualidad, la plata es considerada como un biocida de amplio espectro, siendo efectiva frente a bacterias, hongos, protozoos, levaduras y ciertos virus [201]. Existen diferentes estudios donde se ha evaluado, de forma *in vitro*, la efectividad biocida de los iones Ag^+ y de las nanopartículas de plata (AgNPs). Uno de los más interesantes es el estudio de Lalueza et

al. donde se evidencia la importancia de la biodisponibilidad de la plata para ser efectiva frente a *Staphylococcus aureus*. En esta investigación se presenta una comparación de la actividad biocida de la plata en diversas formas frente a dicha bacteria [202], siendo los cationes Ag^+ la especie más efectiva. De forma similar, Feng et al. estudiaron el mecanismo de acción del AgNO_3 frente a *Staphylococcus aureus* y frente a *Escherichia coli*, observando cómo la bacteria Gram-positiva presentaba una mayor resistencia a la acción de los cationes Ag^+ [203]. Otros estudios [204] mostraron diferentes mecanismos de acción de los iones plata, con una eficacia del 100% en el control tanto de *Staphylococcus aureus* como de *Escherichia coli*, tras una la aplicación de 0,2 ppm de Ag^+ , siendo la velocidad de acción mucho más rápida frente a la bacteria Gram-negativa (*E. coli*). No solamente se ha estudiado la acción biocida de la plata frente a bacterias, otros estudios han evaluado su actividad frente a hongos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* o *Candida albicans*, obteniendo buenos resultados en el control del crecimiento de este tipo de organismos [205].

En los últimos años también han aparecido estudios en los que se ha utilizado la plata en su forma coloidal o como nanopartículas como agentes antibacterianos. Por ejemplo, Petrus et al. [206] estudiaron la eficacia de la plata nano-coloidal frente a diferentes bacterias como *Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus* o *Salmonella typhy* entre otras, obteniendo valores de MIC menores a 25 ppm en todos los casos y empleando el caldo de cultivo LB (Luria Bertani broth). De forma similar, dos estudios diferentes evaluaron la actividad biocida de las nanopartículas de plata (AgNPs) empleando el caldo de cultivo Mueller-Hinton, determinando valores de MIC de 4 y 10 ppm para el control de *Staphylococcus aureus* [207] y *Escherichia coli* [208] respectivamente, sin observarse, en el estudio con *E. coli*, ningún crecimiento del microorganismo durante al menos 7 días.

1.- INTRODUCCIÓN

También se ha evaluado el uso de AgNPs frente a diferentes virus como la viruela del mono [209] o sobre ciertas células infectadas por VIH [210], con resultados prometedores y sin observarse, además, problemas de toxicidad en ensayos realizados con ratones [211].

1.4.3. Mecanismos de actuación de la plata frente a microorganismos

Aunque se han estudiado ampliamente los efectos de diferentes compuestos y especies de plata como agentes biocidas, los mecanismos de actuación de la plata no se conocen de forma precisa [212]. Los mecanismos más aceptados según la bibliografía científica para la actuación de la plata son [197, 200]:

- Citotoxicidad de los cationes Ag^+ : al igual que los cationes de otros metales pesados, los cationes Ag^+ interactúan con los grupos tioles presentes en proteínas y enzimas de los microorganismos [213]. Dicha interacción produce la desnaturalización de muchas de estas proteínas y también, la inactivación de ciertas enzimas, debido a modificaciones en las estructuras de estas macromoléculas biológicas [214].
- Interacción de los cationes Ag^+ con diferentes aminoácidos del ADN [215]: la formación de complejos entre la Ag^+ y el ADN o el ARN, produce una disrupción del proceso de replicación de las células. Además, diferentes estudios como el llevado a cabo por Yang et al. [216], sugieren que los tratamientos con plata provocan la mutación genética de las células de ciertos microorganismos, lo que conlleva su muerte.

- Inhibición de la captación y del intercambio de fosfato: debido a la presencia de cationes Ag^+ , el fosfato se acumula en las células de los microorganismos y dicha acumulación incrementa la liberación de K^+ , lo que conduce a la muerte celular [217].
- Destrucción de las membranas celulares y mitocondriales: la modificación de las estructuras de estos dos orgánulos, imprescindibles para la supervivencia de los microorganismos, debido a la presencia de plata (Ag^+), conlleva la muerte de los microorganismos. Concretamente, las membranas suelen perder integridad y con ello, la permeabilidad de la célula queda anulada, mientras que los daños en las mitocondrias causan un desequilibrio y la despolarización de la membrana, lo que también produce la muerte celular.
- Por último, cabe destacar que los cationes Ag^+ producen, además, dos efectos secundarios. Uno es la generación de microorganismos en estado suspendido, que no crecen ni se nutren por lo que acaban muriendo. Por otro lado, el denominado efecto “zombie”, donde las bacterias ya atacadas por la plata, actúan como reservorios de los cationes plata que acaban atacando a otras bacterias sanas.

Todos estos mecanismos (Figura 1.23) han sido propuestos para describir los efectos biocidas de los compuestos de plata iónica. Mecanismos similares son válidos para describir la acción biocida de las nanopartículas metálicas de plata (AgNPs), las cuales pueden actuar como reservorios de Ag^+ . Además, estas nanopartículas pueden generar una despolarización de las células cuando se colocan en la superficie de las células de los microorganismos, lo que acaba provocando la lisis celular y su muerte. Por último, estas especies también pueden provocar la

1.- INTRODUCCIÓN

producción no controlada de especies reactivas de oxígeno (ROS), que conllevan un aumento de radicales que provocan graves daños en las células debido principalmente al estrés oxidativo [218]. En la Figura 1.24 se resume gráficamente algunos de estos mecanismos.

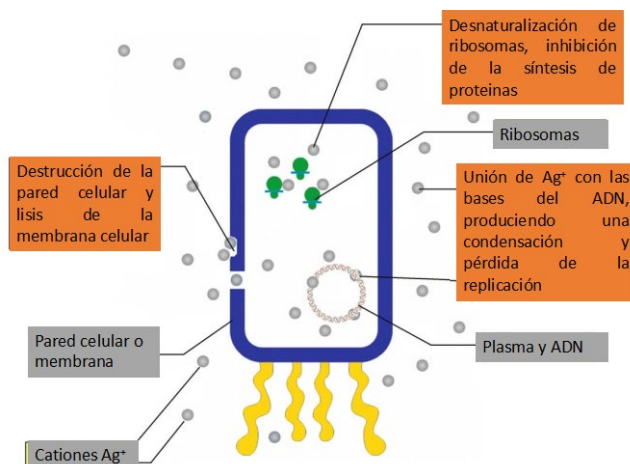


Figura 1.23: Modos de actuación de los cationes Ag^+ sobre células de microorganismos

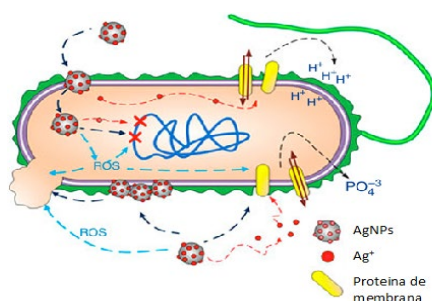


Figura 1.24: Mecanismos de acción de AgNPs y Ag^+ [182]

Por último, aunque se han encontrado ciertas pruebas de la resistencia de algunas bacterias al efecto de materiales biocidas basados en plata [219-221], ésta es mínima y no parece ser algo generalizado, al contrario de lo que sucede en la actualidad con muchos antibióticos. Esto puede estar relacionado con la gran variedad de mecanismos de actuación o puntos de

acción biocida de la plata, lo que impide la adaptación de los microorganismos y por tanto, minimiza la aparición de resistencia frente a este agente biocida [200].

1.4.4. Materiales multifuncionales con plata

La versatilidad de la plata como agente antimicrobiano junto con sus propiedades físico-químicas y su baja toxicidad para los seres humanos [222], han promovido su uso como aditivo en otros materiales. Algunos de los ejemplos más destacados son la funcionalización de titanio, sílice, vidrios, cerámicas, fibras o tejidos para conseguir que estos materiales tengan propiedades biocidas [196-201]. Así, se pueden encontrar muchos productos comerciales de estas características producidos por compañías tan conocidas como Honeywell, Dell, Motorola, North Face o Adidas [197, 200].

Muchos estudios científicos han analizado estas propiedades, así Nia et al. incorporaron Ag/TiO_2 en polipropileno (PP) generando un plástico con propiedades biocidas frente a *Staphylococcus aureus* [223]. Otros estudios han evaluado la actividad biocida de poliuretano dopado con cationes Ag^+ , un material ampliamente utilizado en la fabricación de instrumentos médicos como catéteres. Algunos investigadores como Martínez-Abad et al. han incorporado cationes Ag^+ en *films* de EVOH (etilen-vinil-alcohol), evaluando su actividad biocida frente *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*, una vez aplicado en envases de frutas [224]. Otro ejemplo es el estudio de Busolo et al. que incorporaron una nanoarcilla con plata (Bactiblock®) en ácido poliláctico, formando un biocomposite con propiedades biocidas frente a la bacteria Gram-negativa *Salmonella spp.* [225].

1.- INTRODUCCIÓN

Otro campo donde se está investigando sobre la incorporación de plata para producir materiales multifuncionales es el área de fibras y tejidos [226-228]. La producción de textiles antimicrobianos fue cercana a 100000 toneladas en el año 2000 [229], siendo los textiles antimicrobianos basados en plata los de efecto más prolongado y duradero [230]. Lorenz et al. llevaron a cabo un estudio de la lixiviación de plata desde diferentes productos textiles con plata y propiedades biocidas [231]. La Tabla 1.8 muestra los productos evaluados en dicho estudio y la cantidad de plata de cada uno de ellos.

Tabla 1.8: Productos textiles comerciales con propiedades biocidas basados en plata

Producto	Procedencia	Composición	Cont. Ag (mg/Kg)	Info. adicional
Calcetines	Alemania	41% polipropileno 31% poliamida con Ag 18% algodón 10% lana	1,8 ± 2	-
Calcetines	Suiza	100% polipropileno	1,5 ± 0,9	-
Calcetines	Japón	100% algodón	761 ± 31	Hilos de Ag visibles
Camisetas	Suiza	83% poliéster 17% lana	183 ± 10	Contiene AgNPs
Camisetas	Suiza	100% poliéster	45 ± 8	-
Calcetines	Reino Unido	80% algodón 20% hilo elástico	2925 ± 19	-
Pantalones	Alemania	93% poliamida 7% elastano	41 ± 0,4	Contiene nanopartículas AgCl
Calcetines	Alemania	75% algodón 23% poliamida 2% elastano	< 1,25	-

También es posible encontrar ejemplos de la incorporación de plata en superficies o materiales empleados en implantes médicos. El estudio llevado a cabo por Lee et al. evaluó la actividad biocida frente a *Staphylococcus aureus* de superficies de titanio recubiertas por titanato de

sodio intercambiado previamente con cationes Ag^+ . Los resultados mostraron efectos bacterioestáticos, es decir, un control en el crecimiento del microorganismo [168]. Por otro lado, Esteban-Tejeda et al. evaluaron las propiedades bactericidas (frente a *E. coli* y *Micrococcus luteus*) y fungicidas (frente a *Issatchenkia orientalis*) de un tipo específico de vidrio dopado con AgNPs. Los resultados de esta investigación demostraron una desinfección total de las superficies del vidrio, inhibiendo el crecimiento tanto de bacterias como de hongos [151].

Otros materiales como Al_2O_3 con plata soportada han demostrado una alta capacidad bactericida en tratamientos de aguas, debido a la propia actividad biocida de los cationes Ag^+ y a su actuación como catalizador que promueve la formación de especies reactivas de oxígeno a partir del oxígeno disuelto [232]. Algunas arcillas como la montmorillonita se han utilizado como soporte de Ag^+ , la cual puede ser posteriormente incorporada en materiales empleados para el envasado de fruta fresca [233]. También se ha añadido a carbones activos en forma de fibras incorporados en los filtros de diversos sistemas de ventilación [234], lo que impide la adherencia de bacterias en los mismos. Todos estos estudios muestran que existe un gran campo para el uso y fabricación de materiales multifuncionales basados en plata.

1.4.5. Zeolitas con plata como compuestos y aditivos biocidas

A pesar de que todos los materiales multifuncionales con plata han mostrado muy buenos resultados frente a diferentes microorganismos, se ha de seguir investigando para encontrar nuevas estrategias que vayan

1.- INTRODUCCIÓN

dirigidas principalmente a que la actividad biocida de estos materiales perdure en el tiempo, ya que la mayor parte de las veces la actividad biocida finaliza antes que la vida útil del material.

Una de las estrategias que se podrían aplicar para conseguir este objetivo, es la incorporación de los compuestos biocidas en soportes inorgánicos, los cuales pueden ser a su vez agregados a otros materiales, actuando como reservorio de la especie biocida, de forma que su actividad en el tiempo sea mucho más prolongada. Los soportes utilizados para llevar a cabo esta estrategia han de cumplir ciertos requisitos como ser inocuos, no alterar las posteriores aplicaciones del material y tener capacidad para soportar y liberar las especies biocidas.

Uno de los soportes que podría cumplir con estas características son las zeolitas. Estos aluminosilicatos son materiales inorgánicos microporosos de elevada área superficial y que además, presentan una gran capacidad para el intercambio catiónico. Estas cualidades las hacen especialmente interesantes para ser utilizadas como soportes para las especies de plata. Además, la gran variedad de estructuras, la diversidad de tamaños de poro, las distintas relaciones Si/Al y su inocuidad para los seres humanos, hace idóneas a las zeolitas para su aplicación como soporte de sustancias biocidas soportados. Actualmente se pueden encontrar algunos productos antibacterianos basados en zeolitas con plata como por ejemplo Agion® (Figura 1.25). Este producto se puede incorporar a diversas superficies confiriéndoles propiedades biocidas. La *European Food Safety Authority* ha incluido la zeolita A con plata dentro de los aditivos aceptados para tecnologías biocidas, siendo el límite de incorporación de esta zeolita en polímeros del 10% en peso, siempre y cuando el contenido en plata en la zeolita sea igual o menor al 5% [235].

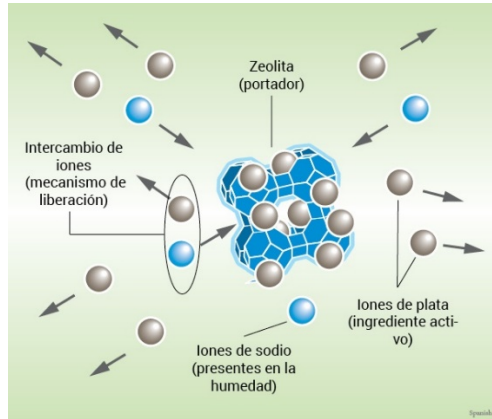


Figura 1.25: Descripción gráfica de la actuación de Agion® (Imagen adaptada de Agion)

En la bibliografía se pueden encontrar diferentes estudios donde se emplean diversos tipos de zeolitas con plata para el control de distintos tipos de bacterias y hongos, sobre todo, estudios *in vitro*. Así, Chiericatti et al. estudiaron la actividad de distintas mordenitas con diferente contenido en plata frente a 3 bacterias (*Rhizopus oryzae*, *Mucor circinelloides* y *Geotrichum candidum*) y frente a 3 hongos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii* y *Zygosaccharomyces rouxii*), obteniendo en todos ellos inhibiciones del 100% desde el inicio, y mejores resultados que cuando se incorpora la plata de forma directa al medio [236]. Lalueza et al. han estudiado la aplicación de zeolitas tipo ZSM-5, con un 0,2% en peso de plata, obteniendo muy buena actividad antibacteriana frente *Staphylococcus aureus* incluso al mismo nivel que zeolitas de plata comerciales como Zeomic® con contenidos mucho mayores de plata [237]. Otros estudios, emplearon estas mismas zeolitas frente a hongos como *Candida albicans* y bacterias como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con buenos resultados [238]. Incluso se ha estudiado el uso de esta misma zeolita con plata (0,2%Ag-ZSM-5) pero funcionalizada a su vez

1.- INTRODUCCIÓN

con ácido paracético, consiguiendo una gran eficacia en el control de *Staphylococcus aureus* [239].

Otras investigaciones han utilizado la zeolita Linde Type A (LTA) como soporte inorgánico de plata. Así, mediante el intercambio catiónico con Ag^+ , Inoue et al. emplearon dicha zeolita para inhibir y matar a la bacteria Gram-negativa *Escherichia coli* tras solamente 5 minutos en contacto con el medio de cultivo [154]. Otros estudios han empleado esta zeolita con Ag^+ para controlar otras bacterias como *Vibrio harveyi* [240], *Bacillus cereua*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* u hongos como *Candida albicans*, *Penicillium vinaceum* o *Aspergillius niger* [147, 241].

También se ha empleado la zeolita faujasita (FAU) como soporte para la plata. Entre varios estudios, destaca el llevado a cabo por Kwakye-Awuah et al., en el cual además de evaluar la actividad biocida inicial de la faujasita intercambiada con cationes Ag^+ , se evaluó su actividad en ensayos biocidas consecutivos, mostrando idéntica capacidad biocida en los distintos usos, lo que demostró una actividad prolongada en el tiempo [242]. Otros estudios con estas zeolitas de poro grande han analizado la influencia de la cantidad de plata incorporada en la zeolita sobre la capacidad biocida [241, 243] o la influencia del tamaño de partícula de la zeolita. Los resultados mostraron que la actividad biocida aumenta al aumentar el contenido en plata y que se obtienen mejores resultados cuando se empleaban zeolitas con un tamaño de partícula menor [244].

Otros estudios han empleado otras estructuras zeolíticas como la chabacita (CHA) o la beta (BEA) frente a diferentes microorganismos [245, 246]. También, existen otras investigaciones donde se ha empleado zeolita natural, clinoptilolita, para soportar cationes Ag^+ actuando frente a *Acinetobacter baumannii* con excelentes resultados *in vitro* [247]. Esta

misma zeolita se ha empleado para soportar AgNPs, obteniendo buenos resultados para controlar bacterias como *Escherichia coli* [248] o *Salmonella typhi* [249].

Todos los estudios citados utilizan plata soportada sobre diferentes estructuras zeolíticas como agente biocida. Sin embargo, en cada uno de ellos la cantidad de plata incorporada es diferente, así como el medio de cultivo donde se llevaron a cabo los diferentes estudios *in vitro* y, sobre todo, los microorganismos tratados. Es por ello que no es posible extraer conclusiones generales que permitan determinar las características y composiciones óptimas que debe tener una zeolita para que, al incorporar la plata actúe como agente biocida, siendo necesario un estudio más sistemático y profundo.

Además, aunque la aplicación directa de las zeolitas con plata consigue el control de muchos microorganismos patógenos en estudios *in vitro*, su eficacia debe ser evaluada una vez incorporada a diferentes materiales, que es como actuarían en realidad. Por ello, diferentes autores han estudiado la efectividad frente a diferentes hongos y bacterias de las zeolitas LTA y FAU con cationes Ag⁺ aplicadas a diferentes materiales de recubrimiento como pinturas acrílicas u otros [239, 250]. Otros autores han estudiado la incorporación de zeolitas con plata a polímeros como epoxi [157], ácido poliláctico [251] o fluoruro de polivinilideno [252], los cuales son ampliamente empleados en diferentes áreas como envasado de alimentos, recubrimientos mobiliarios o materiales clínicos u hospitalarios, mostrando buenas eficacias biocidas.

Bedi et al. estudiaron este tipo de materiales plásticos multifuncionales empleando un recubrimiento basado en zeolita LTA con plata en polipropileno. Estos recubrimientos fueron introducidos en agua destilada

1.- INTRODUCCIÓN

durante periodos largos de tiempo, observándose que en esas condiciones no existe liberación de los cationes Ag^+ , ni tampoco modificaciones en las propiedades del recubrimiento, manteniendo además éste una elevada actividad biocida tras la inmersión [239]. Este recubrimiento tenia como aplicación final condensadores (intercambiadores de calor) de vehículos espaciales, los cuales requieren de materiales de gran durabilidad y resistencia, debido a las condiciones extremas a las que se enfrentan.

Otros estudios han evaluado la efectividad biocida frente a diversos microorganismos del polietileno de baja densidad funcionalizado con faujasita (zeolita Y) con un 5% en peso de plata [235]. Pero además, en este estudio se analizó la liberación de plata al medio. Los estudios de lixiviación llevados a cabo mostraron una menor difusión de los cationes cuando la zeolita con plata está embebida en el polímero, pasando de una liberación del 56% a una liberación del 5-10%.

Por otro lado, Rieger et al. estudiaron la actividad biocida de AgNPs en zeolitas LTA de diferente tamaño, incorporadas en tapices de nanofibras de celulosa. Este estudio demostró que las zeolitas de tamaño de partícula grande ($6 \mu\text{m}$) presentaban una liberación de Ag^+ mucho menor, mientras que las LTA de tamaño más pequeño ($0,5$ y $0,2 \mu\text{m}$) presentaban una liberación bastante superior, debido probablemente a la mayor área superficial cuando los tamaños de partícula son menores. Además, su incorporación en nanofibras de celulosa, mejoró ampliamente la actividad biocida de las zeolitas con plata, probablemente debido a que la estructura de nanofibras proporciona una alta porosidad tridimensional, lo que hace que los microorganismos interaccionen más fácilmente con las zeolitas con plata [253].

En conclusión, se puede afirmar que diferentes especies de plata como los cationes Ag^+ o las AgNPs, son excelentes agentes biocidas frente a una amplia variedad de microorganismos patógenos como virus, bacterias y hongos. Su naturaleza inorgánica les confiere una elevada estabilidad, lo que unido a su baja toxicidad para humanos, los hacen muy atractivos para su uso. No obstante, aunque la aplicación directa de estos agentes biocidas en diferentes materiales ofrece buenas actividades biocidas, su principal problema es que la efectividad decae con el tiempo, siendo su acción poco prolongada en el tiempo. Por ello, tal y como se ha discutido anteriormente, la utilización de compuestos de plata soportados en materiales inorgánicos de elevada área superficial es una de las opciones más prometedoras para mejorar su acción biocida. Estos compuestos soportados actuarían como reservorio de los agentes biocidas, prolongando su efecto y evitando la elución inmediata del agente. Pero además, hay que considerar que estos compuestos deben estar incorporados en el seno de otros materiales como cerámicas, vidrios, polímeros, pinturas, etc, los cuales no deben ver alteradas sus propiedades originales.

Entre todas las opciones descritas, las zeolitas con plata son una de las tecnologías biocidas más versátiles y prometedoras, aunque se debe profundizar en las condiciones necesarias para su aplicación y, además, se debe tener en cuenta la severa legislación existente para su aplicación específica [235], obligando a conseguir la mayor eficacia biocida empleando la mínima cantidad de plata posible. Por ello, es necesario establecer cuáles son las características que deben presentar estos materiales para conseguir la mayor actividad biocida durante el mayor periodo de tiempo posible. Esto permitiría conseguir materiales multifuncionales con propiedades biocidas que tengan una extensa vida

1.- INTRODUCCIÓN

útil, que sean seguros desde un punto de vista microbiológico, y que sean sostenibles.

2. OBJETIVOS

*“La duda es uno de los nombres de la inteligencia”
JOSE LUIS BORGES*

El objetivo de esta tesis es el desarrollo de nuevos materiales basados en metales nobles y seminobles para su aplicación en dos temas distintos relacionados con la **sostenibilidad**. En primer lugar, se aborda el uso de algunos de estos materiales para la eliminación de un contaminante inorgánico del agua mediante la reducción catalítica, es decir, se busca una aplicación dentro del campo de la catálisis ambiental. En segundo lugar, se estudia el desarrollo de materiales multifuncionales con aplicaciones biocidas, capaces de controlar un amplio rango de microorganismos patógenos.

De esta manera, el primer objetivo de esta tesis es la síntesis y desarrollo de diferentes catalizadores basados en paladio soportado y su posterior aplicación en la reacción de reducción catalítica de bromatos en agua, empleando H₂ como agente reductor. Se estudiará como influyen en la reacción diferentes variables relacionadas con el catalizador, como el tipo de precursor, la cantidad de metal o el soporte empleado. Los resultados catalíticos se analizarán y correlacionarán con las propiedades físico-químicas de los catalizadores sintetizados, realizando para ello una caracterización exhaustiva de los mismos, para poder determinar cuales son las características fundamentales que permiten obtener las mejores actividades catalíticas. Asimismo, se estudiará la cinética y el mecanismo de reacción y se evaluará la posible reutilización de los catalizadores, es decir, su vida útil.

Por otro lado, el segundo objetivo de esta tesis es la preparación de materiales multifuncionales con propiedades biocidas. Para ello se utilizarán principalmente zeolitas funcionalizadas con plata y se evaluará su actividad como agentes biocidas frente a diversas bacterias y hongos. Los materiales serán caracterizados y los resultados serán correlacionados con su actividad biocida tanto *in vitro* como *in vivo*, con el fin de determinar

2.- OBJETIVOS

las características idóneas para conseguir aditivos biocidas duraderos y efectivos. Los aditivos con mejores resultados biocidas serán incorporados en otros materiales, estudiando la actividad biocida al incorporarse a un polímero comercial o al aplicarse como recubrimiento alimenticio.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

"No hay duda que todo conocimiento empieza con la experiencia"
INMANUEL KANT

3.1. MATERIALES

En este apartado se identifican, clasifican y explican los diferentes reactivos, materiales y sustancias químicas y biológicas empleadas en el presente trabajo.

3.1.1. Gases

Los gases utilizados en esta tesis fueron suministrados por Abelló Linde S.A., siendo todos ellos de una pureza superior al 99,99%:

- Hidrógeno
- Nitrógeno

3.1.2. Líquidos

Los líquidos empleados en esta investigación fueron los siguientes:

- Agua destilada, H₂O
- Agua Milli-Q o agua ultra pura con grado de laboratorio que ha sido filtrada y purificada por ósmosis inversa, H₂O
- Agua Milli-Q Ultra pura, H₂O (Panreac)
- Acetona, C₂H₆O
- Ácido clorhídrico, HCl
- Ácido sulfúrico fumante, H₂SO₄
- Ácido nítrico, HNO₃
- Ácido fluorhídrico, HF
- Disolución de nitrato de tetraminpaladio (II), Pd(NO₃)₂(NH₃)₄ (10 % en peso en H₂O)
- ISA: disolución tamponada de ajuste de fuerza iónica, NaNO₃ 5M.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1.3. Sólidos

Las sustancias sólidas o reactivos empleados en esta tesis fueron:

- Bromuro de sodio, NaBr
- Bromato de sodio, NaBrO₃
- Acetato de paladio, Pd(CH₃COO)₂
- Cloruro de paladio, PdCl₂
- Nitrato de paladio dihidratado, Pd(NO₃)₂·2H₂O
- Alúmina, γ-Al₂O₃, 99,9%
- Fibras de carbón activo, Kynol K-20
- Nitrato de plata, AgNO₃
- Zeolita Linde Type A (LTA) de relación Si/Al = 1; Sigma-Aldrich (4A)
- Zeolita Linde Type A (LTA) de relación Si/Al = 2
 - Aluminato de sodio, NaAlO₂
 - Hidróxido de tetrametilamonio (25%), TMAOH
 - Fuente de Silice SiO₂, LUDOX-AS40
- Zeolita Linde Type A (LTA) de relación Si/Al = 5
 - Al-Sec-butóxido, Al[OCH(CH₃)C₂H₅]₃
 - Hidróxido de dietildimetilamonio (20%), DEDMAOH
 - Hidróxido de tetraetilamonio (35%), TEAOH
 - Fuente de Silice SiO₂, LUDOX-AS40
 - Cloruro de tetrametilamonio, TMACl
 - Cloruro de sodio, NaCl
- Zeolita Faujasita (FAU) de relación Si/Al = 1.2, Sigma-Aldrich, Zeolita 13X
- Zeolita Faujasita (FAU) de relación Si/Al = 2.4, Zeolyst - Zeolita Y (CBV100)
- Zeolita Faujasita (FAU) de relación Si/Al = 6, Zeolyst - (CBV712 / amónica)

- Zeolita ZSM-5 (MFI) de relación Si/Al = 16, Zeolyst (CBV3024E)
- Zeolita Chabacita (CHA) de relación Si/Al = 2
 - Zeolita Y (CBV100)
 - Hidróxido de potasio, KOH
- Zeolita Chabacita (CHA) de relación Si/Al = 16
 - Ioduro de trimetiladamantamonio
 - Resina básica de hidróxido (OH⁻)
 - Fuente de sílice SiO₂, Silica Aersosil 200
 - Hidróxido de aluminio, Al(OH)₃
 - Cloruro de sodio, NaCl
 - Fenoftaleína
- Zeolita Beta (BEA) de relación Si/Al = 13, Zeolyst (CP811)
- Nitrato de aluminio (III) nonahidratado, Al(NO₃)₃·9H₂O
- Nitrato de hierro (III), Fe(NO₃)₃
- Nitrato de zinc (II), Zn(NO₃)₂
- Hidróxido de sodio, NaOH
- Nitrato de sodio, NaNO₃
- Bicarbonato sódico, NaHCO₃
- Carbonato sódico, Na₂CO₃
- Sorbato potásico, C₆H₇O₂K
- Benzoato sódico, C₆H₅COONa
- Cloruro de sodio, NaCl
- Polipropileno (SABIC modelo 71KE71PS)
- HALS (Hindered Amine Light Stabilizers), compuestos derivados del 2,2,6,6-tetrametilpiperidina

3.1.4. Material biológico

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Para el estudio de la capacidad biocida de los materiales estudiados en esta tesis, se han empleado diferentes organismos biológicos (bacterias y hongos) y medios de cultivo han sido empleados:

- *Staphilococcus aureus* (*S.aureus*)
- *Escherichia coli* (*E.coli*)
- *Penicillium digitatum* (PD)
- *Penicillium expansum* (PE)
- *Penicillium italicum* (PI)
- *Monilinia fructicola* (MF)
- *Geotichum citri-aurantii* (GC)
- *Alternaria alternata* (AA)
- *Botrytis cinérea* (BC)
- *Rhizopus stolonifer* (RS)
- Agua de peptona como medio de cultivo (PW), según ISO/TS 11133-2:2003. Preparada con: 10,0 g de peptona, 5,0 g de cloruro de sodio, 3,5 g de Na_2HPO_4 y 1,5 g de KH_2PO_4 en un litro de agua Milli-Q.
- Triptona de soja como medio de cultivo enriquecido (TSB), compuesto por un digerido enzimático de caseína y harina de soja que proporcionan aminoácidos y otras sustancias. 1 litro de TSB se prepara a partir de 17,0 g de triptona (digerido enzimático de caseína), 3,0 g de péptico de soja, 2,5 g de glucosa, 5,0 g de NaCl y 2,5 g de K_2HPO_4 , en un litro de agua Milli-Q.
- Agar nutritivo en placa Petri. Este medio gelifica a temperatura ambiente y se compone de 0,5% de peptona, 0,3% de extracto de carne o levadura, 1,5% de agar, 0,5% de NaCl y agua destilada. Posee un pH de 6,8.
- Medio de cultivo gelificante PDA, compuesto por 0,4% extracto de patata, 2% dextrosa y 1,5% agar en agua destilada.

3.2. PREPARACIÓN DE LOS MATERIALES

Para los estudios llevados a cabo en esta tesis se emplearon diferentes materiales como zeolitas, hidrotalcitas, óxidos metálicos y fibras de carbón activo que fueron funcionalizados y/o preparados tal como se describe a continuación.

3.2.1. Síntesis de zeolitas

En esta tesis se utilizaron diferentes estructuras zeolíticas como soportes inorgánicos microporosos, siendo todas ellas silicoaluminatos, con diferente relación Si/Al. Algunas de ellas fueron sintetizadas en nuestro laboratorio, mientras que otras se emplearon en su forma comercial. Las zeolitas seleccionadas fueron:

Zeolita Linde type A (LTA): material cristalino obtenido mediante la síntesis hidrotermal de geles alcalinos [254-256]. Posee un tamaño de cristal pequeño con anillos de 4, 6 y 8 miembros (poro pequeño) y su densidad de red es de $12,9T/1000\text{\AA}$ [257]. Este tipo de zeolitas posee una estructura tridimensionales (Figura 3.1, 3.2 y 3.3) basada en ocho cajas cuboctaédricas, llamadas sodalita (caja- β), unidas por dobles anillos de cuatro miembros, que se unen entre ellas formando cavidades de elevado tamaño ($\sim 11,4\text{\AA}$), denominadas caja- α [258]. Estas supercavidades son accesibles a través de canales con diámetro de poro de $4,1 \times 4,1\text{\AA}$ [259] (Figura 3.2). Este tipo de zeolitas son empleadas como adsorbentes, tamices moleculares, en detergentes comunes y en procesos catalíticos. Su síntesis fue descrita en 1956 por Breck et al. [257-261]. Durante la elaboración de esta tesis se ha trabajado con 3 materiales LTA con diferente relación Si/Al (1, 2 y 5).

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

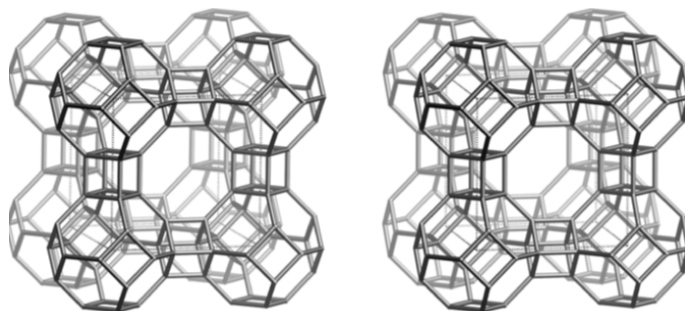


Figura 3.1: Red cristalina de la zeolita LTA vista desde $\langle 001 \rangle$ [255]

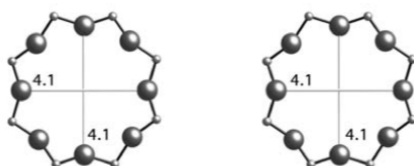


Figura 3.2: Anillos de 8 miembros de la zeolita LTA, vistos desde $\langle 100 \rangle$ [255]

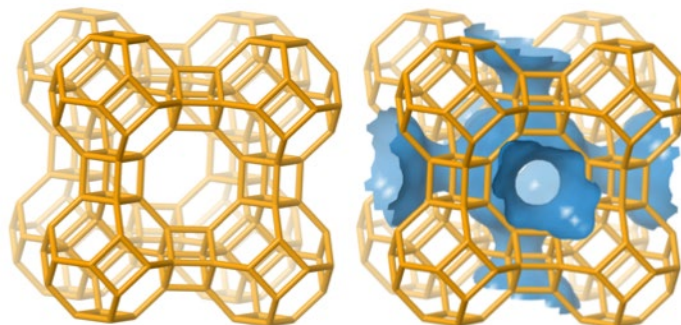


Figura 3.3: Sistema de canales y cavidades de la zeolita LTA [255]

La zeolita LTA de relación Si/Al = 1 es la única comercial (Sigma-aldrich) y se encuentra en su forma sódica, es decir, todos los cationes que compensan los defectos de carga de la estructura son cationes sodio, siendo su fórmula empírica es $\text{Na}_{96}[\text{Al}_9\text{Si}_{96}\text{O}_{384}]$ [261]. Las zeolitas LTA con relación Si/Al = 2 y 5, no se encuentran de forma comercial y fueron

sintetizadas en laboratorio siguiendo los procesos que se describen a continuación [262].

Síntesis LTA-2 (Comp. molar gel de síntesis = $1,19\text{Na}_2\text{O}:4,64\text{TMAOH}:\text{Al}_2\text{O}_3:6\text{SiO}_2:200\text{H}_2\text{O}$): Se preparó diluyendo en agua Milli-Q la cantidad necesaria de NaAlO_2 y de hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH 25%). Como fuente de silicio se tomó cierta cantidad de LUDOX-AS40 que se mezcló con la disolución anterior, generando un gel de síntesis que se mantuvo una hora en agitación para su homogenización, formándose un gel blanquecino. Pasado este tiempo, el gel se traspasó a un bote de polipropileno que se introdujo en un baño de silicona a $35\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h, y posteriormente en un horno a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 28 h. Finalmente, se dejó enfriar al aire, se filtró a vacío y el sólido resultante se lavó con agua Milli-Q y se secó a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 12 h, para posteriormente calcinarse según la rampa de calcinación de la Figura 3.4, obteniéndose la zeolita en su forma sódica.

Síntesis LTA-5 (Comp. molar gel de síntesis: $19,7\text{SiO}_2:\text{Al}_2\text{O}_3:6\text{TEAOH}:4\text{DEDMAOH}:\text{TMACl}:\text{NaCl}:342\text{H}_2\text{O}$): para su preparación se tomaron las cantidades necesarias de Al-sec-butóxido, hidróxido de dietildimetilamonio (DEDMAOH 20%) y de hidróxido de tetraetilamonio (TEAOH 35%), que se añadieron en un mismo recipiente y se agitaron durante 30 min. Tras ello, se añadió la cantidad necesaria de LUDOX-AS40 como fuente de silicio y se agitó durante una hora. Esta mezcla homogénea se traspasó a un bote de polipropileno y se introdujo en un horno a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 16 horas. Pasado dicho tiempo, se dejó enfriar y se preparó una disolución de tetrametilamonio (TMACl) y NaCl en agua Milli-Q. Se unieron ambas disoluciones y se agitaron durante 30 minutos. Pasado el periodo de homogenización, el gel de síntesis se distribuyó en diferentes recipientes de teflón de 35 mL que se encajaron en autoclaves de acero y se introdujeron en estufa a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 16 días a la presión autógena del

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

sistema. Pasado dicho tiempo, se recogió el sólido generado en las autoclaves y se lavó, para posteriormente, dejarlo secar durante 12 h en una estufa a 100 °C. Por último, se realizó una calcinación para eliminar los restos de compuestos orgánicos que pudieran existir en el sólido microporoso siguiendo la curva de calcinación de la Figura 3.4, obteniéndose la zeolita en su forma sódica.

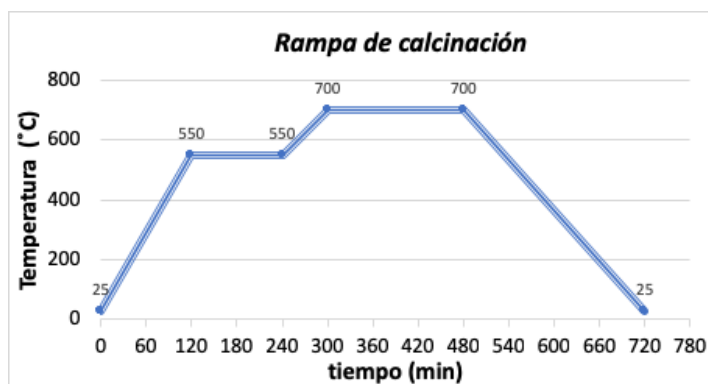


Figura 3.4: Esquema del programa de calcinación empleado en la síntesis de zeolitas

Zeolita Faujasita (FAU): esta zeolita es un aluminosilicato cristalino de poro grande formada por anillos de 12, 6 y 4 miembros (Figura 3.5). El diámetro de poro es de 7,4 x 7,4 Å (Figura 3.6) y su sistema tridimensional de canales posee una densidad de red de 12,7T/1000Å. Su estructura [263] está formada por cajas sodalita (caja β) que se unen por dobles anillos de seis miembros creando una supercavidad de 16,34 Å (Figura 3.7). Este tipo de materiales microporosos son muy empleados en la industria petroquímica como catalizadores para el proceso de craqueo e hidrocraqueo [264] y en otros procesos como la obtención de productos orgánicos de alto valor añadido [265], la producción de etileno a partir de etanol o la alquilación de isobutano con etileno [266]. Además, este tipo de

zeolita se puede encontrar en algunos yacimientos naturales junto a otros minerales.

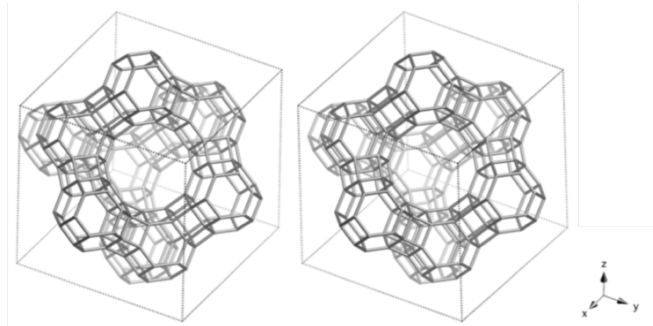


Figura 3.5: Red cristalina de la zeolita FAU vista desde $\langle 111 \rangle$ [255]

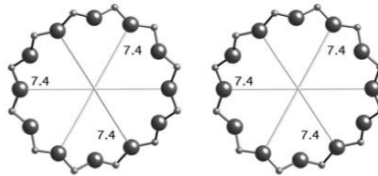


Figura 3.6: Anillos de 12 miembros de la zeolita FAU, vistos desde $\langle 111 \rangle$ [255]

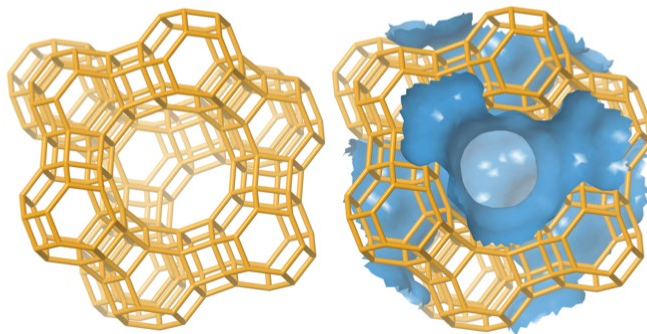


Figura 3.7: Sistema de canales y cavidades de la zeolita FAU [255]

Las relaciones Si/Al más comunes en la faujasita son las de relaciones 1,3 conocida como zeolita X, que fue sintetizada por primera vez por Broussard and Shoemaker en 1960 [263] y la de relación Si/Al=2.4 conocida como zeolita Y. En esta investigación se emplearon los materiales

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

comerciales CBV100 de Zeolyst como zeolita Y y 13X de Sigma-Aldrich como zeolita X, ambas en su forma sódica. Además, se empleó otra zeolita comercial con estructura faujasita de la compañía Zeolyst con relación Si/Al=6 en su forma amónica, la zeolita CBV712.

Zeolita Chabacita (CHA): es un material microporoso con anillos de 4, 6 y 8 miembros (Figura 3.8), es decir, una zeolita de poro pequeño [254, 255] con una densidad de red de $15,1T/1000\text{\AA}$. En la Figura 3.9 se puede observar el sistema de canales tridimensionales que poseen un diámetro de poro de $3,8 \times 3,8 \text{\AA}$, y cuya celda unidad está formada por dos cajas que comparten un anillo de 6 miembros, lo que forma grandes cavidades elipsoidales ($8,3 \text{\AA}$) [267-269]. Este tipo de estructura zeolítica puede sintetizarse con muy diversas relaciones Si/Al. Además, esta zeolitas se emplea en diferentes aplicaciones industriales, sobre todo en catálisis y adsorción, destacando su uso para la conversión de metanol a olefinas ligeras (MTO) [270] o para la síntesis de metanol a partir de metano, utilizándose en este caso la zeolita intercambiada con Cu [271].

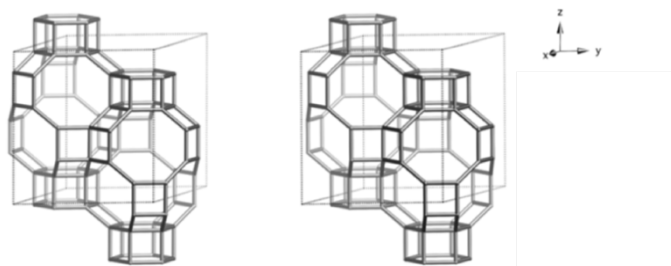


Figura 3.8: Red cristalina de la zeolita CHA vista desde $\langle 111 \rangle$ [255]

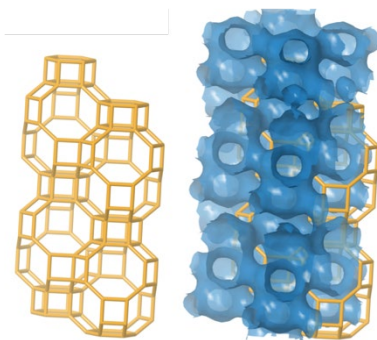


Figura 3.9: Sistema de canales y cavidades de la zeolita CHA [255]

Las chabacitas utilizadas durante esta tesis tienen una relación Si/Al de 2 y de 16 y fueron sintetizadas en laboratorio siguiendo los procesos que se describen a continuación:

Síntesis CHA-2 (Comp. molar = $0,17\text{Na}_2\text{O}:2\text{K}_2\text{O}:\text{Al}_2\text{O}_3:5,18\text{SiO}_2:244\text{H}_2\text{O}$): en su síntesis se utilizó zeolita Y (Faujasita relación Si/Al=2,4) como fuente de Si y Al. Para ello, cierta cantidad de esta zeolita fue dispersada en un volumen de agua Milli-Q y se preparó otra solución de KOH. Tras 15 min de agitación, la disolución de KOH y la dispersión de zeolita Y se mezclaron e introdujeron en un bote de polipropileno que fue llevado a la estufa de 100 °C durante 4 días. Pasado este tiempo, el sólido obtenido se lavó y se filtró a vacío, para posteriormente secarse en una estufa a 100 °C durante 12 h, obteniéndose la zeolita en su forma sódica.

Síntesis CHA-16 (Comp. molar gel de síntesis = $0,10\text{Na}_2\text{O}:0,21\text{SDAOH}:0,025\text{Al}_2\text{O}_3:\text{SiO}_2:44\text{H}_2\text{O}$): la síntesis de esta zeolita requiere de la preparación previa del agente director de estructura (ADE). Para ello se partió del yoduro de trimetiladamantamonio y se realizó un intercambio empleando una resina de OH⁻ durante 24-32 h. Una vez pasado este tiempo, la suspensión se filtró y tres alícuotas de la muestra fueron valoradas con HCl (0,1M) y fenoftaleína para detectar el grado de intercambio conseguido y conocer

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

exactamente la concentración de hidróxido de trimetiladamantamonio producido (ADE). Una vez obtenida y conocida la cantidad de ADE, se calcularon las cantidades de SiO₂ (Silica Aerossil 200), Al(OH)₃ y NaOH necesarios para la síntesis de la CHA-16. Todos estos reactivos se agitaron durante 30 min para conseguir una buena homogenización, y posteriormente se repartieron en depósitos de teflón de 35 mL que se encajaron en autoclaves de acero. Una vez cerrados, se introdujeron en un horno a 160 °C con agitación a 60 rpm durante 3 días a presión autógena. Transcurrido el tiempo de cristalización, el sólido se lavó y filtró a vacío y posteriormente, se secó en estufa de 100 °C durante una noche. Finalmente, el sólido obtenido se llevó a una mufla de calcinación con el programa descrito anteriormente (Figura 3.4), obteniéndose la zeolita microporosa en su forma sódica.

Zeolita Beta (BEA): esta zeolita sintética está formada por un híbrido de dos polimorfos de simetrías distintas, A y B, con un elevado intercrecimiento entre ellos. Ambos polimorfos presentan sistemas tridimensionales con canales de sección elíptica y perpendiculares entre sí, formados por anillos de 12 miembros, con una densidad de red de 15,3T/1000Å (Figura 3.10) [272]. Dos de los canales son perpendiculares mientras que un tercero es más sinusoidal (Figura 3.12) con tamaño de poros de 6,6 x 7,7 Å y 5,6 x 5,6 Å (Figura 3.11). Esta zeolita de poro grande es empleada en muchos procesos catalíticos como la eterificación de etilenglicol [273] o el craqueo de diferentes hidrocarburos [274]. Se puede preparar con diferentes relaciones Si/Al, pero en este trabajo se ha utilizado una zeolita BETA de relación Si/Al = 13, comercial y ácida (H⁺ como catión de compensación de carga) de la empresa Zeolyst (CP811).

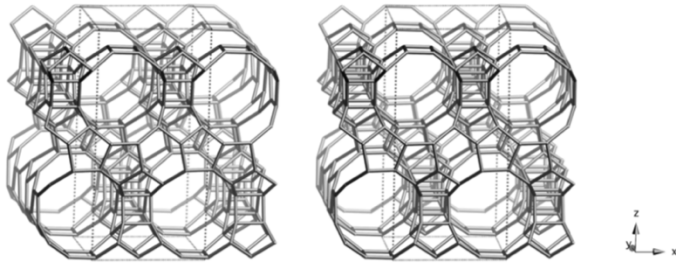


Figura 3.10: Red cristalina de la zeolita BEA vista desde $\langle 100 \rangle$ [255]

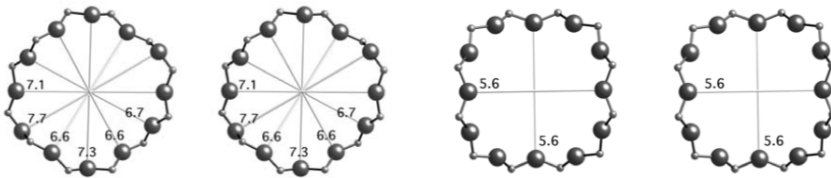


Figura 3.11: Anillos de 12 miembros de la zeolita BEA, vistos desde $\langle 001 \rangle$ [255]

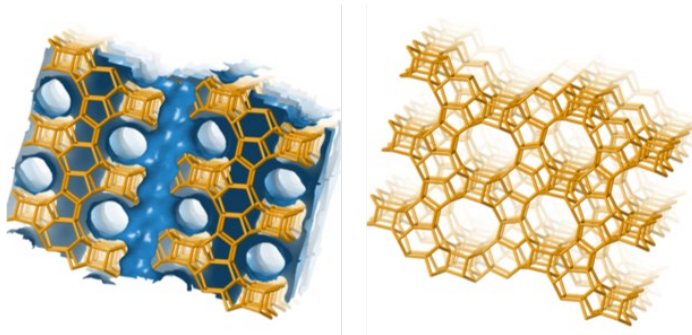


Figura 3.12: Sistema de canales de la zeolita BEA [255]

Zeolita ZSM-5 (MFI): es un material cristalino microporoso obtenido mediante síntesis hidrotérmica a altas temperaturas. Esta zeolita presenta una densidad de red de $18,4T/1000\text{Å}$ y posee anillos de 4, 5, 6 y 10 miembros (Figura 3.13), lo que permite clasificarla como zeolita de poro medio. Dentro de su estructura tridimensional con simetría ortorrómbica existen dos tipos de canales (Figura 3.15), uno lineal o recto con apertura de $5,3 \times 5,6 \text{ Å}$ y otro sinusoidal de $5,1 \times 5,5 \text{ Å}$ (Figura 3.14) [275, 276].

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Argauer y Landolt poseen la primera patente original, de 1972, para la síntesis de ZSM-5 [277]. Esta zeolita es muy empleada en petroquímica, en los procesos de obtención de gasolina a partir de metanol [278], desparafinado de destilados del petróleo [279] o para la isomerización de hidrocarburos [280]. Además, debido a su inusual hidrofobicidad, las zeolitas ZSM-5 poseen un alto potencial para ser empleadas para la separación de hidrocarburos y compuestos polares. Este tipo de estructura zeolítica se puede sintetizar con diferentes relaciones Si/Al, pero en esta tesis se ha trabajado exclusivamente con el aluminosilicato comercial de relación Si/Al = 16 de Zeolyst (CBV3024E), en su forma amónica.

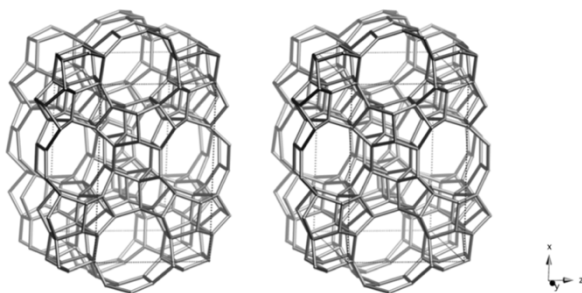


Figura 3.13: Red cristalina de la zeolita MFI vista desde $\langle 100 \rangle$ [255]

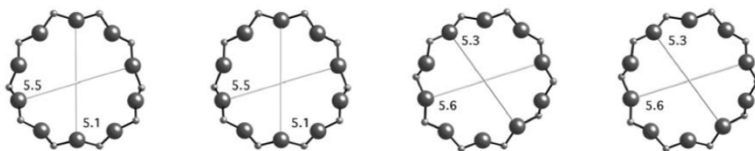


Figura 3.14: Anillos de 10 miembros de la zeolita MFI, vistos desde $\langle 010 \rangle$ [255]

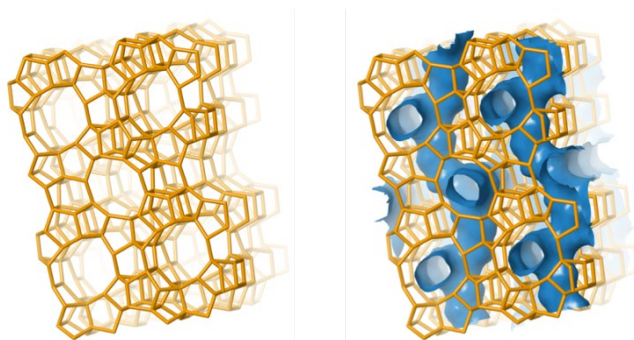
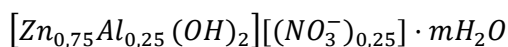


Figura 3.15: Sistema de canales de la zeolita MFI [255]

3.2.2. Síntesis de hidrotalcitas

Se prepararon dos tipos de hidrotalcitas mediante el método de coprecipitación [281, 282], una conteniendo Zn-Al y otra con Zn-Fe. La composición de las hidrotalcitas presentan la estequiometría $M_{1-x}^{II}M_x^{III}(OH)_2(NO_3)_{x/n} \cdot yH_2O$ donde el aluminio o el hierro son los metales trivalentes (M^{III}) y el zinc es el metal divalente (M^{II}).

La composición de las hidrotalcitas sintetizadas en este trabajo fue de:



La síntesis de estos materiales se realizó usando dos disoluciones diferentes, una ácida y una básica. La disolución ácida contenía las sales precursoras de los metales ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ o $Fe(NO_3)_3$ y $Zn(NO_3)_2$), con una concentración total de iones metálicos entre 2,7 y 3,0 M. Por otro lado, la disolución básica se preparó mezclando NaOH, $NaNO_3$ y agua Milli-Q. Una vez preparadas ambas disoluciones, se introdujeron en dos jeringas que fueron colocadas en una bomba perfusora, que introdujo ambas disoluciones en un reactor, en el que se mezclaron bajo agitación vigorosa

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

con un agitador de paleta. La síntesis tuvo lugar a temperatura ambiente, presión atmosférica y la velocidad de incorporación de las disoluciones fue de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Una vez mezcladas ambas disoluciones, se mantuvo la agitación durante 30 min para garantizar la homogeneidad de la síntesis y se midió el pH obteniendo un valor de 5,5. Pasado dicho tiempo, el gel blanquecino formado se introdujo en varios recipientes de polipropileno y se dejó envejecer durante 20 h en estufa a $65 \text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente, se filtró la suspensión para recuperar el sólido sintetizado y éste se lavó con agua desionizada hasta conseguir un pH neutro.

3.2.3. Modificaciones post-síntesis

Algunos de los materiales descritos anteriormente, junto con otros soportes inorgánicos como alúmina o fibras de carbón activo, fueron funcionalizados añadiéndoles ciertos metales. Esto se realizó mediante diferentes métodos:

3.2.3.1. Impregnación húmeda (catalizadores Pd/Al₂O₃)

Este método se basa en la preparación de una disolución de la sal precursora del metal que se va a añadir al catalizador y en conseguir que la misma se distribuya uniformemente sobre la superficie del soporte. Las sales precursoras utilizados fueron Pd(OAc)₂, Pd(NO₃)₂ y PdCl₂. El Pd(NO₃)₂ fue disuelto en agua, el Pd(OAc)₂ se disolvió en acetona y en el caso de PdCl₂, para conseguir una total disolución de la sal precursora se adicionaron a la disolución acuosa 5 mL de HCl concentrado (33%) por cada 0,1 g de sal a disolver. En algunos casos, las disoluciones de las sales precursoras de los metales se introdujeron en un baño de ultrasonidos

para conseguir la disgregación total de la sal. Una vez preparada la disolución del metal a depositar, ésta se introdujo en un matraz de fondo redondo que ya contenía la cantidad necesaria de soporte. Dicho recipiente se conectó a un evaporador rotatorio o rotavapor que, gracias a la ayuda de un baño termoestático y al sistema de vacío acoplado, consigue eliminar el disolvente, depositando el metal en la superficie del soporte. En todos los casos, se empleó el rotavapor hasta la casi total eliminación del disolvente, empleado temperaturas diferentes según el disolvente empleado. La eliminación completa del disolvente se realizó en estufa de 100 °C durante 8 horas aproximadamente. Pasado este tiempo, las muestras fueron calcinadas según el programa de calcinación de la Figura 3.16.

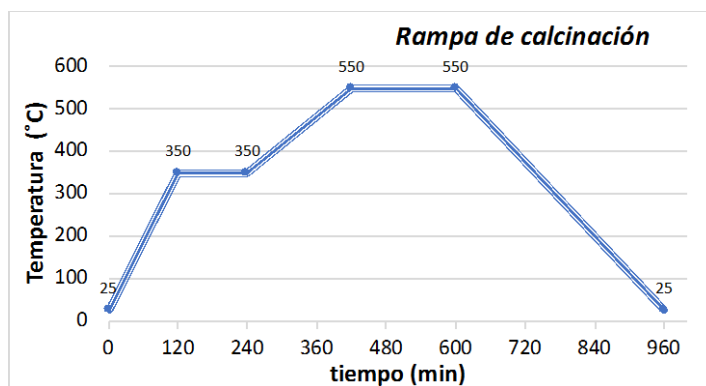


Figura 3.16: Esquema del programa de calcinación empleado

Tras esto, los catalizadores fueron activados mediante un proceso de reducción. Esto se realizó aumentando la temperatura hasta 200 °C bajo atmósfera inerte (N_2), posteriormente manteniendo esta temperatura durante 4 horas en una atmósfera reductora (H_2) y finalmente, dejando enfriar hasta temperatura ambiente utilizando atmósfera inerte (N_2). En todas las etapas, el flujo de gases fue de $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (Figura 3.17).

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

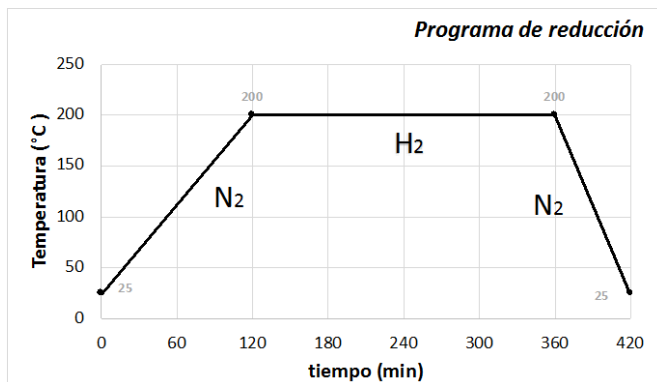


Figura 3.17: Esquema del programa de reducción

El método de impregnación húmeda fue utilizado para preparar catalizadores de Pd soportados sobre Al₂O₃. Se prepararon catalizadores con contenidos en Pd del 1; 2,5; 5 y 7% en peso y se utilizaron como precursores las sales de Pd citadas. Estos catalizadores se utilizarán en la reacción de hidrogenación catalítica de bromatos.

3.2.3.2. Impregnación a volumen de poro (catalizadores Pd/ACE)

Un segundo tipo de impregnación que también se empleó para la preparación de los catalizadores anteriores, fue la impregnación a volumen de poro. Esta técnica se basa en la preparación de una disolución de la sal precursora del metal, de tal manera que el volumen de la disolución llene todos los poros del soporte, evitando la presencia de un exceso de disolución. Las disoluciones empleadas deben de tener la concentración necesaria de la sal precursora para conseguir que el catalizador tenga la cantidad deseada de metal. Una vez impregnado, el sólido húmedo se introdujo en una estufa de 100 °C durante 8 horas para eliminar el disolvente.

Este método fue utilizado para incorporar Pd en las fibras de carbón activo (ACF) y estudiar su actividad en la reacción de hidrogenación catalítica de bromatos en agua. Previamente a la adición de la solución de la sal precursora sobre las ACFs, las fibras tejidas fueron pretratadas introduciéndolas durante 15 minutos en HNO_3 en ebullición, limpiando así la superficie de las fibras. Tras esto, las fibras fueron lavadas con agua desionizada y dejadas secar a temperatura ambiente. Una vez obtenidas las ACFs limpias y secas, se prepararon cuatro catalizadores utilizando $\text{Pd}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_3)_2$ como sal precursora del metal, para conseguir catalizadores con 5; 1; 0,5 y 0,25% de Pd en peso. Posteriormente, los catalizadores se secaron durante 12 horas a 100 °C y fueron activados durante 1 hora a 200 °C en atmósfera de H_2 . Estos catalizadores no fueron calcinados, si no reducidos a 200 °C para evitar la combustión del soporte.

3.2.3.3. Intercambio iónico (zeolitas e hidrotalcitas)

Otros de los materiales preparados fueron funcionalizados utilizando el mediante el método de intercambio iónico. Este método se basa en la preparación de una disolución acuosa de la sal precursora del catión/anión seleccionado para intercambiar. La cantidad de disolvente empleada siempre fue 100 veces mayor a la cantidad de soporte a intercambiar. La concentración de la disolución de intercambio se calculó atendiendo al grado de intercambio que se pretendía conseguir. Una vez preparada dicha disolución, se incorporó a un matraz de fondo redondo que contenía el soporte a intercambiar. Esta suspensión se dejó bajo agitación vigorosa durante 16 h a temperatura ambiente. Pasado dicho tiempo, se lavó, filtró y el sólido recuperado, se secó en estufa de 100 °C durante 12 h.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Este método fue utilizado para preparar materiales biocidas basados en zeolitas con plata o zinc y en hidrotalcitas con aniones orgánicos. Para el intercambio con plata en zeolitas, siempre se trabajó en oscuridad evitando la fotorreducción de la plata. En ciertas ocasiones, por ejemplo, en el caso de la CHA-16, y debido a sus propiedades, se realizó el intercambio a 80 °C en un sistema de reflujo con calefacción. En otras ocasiones, se realizaron intercambios dobles para conseguir el grado de intercambio o la concentración de plata deseada (CHA-2). Se emplearon cinco tipos de estructuras: LTA, FAU, CHA, MFI y BEA, con aproximadamente un 2% en peso de plata, aunque algunas de estas zeolitas (LTA y FAU) se prepararon también con distintas cantidades de plata.

El intercambio iónico también se utilizó para transformar las zeolitas amónicas o ácidas (FAU-6, MFI-16 y BEA-13) en sódicas. Para ello, se realizó un intercambio con Na⁺, previamente a la incorporación de los cationes Ag⁺, empleando una disolución saturada de NaCl durante 24 horas en un sistema de reflujo a 80 °C, consiguiendo siempre intercambios completos.

En el caso del intercambio de aniones orgánicos en hidrotalcitas, se prepararon disoluciones saturadas de las sales que contenían el anión orgánico deseado: benzoato o sorbato, y se pusieron en contacto con las hidrotalcitas. Las suspensiones permanecieron en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente, con el fin de conseguir un intercambio completo.

3.3. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

Las técnicas de caracterización utilizadas en esta tesis fueron las siguientes:

3.3.1. Análisis elemental

La técnica de análisis elemental proporciona el contenido de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre de las muestras. Esto se consigue mediante la combustión de las mismas a elevadas temperaturas (1020 °C), en oxígeno puro. De esta forma, se consigue convertir las especies orgánicas de las muestras en gases oxigenados, que posteriormente se analizan cuantitativamente mediante un detector de conductividad térmica [283].

El equipo utilizado es un analizador elemental automático Fisons EA 1108CHN-S.

3.3.2. Espectroscopia de emisión atómica

La espectroscopia de emisión atómica (ICP-AES) se basa en la emisión de radiación por parte de átomos o iones libres que se encuentran en un estado excitado. La longitud de onda de la radiación emitida es específica para cada elemento, permitiendo su identificación. Además, la intensidad de la radiación de esa longitud de onda característica es proporcional a la concentración atómica presente en la muestra, permitiendo su cuantificación.

Para poder aplicar esta técnica, la muestra debe ser sometida a una serie de procesos consecutivos de disolución, nebulización y ruptura de enlaces, para obtener átomos en estado fundamental, que posteriormente son

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

sometidos a una radiación electromagnética, generando el estado electrónicamente excitado del átomo. Cuando el átomo se relaja, el electrón vuelve a su nivel energético fundamental de forma espontánea, emitiendo radiación que es detectada por el equipo. Debido a que cada elemento posee una estructura electrónica única y característica, la detección de la radiación emitida informa sobre los elementos presentes en la muestra.

El equipamiento utilizado en la presente tesis fue un equipo Varian 715-ES formado por un nebulizador, un plasma inducido acoplado de Ar, un sistema óptico con monocromador y un sistema de detección, amplificación de señal y tratamiento de datos. Para llevar a cabo el estudio cuantitativo, es necesario realizar las rectas de calibrado para cada elemento, empleándose para ello patrones certificados.

Las muestras líquidas acuosas no precisan de ninguna etapa de preparación previa. Sin embargo, las muestras sólidas (30-50 mg) deben disolverse, para lo cual las muestras se tratan durante 24 horas con 5 mL de una solución ácida de HCl (30%v/v), HNO₃ (65%v/v) y HF (40%v/v), en proporciones volumétricas 3:1:1, y posteriormente se diluyen con agua hasta 20 mL. Pasado este tiempo de digestión o disgregación, la muestra líquida sin trazas de ningún sólido, es introducida en el equipo para su análisis.

3.3.3. Difracción de Rayos X

El fundamento de esta técnica se relaciona con el concepto de cristal, es decir, con una distribución regular en el espacio de átomos, iones o moléculas constituyentes, cuyas distancias son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de los rayos X. Esto hace que se puedan

producir fenómenos de difracción de la radiación al atravesar el material cristalino. Para la caracterización de las muestras mediante esta técnica se hace incidir un haz de rayos X variando el ángulo de incidencia, midiendo posteriormente la intensidad de los rayos difractados a cada ángulo. Cada pico o línea de difracción permite relacionar la radiación de incidencia con el espaciado interplanar de acuerdo con la ley de Bragg (*Ecuación 1*) [284].

$$\text{Ecuación 1} \quad n\lambda = 2d_{hkl} \cdot \text{sen}(\theta)$$

donde n es un número entero, d_{hkl} es el espaciado interplanar de los planos cristalinos con índices de Miller (h, k, l), λ es la longitud de onda y θ es el ángulo de incidencia del haz de rayos X.

Los difractogramas obtenidos muestran una serie de picos a distintos ángulos, con intensidades relativas diferentes que dependerán del número y del tipo de centros atómicos que existen en cada grupo de planos. El análisis cualitativo de los difractogramas se realiza comparando el difractograma de las muestras con patrones conocidos obtenidos de bases de datos cristalográficas. Así, la difracción de rayos X permitiendo la identificación cualitativa de compuestos cristalinos y con ello, la resolución de estructuras cristalinas. Esta técnica posee, además, grandes ventajas ya que no precisa de gran cantidad de muestra y es una técnica no destructiva.

En los estudios de difracción de esta tesis se midieron muestras sólidas homogéneas y en forma de polvo fino. Los difractogramas de rayos X se adquirieron a temperatura ambiente, en un difractómetro CUBIX de PANalytical empleando la geometría de Bragg-Bretano y un detector acoplado denominado X'Cellerator de PANalytical. Las condiciones de obtención de los difractogramas fueron: radiación monocromática de rayos X de la línea $K\alpha$ del Cu ($\lambda_1=1,5406 \text{ \AA}$, $\lambda_2=1,5444 \text{ \AA}$, $I_2/I_1=0,5$) con un voltaje e intensidad del tubo de 45 kV y 40 mA, un área de muestra irradiada de

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2,5 mm² y un rango de medida de 2 a 90 ° (2 θ), con un paso de 0,040°. Sin embargo, en el caso de los difractogramas de muestras zeolíticas se modificó el área de muestra irradiada (5 mm²) y el rango de medida (de 2 a 40 °), con un paso de 0,020°.

3.3.4. Análisis textural. Determinación de superficie específica

La determinación de la superficie específica y las propiedades texturales de un material se realiza mediante el estudio de los fenómenos de adsorción y desorción en un sistema gas-sólido. Para ello, se midió la cantidad de gas adsorbido en función de la presión parcial, a una temperatura fija, con lo que se denominan isotermas de adsorción. Conociendo las propiedades geométricas del adsorbato y la modelación matemática de los fenómenos superficiales que determinan los procesos de adsorción y desorción, las isotermas permiten obtener información acerca de la superficie específica o área superficial, el diámetro y el volumen de poro. En la literatura se describen 6 tipos principales de isotermas que permiten clasificar a los materiales según sus propiedades texturales [285], siguiendo las recomendaciones de la IUPAC [286].

El cálculo del área superficial se puede llevar a cabo mediante diferentes ajustes o ecuaciones matemáticas. El método Brunauer-Emmett-Teller (BET) es el más estandarizado para la determinación del área superficial, mediante la obtención del valor de la monocapa [287]. Este método asume que la superficie del sólido se considera como una distribución de lugares de adsorción en equilibrio dinámico con el adsorbente, donde la velocidad de condensación de las moléculas sobre lugares vacíos iguala la velocidad

de evaporación de las moléculas en sitios ocupados. La *Ecuación 2* describe este proceso.

$$\text{Ecuación 2} \quad \frac{p}{V(p^o-p)} = \frac{1+(c-1)}{V_m \cdot c} \cdot \frac{p}{p^o}$$

donde V es la cantidad de gas adsorbido a una presión dada, p es la presión de trabajo, p^o es la presión de saturación, V_m es el volumen de la monocapa del adsorbato y c es una constante relacionado con el equilibrio de adsorción. Estos dos últimos términos se obtienen de la representación de los datos experimentales de $p/V(p^o - p)$ frente a p/p^o . En el caso de los catalizadores basados en fibras de carbón activo y debido a su estructura, para determinar el intervalo de aplicabilidad del método BET, se aplicaron los criterios establecidos por Rouquerol [288].

Finalmente, el valor del área superficial BET se calcula a partir del volumen adsorbido en la monocapa mediante la *Ecuación 3*:

$$\text{Ecuación 3} \quad \text{Area}(BET) = \frac{V_m \cdot N_A \cdot A_m}{M}$$

donde M es el volumen que ocupa un mol de gas de adsorbato en condiciones ideales, N_A es el número de Avogadro y A_m es el área que ocupa cada molécula del adsorbato sobre la superficie del material que en el caso del N_2 , es de $16,2 \text{ \AA}^2$.

Por último, la distribución de volumen de poro y distribución de diámetro de poro se determina a partir de la isoterma de adsorción de nitrógeno, siguiendo el método desarrollado por Barret, Joiner y Halenda (modelo B.J.H.), que relaciona la cantidad de adsorbato con el tamaño medio de los poros. Además, se empleo el método t-plot para conocer el volumen de microporo [289].

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno se llevaron a cabo a una temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, en un equipo ASAP-2040 de la compañía Micromeritics. Para ello, se utilizan aproximadamente 300 mg de la muestra con una granulometría entre 0,4-0,8 mm, que fue sometida a un pre-tratamiento térmico durante 24 horas a diferentes temperaturas ($200\text{ }^{\circ}\text{C}$ ó $400\text{ }^{\circ}\text{C}$) dependiendo de la estabilidad térmica de la muestra, manteniendo un vacío de $2\cdot 10^{-3}\text{ mmHg}$.

3.3.5. Espectroscopia de reflectancia difusa en la región UV-visible

El principio de esta técnica se basa en hacer incidir una radiación electromagnética sobre un material, donde parte de la energía es absorbida por los átomos y moléculas del material, que pasan a un estado excitado de mayor energía. Para que tenga lugar dicha absorción, la energía de los fotones ha de coincidir con la diferencia de energía entre el estado fundamental y el estado excitado. Cuando la energía irradiada está en el rango UV-visible del espectro se producen transiciones electrónicas, que también llevarán asociadas transiciones vibracionales y rotacionales de menor energía. Estas transiciones electrónicas permiten determinar moléculas e iones orgánicos e inorgánicos. Por ejemplo, los iones y complejos de la mayor parte de los metales de transición, pueden ser caracterizados por esta técnica debido a las transiciones electrónicas entre los orbitales d o f.

El equipo utilizado fue un UV-Vis Cary 5000 compuesto por una fuente de radiación, un selector de longitud de onda, un portamuestra y un

detector de reflectancia difusa (Praying Mantis Harrick). Los espectros fueron tomados empleando BaSO_4 como patrón interno.

Mediante esta técnica se obtienen espectros en los que no hay una relación directa entre la intensidad de la banda (expresada como % de reflexión) y la concentración, por ello, a los resultados se les aplica la transformación de Kubelka-Munk, de forma que la función obtenida puede correlacionar la intensidad de las bandas con la concentración de las especies de las muestras.

3.3.6. Reducción termoprogramada

Esta técnica de caracterización físico-química estudia la reducibilidad de las diferentes especies de las que está compuesta la muestra analizada. La técnica aporta información sobre el tipo y el número de especies que contiene la muestra, además de identificar la temperatura de reducción para cada una de estas especies.

La técnica se basa en la cuantificación del H_2 consumido a diferentes temperaturas. El equipo utiliza un detector de conductividad térmica (TCD) para medir la cantidad de H_2 antes y después de atravesar el reactor que contiene la muestra. Los experimentos de reducción termoprogramada fueron llevados a cabo en un equipo Autochem 2910 de la empresa Micromeritics. En los análisis se emplearon entre 300-500 mg de muestra con una granulometría entre 0,4-0,8 mm. Inicialmente las muestras se trataron con un flujo de Ar durante 30 min, para eliminar posibles contaminaciones superficiales y posteriormente, se introduce una mezcla al 10 %vol. de H_2/Ar con un flujo constante de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Con el agente reductor en contacto con la muestra, la temperatura se incrementó

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

desde temperatura ambiente hasta 600 °C, empleándose una rampa de 10 °C·min⁻¹, midiendo a cada temperatura la cantidad de H₂ adsorbido.

3.3.7. Quimisorción de CO

La quimisorción de diversas moléculas simples gaseosas como es el caso del H₂ y el CO se emplea para cuantificar la superficie metálica en muestras reducidas mediante el método de la doble isoterma. Esta técnica nos proporciona información sobre el área metálica del catalizador, la dispersión del metal e incluso del diámetro medio de las partículas suponiendo geometría esférica [290, 291].

Los estudios de quimisorción llevados a cabo durante esta tesis se centraron en los catalizadores que contenían Pd, y por ello, se utilizó CO como molécula sonda, ya que la utilización de H₂ no es adecuada debido a la formación de hidruros de Pd. El equipo empleado fue un Quantachrome Autosor-1C, en el que aproximadamente 300 mg del catalizador se sitúan en un tubo en forma de U y se reducen *in situ* a 200 °C durante 4 horas. Tras esto, la muestra se enfría a 35 °C y se hace vacío para dejar limpia la superficie del catalizador. Entonces se introduce CO puro y se registra la primera isoterma de adsorción. Tras evacuar con vacío, la segunda isoterma es registrada, de forma que la resta entre estas dos isotermas será la cantidad de CO quimisorbido. El rango de presión de los estudios de quimisorción fue 0,5-11·10⁻⁴ Pa. La dispersión del Pd metálico se calculó respecto a la cantidad de CO quimisorbido suponiendo una estequiometría atómica Pd/CO = 1.

3.3.8. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X

El análisis mediante espectroscopia fotoelectrónica de rayos X aporta información sobre la composición química elemental a nivel superficial de los materiales analizados. Además, puede ofrecer información sobre la estructura electrónica o la morfología de la superficie [292]. Esta técnica se basa en el efecto fotoeléctrico producido al irradiar la muestra con fotones, logrando que los electrones salgan con una energía cinética igual a la diferencia de energía entre el fotón y la energía de ligadura.

Las medidas de XPS se llevaron a cabo con un espectrómetro SPECS equipado con un analizador Phoibos 9MCD multicanal y una fuente de radiación X no monocromática de doble ánodo (Mg/Al).

3.3.9. Espectroscopia de absorción de rayos X

La espectroscopia de absorción de rayos X (XAS) es utilizada para la determinación estructural y electrónica de materiales, y consiste en la excitación de un electrón de un nivel interno por la absorción de un fotón proveniente del rango de energía de rayos X. Cuando dicho fotón posee la energía suficiente para expulsar un electrón al infinito, este es lanzado con una energía cinética igual a la diferencia entre la energía de los rayos X incidentes y la energía de enlace del electrón excitado. Esta energía necesaria para expulsar un electrón interno se conoce como energía del borde de absorción y es característica de cada elemento. La forma y la intensidad de la banda de absorción proporcionan información del átomo absorbente.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La medida de absorción permite diferenciar dos regiones de las cuales se puede obtener diferente información:

a) *Región XANES (X-Ray Absorption Near Edge Structure)*: aporta información sobre la estructura electrónica (estados de oxidación) y la geometría local alrededor del átomo absorbente de rayos X.

b) *Región EXAFS (Extended X-Ray Absorption Fine Structure)*: aporta información sobre la geometría de coordinación, como número de átomos vecinos, longitud de enlace, así como del tamaño y forma de las nanopartículas. Para ello, se aplica la transformada de Fourier a la función EXAFS aislada y se expresa como $k^n \cdot f(k)$, donde k es el número de ondas, y n es un número entero. Empleando dicho factor se compensa la atenuación de la amplitud de la señal a valores k elevados [293]. Con ello se consigue una distribución radial en función de la distancia (R) donde cada uno de los máximos de la transformada de Fourier corresponde a uno o varios tipos de átomos vecinos a una distancia determinada, conocido como esfera de coordinación.

Para llevar a cabo estos experimentos, es necesario trabajar con fuentes de radiación sincrotrón. Un sincrotrón es un acelerador de electrones que mediante campos magnéticos consigue mantener electrones en movimiento a velocidades cercanas a la luz en un anillo circular de un perímetro de cientos de metros. Su circulación a través de dicho anillo se consigue mediante cambios en la dirección del haz de electrones empleándose electroimanes y onduladores. En cada cambio de dirección se produce una pérdida o emisión de energía por parte del haz de electrones, lo que es aprovechado para situar diferentes equipos de medida.

Todas las medidas llevadas a cabo en esta tesis se realizaron en la fuente de radiación sincrotrón ALBA-Cells en Cerdanyola del Vallés (Barcelona,

España). Dentro de este complejo, se trabajó en la línea de espectroscopia de absorción de rayos X CLÆSS (BeamLine 22). Dicha línea de experimentación emplea diversos recursos ópticos para la concentración del haz, así como para la elección de las longitudes de onda necesarias para la medida. Además, utiliza cámaras de ionización como detectores [294]. Estas cámaras se encuentran dispuestas antes de la muestra, después y tras una muestra de referencia del elemento de análisis, consiguiendo una calibración continua (Figura 3.18). La información obtenida de la muestra es analizada por comparación con muestras patrón que son medidas bajo las mismas condiciones.

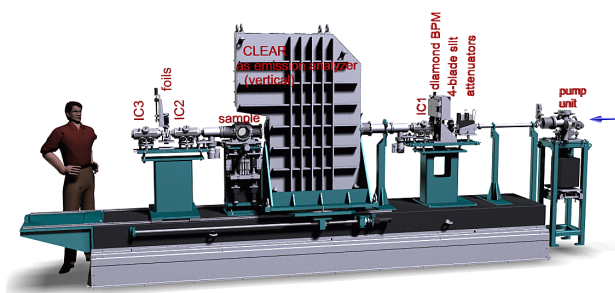


Figura 3.18: Esquema experimental de la línea CLÆSS en la fuente de luz sincrotrón ALBA

Para las medidas realizadas durante esta tesis en el sincrotrón se empleó una celda desarrollada por el Instituto de Tecnología Química en colaboración con el sincrotrón ALBA-Cells, denominada celda de reacción multipropósito [295]. Dicha celda permite realizar experimentos de absorción de rayos X en polvo en condiciones *in situ*, controlando la entrada de gases de la celda y dirigiendo su salida hacia un analizador o sistema de purga. Además, el sistema permite trabajar a diferentes temperaturas debido a su sistema de calefacción y refrigeración. En la Figura 3.19 se puede observar una imagen real de la celda de trabajo.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

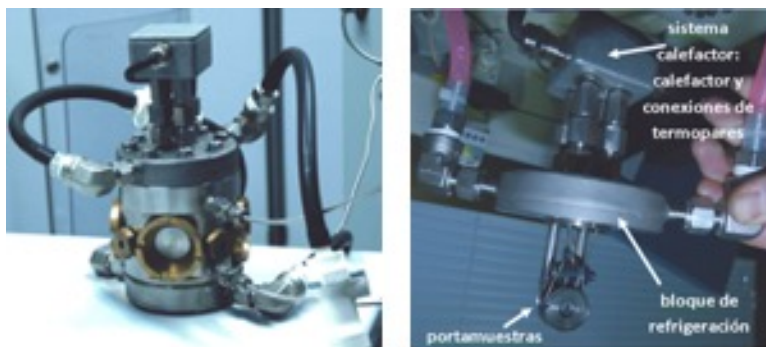


Figura 3.19: Imágenes celda sólido-gas

Para el trabajo con esta celda, cierta cantidad de los materiales estudiados junto con celulosa o nitruro de boro como diluyente fueron molturados formando una mezcla sólida homogénea que, con la ayuda de una prensa, fueron convertidos en pastillas o pellets de pequeño espesor que pudieron ser dispuestos en la celda con la concentración necesaria para tener saltos de absorción de calidad.

Asimismo, para el estudio de la reacción de eliminación catalítica de bromatos en agua se empleó otra celda también desarrollada por el Instituto de Tecnología Química junto con el sincrotrón ALBA-Cells, que permite el estudio *in situ* de reacciones en fase líquida (Figura 3.20).

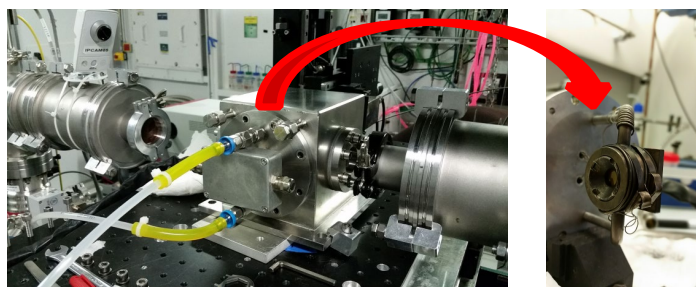


Figura 3.20: Imágenes celda sólido-líquido

En todos los experimentos y estudios realizados en la línea CLÆSS se trabajó a tres energías de absorción, relacionadas con los elementos a analizar:

- 25514 eV, energía del borde K de la Ag.
- 24350 eV, energía del borde K del Pd.
- 13474 eV, energía del borde K del Br.

3.3.10. Microscopía electrónica

La microscopía electrónica es un conjunto de técnicas basadas en la interacción de los electrones con la materia, permitiendo de esta manera obtener información de tipo estructural, así como caracterizar los defectos o incluso, la composición química de los materiales estudiados. Los microscopios electrónicos generan electrones acelerados con longitudes de onda asociadas menores a 1 Å, lo que supera los límites de los microscopios ópticos, permitiendo obtener, en teoría, resolución atómica.

Las diferentes técnicas de microscopía electrónica emplean un sistema óptico complejo que permite obtener información en función de los distintos procesos físicos de interacción del haz de electrones de alta energía (1-1500 kV) con la muestra. Esta interacción puede producir diferentes tipos de señales como: electrones secundarios, electrones retrodispersados, electrones transmitidos, electrones reflejados o electrones absorbidos, pero además, puede generar ondas electromagnéticas e incluso en muestras semiconductoras, fuerzas electromotrices (Figura 3.21). Esta información es muy variada y es posible obtenerla gracias a los distintos detectores y tipos de microscopios disponibles. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las diferentes

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

técnicas de microscopía electrónica permiten obtener únicamente información “local” o puntual, en contraposición con otras técnicas de caracterización que aportan una información media de toda la muestra. Entre los distintos tipos de microscopía existentes, en esta tesis se trabajó con:

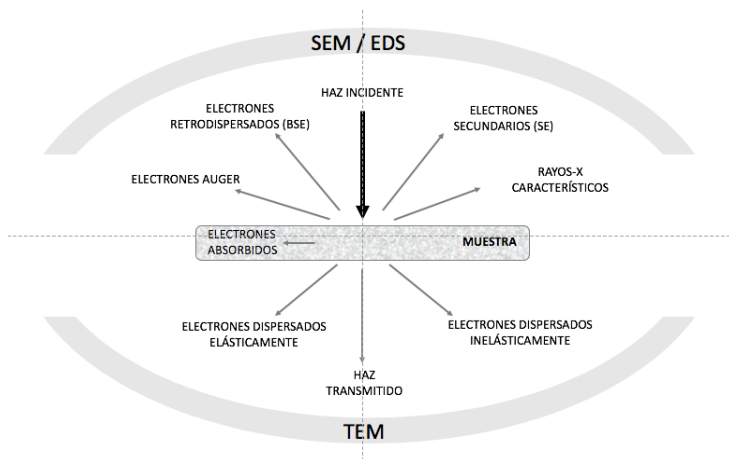


Figura 3.21: Microscopía electrónica. Diferentes procesos físicos tras la interacción del haz de electrones con la muestra

- Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM)

Esta técnica se basa en emitir electrones desde una determinada fuente, los cuales se desplazan a través de una columna que se encuentra a un vacío cercano a 10^{-7} Torr, y donde se encuentran diferentes tipos de lentes electromagnéticas (condensadores y de objetivo) que concentran dicho haz hasta conseguir un diámetro de haz casi puntual. Éste se desplaza sobre toda la superficie de la muestra, barriendo su superficie gracias a bobinas de barrido. Cuando el haz de electrones focalizado interactúa con la superficie de la muestra se generan diferentes electrones que, tras ser captados por el detector del equipo, se convierten en fotones que son

traspasados a un fotomultiplicador, y que finalmente se traducen en una imagen. En este caso se recogen exclusivamente los electrones secundarios y/o retrodispersados producidos tras la interacción del haz de electrones con la muestra. Los detectores empleados en los estudios de FESEM han sido:

- *DETECTOR DE ELECTRONES SECUNDARIOS*: los electrones primarios (haz) bombardean orbitales electrónicos de los átomos de la muestra, excitándolos. Éstos, tras relajarse, emiten electrones secundarios de menor energía mediante una interacción inelástica. Este detector proporciona la topografía de la superficie de la muestra y es utilizado principalmente para situarse en la muestra y buscar zonas de interés, pero también para estudiar la topografía del material.

- *DETECTOR DE ELECTRONES RETRODISPERSADOS*: este tipo de detector recoge los electrones retrodispersados. Estos electrones son fácilmente diferenciados de los electrones secundarios ya que poseen energías cinéticas más elevadas. El estudio de estos electrones nos proporciona información de la naturaleza de la muestra debido a que su intensidad depende del número atómico (Z), ofreciendo mayores contrastes con Z mayores.

En los estudios de esta tesis se ha empleado un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) marca Zeiss modelo Ultra 55. Este microscopio emplea como fuente de electrones un cañón de emisión de campo que proporciona haces de electrones de alta y baja energía muy focalizados, lo que permite mejorar la resolución espacial y trabajar a bajos potenciales en el rango de 0,02-5 kV, minimizando el efecto de carga sobre la muestra, e incluso evitando los posibles daños a muestras sensibles al haz electrónico.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Además, este equipo también posee acoplado un detector de energía dispersiva de Rayos X (EDS) de la marca Oxford Instruments. Este tipo de detector permite conocer la composición química de la muestra. El sistema EDS es un detector que puede ser acoplado tanto en SEM como en TEM y que estudia o detecta los fotones de rayos X emitidos por la muestra tras la interacción del haz de electrones con la superficie de la muestra. Como la energía, y por tanto, la longitud de onda de estos fotones son característicos de cada elemento, se puede conocer la composición química de la muestra estudiada, permitiendo además tener un mapa de distribución elemental de la imagen.

Para su estudio en FESEM las muestras fueron depositadas sobre un portamuestras metálico o de carbono que contiene una cinta adhesiva de doble cara, lo que permite su ajuste y la fijación de los materiales. Posteriormente, se elimina el exceso de muestra mediante aire a presión, de forma que se obtengan monocapas lo más finas posibles.

Sin embargo, la preparación y estudios SEM de las muestras que contenían material biológico no se realizó de igual manera. Las muestras con material biológico se analizaron utilizando un crio-SEM [296]. Esta técnica es esencial para la observación de especímenes húmedos o sensibles al haz de electrones, y permite su observación en estado natural, evitando encogimientos y distorsiones. Por ello, las muestras fueron colocadas en un portamuestras e introducidas en nitrógeno líquido (-196 °C). Este proceso se denomina vitrificación, y provoca una rápida conversión del agua de la muestra en un sólido cristalino amorfo sin la formación de hielo, evitando la deformación del material. La muestra se transfiere a la cámara crioestática en condiciones de vacío y de aquí, a la cámara de medida que se mantiene a -90 °C durante 20 min para evitar la condensación del agua superficial. Posteriormente, la muestra se transfiere

de nuevo a la cámara criostática donde se recubre con oro mediante pulverización catódica. Finalmente, la muestra se trasfiere a la cámara de medida para ser analizada a una tensión de aceleración de 15 kV. El equipo empleado fue un Criostage CT-1500C de Oxford Instruments acoplado a un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5410.

- Microscopía electrónica de transmisión

Esta técnica de microscopía electrónica se basa en someter a la muestra a un haz de electrones acelerados, los cuales atraviesan un complejo sistema óptico de lentes condensadoras que mejoran la coherencia y concentran el haz. Una vez el haz acelerado llega a la muestra tienen lugar procesos elásticos de dispersión e inelásticos de cesión de energía. Posteriormente, gracias a un lente objetivo situada tras la muestra, se consigue focalizar los haces dispersados transformándolos directamente en imágenes mediante lentes magnéticas. Para conseguir una mejor imagen, en los microscopios de alta resolución se trabaja con el método de selección de área donde se puede elegir el área a analizar y de la cual se obtiene la imagen final.

Así, se obtienen diferentes imágenes según el mecanismo de contraste empleado:

- CAMPO CLARO: la lente objetivo o diafragma se centra sobre el haz central o transmitido y varios haces difractados, creando una imagen de fondo claro con zonas oscuras.

- CAMPO OSCURO: en este modo se elige un haz difractado y por tanto, las zonas de donde proviene el haz difractado aparecerán brillantes sobre un fondo oscuro.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Además, algunos equipos permiten trabajar en modo STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy), que consiste en detectar los electrones transmitidos y difractados a través de la muestra mientras esta es escaneada.

El microscopio electrónico empleado en los estudios llevados a cabo durante esta tesis ha sido un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución de 200 kV, concretamente el modelo JEM 2100F de la marca JEOL. Este equipo posee una lente objetivo de “ultra alta resolución” y su haz de electrones se genera mediante un cañón de emisión de campo. Este microscopio posee diferentes detectores que le permiten trabajar en diferentes modos como STEM, campo claro y oscuro de alto ángulo, además de un detector EDS que permite efectuar un análisis elemental de las muestras, así como mapeos de las mismas.

Cabe resaltar que la realización de los estudios de microscopía electrónica precisa que la muestra sea delgada de forma que sea transparente al haz de electrones, además de representativa del total del material a estudiar. Asimismo, se ha de tener presente que cualquier método que se utilice para preparar la muestra no debe modificar ni afectar a su naturaleza ni a sus particularidades estructurales. Por todo ello, la preparación de muestras ha sido diferente dependiendo de las características de las muestras estudiadas. A continuación, se exponen los tres tipos de preparación de muestras que se han sido empleados:

- i. *Preparación normal.* Esta preparación consistió en depositar las partículas sobre una rejilla de cobre empleándose una suspensión de la muestra. Para ello, el material se molturó en un mortero de ágata intentando conseguir tamaños de partículas lo más pequeños posibles. Posteriormente, estas partículas se dispersaron en isopropanol con ayuda

de un baño de ultrasonidos. Finalmente, empleándose un cuentagotas se tomó cierta cantidad de la suspensión y dos gotas de ésta se dejaron caer sobre la rejilla de medida. Tras evaporarse el disolvente, las partículas quedan depositadas en la rejilla de TEM listas para medir.

ii. *Preparación de material biológico.* Para la preparación de las muestras biológicas (bacterias) se tomaron 60 mL de la suspensión y se centrifugaron a 6500 rpm durante 20 min, separando así el caldo de cultivo. Tras ello, se añadieron 300 μ L de agua de peptona, redisolviendo y transpasándolo a eppendorfs. Estos tubos eppendorfs se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 min, eliminando el sobrenadante. Este último paso se repitió, pero empleando 300 μ L de agar al 0,6%, consiguiendo gelificar el material y produciendo un sólido estable donde las bacterias y el material biocida se encuentran retenidos. Posteriormente, se redisolvió este sólido en una disolución tampón fosfato de pH=7,2. Una vez disuelto, se añadió una disolución de OsO₄ al 2% en tampón fosfato durante 120 min, actuando el Os como fijador y compuesto de tinción, que hace visible la materia orgánica en el microscopio electrónico. Pasadas 2 horas, se lavó por triplicado con agua destilada y se deshidrató la muestra con series graduales de acetona. Una vez deshidrata, la muestra se incorporó en una resina durante 24 horas en una mufla a 60 °C. Transcurrido dicho tiempo, se consiguió un sólido estable que se cortó en secciones de 60 nm con ayuda de un ultramicrotomo con cuchilla de diamante. Las diferentes secciones o cortes se recogieron en rejillas tipo ojal que se montaron en gradillas de TEM donde se conservaron hasta su análisis [297].

iii. *Preparación de material opaco al haz de electrones.* Debido a que algunos de los materiales no permitían la transmisión del haz de electrones, impidiendo la formación de imágenes, se llevó a cabo una modificación en la preparación de muestras. Para ello, las muestras fueron

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

llevadas a un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo con un microscopio de iones de Ga focalizados (FIB) de la marca Zeiss, modelo Auriga Compact. Estos iones Ga^+ son 130000 veces más pesados que los electrones, consiguiendo una interacción más fuerte con la muestra, pero con un nivel menor de penetración. Dicha interacción permite, enfocando y controlando el haz de iones, modificar la estructura de las muestras a escala nanométrica. De esta forma, se consiguió obtener secciones transversales ultrafinas (lamelas) de las muestras opacas, que se insertaron en una rejilla de TEM y permitieron el estudio de estos materiales (Figura 3.22).

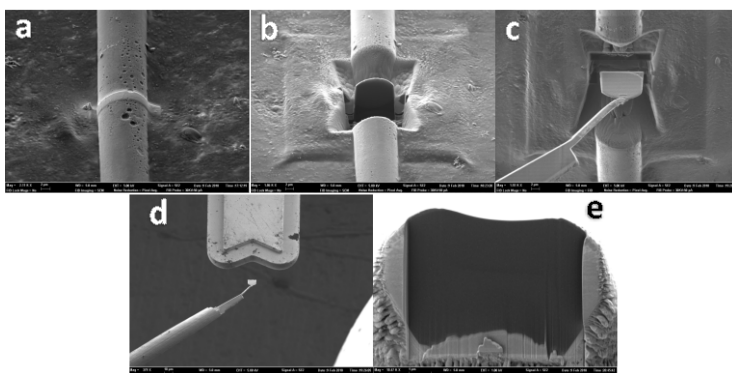


Figura 3.22: Imágenes tomadas por el microscopio de barrido acoplado a FIB durante la preparación de las lamelas (a-c: $\sim x2000$; d: $x400$; e: $x10000$)

Los pasos seguidos para la preparación de estas lamelas fueron [298]:

- i. Identificación de una zona de interés
- ii. Colocar dicha zona en la posición y altura correcta para la actuación del haz de iones Ga^+
- iii. Deposición de Pt, empleando el sistema de inyección de gases, sobre la zona de interés con una longitud de aproximadamente

15 μm , una amplitud de aproximadamente 2 μm y un espesor de entre 0,3 y 1,0 μm (Figura 3.22-a).

- iv. Corte de la sección transversal con el haz de iones. Para ello se crean hendiduras a ambos lados de la zona de la muestra recubierta (Figura 3.22-b).
- v. Empleando el micromanipulador se transfiere la lamela creada a una rejilla de TEM donde es soldada y posteriormente limpiada, para finalmente obtener una lamela que tiene de entre 150 y 200 nm de espesor (Figura 3.22-c,d,e).

3.4. ENSAYOS CATALÍTICOS

Uno de los objetivos de esta tesis es el estudio de la eliminación de bromatos en agua mediante la reacción de hidrogenación catalítica y el procedimiento experimental asociado al mismo se describe en este apartado.

3.4.1. Condiciones de reacción

El estudio de la actividad de diferentes tipos de catalizadores para la reducción catalítica de bromatos en agua se ha llevado a cabo en un reactor discontinuo de tanque agitado.

La reacción de estudio es una reacción multifásica, por lo que el reactor requiere la presencia, contacto e interacción de varias fases durante toda la reacción [299], siendo necesario conseguir un sistema lo más homogéneo posible mediante una agitación adecuada.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El reactor discontinuo empleado durante esta investigación fue un reactor de vidrio de 1 L equipado con un agitador de paleta de teflón, tal como se muestra en la Figura 3.23. El sistema de reacción estaba equipado con un difusor de gases por donde se introduce el gas reductor o la mezcla de gases necesaria. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y a presión atmosférica.

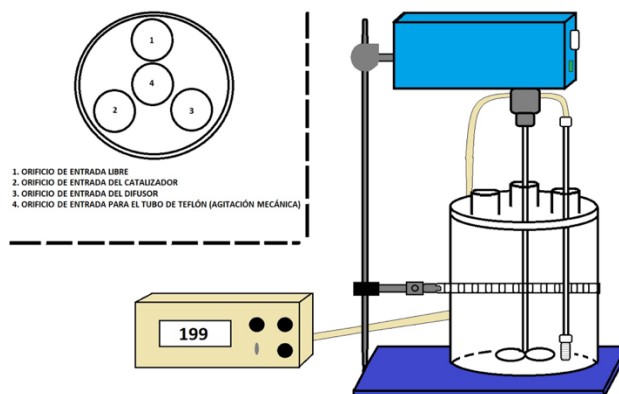


Figura 3.23: Esquema del sistema del reactor discontinuo de tanque agitado utilizado

Los ensayos se realizaron utilizando 600 mL de una disolución de bromatos con una concentración determinada (normalmente 50 ppm). Antes de reacción esta disolución fue hidrogenada durante 2 horas para saturarla de H_2 . Tras ello, se añadía el catalizador (entre 50 y 500 mg) y se mantenía el flujo del agente reductor (normalmente $250 \text{ mL } H_2 \cdot \text{min}^{-1}$) con una agitación constante cercana a 900 rpm. Con el fin de determinar la concentración de bromatos y bromuros y con ello, el avance de la reacción, se tomaron alícuotas de la reacción (aprox. 4mL) a distintos tiempos. Para este propósito se empleó una jeringa equipada con un filtro, evitando el arrastre del catalizador en las extracciones.

Acabada la reacción, el catalizador se recuperó mediante filtración y posterior secado en estufa a 100 °C durante 12 h.

3.4.2. Sistemas de detección y análisis

Para el análisis de los reactivos y productos se utilizaron dos tipos de sistemas de detección, uno basado en el empleo de técnicas electroquímicas (electrodo selectivo de bromuros) y otro basado en técnicas cromatográficas (cromatografía iónica).

- Electrodo selectivo de iones

Los electrodos selectivos de iones (ISE) son una herramienta analítica para determinar de forma rápida, directa y no destructiva la actividad iónica de las muestras en disolución. Se puede trabajar con dos tipos de electrodos: combinados o semiceldas. En esta investigación se han utilizado electrodos combinados donde el electrodo de medición y el electrodo de referencia se combinan en un único sensor (Figura 3.24). La diferente concentración de iones a ambos lados de la membrana selectiva genera una diferencia de potencial que se puede relacionar con la concentración del ion a analizar. Esto se realiza a través de la ecuación de Nerst (*Ecuación 4*), donde E es el potencial corregido del electrodo, E^0 es el potencial en condiciones estándar, R es la constante de los gases ideales, T es la temperatura, n es la cantidad de moles de electrones que participan, F es la constante de Faraday y Q es el cociente de reacción [300].

$$\text{Ecuación 4} \quad E = E^0 - \frac{RT}{nF} \cdot \ln(Q)$$

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

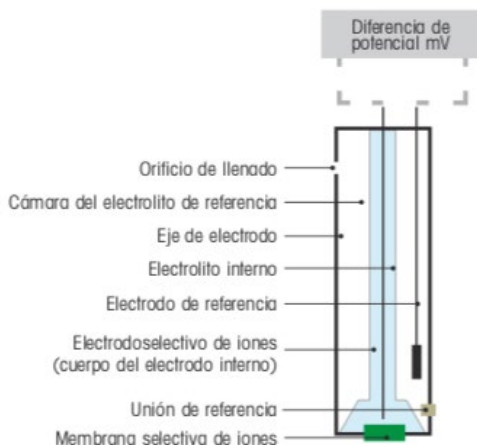


Figura 3.24: Esquema electrodo selectivo de iones

Este sistema fue utilizado para determinar la evolución de los bromuros que se iban formando durante el transcurso de la reacción. La forma de medirlos fue una determinación directa. Tras realizar una curva de calibración con diferentes soluciones, se miden las muestras problema y se determina la concentración de las mismas. En todas las disoluciones medidas, se adicionaron 2 mL de una disolución estándar (ISA) para aumentar la fuerza iónica de las disoluciones y minimizar los errores.

- Cromatografía iónica

El término cromatografía es el nombre genérico otorgado a un amplio rango de procesos físico-químicos de separación [301]. La cromatografía consigue la separación de los componentes de mezclas complejas lo que, acoplado a un dispositivo de detección, permite analizarlos y cuantificarlos. Los compuestos se separan en base a la distinta velocidad de desplazamiento cuando son arrastrados por una fase móvil (eluyente) a través de una fase estacionaria que suele estar retenida en una columna [302].

Específicamente, la cromatografía iónica fue introducida por Small, Stevens and Baumann en 1975 [303] como una nueva técnica analítica para la detección y determinación de iones. La cromatografía iónica se basa en la separación de iones a través de una columna de intercambio iónico donde los analitos son más o menos retenidos según su carga eléctrica y su tamaño. El equipo utilizado ha sido el modelo 883 Basic IC Plus de la marca Metrohm equipado con una columna Metrosep A Supp 5 y un detector de conductividad, junto con un sistema de supresión química (Figura 3.25). La columna utilizada se encuentra rellena por alcohol polivinílico y grupos amonio cuaternarios, que logra la retención de aniones inorgánicos y algunos orgánicos, permitiendo trabajar en rangos de pH entre 3 y 12. A la salida de la columna existe un detector de conductividad eléctrica para analizar los iones eluidos. Además, el sistema posee un dispositivo de supresión química previo al detector de conductividad que, mediante un intercambio catiónico, sustituye todos los cationes de la muestra por protones, evitando así la aparición de picos cromatográficos relacionados con los cationes que pueden enmascarar las señales de los analitos de interés (aniones), mejorando así la sensibilidad de la técnica.

Para llevar a cabo los análisis, se preparan dos disoluciones diferentes. Por un lado, el eluyente compuesto por una disolución tampón $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ (3,2mM/1mM), y por otro lado, una disolución 0,28 M de H_2SO_4 que regenera las columnas de intercambio catiónico. Además, el equipo consta de una bomba HPLC que empuja el eluyente junto con la muestra a través del sistema, y una bomba peristáltica que hace fluir la disolución ácida a través del supresor para su regeneración. Para los análisis, se inyectaron 20 μL de la muestra problema, trabajando con un flujo de $0,7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y presiones inferiores a 15 MPa, obteniendo cromatogramas de 17 min, tiempo suficiente para que todos los analitos de

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

las muestras analizadas pasen por el sistema de detección a diferentes tiempos de retención. Para determinar la concentración de los analitos es necesario realizar calibrados para cada uno de los aniones analizados. Con este equipo se determinó la concentración de bromatos y bromuros en la disolución problema, realizando calibrados en el rango de 0 a 50 ppm, para lo que se utilizaron patrones certificados. En el *anexo I* aparece un ejemplo de los cromatogramas obtenidos a distintos tiempos de reacción, donde se puede apreciar la evolución de los reactivos (bromatos) y de los productos (bromuros) a lo largo de la reacción.



Figura 3.25: Cromatógrafo iónico

3.5. ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOCIDA

El segundo de los objetivos de esta tesis es la preparación de materiales con actividad biocida frente a diferentes microorganismos como hongos y

bacterias. En este apartado se describe el procedimiento experimental asociado a este estudio.

3.5.1. Efecto bactericida. Determinación de la concentración mínima inhibitoria

Para determinar la actividad bactericida de los materiales estudiados se realizaron ensayos *in vitro* donde se evaluaron los valores de la concentración mínima inhibitoria (MIC) respecto al crecimiento bacteriano. La MIC se define como la concentración mínima de la sustancia biocida que impide el crecimiento bacteriano. De esta forma, cuanto menor es el valor de la MIC, mayor es el efecto bactericida. El valor de la MIC dependerá del tipo de bacteria estudiada, del medio de cultivo empleado y de las condiciones del ensayo [304, 305].

En esta tesis se estudio la MIC de acuerdo con el método de macrodilución en caldo [306]. Para ello, se prepararon por triplicado tubos de ensayo con suspensiones de los materiales de estudio en dos caldos de cultivo, triptona de soja (TSB) y agua de peptona (PW) a diferentes concentraciones: 1; 0,1; 0,3; 0,03 y 0,003%, además de una muestra control solo con el caldo de cultivo y sin la adición del material bactericida. Estos tubos se inocularon con *Escherichia coli* CECT 516 o *Staphylococcus aureus* CECT 240, en fase exponencial tardía obteniendo una concentración final de 1×10^5 UFC·ml⁻¹. Todos los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 h. Pasado el primer periodo de incubación, se tomó 1 mL de cada una de las muestras y se realizaron diluciones decimales seriadas. Preparadas las disoluciones, 1 mL de cada una de éstas se sembraron en placas con agar. Tras la incubación de dichas placas durante 24 h a 37 °C, se realizó el

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

recuento de las colonias, pudiéndose determinar el valor de la MIC por comparación con los resultados de las muestras control [304, 305].

También se realizaron estudios *in vivo* incorporando la sustancia biocida en un material polimérico, específicamente polipropileno (SABIC modelo 71KE71PS). Para dicha incorporación en el seno del polímero se empleó la técnica de mezclado para conseguir una adecuada distribución de todos los elementos sin la aparición de segregaciones. Para realizar estas mezclas se utilizó un mezclador intensivo interno por cargas (Figura 3.26), que consiste en dos cámaras cilíndricas conectadas, en las que el material se va deformando por acción de unos rotores en movimiento y la temperatura (20 - 500 °C). Las condiciones de trabajo fueron 5 minutos de mezclado a 180 °C con una velocidad de 50 rpm, empleando siempre una masa total de 40 g, condiciones idóneas para trabajar con polipropileno sin degradar dicho polímero.

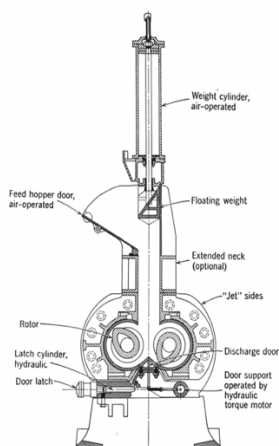


Figura 3.26: Dibujo esquemático de la mezcladora interna intensiva por cargas

Tras esto, la mezcla fundida se extrajo con ayuda de espátulas y se dejó enfriar. La argamasa amorfa producida se colocó en una prensa hidráulica con regulador de temperatura, donde se crearon planchas lisas de 5x5 cm,

empleando para ello moldes cuadrados de un espesor de 2,1 mm. Las planchas se dejaron durante 2 minutos a 200 °C dentro de la prensa hidráulica, pasado dicho tiempo, se extrajo el molde y se introdujo en agua fría, donde la mezcla se solidificó (proceso denominado “*quenching*”) obteniendo una plancha lisa.

La preparación de estas planchas es necesaria para poder determinar la actividad biocida de estos materiales según la normal JIS Z 2801:2010 (ISO 22196:2007). Esta norma es utilizada específicamente para la determinación de la efectividad antimicrobiana de superficies no porosas, como es el caso de los plásticos. Este método se basa en inocular 400 μL de una suspensión bacteriana (*S.aureus*) preparada en caldo nutritivo diluido (1/500), con una concentración de 2,5 a 10×10^5 céls/ml, sobre la plancha de polímero. Posteriormente, una lámina de polietileno se coloca encima para forzar el contacto del medio con la plancha a evaluar. Tras 18-24 horas de incubación a 37 °C y una humedad relativa superior al 90%, se toma una muestra del inóculo y se llevan a cabo diluciones decimales seriadas con posterior siembra en una placa Petri con agar. Tras 24 horas, se realiza el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC). El poder bactericida según esta norma se define según el valor R, que se obtiene a partir del logaritmo decimal del cociente entre las $\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ de la muestra control transcurridas 24 horas y las $\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ de la muestra problema transcurrido el mismo tiempo. Este valor R nos informa de la capacidad biocida de cada muestra, considerándose como materiales biocidas aquellos con $R \geq 2$. La eficacia biocida de los materiales también se puede evaluar con el porcentaje de reducción de las UFC, comparada con una muestra control.

3.5.2. Efecto fungicida. Parámetros de crecimiento fúngico

Los estudios *in vitro* de la actividad fungicida se llevaron a cabo evaluando el porcentaje de inhibición en el crecimiento de algunos de los hongos fitopatógenos más comunes en frutas y verduras. Estas evaluaciones se realizaron pasados 2, 6, 7 u 8 días de incubación a 25 °C en humedades relativamente altas, dependiendo de la velocidad de crecimiento de cada una de las especies fúngicas. Para ello, se prepararon suspensiones de tres concentraciones diferentes, 0,05; 0,1 y 0,5% en peso del material biocida, empleando como disolvente un caldo de cultivo acuoso compuesto por patata, dextrosa y agar (PDA), que fue calentado hasta ebullición e introducido en un autoclave durante 30 min a 120 °C para su esterilización. Posteriormente, éste se depositó en placas Petri de 9 mm cubriendo por completo la superficie de la placa y dejándolas enfriar. Una vez solidificado el medio, debido a la gelificación del agar, las placas fueron inoculadas de dos formas diferentes dependiendo del hongo. Por un lado, *Monilinia fructicola* (MC), *Alternaria alternata* (AA) o *Geotrichum citri-aurantii* (GC) fueron inoculados empleando discos de 5 mm de diámetro de una colonia ya crecida de entre 7 y 14 días de antigüedad. Sin embargo, *Penicillium digitatum* (PD), *Penicillium italicum* (PI), *Penicillium expansum* (PE), *Botrytis cinerea* (BC) o *Rhizopus stolonifer* (RS) fueron inoculados mediante la deposición de 4 mL de una suspensión de esporas de 1×10^5 esporas·mL⁻¹ en el caso de PD, PE y PI, y de 1×10^3 esporas·mL⁻¹ en el caso de BC y RS. Además, se prepararon muestras control donde no se incorporó material biocida. Por cada hongo y concentración de material biocida se realizaron cuatro replicas o placas. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico (*Ecuación 5*), donde d_c es el diámetro

medio de la colonia de hongo en las muestras control y d_t es el diámetro medio de la colonia de hongo en las placas con material biocida [307, 308].

$$\text{Ecuación 5} \qquad \frac{d_t - d_c}{d_c} \cdot 100$$

Por otro lado, se realizaron estudios *in vivo* de la capacidad fungicida de algunos de los materiales de estudio en naranjas y ciruelas. Las naranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) empleadas fueron de las variedades *Valencia*, *Barnfield*, *Ortanique* y *Nadorcot* (dependiendo de la temporada en la que se realizaron los ensayos) que fueron infectadas con *Penicillium digitatum* (PD). Las ciruelas (*Prunus salicina* Lindl.) utilizadas fueron de la variedad *Friar* infectadas con *Monilinia fructicola* (MF). Para ello, cierto número de estos frutos fueron artificialmente inoculados con cada hongo específico (Figura 3.27) realizando una herida en el ecuador de la corteza o piel con un punzón de acero inoxidable con una punta de 1 mm de ancho y 2 mm de largo, que previamente había sido sumergido en una disolución del hongo con una densidad de inóculo de 10^5 esporas·mL⁻¹ de PD y 10^3 esporas·mL⁻¹ de MF.



Figura 3.27: Inoculación del hongo en naranjas

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Un día después de la inoculación del hongo, la herida fue sometida a algunos de estos diferentes tratamientos:

- Disposición de una gota de una suspensión acuosa de los diferentes materiales biocidas de estudio (Figura 3.28).



Figura 3.28: Aplicación gota acuosa en la herida infectada de una naranja

- Disposición de una gota de una emulsión de un recubrimiento comestible junto con el material biocida de estudio, directamente en la herida de la fruta. El recubrimiento comestible está basado en una mezcla de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC; 1.2%), cera de abeja (BW; 3.5%) y el material biocida de estudio (1.0 o 2.0%) suspendido en agua. Además, se empleó cierta cantidad de glicerol y ácido esteárico para plastificar y emulsionar la formulación, siendo las relaciones HPMC-glicerol y BW-ácido esteárico de 2:1 y 5:1 respectivamente [180].
- Recubrimiento manual de la misma emulsión de recubrimiento comestible sobre toda la corteza de la fruta, no solamente en la herida con el patógeno (Figura 3.29).



Figura 3.29: Recubrimiento manual de la formulación comestible

En todos los casos, las frutas ya inoculadas y tratadas se dejaron durante 7 días en cámaras de incubación a 20 °C y con una humedad relativa del 90%. Pasado este tiempo, el efecto antifúngico de los materiales de estudio fue evaluado atendiendo a como se minimizaba:

- La incidencia del patógeno: evaluado mediante el porcentaje de piezas de fruta que habían sido infectadas
- La severidad del patógeno: evaluada midiendo el diámetro de la lesión que produce el patógeno
- La esporulación del patógeno: evaluando el porcentaje de piezas de fruta donde había aparecido esporulación
- Los efectos fitotóxicos: determinando los posibles efectos visuales en la fruta, como manchas o cambios de coloración

Para poder evaluar estos parámetros, se realizaron estudios idénticos sobre frutas sin tratamiento biocida, que se denominan muestras control. Éstas muestran el crecimiento y actuación normal del patógeno cuando no se ha aplicado ningún tratamiento antifúngico. Además, todos los estudios

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

o tratamientos fueron realizados por triplicado en series de 10 piezas de fruta, es decir, 30 frutas por tratamiento.

3.5.3. Estudios estadísticos

Debido al elevado número de replicas, todos los datos obtenidos fueron evaluados estadísticamente [309]. Para llevar a cabo estos estudios estadísticos se empleó el software Statgraphics 5.1 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA). Las principales diferencias fueron determinadas mediante el test de las menores diferencias significativas de Fisher o test LSD de Fisher (LSD, $P < 0,05$) aplicado tras el análisis de la varianza (ANOVA).

3.5.4. Estudios de lixiviación

Para llevar a cabo los estudios de lixiviación de las sustancias biocidas se tomó como referencia el trabajo de H. Liu et al. [310] pero modificando las condiciones de trabajo para que éstas fueran lo más similares posibles a nuestros estudios.

En primer lugar, se evaluó el poder de lixiviación del material biocida, preparando suspensiones de 100 ppm en agua de peptona (PW), que se mantuvieron durante un día completo en estático y a temperatura ambiente. Posteriormente y cada cierto tiempo, se extrajo muestras de esta suspensión y se midió el contenido del agente biocida disuelto mediante ICP-AES, se evaluó el poder de lixiviación de cada material.

En segundo lugar, se analizó el poder de liberación del agente biocida cuando se encontraba incorporado en un material polimérico. Estos estudios se realizaron siguiendo la norma JIS Z 2108:2010 descrita en el

apartado 3.5.1, pero sin incorporar bacterias en el caldo de cultivo. Transcurrido el tiempo que establece la norma para evaluar el poder bactericida, se tomaron muestras y se analizó el contenido de agente biocida en las mismas. Además, debido a su bajo contenido fue necesario emplear la espectroscopia de absorción atómica en cámara de grafito (GFAAS) para determinar su concentración, ya que esta técnica tiene un límite de detección inferior al ICP-AES.

3.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

4. ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

"Nunca reconocemos el valor del agua hasta que el pozo está seco"
THOMAS FULLER

El primer objetivo de esta tesis es el estudio de la eliminación catalítica de bromatos en fase acuosa. En el presente capítulo se estudia la actividad catalítica y las características físicas, químicas y estructurales de diversos catalizadores, utilizados en la reducción catalítica de bromatos empleando hidrógeno como agente reductor y trabajando a temperatura ambiente y presión atmosférica.

Los catalizadores estudiados en este capítulo emplean Pd como especie activa, soportada sobre alúmina y fibras de carbón activo. Se ha escogido el Pd como metal activo por su elevado poder hidrogenante y porque el estudio bibliográfico previo demuestra que es uno de los metales más activos para el tipo de reacción de estudio. Los catalizadores se han preparado a partir de diversos precursores y se ha analizado como influye en su actividad catalítica el contenido en Pd y algunas variables de reacción, buscando la optimización del proceso. Los materiales preparados se han caracterizado exhaustivamente para correlacionar sus propiedades físico-químicas con los resultados catalíticos.

En este capítulo se expondrán los resultados más relevantes de esta investigación. Estos resultados han sido discutidos en dos subapartados según el soporte utilizado. Así, el primer apartado tratará sobre los catalizadores basados en Al_2O_3 , mientras que el segundo tratará sobre los catalizadores basados en fibras de carbón activo (ACFs).

4.1. Catalizadores basados en Pd/ Al_2O_3

En este apartado se ha estudiado la actividad de diversos catalizadores de Pd soportado sobre alúmina para la reducción catalítica de bromatos, y se ha analizado como afecta el método de preparación, las características

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

de los catalizadores y ciertas variables de operación en la actividad catalítica del sistema [109, 311, 312].

La Al_2O_3 se ha seleccionado como soporte por su disponibilidad, bajo coste, estabilidad hidrotérmica y elevada área superficial [313]. Entre todas las fases cristalinas o polimorfos estructurales metaestables del óxido de aluminio se ha optado por la $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$. La estructura de la $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ es una espinela cúbica en la que los átomos de O están dispuestos en un empaquetamiento cúbico compacto, y los átomos de Al ocupan sitios octaédricos y tetraédricos [314], lo que la hace muy adecuada para soportar especies catalíticamente activas.

Los estudios catalíticos se han llevado a cabo empleando catalizadores preparados con distintos precursores de Pd y con distinto contenido de metal activo. Asimismo, las propiedades físicas, químicas y texturales de todos los catalizadores preparados han sido estudiadas para determinar cuáles son las características necesarias para obtener un catalizador activo para la eliminación de bromatos mediante su hidrogenación catalítica en fase acuosa.

4.1.1. Influencia del contenido en Pd

El estudio de la influencia del contenido en Pd en la actividad catalítica se realizó con catalizadores preparados con cloruro de paladio (PdCl_2) como sal precursora. La sal fue incorporada mediante impregnación húmeda en rotavapor, seguida de un secado, una calcinación y una activación mediante un proceso de reducción (ver apartado: *Impregnación húmeda*). De este modo, se prepararon catalizadores con contenidos teóricos de Pd de 7 %, 5 %, 2,5 % y 1 % en peso. Los catalizadores fueron

caracterizaron durante las diferentes etapas de su preparación para determinar la evolución de las especies formadas. La nomenclatura utilizada en este estudio para nombrar a los distintos catalizadores ha sido $x\%Pd/Al_2O_3(y)$, donde x es el porcentaje teórico de Pd incorporado y donde y es la etapa del tratamiento, pudiendo ser “*ap*” tras la impregnación, “*calc*” tras la calcinación y “*red*” tras la reducción. Así por ejemplo, $7\%Pd/Al_2O_3(calc)$ es el catalizador calcinado que contiene un 7% de Pd sobre Al_2O_3 .

4.1.1.1. Caracterización de los catalizadores

Se realizó un estudio de la composición química de los catalizadores mediante ICP-AES, tras la calcinación y la reducción de los mismos, es decir, tras ser activados. Los valores obtenidos pueden observarse en la Figura 4.1, mostrando contenidos de Pd experimentales muy similares a los contenidos teóricos, por lo que se puede asegurar que el procedimiento de preparación es adecuado.

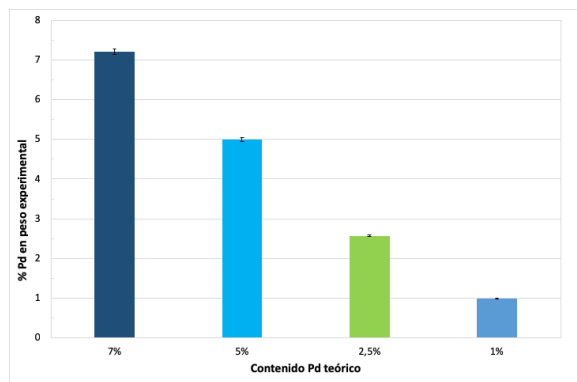


Figura 4.1: Porcentaje en peso de Pd de los catalizadores soportados sobre $\gamma-Al_2O_3$

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

El estudio de las propiedades texturales de estos catalizadores se llevó a cabo mediante la adsorción-desorción de N_2 , mostrando isothermas tipo III, características de sólidos no porosos o macroporosos. Como se puede observar en la Figura 4.2, la mayor parte del N_2 se adsorbe cerca de la presión de saturación ($p/p^0=1$) en todos los casos, sin presentan “Punto B” característico de la formación de monocapas [286].

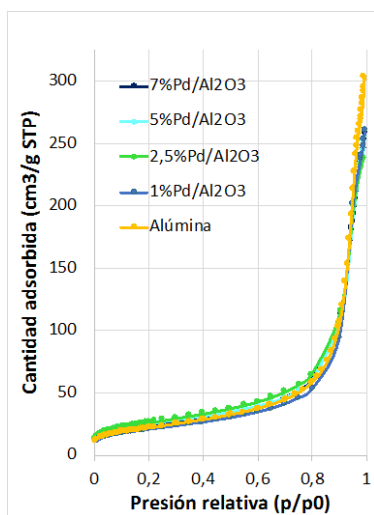


Figura 4.2: Isothermas de adsorción de N_2 del soporte (Al_2O_3) y de los catalizadores con diferente contenido en Pd

Las áreas superficiales de estos catalizadores aparecen en la Tabla 4.1, en la que se pueden observar ciertas diferencias entre los distintos materiales. Así, las áreas superficiales de los catalizadores que tienen más de un 1% de Pd son mayores a los del soporte original. Este resultado es extraño y en principio se esperarí lo contrario, pues la adición de un metal a un soporte suele disminuir su área superficial. Sin embargo, esto puede explicarse debido a que, tal y como se ha descrito en el apartado *Impregnación húmeda*, cuando se utiliza $PdCl_2$ como sal precursora es necesaria la incorporación de HCl para lograr la total disolución de la sal. La adición del ácido puede alterar la superficie del soporte, provocando un

aumento del número de defectos, y por tanto, de su área superficial. Esto fue comprobado al someter a la Al_2O_3 a un tratamiento con HCl, observándose que tras este proceso el área superficial de la misma aumenta aproximadamente en un 20% (Tabla 4.1). El catalizador con un menor contenido en Pd (1% en peso) no precisó de la adición del ácido para la disgregación de la sal precursora y por ello, la superficie del soporte no aumenta, sino que se observa una leve disminución de la misma, debido a la incorporación del Pd. En cambio, en el resto de los catalizadores donde se añadió HCl para la disolución de la sal, el área superficial es superior a la de la alúmina original, aunque inferior a la de una alúmina tratada con ácido, y como cabe esperar, ésta disminuye al aumentar el contenido en Pd del catalizador.

Tabla 4.1: Contenido en Pd (% - ICP-AES,) área superficial (BET) y área externa (t-plot) de los catalizadores Pd- Al_2O_3

CATALIZADOR	% Pd en peso	Área superficial BET (m^2/g)	Área externa t-plot (m^2/g)
Al_2O_3 (Catalox-SASOL)	-	80	81
Al_2O_3 +trat. ácido	-	96	95
1%Pd/ Al_2O_3	0,98	76	73
2,5%Pd/ Al_2O_3	2,57	95	86
5%Pd/ Al_2O_3	4,99	92	78
7%Pd/ Al_2O_3	7,15	87	77

Por otro lado, se realizó un estudio de DRX de los distintos catalizadores durante las distintas etapas de preparación, mostrándose los resultados en las Figura 4.3, 4.4 y 4.5, lo que permitió conocer las fases que se encuentran presentes en el catalizador en cada etapa. Como cabe esperar, en todos los difractogramas la fase predominante es la asociada a la $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, cuyos picos principales aparecen a $2\theta = 37^\circ, 46^\circ, 62^\circ$ y 67° (JCPDS: 00-010-0425) [315], mientras que las especies relacionadas con el Pd evolucionan durante las

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

distintas etapas de preparación del catalizador. Así, tras la impregnación con el precursor PdCl_2 (Figura 4.3), aparte de la alúmina, aparecen ciertos picos de difracción por debajo de $2\theta = 30^\circ$, que corresponden a la formación de la fase $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS: 00-084-0453) [316]. Esta nueva fase se forma debido a la reacción del soporte con el HCl añadido para asegurar la completa disolución de la sal precursora de Pd y es la que hace que aumente el área superficial del soporte, al aumentar el número de defectos en su superficie.

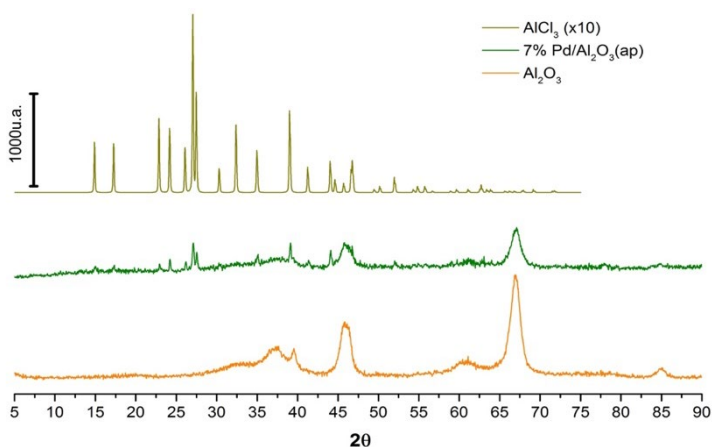


Figura 4.3: Difractogramas de rayos X de 7%Pd/ Al_2O_3 (ap), del Al_2O_3 y de AlCl_3

Tras la calcinación en aire (Figura 4.4) desaparecen estos picos, apareciendo nuevos picos de difracción a $2\theta = 34^\circ$, 42° , 55° , 60° y 71° que indican la presencia de PdO (JCPDS: 00-006-0515) [317]. Tras la reducción en atmósfera de H_2 (Figura 4.4), estos picos desaparecen, apareciendo en su lugar nuevos picos a $2\theta = 40^\circ$, 47° , 68° y 82° (JCPDS: 00-005-0681) [318]. Estos picos se asignan, según la literatura, a Pd metálico con estructura cristalográfica cúbica centrada en las caras (fcc) [109].

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

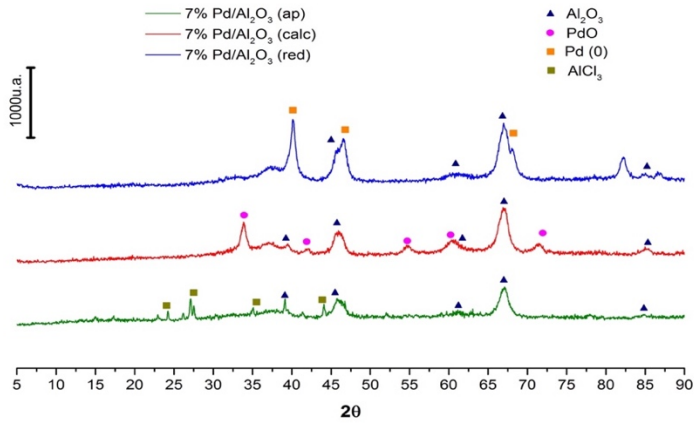


Figura 4.4: Difractogramas de rayos X de 7%Pd/Al₂O₃ en las distintas etapas de preparación

En todos los catalizadores preparados a partir de PdCl₂ se observó una evolución idéntica de las especies de Pd durante las diferentes etapas de preparación y activación, siendo la única diferencia destacable entre ellas, la intensidad de los picos asociados al paladio. La Figura 4.5 muestra los difractogramas de todos los catalizadores reducidos, observando en todos ellos los picos de difracción correspondientes al Pd metálico a $2\theta = 40^\circ, 47^\circ, 68^\circ$ y 82° (JCPDS: 00-005-0681). Como es lógico, se observa un aumento en la intensidad de estos picos al incrementar el contenido de metal incorporado [109].

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

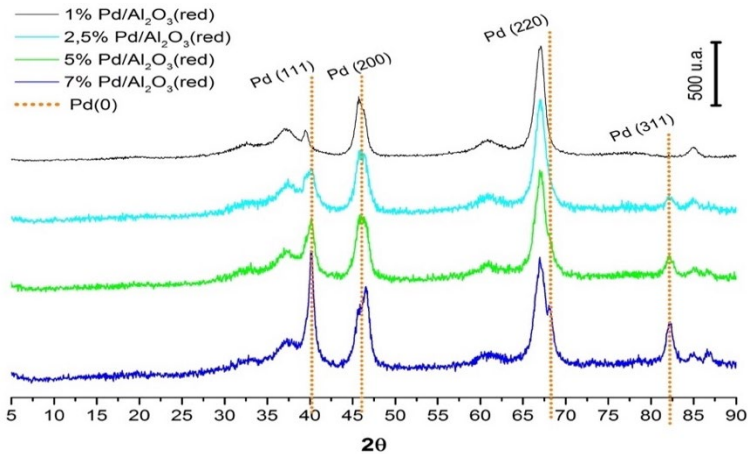


Figura 4.5: Difractogramas de rayos X de los catalizadores Pd/Al₂O₃ tras la reducción

La dispersión del Pd sobre el soporte inorgánico en los distintos catalizadores se determinó mediante quimisorción de CO (Figura 4.6). Los resultados obtenidos muestran una relación inversamente proporcional entre el porcentaje en peso de Pd de los catalizadores y la dispersión metálica. Así, el aumento en el contenido metálico de los catalizadores supone una disminución en la dispersión metálica, lo que a su vez se puede relacionar con un incremento en el tamaño de partícula de Pd (Figura 4.6.). Así, el catalizador con un 7% de paladio presenta una dispersión metálica próxima al 13,7%, con un tamaño de partícula medio de 8,2 nm, mientras que el catalizador con un 1% de Pd presenta una dispersión metálica del 45,5%, con un tamaño de partícula de 2,5 nm. En cualquier caso, en todos los catalizadores, el paladio aparece en forma de nanopartículas, ya que, el tamaño medio de todas las partículas metálicas de paladio es inferior a 10 nm en todos los casos.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

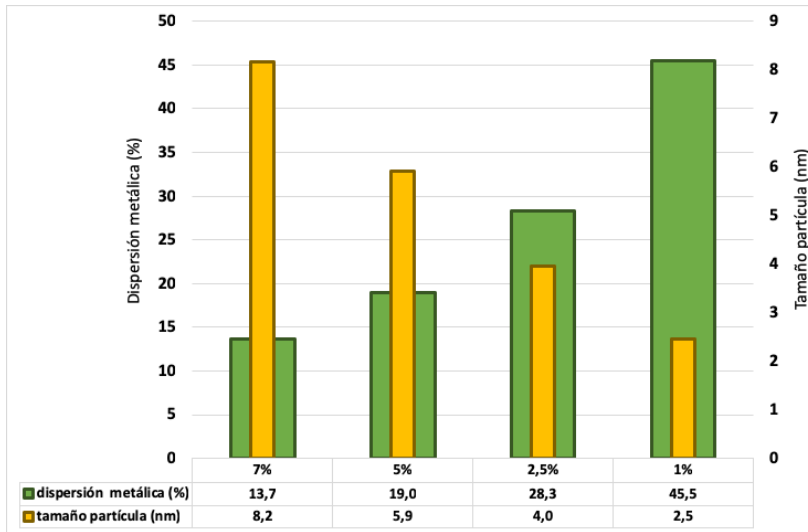


Figura 4.6: Dispersión metálica y tamaño de partícula de los catalizadores Pd/Al₂O₃, medido por quimisorción de CO

Los catalizadores también fueron caracterizados por microscopía electrónica (FESEM+EDS), y los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.7. Las imágenes tomadas a mismos aumentos muestran morfologías muy similares en todos los catalizadores, independientemente del contenido en Pd de éstos. La morfología de las partículas de estos catalizadores puede ser descrita como amorfa, ya que no se corresponde con ninguna figura geométrica reconocible, sino que es completamente irregular.

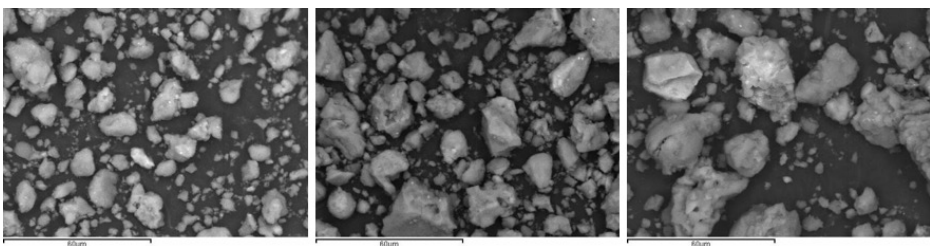


Figura 4.7: Imágenes FESEM catalizadores 2,5% (izq.), 5% (ctro.) y 7% (der.) Pd sobre Al₂O₃

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Asimismo, se realizó un estudio de la distribución de los diversos elementos presentes en el catalizador durante las diversas etapas de su preparación y activación. Las Figura 4.8, 4.9 y 4.10 muestran los mapeos de los diversos elementos en las distintas etapas de preparación del catalizador 7%Pd/Al₂O₃. Inicialmente, se observa una distribución homogénea del Pd sobre la superficie del soporte, distribución que se mantienen uniforme durante todas las etapas de preparación. Junto a él y sobre todo en el catalizador tras la impregnación (Figura 4.8), aparecen átomos de Cl provenientes de la sal precursora del metal o incluso del ácido empleado para la disgregación del PdCl₂. Tras la calcinación y, sobre todo tras la reducción, el contenido en Cl disminuye considerablemente, aunque no se consigue eliminar totalmente. Por último, como cabía esperar, la distribución de Al y O no se ve alterada durante la preparación y activación del catalizador.

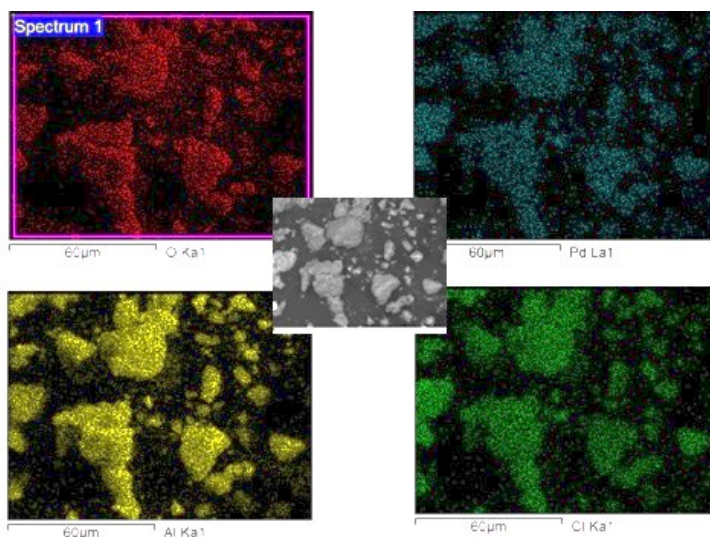


Figura 4.8: Imagen FESEM del catalizador 7%Pd/Al₂O₃(ap) y mapeo mediante EDS de los elementos O (rojo), Al(amarillo), Pd (azul) y Cl (verde)

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

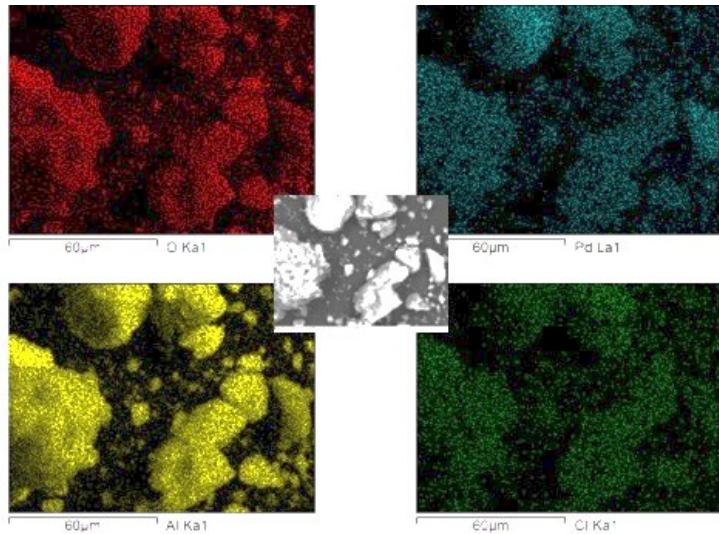


Figura 4.9: Imagen FESEM del catalizador 7%Pd/Al₂O₃(calc) y mapeo mediante EDS de los elementos O (rojo), Al(amarillo), Pd (azul) y Cl (verde)

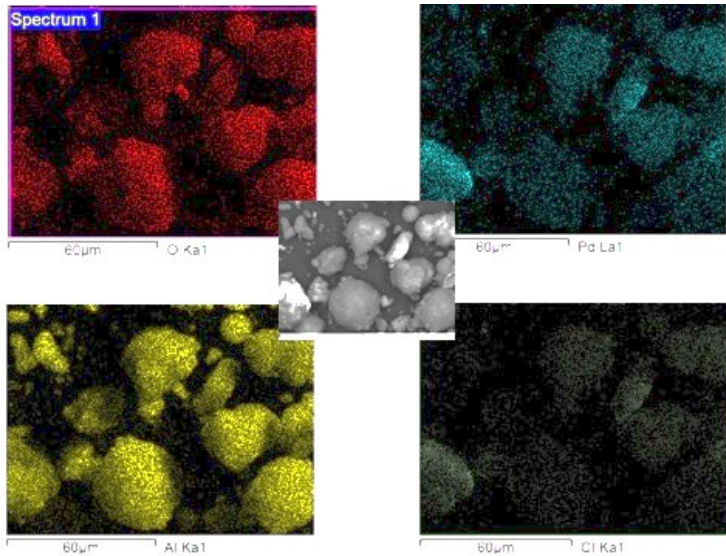


Figura 4.10: Imagen FESEM del catalizador 7%Pd/Al₂O₃(red) y mapeo mediante EDS de los elementos O (rojo), Al(amarillo), Pd (azul) y Cl (verde)

El análisis mediante EDS de diversas zonas de los catalizadores, permitió, también, determinar la composición química de éstos. Dichas

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

composiciones se muestran en la Tabla 4.2 y son la media aritmética de los resultados obtenidos en diversas zonas de análisis para un mismo catalizador. Tal como se observa, los contenidos en Pd de todos los catalizadores son próximos al valor teórico y a su vez, al valor determinado por ICP-AES. Asimismo, se observó que en todos los casos, aparecían restos de Cl, siendo mayores cuanto mayor era el contenido en Pd incorporado. Esto es lógico pues el Cl puede venir tanto del HCl utilizado para disolver el precursor, como de los átomos de Cl de la propia sal precursora (PdCl_2) y ambos aumentan al incrementar el contenido en Pd. Tras calcinar, y sobre todo tras reducir, el contenido en Cl disminuye notablemente. Así, en el catalizador con un 7% Pd se observa un contenido en Cl de 11,6 % tras la impregnación de la sal, disminuyendo este valor hasta un 2,2% al calcinar y a un 1,0 % tras la reducción. Estos datos ponen de manifiesto que la eliminación de todos los átomos de Cl es muy complicada y no se consigue su eliminación completa tras su calcinación a 550 °C, ni tras su reducción a 200 °C.

Asimismo, la comparación de los resultados de composición química obtenidos mediante EDS y ICP-AES pone de manifiesto que existe una buena dispersión del metal sobre el soporte, ya que el contenido de paladio determinado por una técnica *bulk* (ICP-AES) y por una técnica puntual (EDS), ofrecen resultados muy similares.

Tabla 4.2: Contenido en Pd medido por ICP-AES y composición química medida por EDS (% en peso) de los catalizadores

CATALIZADOR	% Pd ICP-AES	% Pd EDS	% Cl EDS	% Al EDS	% O EDS
1%Pd/Al₂O₃ (red)	1,0	1,0	0,1	43,5	55,3
2,5%Pd/ Al₂O₃ (red)	2,6	2,7	0,4	42,0	55,1
5%Pd/ Al₂O₃ (red)	5,0	4,8	0,6	40,0	54,6
7%Pd/ Al₂O₃ (red)	7,1	6,5	1,0	44,2	48,0
7%Pd/ Al₂O₃ (calc)	-	6,4	2,2	43,0	50,4
7%Pd/ Al₂O₃ (ap)	-	6,3	11,6	37,0	45,3

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Los diferentes catalizadores fueron también analizados empleando la microscopía electrónica de transmisión (TEM). Esta técnica permitió observar las nanopartículas de Pd soportadas y determinar la distribución de tamaño de partícula del metal. Como se puede observar en las Figura 4.11, 4.12, 4.13 y 4.14 las distribuciones de tamaño de partículas de los catalizadores con más de un 1% de paladio se encuentran centradas en la media y responden bastante bien a un modelo campana de Gauss típico. Sin embargo, el catalizador con 1% de Pd es el único que posee una distribución algo más irregular, estando la mayor parte de las partículas centradas alrededor de 1-3 nm. Se observa también claramente que un aumento en el contenido en Pd conlleva un incremento del tamaño medio de partícula del metal.

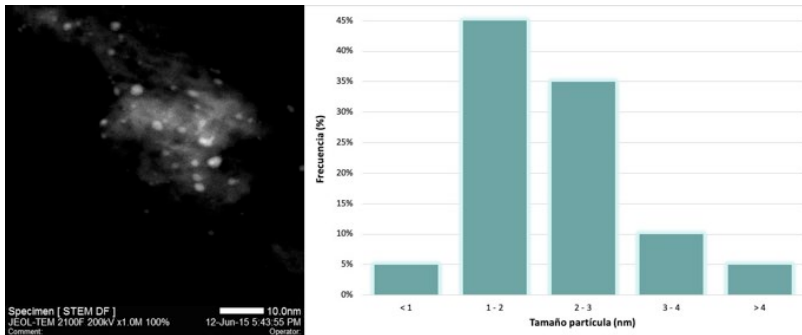


Figura 4.11: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃ y distribución de tamaño de partícula

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

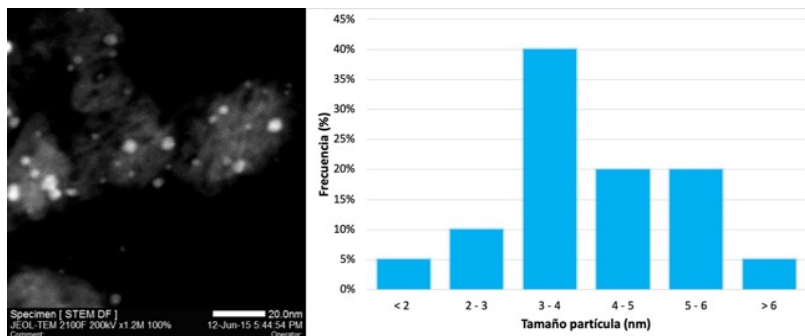


Figura 4.12: Imágenes STEM del catalizador 2,5%Pd/Al₂O₃ y distribución de tamaño de partícula

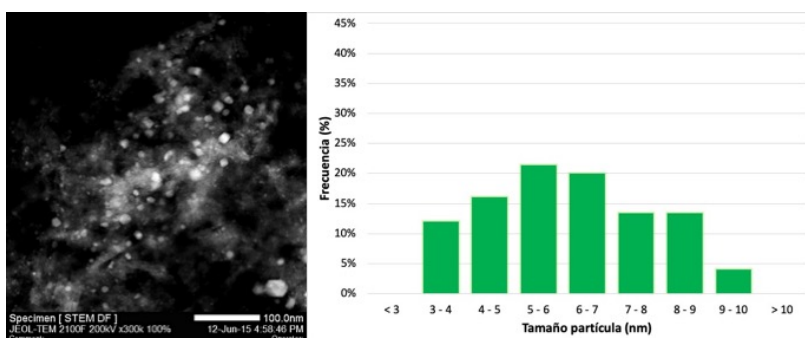


Figura 4.13: Imágenes STEM del catalizador 5%Pd/Al₂O₃ y distribución de tamaño de partícula

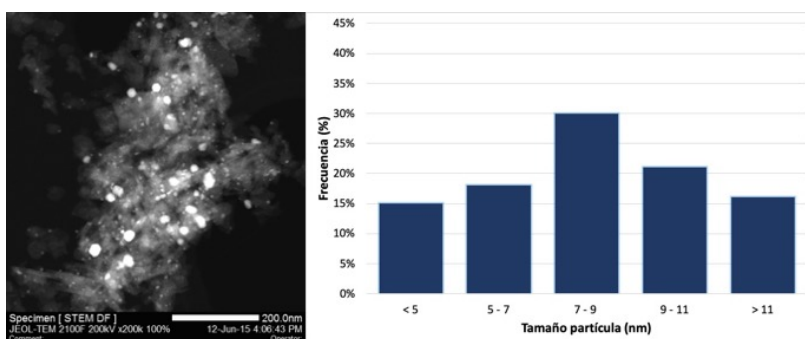


Figura 4.14: Imágenes STEM del catalizador 7%Pd/Al₂O₃ y distribución de tamaño de partícula

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Para obtener el valor medio del tamaño de las nanopartículas de Pd en cada uno de los catalizadores se empleó la media geométrica, ya que matemáticamente aporta un menor peso a los valores extremos. Los resultados obtenidos se reflejan en la Figura 4.15 y concuerdan con los obtenidos mediante quimisorción de CO (Figura 4.6). A partir de estos datos se puede determinar la dispersión de metal en los diferentes catalizadores. Así, la dispersión se calculó utilizando el diámetro ponderado área-volumen (Ecuación 6) para una población de 100 partículas en cada catalizador [109, 137, 291]. Los resultados se muestran también en la Figura 4.15 y las tendencias observadas son, de nuevo, similares a las obtenidas mediante quimisorción de CO, evidenciando una relación inversamente proporcional entre el tamaño de partícula y la dispersión metálica.

Ecuación 6

$$d_{VA} = \frac{\sum_i n_i d_i^3}{\sum_i n_i d_i^2}$$

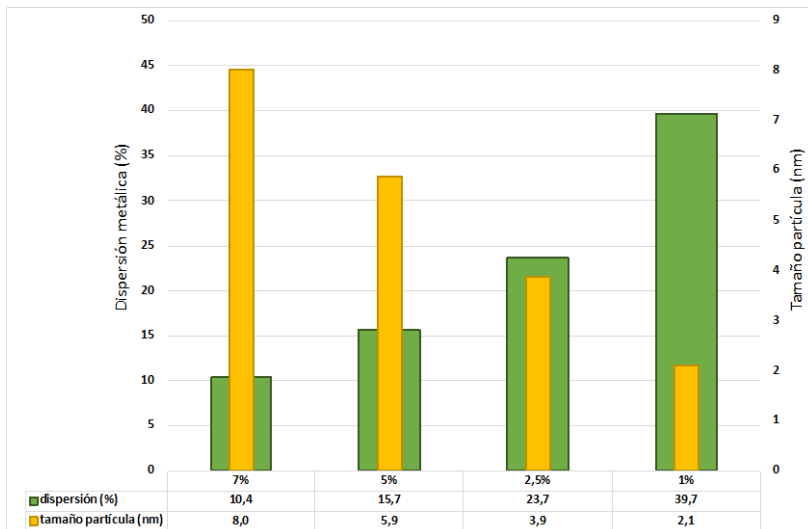


Figura 4.15: Dispersión metálica y tamaño de partícula de los catalizadores Pd-Al₂O₃, medido por TEM.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Si se comparan estos valores con los obtenidos en otros trabajos [109] con catalizadores basados en $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ y Pd incorporado a partir del PdCl_2 , los diámetros medios de partícula obtenidos en esos trabajos (5%Pd \rightarrow 10,2 nm y 1%Pd \rightarrow 6,7 nm) son bastante superiores a los obtenidos en nuestro estudio. Esta diferencia puede ser debida a que la activación del catalizador se realizó en condiciones diferentes, utilizando en el mencionado trabajo una temperatura superior de reducción, lo que puede generar una aglomeración de las partículas metálicas, y por tanto, un mayor tamaño de partícula y una menor dispersión metálica sobre el soporte [141].

4.1.1.2. Actividad catalítica

Se evaluó la actividad catalítica de estos catalizadores en la reacción de reducción de bromatos en agua utilizando H_2 como agente reductor y trabajando a presión atmosférica y temperatura ambiente.

Previamente a este estudio, se realizaron ensayos en blanco sin emplear ningún tipo de catalizador, es decir, se estudió la reacción de reducción no catalítica empleándose H_2 como agente reductor (reacción química no catalizada). Esta reacción ofreció conversiones de bromatos cercanas al 23 % tras 5 horas de reacción, resultados similares a los obtenidos por O. Soares et al. [143] en esta reacción, aunque empleando diferentes condiciones de reacción. Además, se observa que durante este ensayo en blanco todos los bromatos eliminados fueron convertidos en bromuros lo que permite asegurar que no existen especies intermedias, o que si existieran, su tiempo de vida es tan breve que es imposible su detección (Figura 4.16). Estos resultados también permiten asegurar que la

selectividad del proceso es completa, siendo indiferente hablar de conversión o de rendimiento.

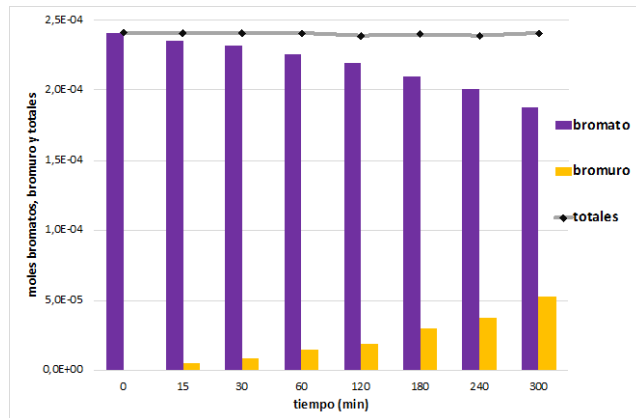


Figura 4.16: Moles bromato y bromuro a distintos tiempos de reacción (no catalítica)

Los resultados de esta reacción no catalítica se han comparado con los obtenidos cuando se introdujo en el medio el soporte sin el metal incorporado. Tal y como se observa en la Figura 4.17, los resultados obtenidos fueron idénticos a los de la reacción no catalítica, indicando que la alúmina no es activa en esta reacción y que no adsorbe a los bromatos y los bromuros presentes en el medio de reacción.

Asimismo, se analizó la actividad de un catalizador con paladio previamente a su activación, es decir, sin sufrir el tratamiento de reducción, observándose también en este caso que el catalizador no es activo, obteniendo de nuevo conversiones muy similares a las de la reacción no catalítica. Estos ensayos permiten afirmar que ni la alúmina ni el Pd oxidado catalizan la reacción de estudio. Además, se observó de nuevo que la cantidad de moles de bromatos que desaparecen se corresponden con la cantidad de bromuros que se generan, lo que permite afirmar que no existe una adsorción significativa de bromatos sobre el soporte y que la selectividad a bromuros es completa.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Sin embargo, cuando el catalizador utilizado había sido activado con H_2 a $200\text{ }^\circ\text{C}$, se observó una actividad muy importante, indicando que se está catalizando la reducción de los bromatos a bromuros, siendo el H_2 el agente reductor. Estos hechos permiten concluir que las especies de Pd formadas tras la activación son las especies catalíticamente activas. Así, y según el estudio previo de DRX, sería el Pd(0) la especie necesaria para que la reacción de reducción catalítica de bromatos en fase acuosa tenga lugar a presión atmosférica y temperatura ambiente.

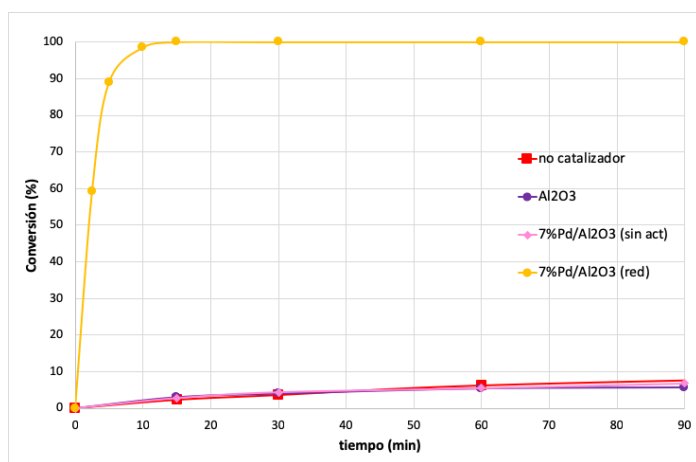


Figura 4.17: Reacción de reducción de bromatos en agua empleando H_2 como agente reductor sin catalizador, con $0,05\text{g Al}_2\text{O}_3$, con $0,05\text{g } 7\%\text{Pd/Al}_2\text{O}_3$ (sin activar) o con $0,05\text{g } 7\%\text{Pd/Al}_2\text{O}_3$ (red) activado (50 ppm bromatos , $0,6\text{ L}$, T_{amb} y P_{atm})

Para comprobar que los resultados anteriores no estaban influenciados por posibles problemas de transferencia de materia [141, 319, 320], que son frecuentes cuando se emplean sistemas de tres fases, se repitió la reacción anterior utilizando diferentes velocidades de agitación. Como se puede observar en la Figura 4.18, la actividad aumenta al pasar de 600 a 900 rpm , obteniéndose la máxima conversión a esta velocidad de agitación. Esto indicaría que velocidades de agitación inferiores conllevan problemas de difusión externa, mientras que velocidades de agitación superiores

conducen a la formación de vórtices en el reactor, que impiden el contacto adecuado entre las diferentes fases del sistema sólido-líquido-gaseoso disminuyendo, la actividad del catalizador. Por ello, en todos los estudios catalíticos se utilizó una velocidad de agitación cercana a 900 rpm, tal como se propone en otros estudios previos similares [111].

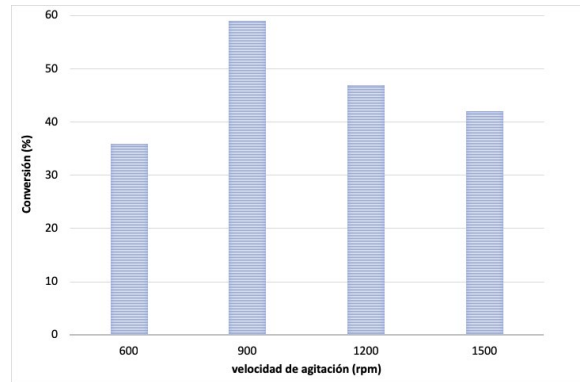


Figura 4.18: Conversión de bromatos tras 2,5 min de reacción a diferentes velocidades de agitación (50 ppm BrO_3^- iniciales, 0,05 g catalizador 7%Pd/ Al_2O_3 (red), 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})

La actividad de los diversos catalizadores con distinto contenido de Pd se muestra en la Figura 4.19. En todos los casos, la totalidad de los bromatos que reaccionan se reducen a bromuros y como cabría esperar, se observa que la velocidad de reacción aumenta con el contenido en Pd. De esta forma, se consigue la eliminación completa de los bromatos a los 15 minutos con el catalizador que contiene un 7% de Pd, mientras que son necesarios 180 minutos de reacción para que el catalizador con un 1% de Pd alcance la conversión completa de los bromatos. Esto es lo que cabría esperar ya que, a mayor contenido en Pd existe un mayor número de especies activas disponibles para que tenga lugar la reacción.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

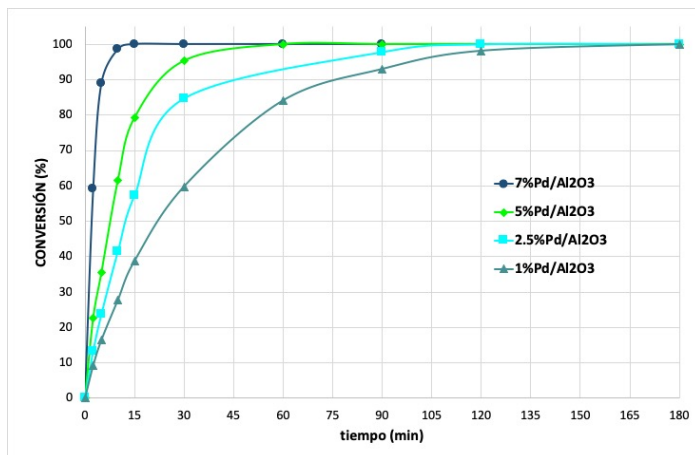


Figura 4.19: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores Pd/Al₂O₃(red) con distinto % de Pd (50 ppm BrO₃⁻ iniciales, 0,05 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})

Sin embargo, para una buena comparación de estos resultados es necesario utilizar el concepto de TOF (turn over frequency), en el que se comparan las velocidades de desaparición de bromatos normalizadas según el contenido de Pd (Ecuación 7). Cabría esperar que si todos los centros activos son equivalentes o estuviesen igual de accesibles en todos los catalizadores, el TOF de todos ellos debería ser igual. Sin embargo, se observa (Figura 4.20) que el TOF disminuye bruscamente del catalizador con un 7% de Pd al catalizador con un 5% de Pd. Sin embargo, en el catalizador con 2,5% de Pd empieza a aumentar el TOF y es el catalizador con 1% en peso de Pd el que presenta el TOF más elevado.

Todos estos resultados no pueden explicarse fácilmente, pero puede estar relacionado con el diferente tamaño de partícula de Pd y con la diferente dispersión del metal al variar su contenido metálico.

Ecuación 7

$$TOF(\text{min}^{-1}) = \frac{\text{moles BrO}_3^- \text{ convertidos}}{\text{moles Pd} \cdot t(\text{min})}$$

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

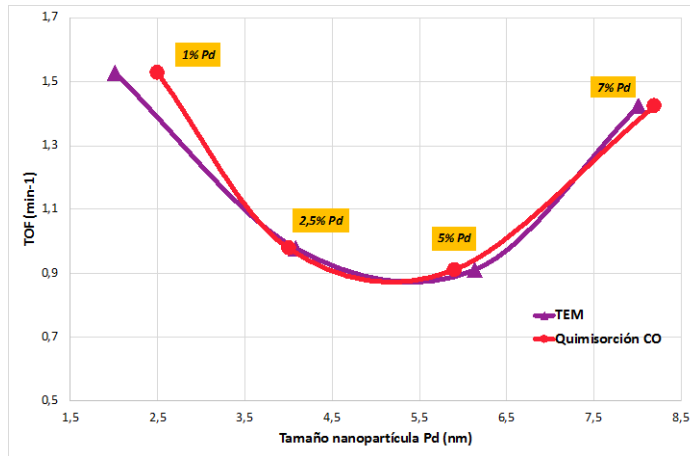


Figura 4.20: TOF vs. tamaño de partícula de los diferentes catalizadores medido por TEM (morado) y Quimisorción CO (rojo)

El mayor TOF del catalizador con un 7% de Pd comparado con el del 5%, se podría justificar debido al mayor tamaño de partícula de Pd de este catalizador, pues está descrito [140] que las partículas grandes de Pd favorecen la activación del H₂ en las reacciones de hidrogenación. Esto es debido a que estas especies permiten una mayor adsorción disociativa del H₂, lo que aumenta su solubilidad efectiva y favorece la formación de hidruros de paladio superficiales (especies β -PdH), causantes de esta adsorción disociativa del hidrógeno que serían las responsables de reducir a los bromatos en la reacción de estudio. En la bibliografía se pueden encontrar diversos ejemplos de reacciones de hidrogenación empleando Pd como catalizador, cuyos resultados muestran que cuanto mayor es el tamaño de partículas de Pd, más eficiente es el catalizador [135, 141, 321-324]. No obstante, en los catalizadores con menor contenido en Pd (2,5 y 1%) la tendencia se invierte, pues el tamaño de partícula disminuye y el TOF aumenta. Por ello, se calculó un nuevo valor de TOF (TOF*) que se define como la velocidad de desaparición de los bromatos normalizada por el Pd disponible (Ecuación 8), asumiendo como Pd disponible la cantidad

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

de Pd del catalizador multiplicado por la dispersión metálica obtenida mediante quimisorción de CO.

$$\text{Ecuación 8} \quad \text{TOF}^* (\text{min}^{-1}) = \frac{\text{moles } \text{BrO}_3^- \text{ convertidos}}{\text{moles Pd} \cdot \text{dispersión} \cdot t(\text{min})}$$

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.21, observándose que al utilizarse este TOF*, los resultados si que se ajustan a la hipótesis planteada. Esto ocurre pues al incluir la dispersión en la fórmula del TOF, los catalizadores presentan contenidos efectivos de Pd bastante similares, por lo que el catalizador con mayor velocidad de reacción (el que contiene un 7% de Pd), tiene un TOF más elevado. Al realizar esta representación, se observa una tendencia clara en la que un mayor tamaño de partícula de Pd, conlleva un mayor TOF*. Esto indica que las partículas de Pd de tamaño grande son las más activas, aunque esto conlleve una menor dispersión metálica, por lo que se puede afirmar que el catalizador 7%Pd/Al₂O₃, que presenta las nanopartículas de Pd más grandes (8,1 nm), es el más activo si se considera la actividad por Pd disponible.

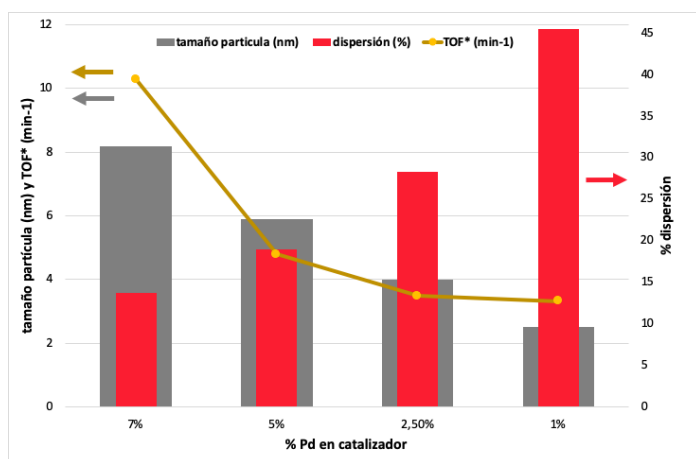
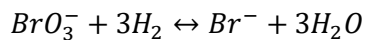


Figura 4.21: Representación del TOF*, tamaño de partícula y dispersión metálica de los catalizadores Pd-Al₂O₃ medida por quimisorción de CO

Estos resultados también pueden contribuir a esclarecer el mecanismo de reacción de la hidrogenación catalítica de bromatos en agua, que se basaría en la adsorción disociativa del H₂ en la superficie del metal y en la posterior reacción entre los bromatos adsorbidos y los átomos disociados de hidrógeno en los centros activos accesibles de cada catalizador [109, 325]. El hecho de que exista un incremento en la actividad catalítica cuando se emplean catalizadores con un tamaño de partícula de Pd mayor, apoyaría el mecanismo disociativo propuesto. Según este mecanismo la quimisorción de H₂ sobre la superficie de Pd se puede considerar como una de las etapas más importantes de la reacción y las partículas de mayor tamaño favorecerían la adsorción del H₂ debido a la formación de especies β-PdH, que permanecen estables a temperatura ambiente [109, 322]. El H₂ quimisorbido sería el que reaccione con los bromatos para formar los bromuros según la siguiente reacción, sin formarse especies intermedias estables:



Tras la reacción, los centros activos volverán a adsorber los reactivos y se repetirá el ciclo catalítico sobre la superficie del catalizador (Figura 4.22) [109, 132, 325]. Estas conclusiones coinciden con los estudios llevados a cabo por J. Restivo et al. [132] quienes también mostraron que la actividad catalítica en las reacciones de hidrogenación está directamente relacionada con la energía de adsorción disociativa del H₂ sobre el metal, de acuerdo con el principio de Sabatier.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que existe además otra contribución, pues los resultados obtenidos en el experimento donde no se utilizó catalizador muestran que también se puede producir una reducción directa de los bromatos con el H₂ disuelto en el agua. No obstante, la

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

cantidad de bromatos reducida según este mecanismo sería mucho menor que la de los bromatos reducidos en el ciclo catalítico.

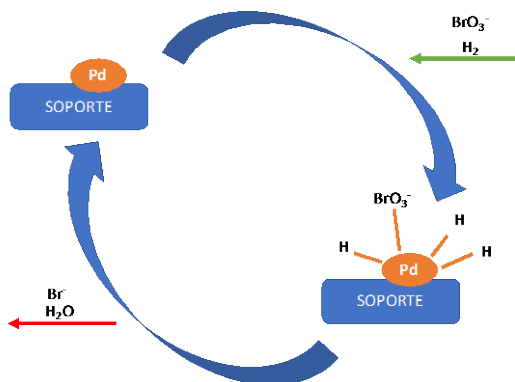


Figura 4.22: Esquema de la reducción catalítica de bromato o ciclo catalítico

4.1.1.3. Estudios de desactivación

Se llevaron a cabo estudios de desactivación del catalizador realizando sucesivos ciclos de reacción. Para ello, se recogió el catalizador tras cada reacción, se secó a $100\text{ }^\circ\text{C}$ y se utilizó en una nueva reacción en discontinuo bajo las mismas condiciones, para así estudiar su posible desactivación.

Los resultados de los test catalíticos sucesivos con el mismo catalizador, mostraron que se producía una muy leve pérdida de actividad tras cada uso del catalizador (Figura 4.23). Sin embargo, esta pérdida de actividad no se atribuye a una desactivación del catalizador, sino a que en los sucesivos ciclos de reacción-separación-secado se pierden pequeñas cantidades de catalizador (alrededor del 3%) por lo que, la disminución de la actividad catalítica se debe a dichas pérdidas. Como en las reacciones anteriores, todos los bromatos reaccionados se transformaron en bromuros, con una selectividad del 100%.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

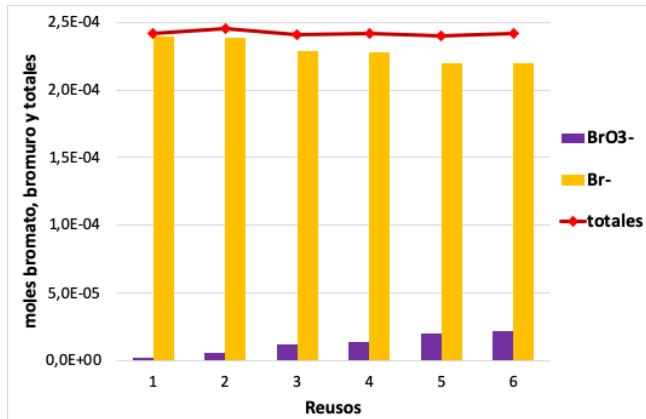


Figura 4.23: moles de BrO_3^- , Br^- y totales en la disolución tras 10 min de reacción en 6 reusos consecutivos (50 ppm BrO_3^- , 0,6 L, $\sim 0,05$ g cat., P_{atm} y T_{amb}) con el catalizador 7%Pd/ Al_2O_3

El catalizador reutilizado fue caracterizado por DRX, observando que, ni los picos de difracción ni sus intensidades se alteraron tras la reacción (Figura 4.24). Además, se analizó la presencia de Pd en el medio tras la reacción, sin observarse la presencia del metal, lo que indica que no se produce lixiviación del metal durante la reacción. En definitiva, estos resultados muestran que se mantiene la composición y naturaleza de las especies activas en las sucesivas reacciones, por lo que no cabría esperar una importante desactivación del mismo durante una reacción en continuo.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

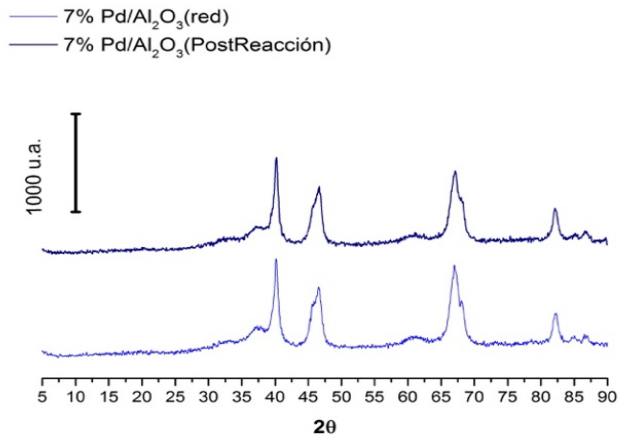


Figura 4.24: Difractogramas del catalizador 7%Pd/Al₂O₃ tras la activación (abajo) y después de reacción (arriba)

Resultados similares se obtuvieron con los catalizadores con menores contenidos en Pd, tanto en su actividad durante los reusos como en sus propiedades físico-químicas, evidenciando la estabilidad de los catalizadores estudiados.

4.1.2. Influencia de la sal precursora

Para estudiar la influencia de la sal precursora en la actividad del catalizador, se prepararon tres catalizadores con el mismo contenido en Pd (7% en peso) pero partiendo de tres sales precursoras diferentes: PdCl₂, Pd(OAc)₂ y Pd(NO₃)₂.

Estos catalizadores fueron caracterizados mediante diversas técnicas para intentar determinar las posibles diferencias entre sus propiedades físicas, químicas y estructurales, además de estudiar su actividad catalítica. La nomenclatura utilizada fue **7%Pd/Al₂O₃(z)_y**, donde z se refiere a la sal precursora de Pd empleada siendo “N” el nitrato de Pd, “Cl” el cloruro de Pd y “Ac” el acetato de Pd, y donde y determina la etapa de preparación del catalizador, pudiendo ser “ap” referido al catalizador tras la impregnación, “calc” tras la calcinación y “red” posterior a la reducción del catalizador. Como ejemplo, **7%Pd/Al₂O₃(N)_{red}** significa que el catalizador presenta un contenido de 7% en Pd sobre alúmina, que el catalizador está reducido y que se preparó a partir de nitrato de paladio como sal precursora de Pd.

4.1.2.1. Caracterización de los catalizadores

Como se puede observar en los datos de ICP-AES de la Tabla 4.3, en los tres casos estudiados se incorporó aproximadamente la misma cantidad de Pd, obteniendo variaciones menores al 2% respecto a la cantidad teórica o esperada. Por tanto, se puede confirmar que el procedimiento de preparación de los catalizadores es adecuado para cada una de las sales precursoras empleadas.

Tabla 4.3: Contenido en Pd y propiedades texturales de los diversos catalizadores reducidos

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

CATALIZADOR	% en peso Pd	Área superficial BET (m ² /g)	Área externa t-plot (m ² /g)
Al ₂ O ₃ (Catalox-SASOL)	-	80	81
7%Pd/ Al ₂ O ₃ (Cl) _{red}	7,05	87	77
7%Pd/ Al ₂ O ₃ (N) _{red}	7,03	76	75
7%Pd/ Al ₂ O ₃ (Ac) _{red}	6,97	77	75

La Tabla 4.3 también muestra datos relacionados con las propiedades texturales de los catalizadores. En todos los casos, las isotermas de adsorción-desorción de N₂ (Figura 4.25) fueron isotermas de tipo III, características de sólidos no porosos o macroporosos, como es la alúmina. Los datos de área superficial en el caso de los catalizadores preparados a partir de nitrato y acetato son bastante similares, siendo un poco menores que las del soporte original debido a la incorporación del Pd. Por el contrario, el área BET es levemente superior a la del soporte cuando se emplea PdCl₂ como sal precursora. Esto es debido, tal y como se ha discutido previamente, a que en este caso es necesaria la incorporación de ácido en la disolución del precursor, lo cual provoca una alteración en la superficie de la alúmina.

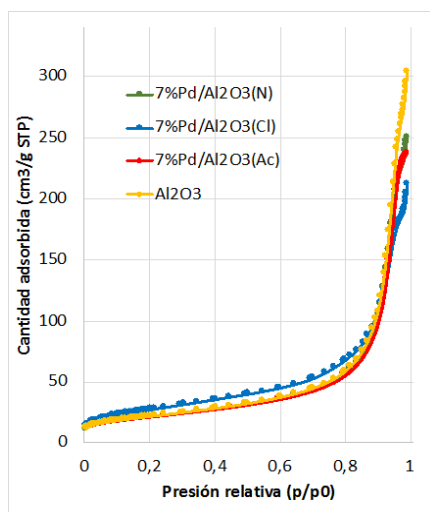


Figura 4.25: Isotermas de adsorción de N₂ del soporte (Al₂O₃) y de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃ preparados con diversos precursores.

Las fases cristalinas de los diferentes catalizadores fueron estudiadas mediante DRX durante las diferentes etapas de preparación y activación. Todos los difractogramas de los catalizadores tras ser impregnados (ap) (Figura 4.26) muestran reflexiones a $2\theta = 37^\circ$, 46° , 62° y 67° , característicos del soporte Al_2O_3 (JCPDS: 00-010-0425). Sin embargo, en los catalizadores preparados a partir de acetato y nitrato aparece además un pico de difracción ancho alrededor de 34° que se puede atribuir al PdO que se puede formar durante la impregnación y secado de los catalizadores. Este pico no aparece en el catalizador preparado a partir de PdCl_2 , observándose, por el contrario, la fase asignada al $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS: 00-084-0453) que se forma debido a que es necesario añadir HCl para la disolución del precursor, tal y como se ha discutido en el apartado anterior.

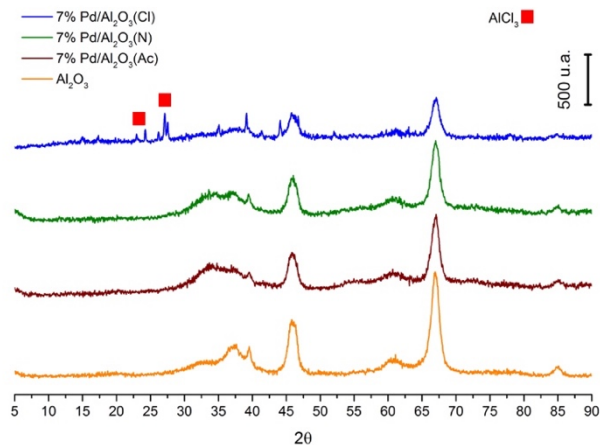


Figura 4.26: Difractogramas del soporte Al_2O_3 y de los catalizadores 7%Pd/ Al_2O_3 (ap) impregnados con diferentes sales

Tras la calcinación (Figura 4.27) y junto a los picos de la Al_2O_3 , aparecen nuevos picos atribuidos a la formación del PdO a $2\theta = 34^\circ$, 42° , 55° , 60° y 71° (JCPDS: 00-006-0515), en todos los casos. Sin embargo, la definición de los picos varía según el precursor utilizado, estando más definidos los picos

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

del catalizador preparado con $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, lo que indicaría un mayor tamaño de cristal de las especies PdO.

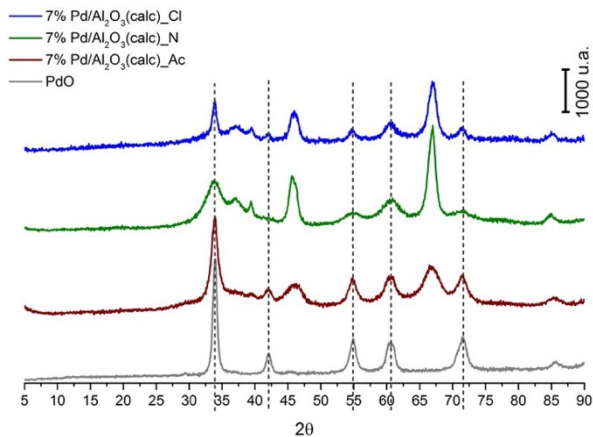


Figura 4.27: Difractogramas del PdO y de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(calc) preparados con diferentes precursores

Finalmente, tras la reducción de los catalizadores (Figura 4.28) continúan observándose los picos de la Al₂O₃. Sin embargo, los difractogramas muestran la desaparición de los picos asignados al PdO y la aparición de nuevos picos a $2\theta = 40^\circ$, 47° , 68° y 82° , asignados al Pd(0) metálico (JCPDS: 00-005-0681).

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

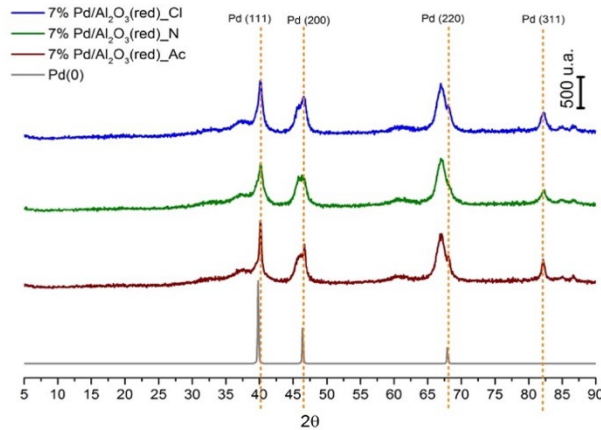


Figura 4.28: Difractogramas del Pd metálico y de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados empleando diferentes precursores

Realizando un análisis más exhaustivo de los difractogramas de las muestras reducidas (Figura 4.28), se puede observar como los picos de Pd presentan perfiles e intensidades distintas. Estas diferencias están relacionadas con el tamaño de partícula del Pd y aunque en teoría, la anchura media del pico permitiría calcular los tamaños de partícula de Pd metálico mediante la ecuación de *Scherrer*, esto no es posible ya que todos los picos característicos de Pd metálico poseen cierta aportación de los picos del soporte (Al₂O₃) y por tanto, el cálculo del tamaño de partícula mediante este método no es fiable. No obstante, el hecho de que los tres catalizadores con el mismo contenido metálico pero preparados con tres precursores distintos presenten picos de difracción con distintos perfiles, es un indicio de la existencia de diferencias entre ellos relacionadas con los tamaños de partículas del Pd.

Se realizaron también estudios de reducción termoprogramada (TPR) de los distintos catalizadores tras su calcinación en aire, mostrándose los perfiles de consumo de H₂ en la Figura 4.29. Todos los catalizadores presentan un pico negativo a 74-77 °C asignado a la producción o

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

liberación de H_2 . Este pico es característico de la descomposición de las especies β -PdH, cuya formación se facilita durante la hidrogenación a temperatura ambiente [326]. Sin embargo, la diferente intensidad de estos picos, especialmente para el catalizador preparado a partir de la sal de cloruro, parece sugerir que las especies de Pd, a partir de las que se forman las β -PdH, son distintas según el precursor utilizado. Estos resultados son muy similares a los obtenidos por H. Chen et al. [109] quienes también mostraron la aparición de picos negativos a aproximadamente $77^\circ C$ en catalizadores con cantidades de Pd superiores al 1% en peso.

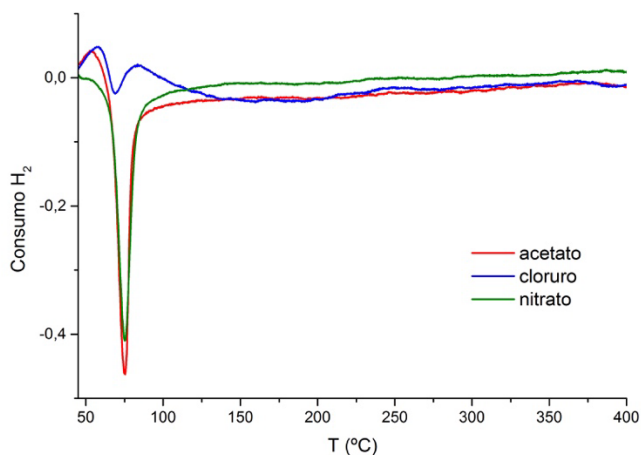


Figura 4.29: Perfiles TPR de los catalizadores con 7% Pd en peso, preparados con los diferentes precursores: cloruro (azul), acetato (rojo) y nitrato (verde)

Cabe destacar que en el caso específico de los catalizadores preparados a partir de acetato y de cloruro se observa además del pico negativo, un pico de consumo de H_2 a aproximadamente $60^\circ C$ que se puede asignar a la reducción de especies PdO. En el caso del nitrato, este pico no se observa, por lo que la reducción de las especies de PdO en este caso deben suceder a temperatura ambiente [327, 328].

Por último, en el caso del catalizador preparado a partir de la sal de cloruro, se observa que además del pico correspondiente a la reducción de PdO aproximadamente a 60 °C, y del pico negativo asociado a la desaparición de las especies β -PdH aproximadamente a 74 °C, aparece otro pico de consumo de H₂ bastante ancho con un máximo aproximadamente a 85 °C, asignado a la reducción de especies complejas Pd_xO_yCl_z [109]. Estas especies son más estables que el PdO en la superficie de la alúmina y por tanto, su reducción es más costosa, siendo necesarias mayores temperaturas [327].

Estudios como los de C. Contescu et al. [328] realizados con catalizadores similares, muestra perfiles de TPR parecidos a los obtenidos en esta tesis. Además, en dicho estudio se analizaron dos muestras idénticas pero calcinadas a distinta temperatura, comparándose el pico negativo de liberación de H₂ y observando que éste era mucho más intenso en el caso del catalizador calcinado a mayor temperatura. Esta mayor temperatura de calcinación favorece la sinterización de las partículas de PdO y además, consigue eliminar mayor cantidad de Cl de la superficie del catalizador, por lo que disminuirá la formación de especies complejas Pd_xO_yCl_z y favorecerá la formación de β -PdH en el proceso de reducción, lo que resultará en picos negativos mayores.

Así pues, se puede afirmar que la mayor intensidad del pico negativo para los catalizadores preparados a partir de acetato y de nitrato es debida a una mayor facilidad para la formación de las especies β -PdH, ya que no existen restos de la sal precursora. En cambio, en el caso del catalizador preparado a partir de la sal PdCl₂, la existencia de restos de Cl genera la formación de especies complejas Pd_xO_yCl_z, lo que dificulta la formación de las especies β -PdH, causantes de la formación de los picos negativos en los perfiles de TPR.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Las distintas muestras fueron también estudiadas mediante microscopía electrónica de barrido (FESEM), sin observarse diferencias morfológicas significativas entre los diferentes catalizadores. En todos los casos aparecieron partículas de diferente tamaño y completamente amorfas. De la misma forma, el mapeo elemental del Pd en los diversos catalizadores no presentó diferencias sustanciales entre los 3 catalizadores, observando una distribución homogénea del metal sobre la alúmina. Mediante EDS se determinó también la composición química de los tres catalizadores (Tabla 4.4), obteniendo valores próximos a los teóricos y similares a los obtenidos por ICP-AES, lo que permite confirmar que la distribución del Pd es homogénea, ya que tanto una técnica puntual como una *bulk* ofrecen resultados parejos.

Tabla 4.4: Contenido en Pd medido por ICP-AES y composición química medida por EDS (% en peso) de los catalizadores preparado con distintos precursores

CATALIZADOR	% Pd ICP-AES	% Pd EDS	% Cl EDS	% Al EDS	% O EDS
7%Pd/ Al₂O₃(Cl)_red	7,05	6,5	1,0	48,0	44,2
7%Pd/ Al₂O₃(N)_red	7,03	6,8	-	49,1	44,5
7%Pd/ Al₂O₃(Ac)_red	6,97	6,5	-	50,6	43,2

Por otro lado, el análisis por EDS mostró también la presencia de restos de cloro en el catalizador preparado a partir de PdCl₂, debidos al anión de la sal precursora y al HCl utilizado para su disolución, tal y como ya se ha descrito en el apartado anterior. La relación molar Al/O en los tres catalizadores ofrece valores muy similares y cercanos a la relación estequiometría del soporte (Al₂O₃). Esto evidencia que cuando se usan como precursores las sales de nitrato y acetato, se produce la eliminación completa de los aniones oxigenados, ya que no se observan variaciones significativas de la relación Al/O, que pueden ser debidas a restos de O proveniente del precursor.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

La inexistencia de restos de sales precursoras en los catalizadores preparados a partir de acetato y de nitrato fue además comprobada por análisis elemental, determinando los porcentajes de C, H y N en estos catalizadores tras su calcinación y tras su reducción. En la Figura 4.30 se muestran los resultados obtenidos, observándose como el precursor $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ se descompone completamente tras la calcinación, ya que desaparece cualquier traza de nitrógeno. Sin embargo, el catalizador preparado a partir de acetato, conserva restos del precursor tras su calcinación (reflejado por % de C), desapareciendo casi por completo tras la reducción.

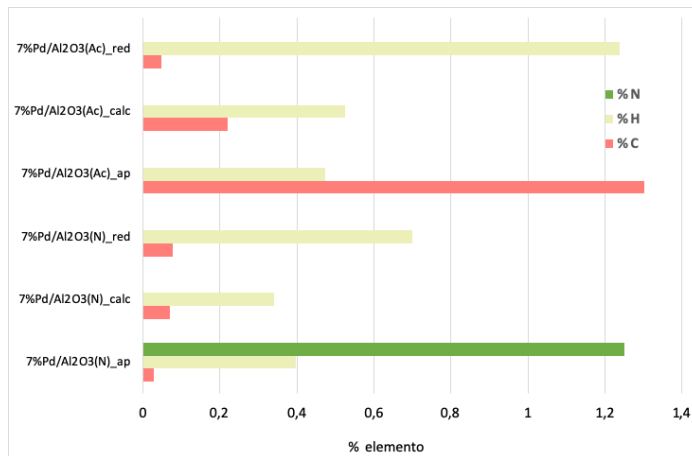


Figura 4.30: Análisis elemental de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃ preparados mediante $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ y $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ en las diferentes etapas de preparación

Se realizaron también estudios de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de estas muestras, para conocer el tamaño medio de las nanopartículas de Pd en cada uno de los catalizadores preparados (Figura 4.31), observándose distribuciones de tamaño de partícula diferentes.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

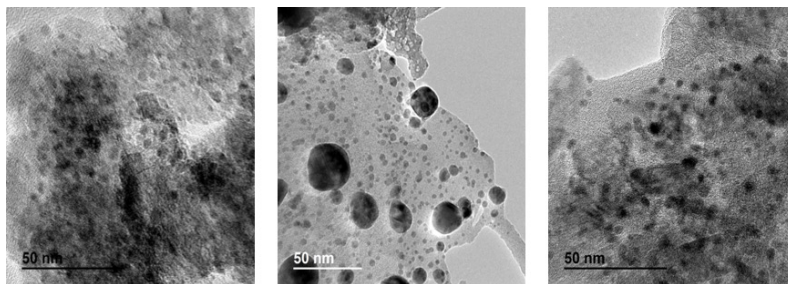


Figura 4.31: Imágenes TEM de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados mediante cloruro (izq.), nitrato (centro) y acetato (der.).

El catalizador preparado con Pd(NO₃)₂ posee una distribución (Figura 4.32-izq.) en la que la mayoría de las nanopartículas se encuentran en un rango entre 5 y 20 nm, presentando una media geométrica de 8,5 nm. Pero además, este catalizador presenta algunas nanopartículas de mucho mayor tamaño, formadas posiblemente por la sinterización del metal durante el proceso de activación del catalizador. La generación de estos aglomerados puede estar relacionada con el hecho de que al usar Pd(NO₃)₂ como precursor, se forma una fase de PdO durante la calcinación (XRD) que, como se pudo ver por el análisis TPR, se reduce a bajas temperaturas, y por tanto, una reducción a 200 °C durante 4 horas, como la llevada a cabo en la activación de los catalizadores, puede favorecer la sinterización de las partículas, lo que explicaría la formación de un número importante de partículas de gran tamaño. Dichas partículas grandes no han sido tenidas en cuenta dentro del cálculo de la media debido a que no corresponden a una distribución modelo. Por tanto, este catalizador se puede describir como una distribución bimodal presentando, por un lado, una distribución de las nanopartículas con diámetros inferiores a 20 nm y por otro, una distribución totalmente aleatoria de nanopartículas de gran tamaño (20-80 nm).

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

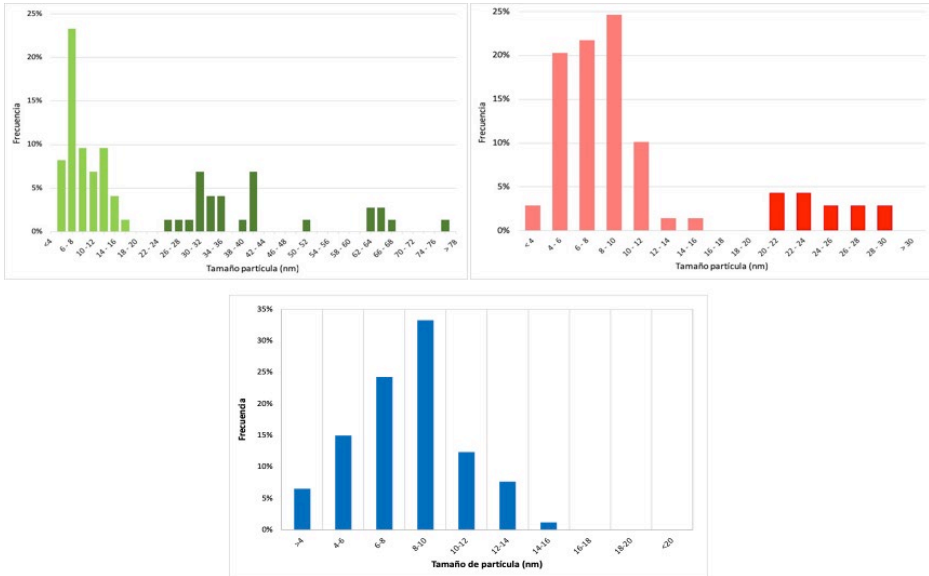


Figura 4.32: Distribución tamaño partícula de Pd en los catalizadores preparados mediante nitrato (izq.), acetato (der.) y cloruro (abajo)

De la misma forma, el catalizador preparado a partir de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ también presentó un perfil similar (Figura 4.32-dcha.). La gran mayoría de las nanopartículas muestran diámetros inferiores a 16 nm con una media de 7,1 nm. No obstante, en ciertas zonas del catalizador se encontraron partículas mayores, entre 20 y 30 nm. De nuevo, la media se calculó teniendo en cuenta solamente las nanopartículas de tamaño inferior a 20 nm, que muestran una distribución más o menos gaussiana, mientras que las de mayor tamaño parecen mostrar una distribución totalmente aleatoria, mostrando el catalizador una distribución bimodal. Como en el caso anterior, esto se puede explicar debido a que la mayor parte del PdO formado en la calcinación, se reduce por debajo de 60 °C (datos TPR), por lo que al utilizarse una temperatura superior de reducción (200 °C) durante un tiempo prolongado (4 horas), se favorece la formación de estos agregados de gran tamaño.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Por último, en el caso del catalizador preparado mediante PdCl_2 (Figura 4.32-abajo), ya discutido previamente, todas las nanopartículas de Pd exhiben una distribución unimodal por debajo de 16 nm, cuya media es 8,0 nm. Este catalizador no mostró nanopartículas de gran tamaño, al contrario que los otros dos catalizadores. Esta diferencia puede estar conectada con la presencia de restos del anión de la sal precursora tras la calcinación. Así, la existencia de las especies PdxOyClz , presentes en el catalizador tras la calcinación, impiden la rápida sinterización de las partículas de Pd en la fase de reducción, evitando la formación de aglomerados o partículas de gran tamaño (>20 nm). Por el contrario, la inexistencia de restos de acetato y nitrato, en los otros casos, permite una mayor sinterización de las partículas metálicas en el proceso de reducción.

Además, la utilización del TEM de alta resolución (HRTEM) permitió observar las nanopartículas de Pd lo suficientemente cerca para determinar las distancias interplanares (Figura 4.33). En los tres casos, la media de las distancias interplanares obtenidas es de 0,23 nm, característica de partículas metálicas de Pd en el plano (111) [329, 330], correspondiente a su vez, a la reflexión más intensa en el difractograma de rayos X en $2\theta = 40^\circ$.

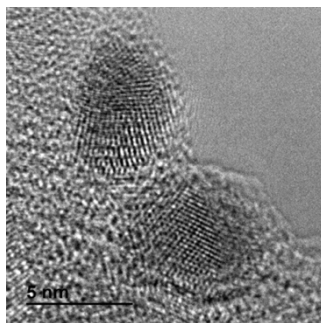


Figura 4.33: Distancias interplanares en las nanopartículas de Pd obtenidas por HRTEM para el catalizador 7%Pd/Al₂O₃(Ac)_{red}.

Finalmente, se realizaron estudios *in situ* mediante espectroscopía de absorción de rayos X (XAS) durante las diferentes etapas de preparación de los tres catalizadores. El empleo de esta técnica permite conocer el estado de oxidación del Pd y sus primeras esferas de coordinación. Para ello, se colocó el catalizador una celda de medida sólido-gas que permite controlar la composición de la mezcla de gases en contacto con el sólido y la temperatura, simulando así los tratamientos a los que era sometido el catalizador durante su preparación y activación. Para poder interpretar los espectros, éstos fueron comparados con los espectros de diversos patrones: Pd metálico (Pd-foil), PdO, Pd(NO₃)₂, Pd(OAc)₂ y PdCl₂.

La Figura 4.34-izq. muestra los espectros XANES de los patrones. En esta figura se observa un borde de absorción sobre 24354 eV para los compuestos de Pd(II) y un borde de absorción a 24350 eV para los patrones Pd(0).

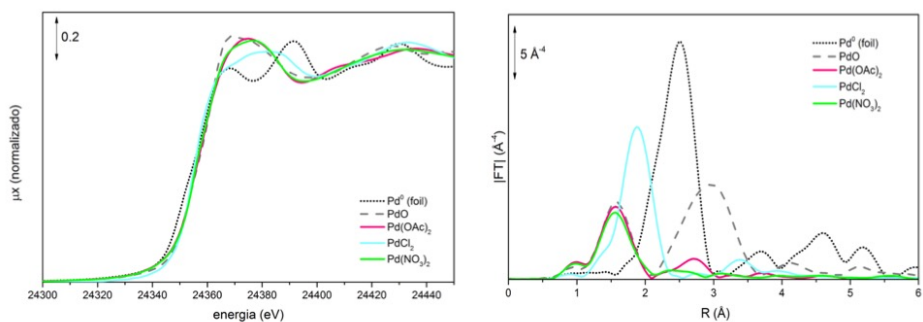


Figura 4.34: Espectro XANES de los patrones (izquierda) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS de los mismos compuestos (derecha)

La zona EXAFS, analizada empleando la transformada de Fourier de la señal, muestra diferentes oscilaciones según el patrón estudiado (Figura 4.34-dcha.). El Pd metálico muestra una primera oscilación muy intensa a 2,5 Å y una segunda oscilación a 3,6 Å relacionadas con las transiciones electrónicas $1s \rightarrow 5p$ y $1s \rightarrow 4f$ del metal. Estas dos oscilaciones están

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

relacionadas con una estructura local *fcc*, donde 12 átomos de Pd rodean coordinativamente a un átomo de Pd central [331]. Por otro lado, el espectro del PdCl₂ muestra una primera oscilación muy intensa a 1,9 Å, relacionada con la primera esfera de coordinación, Pd-Cl. Sin embargo, los patrones que contienen oxígeno en su composición (PdO, Pd(NO₃)₂ y Pd(OAc)₂) presentan una oscilación menos intensa a una distancia aproximada de 1,5 Å, característica de enlaces Pd-O.

Tras el análisis de los patrones se estudiaron los distintos catalizadores en las distintas etapas de preparación, es decir, tras la impregnación del precursor de Pd, durante la calcinación (a diferentes temperaturas) y durante la reducción. El estudio de los catalizadores tras su impregnación y secado (Figura 4.35), muestra un borde de absorción cercano a 24354 eV, característico del estado de oxidación +2 del Pd, indicando la presencia de especies oxidadas del metal sobre el soporte. Además, los espectros de los catalizadores preparados a partir de nitrato y acetato de Pd son iguales entre sí e idénticos a la referencia PdO. Sin embargo, el catalizador preparado a partir de cloruro difiere de los anteriores y es más similar al patrón PdCl₂. Si se analiza la magnitud de la transformada de Fourier de la señal EXAFS (Figura 4.35 - der.) se puede observar como las contribuciones en segunda y tercera esfera de coordinación del catalizador preparado a partir del PdCl₂ muestran unas bandas de absorción poco intensas, lo que estaría relacionado con partículas más dispersas.

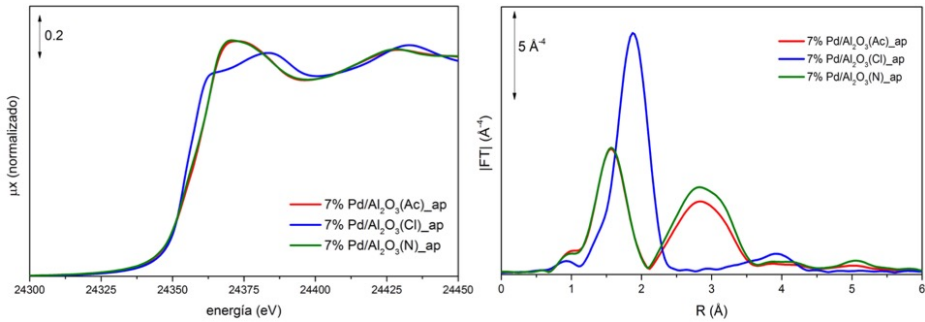


Figura 4.35: Espectro XANES normalizado de los catalizadores con 7% Pd preparados con tres precursores distintos (izq.) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS (dcha.)

El análisis de los resultados cuantitativos de la zona EXAFS del espectro muestra que todos los catalizadores preparados tienen un número de coordinación para la primera esfera de coordinación próximo a 4. Asimismo, se observa que las distancias Pd-elemento de la primera esfera de coordinación calculada a partir de los datos EXAFS (Tabla 4.5), son idénticas en el caso de los catalizadores preparados con nitrato y acetato, y se corresponden a distancias Pd-O. Sin embargo, en el caso del cloruro la distancia Pd-elemento de la primera esfera de coordinación es algo superior y corresponde a distancia Pd-Cl.

Tras esto, las muestras fueron tratadas a diferentes temperaturas en presencia de aire, simulando las etapas del proceso de calcinación, y se analizaron los espectros en esas condiciones. Los resultados para las muestras preparadas a partir de acetato y nitrato fueron similares a los espectros de absorción medidos a temperatura ambiente. La principal diferencia aparece en el estudio *in situ* del catalizador preparado mediante PdCl₂ (Figura 4.36). En este caso, aunque se mantiene el borde de absorción en la misma energía, al aumentar la temperatura existe una cierta evolución en el espectro. Así a medida que se incrementa la temperatura, el final de la zona XANES se modifica pasando de un espectro característico

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

de PdCl_2 , a un espectro mezcla de fases PdCl_2 y PdO , lo que puede atribuirse a la formación de las especies complejas $\text{Pd}_x\text{O}_y\text{Cl}_z$ [332]. Por otro lado, el estudio de la zona EXAFS del espectro de absorción muestra un pico en la transformada de Fourier de la señal, que decrece con el aumento de la temperatura atribuible a la ruptura de los enlaces Pd-Cl. Simultáneamente, aparece un hombro a la izquierda de la banda relacionado con la generación de complejos $\text{Pd}_x\text{O}_y\text{Cl}_z$ o a la presencia de una mezcla segregada de PdO y PdCl_2 . La proporción entre estas dos fases se modifica al aumentar la temperatura, aumentando el contenido en PdO y disminuyendo el de PdCl_2 . Se puede estimar que a $500\text{ }^\circ\text{C}$ existe un complejo con la siguiente estequiometría: $\text{PdO}_{0,75}\text{Cl}_{0,25}$.

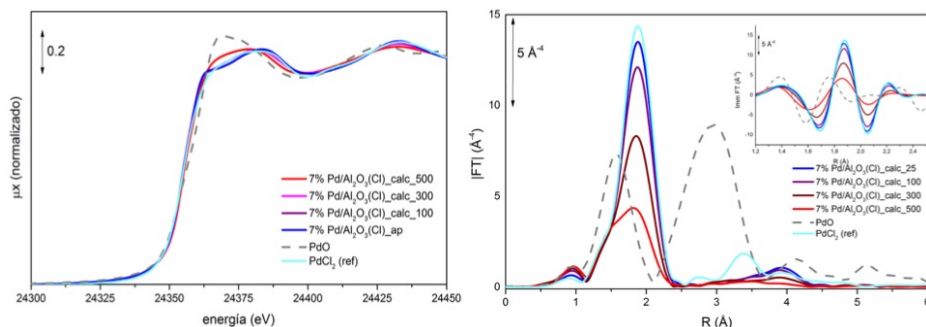


Figura 4.36: Espectro XANES normalizado del catalizador 7%Pd/Al₂O₃ preparado a partir de PdCl₂ a distintas temperaturas de calcinación (izq.) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS (dcha.)

Por último, se estudio por XAS la reducción en atmósfera H₂ (5%H₂/He) de los diferentes catalizadores a temperatura ambiente y a $200\text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 4.37-arriba), se puede observar una modificación del borde de absorción, desplazándose éste a una energía de 24350 eV característica del Pd(0). Este desplazamiento permite asegurar que las especies de Pd bajo una atmósfera reductora a temperatura ambiente empiezan a reducirse a Pd metálico. Igualmente, el final de la zona XANES y la zona EXAFS de los espectros de los tres catalizadores se modifican, desapareciendo las

oscilaciones debidas a PdO y PdCl₂ respectivamente, y apareciendo perfiles más similares al patrón de Pd metálico. Las intensidades de estas oscilaciones son menos intensas en el caso del catalizador preparado a partir de PdCl₂, lo que se puede explicar debido a la presencia de restos de cloro en el catalizador. Por último, y estudiando las energías donde aparecen las oscilaciones de la primera esfera de coordinación, y calculando las distancias Pd-Pd en cada uno de los catalizadores, se obtienen distancias algo mayores al patrón de Pd metálico, debido probablemente a la formación de las especies β-PdH [326].

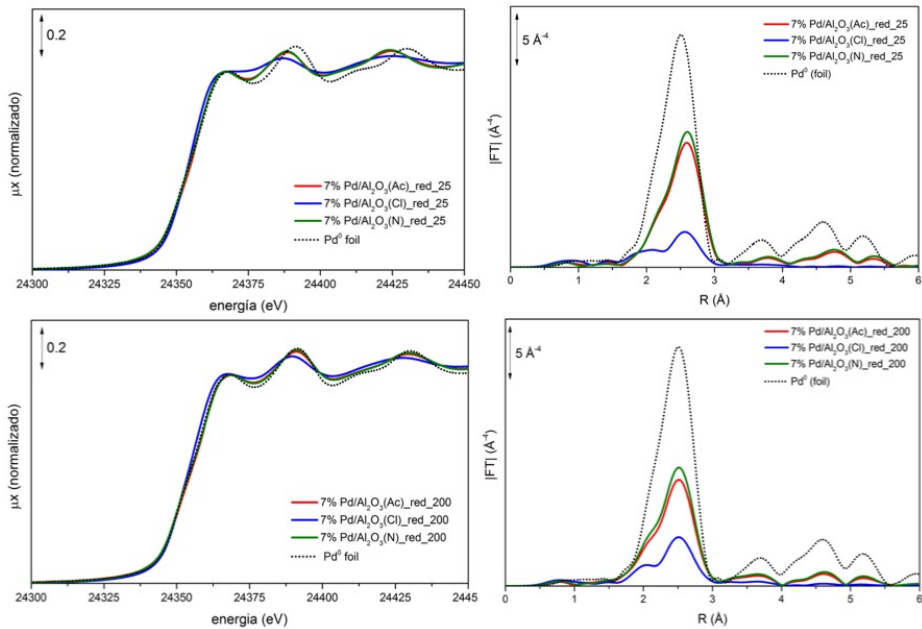


Figura 4.37: Espectro XANES normalizado de los catalizadores con 7% Pd preparado con tres precursores distintos reducidos a 25 °C (arriba izq.) y a 200 °C (abajo izq.) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS de los catalizadores (dcha.)

Si se aumenta la temperatura a 200 °C (Figura 4.37-abajo), los espectros de absorción obtenidos son casi idénticos a los del patrón de Pd metálico, es decir, se consigue una reducción completa del Pd sobre la superficie de la Al₂O₃, tal y como también indicaba la caracterización por DRX y TPR. Las

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

oscilaciones tras el borde de absorción (EXAFS) fueron levemente diferentes a las del patrón, siendo algo más aplanadas, lo que indicaría una variación en el número de coordinación Pd-Pd. Por otro lado, el leve desplazamiento en la energía de las oscilaciones observado a temperatura ambiente y que se atribuye a la formación de los hidruros, desaparece cuando el estudio se realiza a 200 °C, lo que confirma los resultados obtenidos en el estudio de TPR, donde se observaba que a temperaturas superiores a 70 °C se liberaba H₂ debido a la descomposición de las especies β-PdH. Finalmente, en el catalizador preparado a partir de cloruro aparece un leve pico (hombro) en la transformada de Fourier entre 1,7 y 2,2 Å que se corresponde con el pico de absorción del Pd-Cl, evidenciando la presencia de restos de cloro en el catalizador tras el proceso de calcinación y reducción. Los estudios cuantitativos (Tabla 4.5) obtenidos a partir del análisis de la transformada de Fourier de la zona EXAFS del espectro, mostraron también que el número de coordinación Pd-Pd en el caso del catalizador preparado mediante la sal de cloruro es bastante menor que en el resto de los catalizadores, lo que está relacionado con la presencia de Cl que no ha sido eliminado. Por otro lado, en el caso de los catalizadores preparados mediante nitrato y acetato los números de coordinación son mucho mayores y muy similares al patrón de Pd metálico.

Tabla 4.5: Números de coordinación (NC) y distancias entre átomos vecinos (R) obtenidos a partir del estudio de la parte EXAFS de los tres catalizadores

7%Pd/ Al ₂ O ₃	"as prepared" 25 °C			Reducido 200 °C		
	NC	R (Å)	Vecino	NC	R (Å)	Vecino
Acetato	4,0±0,5	2,028±0,006	Pd-O	10,7±0,4	2,731±0,002	Pd-Pd
Cloruro	3,7±0,1	2,311±0,002	Pd-Cl	4,7±0,2	2,735±0,003	Pd-Pd
Nitrato	4,2±0,5	2,030±0,006	Pd-O	12,0±0,4	2,733±0,002	Pd-Pd

Por último, se repitió el análisis por XAS de los catalizadores reducidos a 200 °C y enfriados a temperatura ambiente, lo que será el estado real del

catalizador antes de su uso. Los resultados fueron idénticos a los descritos a 200 °C excepto para las distancias Pd-Pd que se incrementaron, debido probablemente, a la formación de las especies β -PdH en la superficie de las partículas de Pd que aumentan la distancia entre átomos de Pd.

Así pues, los estudios de caracterización realizados a los catalizadores Pd/Al₂O₃ preparados presentan diferentes distribuciones de tamaño de partícula de Pd dependiendo del precursor utilizado y, además, observándose la presencia o ausencia de restos del anión de la sal precursora. Estas diferencias son lo suficientemente significativas como para poder influir en su actividad catalítica de los mismos.

4.1.2.2. Actividad catalítica

Se estudió la actividad catalítica de los tres catalizadores preparados a partir de diferentes sales precursoras en la reacción de hidrogenación catalítica de bromatos. En los tres casos, todos los moles de bromatos reaccionados se transformaron en moles de bromuro sin la existencia de productos secundarios e indeseados. Pero además, los resultados (Figura 4.38) reflejaron ciertas diferencias entre los catalizadores respecto a su actividad. Los tres mostraron conversiones completas en menos de una hora de reacción, sin embargo, los catalizadores preparados a partir del cloruro y nitrato presentaban las mayores velocidades de reacción, mientras que el catalizador preparado a partir de acetato es el que tenía la menor actividad de los tres. Estas diferencias pueden estar relacionadas con los tamaños de partícula observados mediante TEM, ya que, el catalizador menos activo es el que presenta el menor tamaño de partícula (7 nm). Estos resultados concuerdan con lo descrito en el apartado

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

anterior, ya que, en aquel caso se observaba que mayores tamaños de partículas resultaban en una mayor actividad del catalizador, pues las partículas de Pd de mayor tamaño favorecen la formación de β -PdH que son los responsables de la reducción de los bromatos y esto explicaría la menor actividad del catalizador preparado a partir de la sal de acetato, mientras que los catalizadores preparados a partir de la sal de nitrato y de cloruro, al presentar mayor tamaño de partícula (8 – 8,5 nm), son más activos.

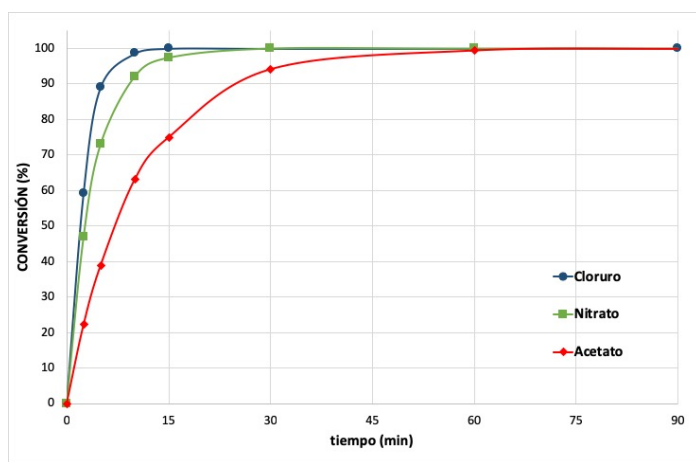


Figura 4.38: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados a partir de tres precursores diferentes (50 ppm BrO₃⁻ iniciales, 0,05 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})

Resultados similares se obtienen al estudiar el TOF* (Tabla 4.6) determinándose el valor más bajo para el catalizador preparado con acetato, mientras que los valores más altos se observan en los catalizadores preparados con la sal de nitrato y de cloruro. El ligero aumento en actividad del catalizador preparado con la sal de cloruro frente al catalizador preparado a partir de la sal de nitrato, puede estar relacionado con la distribución más homogénea de las partículas de Pd en el caso del catalizador preparado a partir de PdCl₂. En este catalizador, a diferencia de

lo que ocurre en los otros dos (Figura 4.32), no aparecen aglomeraciones de Pd, debido probablemente a que durante su síntesis se forman las especies complejas $\text{Pd}_x\text{O}_y\text{Cl}_z$, que evitan la sinterización de partículas de Pd, impidiendo que se formen partículas de Pd de tamaño demasiado grandes ($> 20 \text{ nm}$), las cuales apenas presentan superficie específica.

Tabla 4.6: Tamaño de partícula (nm) y dispersión (%) de los tres catalizadores estudiados a partir de medidas TEM

CATALIZADOR	Tamaño partícula medio (nm)	Dispersión metálica (%)	TOF* (min^{-1})
7%Pd/Al ₂ O ₃ (Cl)_red	8,0	10,4	10,5
7%Pd/Al ₂ O ₃ (N)_red	8,5	9,1	9,5
7%Pd/Al ₂ O ₃ (Ac)_red	7,1	12,4	3,5

Así pues, los resultados obtenidos permiten concluir que el precursor de Pd utilizado para la preparación de los catalizadores influye en sus propiedades, ya que modifica la distribución del tamaño de partícula de Pd y su dispersión, obteniendo los mejores resultados con aquel precursor que permite que se formen nanopartículas de Pd de tamaño grande (7-10 nm) y que estén relativamente dispersas, pero a la vez evitando la formación de aglomerados de Pd de gran tamaño ($>20 \text{ nm}$), debido a la sinterización del metal.

4.1.2.3. Estudios de desactivación

El estudio de desactivación de los catalizadores se llevó a cabo en reacciones sucesivas en las que había una activación intermedia del catalizador entre reacción y reacción, siendo el catalizador simplemente secado en una estufa de $100 \text{ }^\circ\text{C}$ tras la reacción. La Figura 4.39 representa los moles de bromatos y moles de bromuro en reacción tras 10 minutos de reacción en tres test catalíticos sucesivos empleando el mismo catalizador.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Como en los casos anteriores, todos los bromatos reaccionados se transforman en bromuros y los catalizadores no sufren una desactivación relevante durante los sucesivos usos. La ligera disminución de la conversión observada en los ciclos sucesivos no es atribuible a una desactivación del catalizador, sino a las pérdidas de catalizador entre los sucesivos ciclos de reacción.

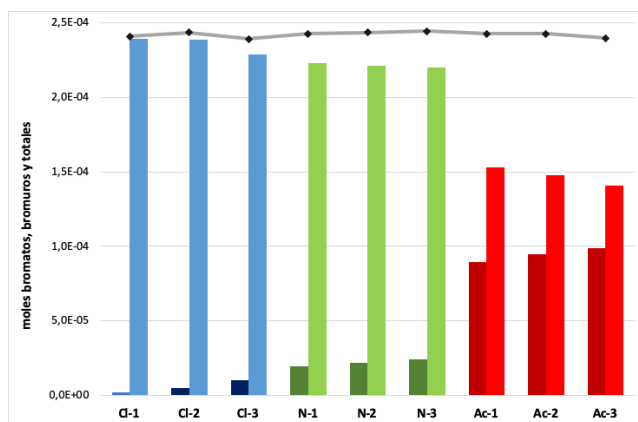


Figura 4.39: moles de BrO_3^- (colores oscuros), Br^- (colores claros) y totales (línea) en la disolución tras 10 min de reacción en 3 reusos consecutivos empleando catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados con distintos precursores (50 ppm BrO_3^- , 0,6 L, ~ 0,05 g cat., P_{atm} y T_{amb})

La caracterización posterior al uso de cada uno de los catalizadores no mostró diferencias significativas. Los difractogramas de rayos X de los catalizadores tras reacción mostraron picos de difracción con intensidades y posiciones idénticas a los originales. Asimismo, tras su uso en tres reacciones sucesivas no se observaron variaciones en el contenido en Pd de los catalizadores, lo que indica que no se ha producido lixiviación del metal durante el transcurso de la reacción.

Finalmente, los catalizadores tras ser empleados de forma sucesiva en tres test catalíticos fueron analizados mediante FESEM. Las imágenes muestran que los catalizadores continúan presentando la misma

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

morfología amorfa de las partículas del catalizador, sin observarse aglomeración o sinterización del Pd (Figura 4.40). Todos estos resultados confirman que los catalizadores utilizados presentan una gran estabilidad en las condiciones de reacción empleadas.

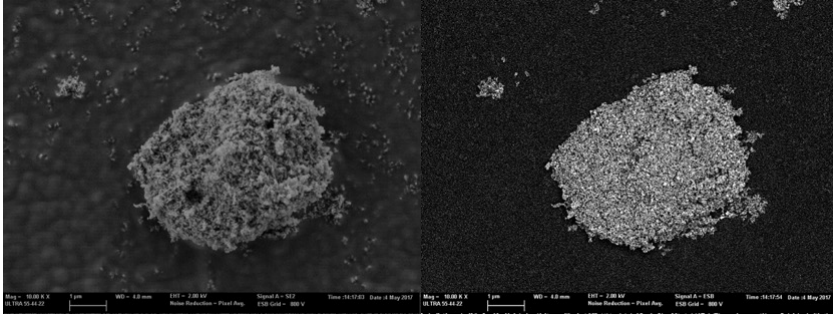


Figura 4.40: Imagen FESEM catalizador 7%Pd/Al₂O₃(N)_red tras 3 reusos. En la izq. Se muestra la imagen obtenida con el detector de electrones secundarios y a la dcha. la imagen obtenida con el detector de electrones retrodispersados.

4.1.3. Catalizadores 1%Pd/Al₂O₃

Los resultados discutidos hasta este momento han mostrado que los catalizadores más activos son los que presentan tamaños de partícula de Pd más grandes, y esto se puede conseguir añadiendo mayores cantidades de Pd o modificando la sal precursora.

Sin embargo, desde el punto de vista económico, la primera estrategia no tiene sentido, pues al adicionar una mayor cantidad de Pd, la dispersión del metal es baja y aun consiguiendo mejorar la actividad de los centros “visibles” de Pd debido a la formación de las especies β -PdH, la cantidad inactiva de Pd es muy grande y por tanto, esta estrategia encarecería enormemente el coste del catalizador y con ello, el proceso. Por ello, se intentó profundizar en el uso de los catalizadores con un menor contenido en Pd, intentando conseguir una mayor actividad de los mismos mediante la segunda estrategia, es decir, modificando la sal precursora.

Para ello, se prepararon tres catalizadores utilizando las tres sales precursoras de Pd [PdCl₂, Pd(OAc)₂ y Pd(NO₃)₂] y se evaluó su actividad catalítica en la reacción de hidrogenación catalítica de bromatos en agua. Como en los apartados anteriores, se llevaron a cabo estudios de caracterización para conocer las propiedades físicas, químicas y estructurales de todos ellos. La nomenclatura utilizada fue **1%Pd/Al₂O₃(z)_y**, donde z se refiere a la sal precursora de Pd empleada siendo “N” el nitrato de Pd, “Cl” el cloruro de Pd y “Ac”, el acetato de Pd, y donde y determina la etapa de preparación y/o activación del catalizador.

4.1.3.1. Caracterización de los catalizadores

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

La composición química de los catalizadores se analizó mediante análisis ICP-AES, mostrando contenidos de Pd muy similares a los teóricos. Dichos resultados aparecen en la Tabla 4.7 y demuestran que el método de incorporación del metal sobre el soporte inorgánico es apropiado, independientemente de la sal de Pd empleada. En esta tabla se muestran también los resultados obtenidos al medir el área superficial de los distintos catalizadores. Se puede observar que, en todos los casos, la incorporación de un bajo contenido de Pd sobre el soporte no produce grandes modificaciones en los valores de área superficial. Como en los casos anteriores, las isotermas de adsorción-desorción de N₂ fueron isotermas de tipo III, características de sólidos no porosos o macroporosos.

Tabla 4.7: Contenido en Pd (ICP-AES), área superficial (BET), área externa (t-plot) y volumen total de poro de diversos catalizadores con 1% en Pd

CATALIZADOR	% en peso Pd	Área superficial BET (m²/g)	Área externa t-plot (m²/g)
Al₂O₃ (Catalox-SASOL)	-	80	81
1%Pd/ Al₂O₃(Cl)	0,98	76	73
1%Pd/ Al₂O₃(N)	1,09	77	71
1%Pd/ Al₂O₃(Ac)	1,12	79	76

Los catalizadores reducidos fueron estudiados mediante DRX (Figura 4.41), mostrando en los tres casos los picos correspondientes a la Al₂O₃ (fase γ) a $2\theta = 37^\circ, 46^\circ, 62^\circ$ y 67° (JCPDS: 00-010-0425) y a Pd metálico, $2\theta = 40^\circ$ y 47° (JCPDS: 00-005-0681), confirmándose que el Pd está mayoritariamente como Pd(0), independientemente del precursor utilizado.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

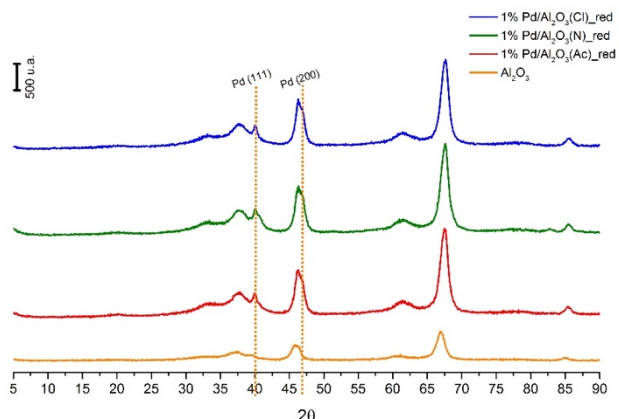


Figura 4.41: Difractogramas de los catalizadores 1%Pd/Al₂O₃(red) preparados con tres precursores distintos

Mediante el estudio de reducción termoprogramada (Figura 4.42) se analizaron también los catalizadores con 1% en peso de Pd. La baja cantidad de metal presente en estos catalizadores impide realizar una discusión profunda del termograma, siendo el único hecho reseñable que en los tres casos, se observaron picos negativos aproximadamente entre 70 y 80 °C, correspondientes a la descomposición de las especies β -PdH y siendo este pico negativo más intenso en el catalizador preparado a partir de nitratos.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

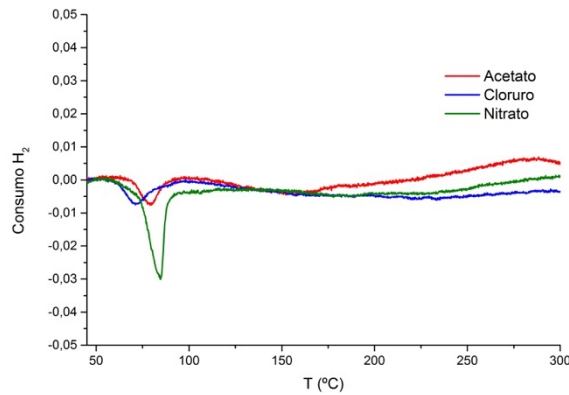


Figura 4.42: Perfiles TPR de los catalizadores con 1% Pd en peso

Mediante microscopía electrónica de barrido (FESEM) se analizó la morfología de los tres catalizadores, mostrando todos ellos resultados similares. Además, el análisis del contenido en Pd de los tres catalizadores mediante EDS (Tabla 4.8) coincidió con los resultados obtenidos por ICP-AES, lo que demuestra que existe una dispersión homogénea del metal sobre el soporte al obtener el mismo resultado por una técnica puntual (EDS) y con una técnica bulk (ICP-AES).

Tabla 4.8: Contenido en Pd medido por ICP-AES y composición química medida por EDS (% en peso) de los catalizadores reducidos 1%Pd/Al₂O₃

CATALIZADOR	% Pd ICP-AES	% Pd EDS	% Cl EDS	% Al EDS	% O EDS
1%Pd/ Al₂O₃(Cl)_red	0,98	1,0	0,2	43,5	55,3
1%Pd/ Al₂O₃(N)_red	1,09	0,9	-	43,0	56,6
1%Pd/ Al₂O₃(Ac)_red	1,12	0,9	-	43,4	55,6

La microscopía electrónica de transmisión en modo barrido (STEM), permitió observar las nanopartículas de Pd formadas en los distintos catalizadores. Midiendo alrededor de 100 partículas de Pd de cada catalizador en distintas zonas, se obtuvo el valor medio del tamaño de partícula de Pd y las distribuciones de tamaño de partícula. Los resultados se muestran en las Figura 4.43, 4.44 y 4.45, observándose en todos los

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

casos la formación de nanopartículas de Pd cuya distribución de diámetros sigue una tendencia gaussiana. El orden del tamaño de nanopartículas de paladio fue cloruro \sim nitrato $<$ acetato (Tabla 4.9). A partir de estos datos se puede calcular el diámetro volumen-área, permitiendo determinar la dispersión metálica (Ecuación 7). Los resultados se muestran en la Tabla 4.9, obteniéndose una dispersión metálica en el rango de 20-40%, siendo el catalizador preparado a partir de PdCl_2 el que presenta una mayor dispersión.

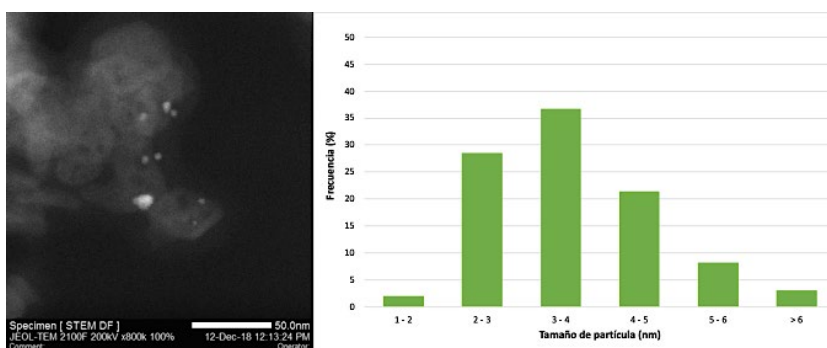


Figura 4.43: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃(N) y distribución de tamaño de partícula

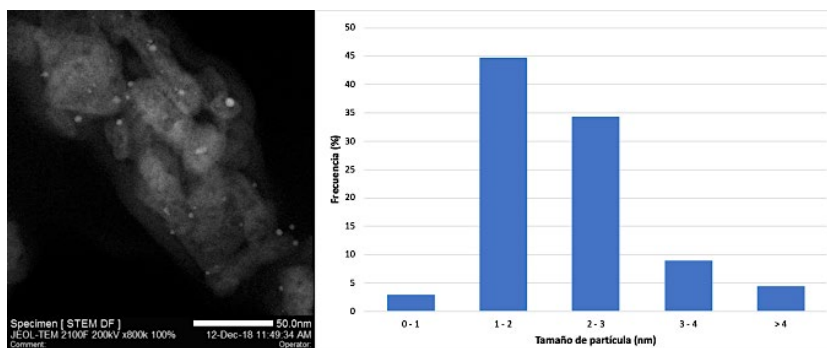


Figura 4.44: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃(Cl) y distribución de tamaño de partícula

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

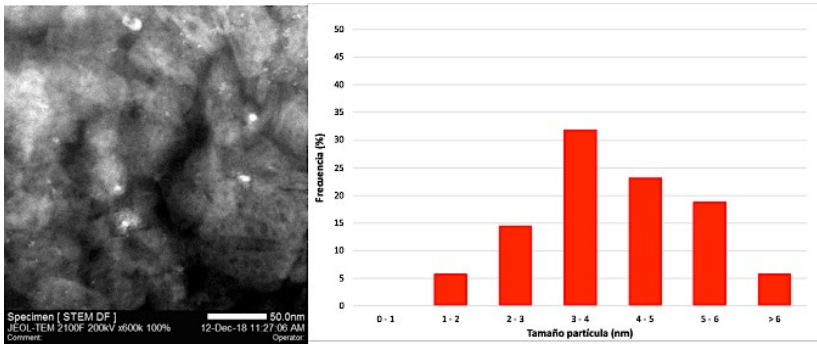


Figura 4.45: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃(Ac) y distribución de tamaño de partícula

Tabla 4.9: Tamaño de partícula y dispersión metálica de los catalizadores 1%Pd/Al₂O₃_red medido por TEM

	Tamaño partícula (nm)	Dispersión (%)
1%Pd/Al₂O₃(N)_red	2,4	31,9
1%Pd/Al₂O₃(Cl)_red	2,1	39,7
1%Pd/Al₂O₃(Ac)_red	3,9	23,4

El área metálica y la dispersión metálica de los tres catalizadores fue también estudiada mediante quimisorción de CO, así como el tamaño de partícula. Los resultados (Figura 4.46) ofrecieron diferencias entre los tres catalizadores y fueron ligeramente diferentes a los obtenidos por microscopía. El catalizador preparado mediante Pd(OAc)₂ presenta la menor área metálica, lo que equivale a la peor dispersión y al mayor tamaño de partícula, coincidiendo con el resultado obtenido por microscopía, aunque el valor de dispersión obtenido es ligeramente mayor (29% frente a 23%) al obtenido por TEM. Por otro lado, los catalizadores preparados a partir de la sal de nitrato y cloruro presentan mayores áreas metálicas y una mejor dispersión, lo que se traduce en tamaños de partícula menores. Comparando estos resultados con los obtenidos por microscopía, en este caso también se obtienen dispersiones mayores, pues se pasa de 40 a 46% para el catalizador preparado a partir de cloruro y de 32 a 40% para

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

el catalizador preparado a partir de nitrato. En cualquier caso, se puede afirmar claramente que los tamaños de partícula de Pd obtenidos son menores a 4 nm y los valores de dispersión oscilan entre 20 y 50%. Además, aunque las dispersiones medidas por ambas técnicas no coincidan, las tendencias observadas son similares.

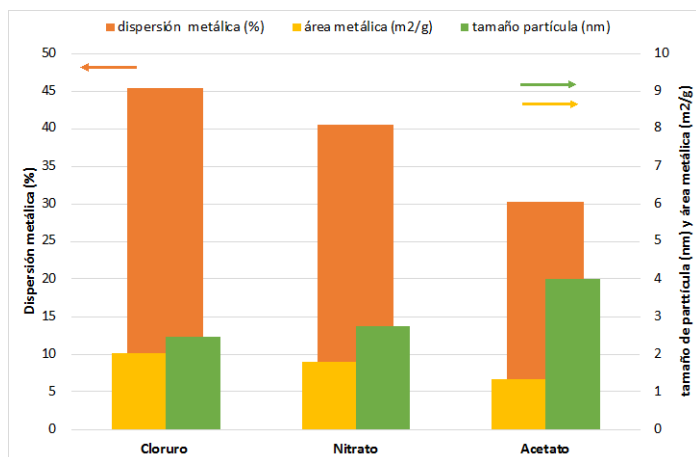


Figura 4.46: Área metálica, dispersión y tamaño de partícula calculado mediante quimisorción de CO para los catalizadores 1%Pd/Al₂O₃ preparados con distintos precursores de Pd

4.1.3.2. Actividad catalítica

Los tres catalizadores preparados fueron estudiados bajo las mismas condiciones de reacción, evaluando y comparando la actividad catalítica de cada uno de ellos (Figura 4.47). Como en los casos anteriores, la cantidad de bromatos reaccionado coincide, en todos los casos, con la cantidad de bromuros producidos, con una selectividad del 100%.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

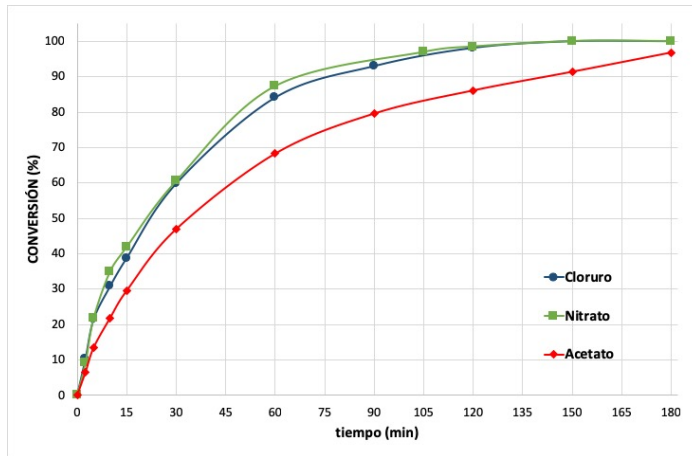


Figura 4.47: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores 1%Pd/Al₂O₃(red) preparados a partir de tres precursores diferentes (50 ppm BrO₃⁻ iniciales, 0,05 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})

Tal y como se observa, los tres catalizadores convierten totalmente los bromatos tras 180 minutos de reacción. Sin embargo, el catalizador preparado con la sal de acetato presenta una velocidad de reacción menor que la de los catalizadores preparados mediante nitrato y cloruro, que presentan curvas de conversión muy similares.

El estudio de las características físicas y químicas de los tres catalizadores ha mostrado que todos ellos son similares, salvo en lo referente a dispersión y tamaño de partícula, que como se ha discutido anteriormente, son unas de las variables que determinan la actividad catalítica. En este caso, sin embargo, a diferencia de lo que ocurría con los catalizadores descritos en los apartados anteriores con contenidos de Pd elevados, el catalizador más eficaz no es el que presenta un mayor tamaño de partícula de Pd, si no el que presenta la mayor dispersión. Así, los catalizadores preparados a partir de nitrato y cloruro presentan dispersiones y tamaños de partícula bastante similares, y también las mejores actividades. Por el contrario, el catalizador preparado mediante la

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

sal de acetato presenta la peor actividad, lo que coincide con un tamaño de partícula superior y la peor dispersión. Los mismos resultados se obtienen cuando se mide la actividad catalítica mediante el cálculo del TOF* y se representa frente a la dispersión metálica y el tamaño de partícula (Figura 4.48). Resultados similares se han descrito con otros catalizadores, así Zhang et al. realizaron un estudio de la influencia del tamaño de partícula en la actividad catalítica, empleando catalizadores de Pd soportado (2% en peso Pd) sobre nitruro de carbono mesoporoso (MCN), observando que las velocidades de reacción y la dispersión eran directamente proporcionales [141] tratándose también en este caso de partículas con tamaño inferior a 4 nm.

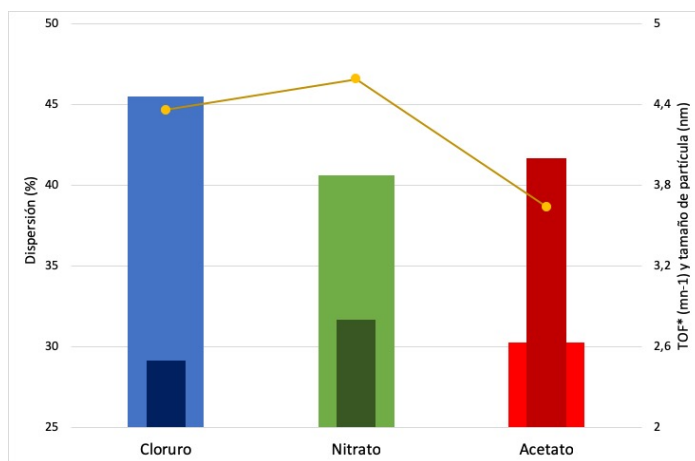


Figura 4.48: Representación del TOF* frente a la dispersión y el tamaño de partícula medido por TEM de los catalizadores 1%Pd/Al₂O₃ preparados mediante diferentes precursores de Pd

Estos resultados son distintos a los descritos en el caso de los catalizadores con un 7% de Pd. Esta diferencia puede ser debida a que en los catalizadores con un 1% en peso de Pd la mayor parte de las partículas de Pd presentan un tamaño menor de 4 nm, mientras que en los catalizadores con mayor contenido en Pd, la mayor parte de las partículas supera este valor. Esto indicaría que, por debajo de cierto tamaño de

partícula de paladio la dispersión del metal es la variable más influyente, mientras que al sobrepasar cierto tamaño de partícula, las dispersiones son más similares y es el mayor tamaño de partícula lo que hace mejorar la actividad de los catalizadores. Por tanto se puede afirmar que, la dispersión parece ser la variable más influyente en la actividad catalítica de los catalizadores con bajo contenido en Pd y con tamaños de partícula medio menores a 4 nm.

4.1.3.3. Estudios cinéticos

Empleando el catalizador 1%Pd/Al₂O₃(N)_{red} se realizó una aproximación para estudiar la cinética de la reacción. Para ello, se realizaron varias reacciones modificando la concentración inicial de bromatos. Los resultados obtenidos aparecen en la Figura 4.49, donde se muestra que se consigue una conversión idéntica en ambos casos. Estos resultados muestran que existe una relación directa entre la velocidad de reacción y la concentración inicial de bromatos, ya que, la cantidad de bromatos reducidos por unidad de tiempo aumenta proporcionalmente con el contenido inicial de bromatos. Para una mejor visualización, en la Figura 4.50 se representa el consumo de bromatos y la producción de bromuros de ambas reacciones, observándose que, además de existir una relación lineal entre la velocidad de reacción y la concentración de bromatos, todos los bromatos consumidos se reducen a bromuros, manteniéndose el balance de materia y evidenciando la inexistencia de productos secundarios.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

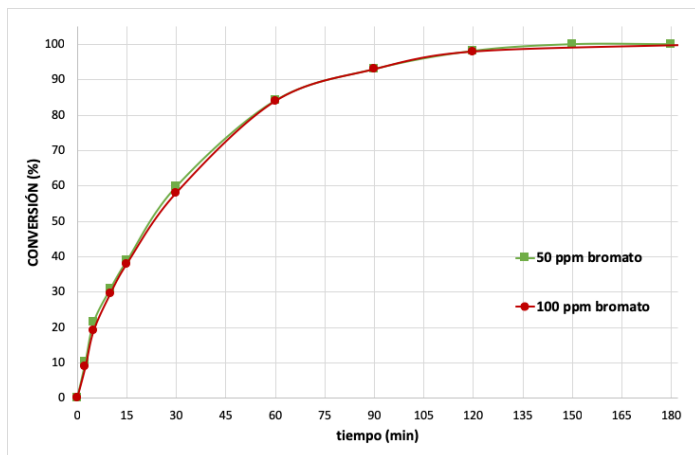


Figura 4.49: Actividad catalítica del catalizador $1\%Pd/Al_2O_3(N)$ red en reacciones con 50 ppm y 100 ppm de bromatos iniciales (0,05 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm}).

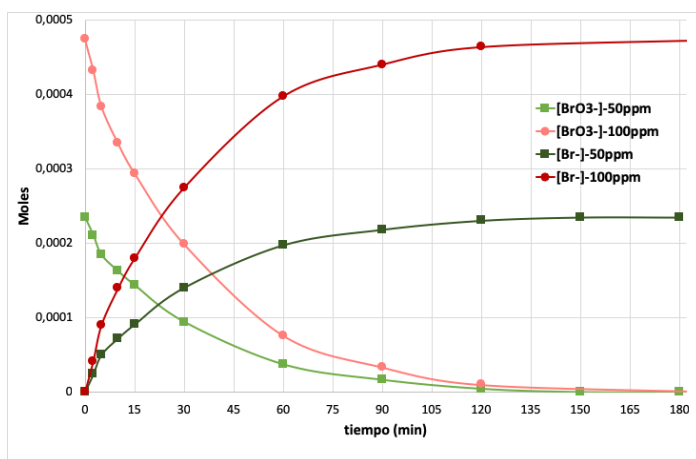


Figura 4.50: Eliminación de bromatos y producción de bromuros en reacciones con 50 ppm y 100 ppm de bromatos iniciales (0,05 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm} , catalizador $1\%Pd/Al_2O_3$).

Para el estudio de la cinética de la reacción se empleó un modelo cinético de pseudo-primer orden respecto a la concentración de bromatos [110], ya que el H_2 se está incorporando constantemente, encontrándose siempre en exceso. El modelo cinético empleado se define según la Ecuación 9, donde t es el tiempo, K_{obs} es la constante observable, C_0 es la

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

concentración de bromatos inicial y C_t es la concentración de bromatos a cada tiempo de reacción. Integrando esta expresión se obtiene la *Ecuación 10*, fácilmente linealizable.

$$\text{Ecuación 9} \quad \frac{dC_t}{dt} = K_{obs} \cdot C_t$$

$$\text{Ecuación 10} \quad \ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = K_{obs} \cdot t$$

La Figura 4.51 y la Figura 4.52 muestran el ajuste de los datos experimentales, obteniendo un coeficiente de correlación (R^2) de 0,994 y 0,997, y un valor de la K_{obs} igual a $0,031 \text{ min}^{-1}$ en ambos casos. Por ello, se puede confirmar que la reacción se ajusta a un modelo cinético de pseudo-primer orden respecto a la concentración de bromatos.

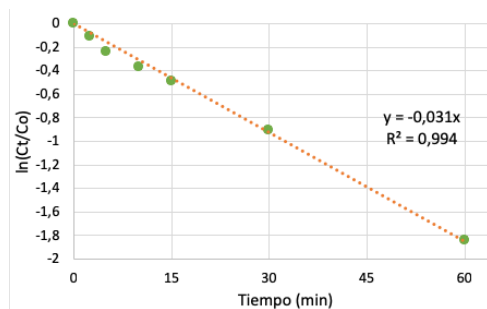


Figura 4.51: Datos de la reducción de bromatos (50 ppm BrO_3^-) ajustados al modelo cinético de pseudo-primer orden

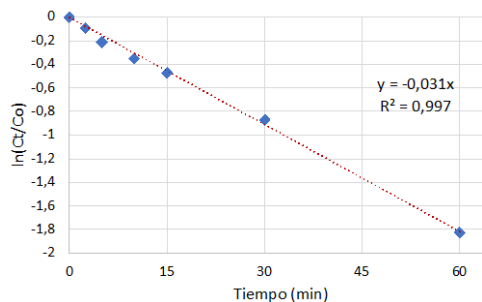


Figura 4.52: Datos de la reducción de bromatos (100 ppm) ajustados al modelo cinético de pseudo-primer orden

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Como conclusión de todos los estudios realizados en este apartado, se puede afirmar que los catalizadores Pd-Al₂O₃ reducidos son catalizadores activos para la eliminación de bromatos en agua mediante su reducción a bromuros en presencia de H₂ como agente reductor, a temperatura ambiente y presión atmosférica. Se ha observado que los principales factores que controlan esta reacción son el tamaño de partícula del metal soportado y la dispersión de éste, viéndose favorecida la actividad catalítica al aumentar el tamaño de las partículas de Pd debido a la formación de especies β-PdH, y también al aumentar la dispersión metálica, al existir un mayor número de centros activos disponibles. Por ello, es necesario encontrar un equilibrio entre ambos factores, pues normalmente estas variables están relacionadas de forma inversa, es decir, un mayor tamaño de partícula se corresponde a una menor dispersión del Pd, recomendándose para un uso industrial el catalizador con menor contenido en Pd y preparado a partir del precursor PdCl₂, pues es el que consigue una mayor actividad por mol de Pd. Por último, se ha determinado que con este tipo de catalizadores la reacción sigue una cinética de pseudo-primer orden respecto a la concentración de bromatos.

4.2. Catalizadores basados en Pd/ACF

Todos los resultados anteriormente expuestos se han obtenido exclusivamente empleando Al_2O_3 como soporte inorgánico. Estos catalizadores se pueden utilizar en forma de polvo o granulado sin presentar problemas cuando se utilizan reactores discontinuos de tanque agitado. Sin embargo, el escalado a nivel industrial exigiría la modificación del sistema de reacción hacia un sistema en continuo, tipo flujo pistón, donde sería necesario el uso de pastillas o discos de este tipo de catalizadores con elevada estabilidad física, lo que suele generar problemas de transferencia de materia, presencia de caminos preferenciales y sobre todo, poca estabilidad física, pudiéndose perder parte del catalizador arrastrado por la corriente. Por ello, se estudió una nueva familia de catalizadores de Pd en los que se emplean fibras de carbón activo tejidas como soporte inorgánico.

Los catalizadores en forma de telas tejidas han sido utilizados ampliamente para muchos y diferentes procesos en continuo como la producción de ácido nítrico o diversos aldehídos [333]. Además, se han empleado como soporte de diversos catalizadores, como por ejemplo para la eliminación fotocatalítica de COVs [334]. No obstante, la mayor aplicación de este tipo de materiales tejidos ha sido la adsorción. Existen numerosos ejemplos de ello, como la adsorción de SO_2 [335], NO_x [336] o diferentes pesticidas comunes [337] sobre materiales carbonosos en forma de fibras tejidas. En general, los catalizadores tipo fibra permiten trabajar de muchas formas y poseen una gran flexibilidad física. De igual manera, este tipo de catalizadores suelen presentar áreas superficiales muy grandes, poseyendo facilidad para soportar otros compuestos o metales, presentando una baja peligrosidad en su manejo, fácil escalado, alta

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

permeabilidad y baja resistencia al flujo tanto de líquidos como de gases [335, 338, 339]. Por ello, se considera que pueden ser adecuados para el tipo de proceso estudiado en esta investigación.

En este apartado se estudiará el uso de catalizadores basado en paladio soportado sobre fibras de carbón activo (ACFs) para la reducción de bromatos a bromuros en fase líquida empleando H_2 como agente reductor y trabajando a presión atmosférica y temperatura ambiente. Se ha trabajado exclusivamente con fibras de carbón activo (ACFs) de la empresa Kynol modelo K-20, en forma de tejido trenzado que permite formar lo que comúnmente se denomina tela. Este material se obtiene directamente de otro producto de la misma empresa denominado Kynol Novoloid (fibras obtenidas a partir de resinas fenólicas) que sufre un proceso combinado de carbonización y activación, generando las fibras de carbón activo [340], siendo su producción económica, y su manejo sencillo y seguro. La carga de Pd incorporado ha sido inferior a los estudios anteriores, trabajando con catalizadores con 1%, 0,5% y 0,25% de Pd en peso, buscando minimizar la cantidad de Pd empleado, debido al elevado precio de este metal precioso.

La nomenclatura utilizada ha sido $x\%Pd/ACF(y)$, donde x se refiere a la cantidad de Pd teórico impregnado, y donde y es la etapa de preparación del catalizador. Por ejemplo 1%Pd/ACF(red), será un catalizador con un 1 % de Pd soportado sobre fibras de carbón activo tras su reducción.

4.2.1. Caracterización de los catalizadores Pd/ACF

El área superficial del soporte y de los catalizadores preparados se determinó mediante el análisis de las isotermas de adsorción-desorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$. Todos los catalizadores presentaron isotermas tipo Ib (Figura

4.53), típicas de sólidos microporosos con diversos diámetros y con la posible presencia de mesoporos estrechos.

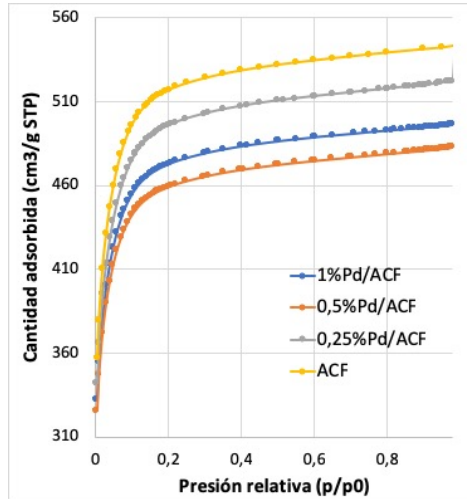


Figura 4.53: Isotermas de adsorción de N_2 del soporte (ACF) y catalizadores con diferentes contenidos en Pd

Para el análisis de las isotermas se ha empleado el método BET (Brunauer, Emmet y Teller) pero aplicando el criterio establecido por Rouquerol [288]. La Tabla 4.10 refleja los valores de área BET y área de microporo del soporte y de los tres catalizadores con Pd incorporado.

Tabla 4.10: Propiedades texturales del soporte ACFs y de los catalizadores preparados

	Área BET ($m^2 \cdot g^{-1}$)	Área microporo ($m^2 \cdot g^{-1}$)
ACF	1977	1928
0.25% Pd/ACF	1885	1837
0.5% Pd/ACF	1848	1801
1% Pd/ACF	1812	1767

Los resultados muestran un área superficial muy elevada en todos los casos, principalmente debido al área de microporo. Se observa también una disminución en el área total conforme se incorpora una mayor cantidad de metal en el soporte. Esto se corresponde con una disminución en el área

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

microporo, lo que puede ser debido a un bloqueo de los microporos por parte del metal durante su incorporación. No obstante, las diferencias no son muy significativas ya que en todos los casos tenemos áreas superficiales superiores a $1800 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, y por tanto, se puede considerar que las propiedades texturales de los catalizadores no son muy diferentes entre ellas, independientemente de la cantidad de metal incorporado.

Complementariamente a este estudio y para poder determinar la distribución del tamaño de microporo y el volumen de poro de los materiales estudiados, se realizó un análisis del área superficial pero empleando Ar como gas de medida que, a diferencia de N_2 , puede entrar más fácilmente en los microporos. La distribución de diámetro de poro tanto para las fibras sin Pd incorporado como para el catalizador con mayor contenido en Pd (1%Pd/ACF) mostraron distribuciones de diámetro de poro por debajo de los 2 nm en su mayoría. Además, el volumen de microporo fue más o menos contante en todos los casos, en un rango de $0,33$ a $0,35 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, siendo menor cuanto mayor era el contenido de Pd incorporado, probablemente debido al bloqueo de los poros por dicho metal.

La morfología de los diversos catalizadores, así como la estructura macroscópica de los materiales fue analizada mediante FESEM. Las diferentes imágenes de los catalizadores estudiados mostraron patrones típicos de catalizadores tejidos, específicamente del tipo “*tejido liso*” donde las fibras se alternan arriba y abajo formando un urdimbre, es decir, un conjunto de hilos colocados en paralelo por los que se hace pasar longitudinalmente otros hilos creando una trama o tejido (Figura 4.54).

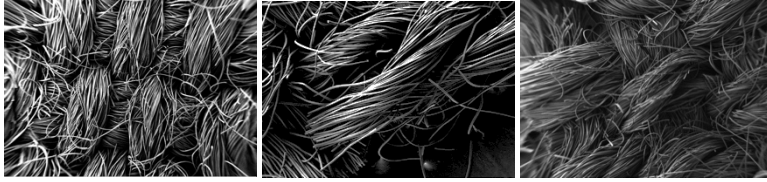


Figura 4.54: Imagen FESEM (x50) del ACFs antes de la incorporación del Pd (izq.), del catalizador 0,25%Pd/ACF(red) (centro) y del catalizador 1%Pd/ACF(red) (dcha.)

La semejanza de todos los catalizadores, independientemente de la cantidad de metal incorporado, antes y después de la activación, muestran que el proceso de preparación y activación de los materiales es adecuado y no destructivo con respecto al soporte.

Por otro lado, el estudio de los catalizadores mediante esta técnica permitió, también, conocer el diámetro de las fibras utilizadas. Los valores de diámetro de diferentes fibras en cada uno de los catalizadores varió entre 10 y 12 μm (Figura 4.55). Este rango de valores se encuentra en concordancia con los valores ofrecidos por la compañía que prepara las fibras.



Figura 4.55: Imágenes FESEM (x200) de los catalizadores 1%, 0.5% y 0,25%Pd/ACF(red) a aumentos similares

Las imágenes obtenidas no denotaron la presencia de partículas de Pd en la superficie del soporte, ya que no se observan zonas con diferencias claras de contraste (Figura 4.56), aunque el número de aumentos empleado fue bastante bajo. Esto puede ser debido a dos factores principales:

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

- Las partículas de Pd generadas pueden encontrarse en los poros del interior de las fibras, por lo que el FESEM no consigue distinguirlas, debido a que el haz de electrones no penetra lo suficiente.
- Los aumentos utilizados en la obtención de las imágenes de FESEM no son suficientes, de forma que no es posible distinguir si existen nanopartículas de Pd en la superficie de los catalizadores, debido a su vez a que estas son muy pequeñas y muy dispersas en el soporte.

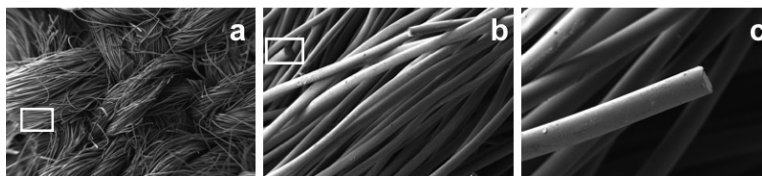


Figura 4.56: Imágenes FESEM a distintos aumentos (x50, x200 y x300) del catalizador 1%Pd/ACF(red)

Por lo tanto, esta técnica no proporciona la suficiente información sobre las partículas de Pd, y deben ser empleadas otras técnicas para poder analizar la forma, tamaño y distribución de las partículas de Pd en los catalizadores basados en ACFs.

No obstante, la técnica EDS acoplada al microscopio electrónico utilizado (FESEM) permitió determinar la composición química de los tres catalizadores estudiados. Los resultados se muestran en la Tabla 4.11 y como se puede observar, son muy cercanos a los teóricos o esperados. Por lo tanto, y debido al carácter puntual de la técnica EDS, es posible afirmar que la distribución del metal es bastante homogénea ya que, mediante esta técnica se obtienen valores cercanos a los teóricos en las zonas analizadas. Pero además nos permite afirmar que los aumentos seleccionados en las

imágenes obtenidas por FESEM no eran suficientes para permitir observar las partículas de Pd.

Tabla 4.11: Composición química de los catalizadores medidos mediante EDS

	%C	%O	%Pd
0,25%Pd/ACF(red)	93,61	6,02	0,22
0,5%Pd/ACF(red)	92,06	5,92	0,48
1%Pd/ACF(red)	91,32	7,06	1,08
5%Pd/ACF(red)	89,26	5,93	4,81

Los diferentes catalizadores preparados también fueron estudiados con el microscopio electrónico de transmisión de alta resolución (HRTEM). Inicialmente las imágenes obtenidas no ofrecieron los resultados esperados. Debido al grosor de las fibras individuales, el haz de electrones no consiguió atravesar la muestra y no aportó información sobre la misma, apareciendo una silueta negra opaca que define los perfiles de cada fibra del material pero que no ofreció nueva información sobre su estructura o sobre la distribución del metal sobre ella (Figura 4.57).

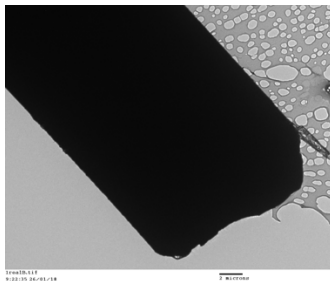


Figura 4.57: Imagen TEM del catalizador 0,25%Pd/ACF(red)

Por ello, se decidió utilizar el microscopio de haz de iones focalizados o FIB que, mediante el uso de iones Ga^+ de elevada energía, permite tratar el material, generando una lámina muy fina de escala nanométrica que se denomina *lamela*, sin alterar con ello la estructura macroscópica (ver apartado: *Microscopía electrónica*). Una vez preparadas estas lamelas, se

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

soportaron en un portamuestras de TEM y se midieron mediante STEM, consiguiendo una cantidad de catalizador lo suficientemente fina para que el haz pudiese atravesarlo y así, estudiar el material mediante el microscopio electrónico de transmisión. Los resultados obtenidos con los tres catalizadores (Figura 4.58) mostraron la presencia de unos puntos claros que podrían corresponderse con la presencia de nanopartículas de Pd en la sección transversal de las fibras (lamela), es decir en el interior de las mismas. Esto fue comprobado mediante el mapeo elemental, que determinó que estaban formadas únicamente por este elemento, Pd. Además, las imágenes tomadas a altos aumentos mediante HRTEM (Figura 4.59), mostraron claramente las distancias interplanares dentro de las nanopartículas, obteniendo un valor medio de 0,23 nm característico de partículas metálicas de Pd(0) en el plano (111) [330].

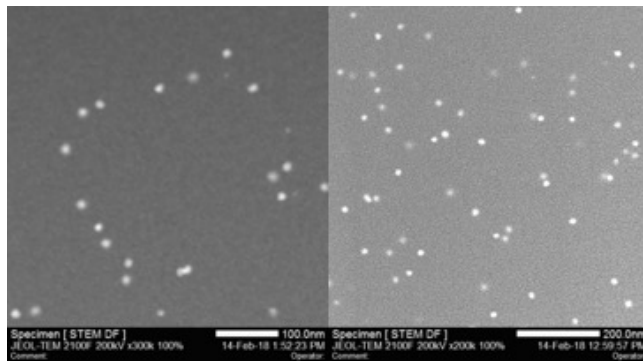


Figura 4.58: Imágenes STEM de las lamelas preparadas mediante FIB de los catalizadores 0,25%Pd/ACF(red) (izq.) y 1%Pd/ACF(red) (dcha.)

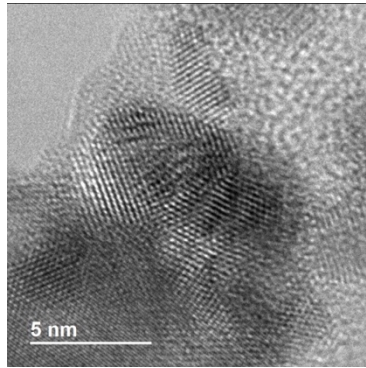


Figura 4.59: Imagen HRTEM de una de las partículas formadas en la lamela del catalizador 0,25%Pd/ACF(red)

El tamaño medio de las nanopartículas medidas fue de 10,7; 11,6 y 12,3 nm para los catalizadores con 0,25; 0,5 y 1% de Pd en peso, respectivamente. Dichos valores medios fueron obtenidos a través de la medida de 50 partículas en diferentes zonas de las lamelas preparadas, posibilitando el cálculo de la dispersión metálica del catalizador según la *Ecuación 7*. Si se calculan los valores de dispersión a partir de estos datos, se obtiene una dispersión muy baja en los tres catalizadores (9,1%, 9,7% y 10,5%). Sin embargo, la formación de estas partículas de gran tamaño no está de acuerdo con lo ya descrito en la literatura [111], ni con los resultados presentados previamente en la presente tesis con catalizadores basados en otros soportes. Pero además, tampoco resulta pausable que partículas entre 10 y 12 nm se dispongan en el interior de las fibras debido al carácter microporoso del soporte, con poros de menos de 2 nm de diámetro en su mayoría. Este hecho se puede explicar de dos maneras. Una posibilidad sería que estas nanopartículas de gran tamaño estuvieran en la superficie del material y hubiesen migrado desde la superficie del catalizador a la superficie de la lamela durante el corte del mismo. La otra posibilidad es que la propia incidencia del haz del FIB consistente en iones Ga^+ altamente energéticos, provoque la sinterización de las especies de Pd

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

que hay en los microporos, migrando a la superficie de la lamela y aglomerándose en forma de nanopartículas de elevado tamaño, siendo esta opción la que se considera más probable.

Por ello, esta técnica no se considera adecuada para determinar el tamaño medio de las partículas de Pd soportadas y en este caso, se estudió su distribución mediante quimisorción de CO. Con esta técnica se obtuvieron valores de dispersión metálica entre un 13 y un 30%, siendo mayor la dispersión cuanto menor era el contenido metálico incorporado sobre las ACFs, lo que, como en casos anteriores, indicaría un menor tamaño de partícula al disminuir el Pd incorporado. La Tabla 4.12 refleja los valores obtenidos mediante este tipo de análisis, junto con los resultados obtenidos mediante los estudios STEM de las lamelas.

Tabla 4.12: Dispersión metálica y tamaño medio de partícula (nm) de los catalizadores con distinta carga metálica medido por quimisorción de CO (a) y por STEM (b)

	Dispersión^a (%)	Tamaño partícula^a (nm)	Dispersión^b (%)	Tamaño partícula^b (nm)
0,25%Pd/ACF(red)	32,7	3,4	10,5	10,7
0,5%Pd/ACF(red)	19,7	5,5	9,7	11,6
1%Pd/ACF(red)	12,9	7,3	9,1	12,3

Como se observa, los resultados de tamaño de partícula y dispersión metálica no coinciden en ambas técnicas. Teniendo en cuenta que los valores obtenidos mediante quimisorción de CO son una media de todas las partículas tanto dentro como en el exterior del soporte y que en cambio, en el caso de los datos por STEM, los resultados reflejan únicamente los tamaños de partícula de Pd en la zona fotografiada y que además, estos datos pueden estar falseados por el efecto de la incidencia del haz de iones utilizado para la preparación de la lamela, se consideró que los datos de quimisorción son los más representativos y correctos.

Los catalizadores preparados se analizaron también por XPS. Debido a la energía del haz empleado en XPS, la información que ofrece esta técnica es meramente superficial, ya que solo consigue interactuar con las primeras capas de la muestra. Realizando la deconvolución de las señales obtenidas se puede conocer el estado de oxidación del paladio en la superficie de los catalizadores. Los catalizadores fueron analizados *ex situ*, es decir, fueron reducidos y posteriormente analizados por XPS. Todos los catalizadores ofrecieron resultados muy similares mostrando los picos característicos del Pd 3d_{3/2} y Pd 3d_{5/2} [341], presentándose en la Figura 4.60 la deconvolución del pico Pd 3d_{5/2}.

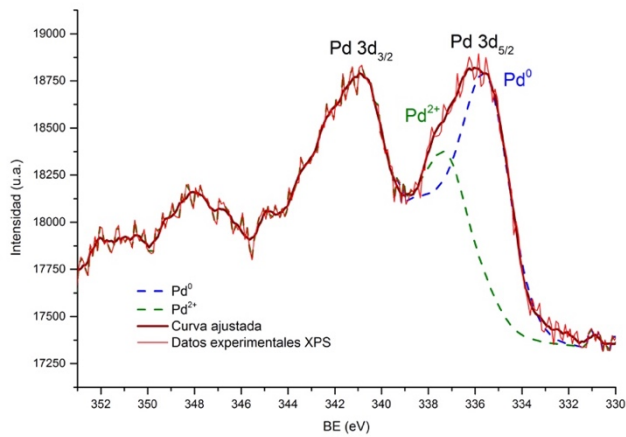


Figura 4.60: Señal XPS del catalizador 1%Pd/ACF (red) donde aparecen los picos relacionados con Pd 3d, además de la deconvolución del pico Pd 3d_{5/2}

Estos resultados indican que existe Pd en la superficie del catalizador y que, según la deconvolución llevada a cabo, el 85% del paladio se encuentra como Pd⁰ y el resto como Pd²⁺. La presencia de cierta cantidad de Pd oxidado puede ser debido a que el experimento se realiza *ex situ* [132], y tras la reducción cierta cantidad del metal se reoxida. En cualquier caso se puede afirmar que el paladio se encuentra mayoritariamente como Pd⁰.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Estos resultados son muy similares a los obtenidos en estudios llevados a cabo con otros catalizadores basados Pd soportado [111, 341, 342].

Asimismo, se llevó a cabo un estudio *in situ* de los catalizadores mediante XAS en la fuente de luz sincrotrón española ALBA. Para ello, se empleó el catalizador con mayor contenido en Pd (5% en peso), para obtener espectros lo suficientemente limpios que permitan realizar un buen análisis de los mismos. Este estudio se llevó a cabo en una celda sólido-gas, que permitió estudiar el catalizador durante la activación del material y en una celda sólido-líquido que permitió seguir la evolución del catalizador durante la reacción. Es por ello que, este estudio *in situ* permitió seguir la evolución de las especies de Pd que se van formando tanto en las etapas de activación del catalizador, como durante la reacción.

Los espectros XAS se analizaron tanto en su parte XANES (salto de absorción) como en la zona EXAFS (oscilaciones tras el salto) comparando los resultados obtenidos con los patrones de Pd metálico y $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, como referencias de Pd^0 y Pd^{+2} . Inicialmente se analizó el catalizador 5%Pd/ACF(ap) a temperatura ambiente en atmósfera de aire (O_2 -25 °C). El espectro obtenido del catalizador (Figura 4.61-azul) presenta un perfil casi idéntico al del patrón $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, lo que significa que tras la impregnación, el Pd incorporado en las fibras se mantiene en estado de oxidación +2 (borde de absorción en 24354 eV) y sin modificarse el estado de oxidación del metal incorporado.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

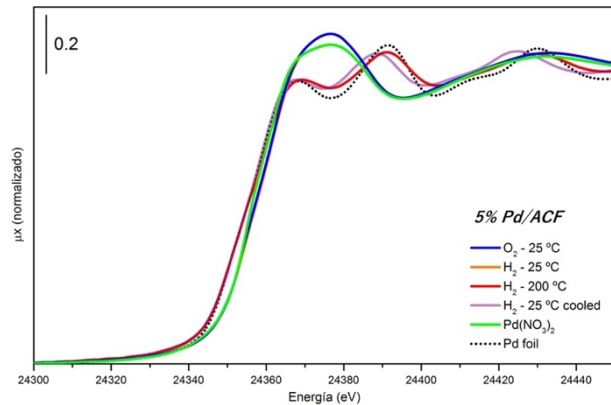


Figura 4.61: Espectro XAS normalizado del catalizador 5%Pd/ACF durante las diversas etapas de preparación del catalizador

Continuando con el protocolo de activación, el catalizador 5%Pd/ACF(ap) se volvió a examinar reemplazando el aire por una atmósfera reductora (5% H₂ en He) manteniendo la temperatura (H₂-25 °C). El espectro (Figura 4.61-naranja) no mostró cambios considerables, y por lo tanto, se puede afirmar que a temperatura ambiente y en presencia de H₂, no existen cambios en las especies de Pd⁺² soportadas sobre las fibras. Este comportamiento es distinto al observado en los catalizadores basados en Pd sobre alúmina, en los que la incorporación a temperatura ambiente de H₂ modificaba las especies de Pd comenzando a observarse su reducción. Esta diferencia puede ser debida a que las especies de Pd en el caso de las fibras de carbón activo se encuentran más estabilizadas.

El siguiente paso consistió en aumentar la temperatura de la celda hasta 200 °C en presencia de H₂, tal y como se realiza durante la activación de los catalizadores, apareciendo en este caso diferencias significativas en los espectros (Figura 4.61-rojo). Estudiando el borde de absorción (zona XANES), se puede observar un desplazamiento de este borde a menores energías (24350 eV), lo que comparado con las referencias, significa una

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

evolución de las especies desde Pd⁺² a Pd⁰, es decir se produce la reducción de las especies de paladio. Además, analizando la zona EXAFS, las oscilaciones tras el borde de adsorción se modifican claramente, describiendo un perfil mucho más similar al patrón de Pd⁰. Por lo tanto, se puede asegurar que durante el proceso de activación se produce la reducción de las especies de Pd⁺² a Pd⁰, mostrando el un perfil muy similar al perfil característico de Pd⁰, donde 12 átomos de Pd se coordinan a un átomo de Pd central a la misma distancia con una estructura local tipo *fcc* [343, 344]. No obstante, las intensidades de las oscilaciones no son exactamente iguales al patrón de Pd o Pd *foil*, siendo éstas algo más achatadas, lo que podría indicar la presencia de nanopartículas de Pd y no la formación de Pd-*bulk* [344].

Finalmente, bajo las mismas condiciones reductoras se estudió de nuevo el catalizador tras bajar la temperatura hasta 25 °C (H₂-200 °C-cooled). Los cambios, aunque muy ligeros, se observan solamente en la zona EXAFS (Figura 4.61-morado), apareciendo las oscilaciones desplazadas levemente hacia la izquierda respecto al Pd foil y al Pd reducido a 200 °C. Esto se puede deber a la formación de especies β-PdH que no son estables a altas temperaturas y que se forman al hidrogenar el Pd⁰ a temperatura ambiente [345, 346].

Un estudio mucho más profundo de la función ponderada k³ de la señal EXAFS, junto con la transformación de esta señal mediante la transformada de Fourier (Figura 4.62), ofrece resultados muy similares a los descritos anteriormente, teniendo en cuenta que las distancias no están corregidas. El catalizador 5%Pd/ACF(ap) a temperatura ambiente en aire (O₂-25 °C) y en hidrógeno (H₂-25 °C), describe una señal idéntica al patrón Pd(NO₃)₂, apareciendo el primer pico de la transformada de Fourier de la señal EXAFS a 1,5 Å, lo que se relaciona con la contribución Pd-O. Tras su reducción a

200 °C en atmósfera reductora (H_2 -200 °C), el primer pico aparece a 2,5 Å que es la distancia Pd-Pd típica, y es idéntico al del patrón Pd^0 , lo que está directamente relacionado con la formación del Pd reducido. Sin embargo, la menor intensidad de este pico con respecto al Pd *foil* o patrón de Pd^0 , indica que no se obtuvo Pd *bulk*, sino nanopartículas metálicas de Pd. Por último, tras reducción a 200 °C y posterior enfriamiento a temperatura ambiente (H_2 -25 °C-cooled), se observó el mismo pico característico de Pd-Pd, con algo más de intensidad y con un leve desplazamiento a distancias superiores, lo que se relaciona con la formación de las especies β -PdH.

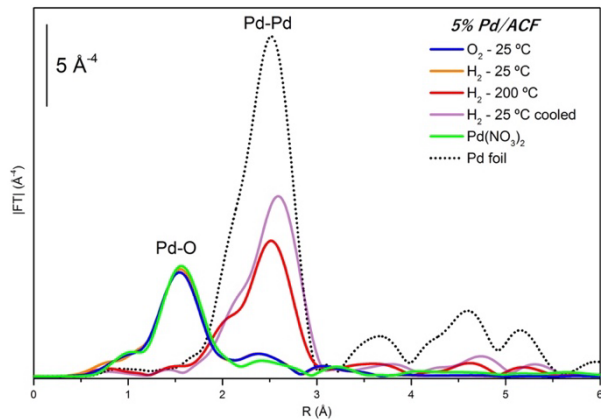


Figura 4.62: Transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS del catalizador 5%Pd/ACF en las diferentes etapas de preparación

Los parámetros optimizados del ajuste de la señal EXAFS se recogen en la Tabla 4.13. En ellos se observa que el patrón de Pd metálico o Pd foil presenta los valores típicos de metales nobles ordenados en estructuras tipo *fcc* con distancias Pd-Pd próximas a 2,74 Å [344] y un número de coordinación de 12. Sin embargo, en el caso de los catalizadores reducidos (H_2 -200 °C y H_2 -25 °C-cooled) los números de coordinación son menores. Estos resultados muestran la formación de nanopartículas de Pd, sin llegar a formarse el Pd *bulk*. En ambos casos, los números de coordinación son

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

bastante similares y por tanto, no existen diferencias elevadas en el tamaño de partícula. Sin embargo, las distancias Pd-Pd si que varían, siendo algo superiores en el caso del catalizador reducido y enfriado a temperatura ambiente (H_2 -25 °C-cooled), debido probablemente a la formación de las especies β -PdH que se pueden formar en la superficie de las partículas de Pd, tal y como se ha discutido anteriormente.

Tabla 4.13: Parámetros optimizados del ajuste de la señal EXAFS de la referencia de Pd y del catalizador 5%Pd/ACF

	Referencia Pd⁰ (patrón)	5%Pd/ACF 200 °C (H₂)	5%Pd/ACF 25 °C cooled (H₂)
NC	12	8,7 ± 0,3	9,3 ± 0,4
R_{Pd-Pd} (Å)	2,743 ± 0,003	2,729 ± 0,002	2,807 ± 0,003

Una vez estudiado el catalizador durante su proceso de activación, se estudió su evolución durante la reacción de eliminación de bromatos en agua empleando H_2 como agente reductor. Para ello se empleó la celda sólido-líquido diseñada para este tipo de experimentos. Tras incorporar el catalizador y ponerlo en contacto directo con la disolución de bromatos (50 ppm) con hidrógeno disuelto, es decir con la muestra de reacción, se adquirieron los espectros XAS, permitiendo analizar los posibles cambios tanto en los estados de oxidación como en las esferas de coordinación del Pd. Como se observa en la Figura 4.63, el espectro normalizado del catalizador en contacto con el medio de reacción (tras 10 min reaccionando) es totalmente idéntico con el obtenido tras reducir y enfriar el catalizador. Este hecho indica que durante el proceso catalítico hay una gran estabilidad de las nanopartículas de Pd, sin aparecer modificaciones ni en su estado de oxidación, ni en la esfera de coordinación, ni en el tamaño de las nanopartículas de Pd generadas sobre las fibras de carbón activo durante el desarrollo de la reacción.

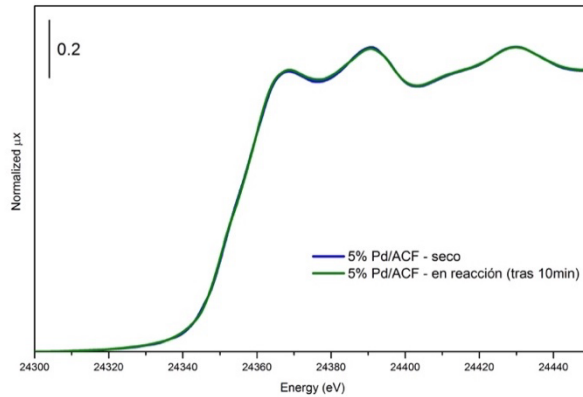


Figura 4.63: Espectro XAS normalizado del catalizador 5%Pd/ACF (rojo) previamente a su utilización (azul) y en contacto durante 10 min con el medio de reacción (verde)

4.2.2. Actividad catalítica

En primer lugar, se realizaron ensayos previos donde se comparó la actividad de uno de estos catalizadores (0,5%Pd/ACF(rojo)) con la actividad del mismo catalizador sin activar (0,5%Pd/ACF) y con la del soporte sin metal incorporado (ACF). La comparación de estos experimentos queda reflejada en la Figura 4.64. Como se observa, el soporte no presenta una actividad relevante tras 300 minutos de reacción, al igual que el catalizador 0,5%Pd/ACF sin activar, que tampoco muestra una actividad remarcable tras el mismo tiempo de reacción. Además, en este experimento no se detectó la formación de bromuros, por lo que se puede afirmar que los pocos bromatos que desaparecen, son los que quedan adsorbidos en las fibras (ACFs) [338, 347, 348]. Por el contrario, el experimento realizado con el catalizador 0,5%Pd/ACF(rojo) muestra que éste presenta una gran actividad catalítica y que la desaparición de los bromatos coincide estequiométricamente con la formación de bromuros, indicando que se produce una reducción directa de bromatos a bromuros,

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

sin la aparición de productos secundarios y por tanto, con una selectividad del 100%. Los resultados también muestran que es imprescindible la presencia de especies de Pd reducidas (Pd⁰) para que el catalizador presente actividad catalítica [111, 138].

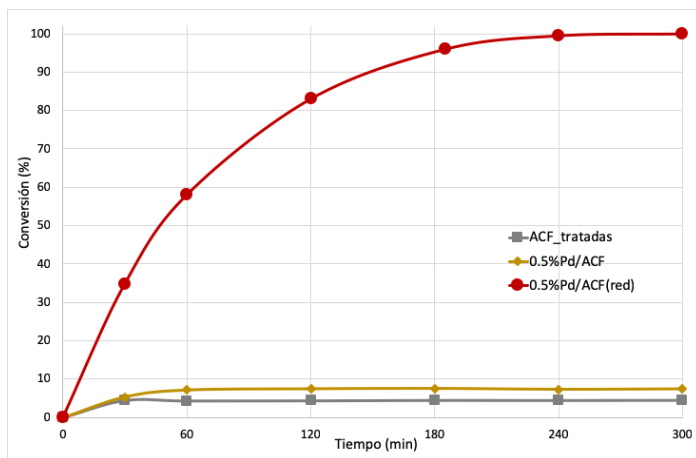


Figura 4.64: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores ACFs, 0,5%Pd/ACF y 0,5%Pd/ACF(red) (50 ppm BrO₃⁻ iniciales, 0,5 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm)

Se estudió también la actividad catalítica de otros tres catalizadores preparados de forma idéntica pero con diferente contenido metálico (0,25; 0,5 y 1% Pd en peso). La Figura 4.65 muestra los resultados obtenidos, y como cabría esperar, la presencia de un mayor contenido metálico sobre las fibras, se traduce en una mayor velocidad de reacción, consiguiéndose la conversión total en un menor tiempo.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

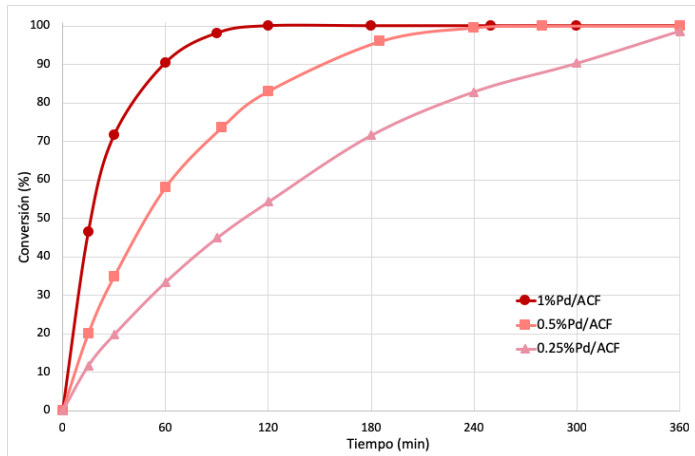


Figura 4.65: Eliminación catalítica de bromatos empleando los catalizadores 0,25%Pd/ACF, 0,5%Pd/ACF y 1%Pd/ACF reducidos (50 ppm BrO_3^- , 0,5 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})

Para una mejor comparación de los resultados, se analizaron éstos en base al TOF definido como moles de bromato eliminados por tiempo y por moles de Pd. También se realizó esta comparación con el TOF*, donde se tienen en cuenta únicamente los moles de Pd disponibles, obtenidos a partir de la composición química y de la dispersión metálica medida por quimisorción de CO. En la Tabla 4.14 aparecen los valores calculados a partir de la gráfica anterior (Figura 4.65).

Tabla 4.14: Moles Pd, TOF, tamaño de partícula, dispersión, moles Pd disponible y TOF* de los tres catalizadores estudiados calculado con datos de quimisorción CO

	Mol Pd	TOF (min^{-1})	Tamaño partícula (nm)	Dispersión (%)	Moles Pd disp..	TOF* (min^{-1})
0,25%Pd/ACF(red)	$1,04 \cdot 10^{-5}$	0,122	3,4	32,7	$3,38 \cdot 10^{-6}$	0,371
0,5%Pd/ACF(red)	$2,26 \cdot 10^{-5}$	0,125	5,5	19,7	$4,44 \cdot 10^{-6}$	0,634
1%Pd/ACF(red)	$5,07 \cdot 10^{-5}$	0,123	7,3	12,9	$6,55 \cdot 10^{-6}$	0,955

Como se puede observar en la tabla anterior, los valores de TOF obtenidos teniendo en cuenta los moles de Pd totales incorporados en cada

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

uno de los catalizadores son muy similares, lo que indicaría que la velocidad de reacción depende únicamente de la cantidad de Pd, obteniéndose mayor velocidad de reacción cuanto mayor es ésta. Sin embargo, cuando hacemos el cálculo con los moles de Pd disponibles teniendo en cuenta la dispersión metálica, los TOF* obtenidos presentan claras diferencias. De esta manera, el catalizador 1%Pd/ACF(red) presenta el mayor TOF*, mientras que el catalizador 0,25%Pd/ACF(red) presenta el peor valor. Si esto se relaciona con el tamaño de partícula, se puede observar una clara tendencia donde, tamaños de partícula más grandes ofrecen una mejor actividad (TOF* mayor), incluso presentando dispersiones metálicas inferiores. Por ello, se puede confirmar que, tal y como ocurría en los catalizadores Pd/Al₂O₃, a partir de tamaños de partícula de Pd superiores a 4 nm, cuanto mayor es el tamaño de partícula, mayor velocidad de reacción se obtiene, seguramente debido a la mayor facilidad para formar especies β-PdH en las partículas de Pd soportadas sobre las fibras.

El catalizador que proporcionó el mayor TOF* (1% Pd en peso) fue utilizado para analizar la posible existencia de problemas de transferencia de materia en el transcurso de la reacción. Para ello, se realizaron varios test catalíticos con distinta cantidad de catalizador, pero manteniendo el resto de las variables o condiciones de reacción inalteradas.

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.66, donde se observa que, tal y como cabe esperar, hay una menor velocidad de reacción cuanto menor es la cantidad de catalizador incorporado en el sistema de reacción. Sin embargo, los TOF obtenidos en las tres reacciones son muy similares (0,123; 0,126 y 0,127 min⁻¹). Esta similitud en los valores de velocidad de reacción normalizados respecto a los moles de Pd, indican que no existen limitaciones de transferencia de materia o problemas

difusionales [109, 319]. Por tanto, se puede afirmar que bajo las condiciones de trabajo del presente estudio no parecen existir problemas de transferencia de materia.

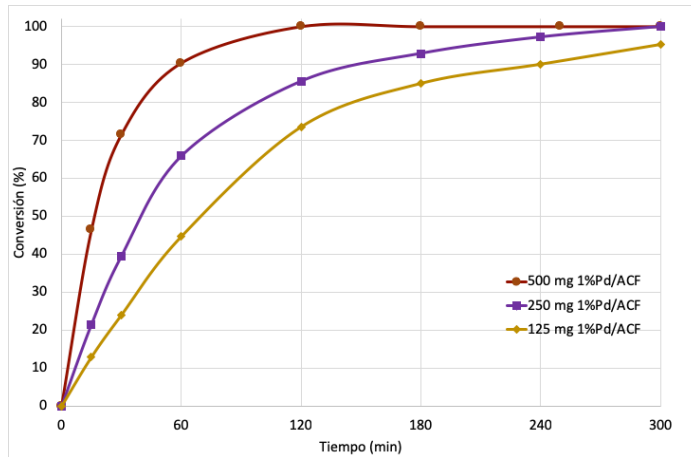


Figura 4.66: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizador 1%Pd/ACF(red) con tres masas de catalizador distintas (50 ppm BrO_3^- iniciales,, 0,6 L, Tamb y Patm)

Por último, se estudió como se modificaba la actividad del catalizador al variar la concentración de cada uno de los reactivos (bromatos e H_2), sin alterar el resto de condiciones de reacción.

En primer lugar, se evaluó la actividad del catalizador 1%Pd/ACF(red) en tres reacciones utilizando diferentes concentraciones iniciales de bromatos, que fueron 50, 100 y 150 ppm, equivalentes a $2,35 \cdot 10^{-4}$; $4,89 \cdot 10^{-4}$ y $7,04 \cdot 10^{-4}$ moles de bromato. La Figura 4.67 muestra la evolución en el tiempo de las tres reacciones mostrando los moles de bromuro producidos frente al tiempo de reacción. Se puede observar que tras 1 hora de reacción, se consigue transformar más del 90% de los bromatos en bromuros, siendo la velocidad de reacción proporcional a la concentración inicial de bromatos, indicando que existe un acinética de pseudo-primer orden con respecto a los bromatos. Resultados similares habían sido observado con

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

los catalizadores de Pd basados en alúmina y también, habían sido descritos en la bibliografía con otro tipo de catalizadores [109, 140]. Como en los casos anteriores, los moles de bromuro producidos son casi idénticos a los moles de bromato consumidos y por tanto, el rendimiento de las reacciones es total ya que, la selectividad es del 100% [110, 133, 140, 141].

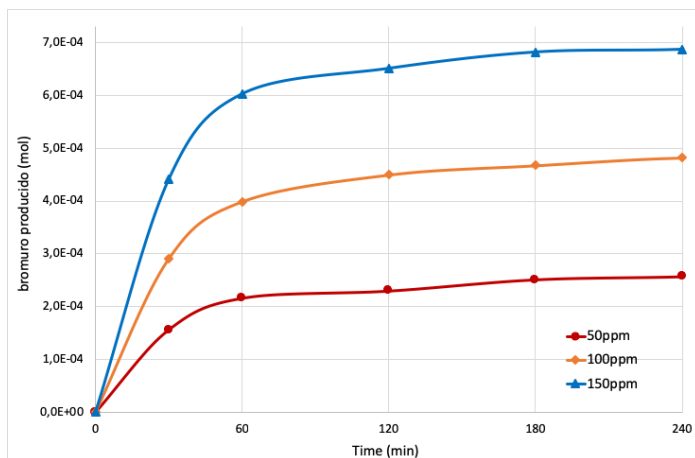


Figura 4.67: Eliminación catalítica de bromatos empleando el catalizador 1%Pd/ACF(red) con tres $[BrO_3^-]$ iniciales diferentes 50, 100 y 150 ppm (0,5 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm)

A continuación, se estudió la variación de la velocidad de reacción empleando diferentes presiones parciales de H_2 . Para llevar a cabo esta serie de reacciones se empleó la misma masa de catalizador 0,5%Pd/ACF(red), utilizando presiones parciales de H_2 de 1, 0,5 y 0,25. La Figura 4.68 muestra los resultados obtenidos en este estudio. Como se puede observar, en este caso también existe una relación directa entre la velocidad de reacción y la presión parcial de H_2 .

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

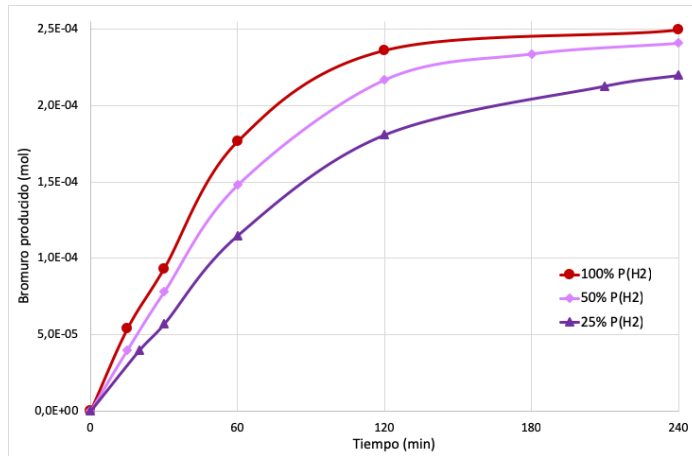


Figura 4.68: Eliminación catalítica de bromatos empleando el catalizador 0,5%Pd/ACF(red) con tres presiones parciales de H_2 diferentes 1; 0,5 y 0,25 atm (50 ppm BrO_3^- iniciales, 0,5 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})

Resultados similares habían sido descritos por Palomares et al. [111] quienes realizaron un estudio sobre la influencia de la presión parcial de H_2 sobre la velocidad de reacción, sugiriendo que la reacción de reducción de bromatos con H_2 no solamente está controlada por la concentración de bromatos sino también por la concentración de H_2 disuelto, hipótesis corroborada en la presente tesis. Estos resultados indicarían que esta reacción es de pseudo-primer orden tanto respecto a la concentración de bromatos como con respecto a la presión parcial de hidrógeno. No obstante, sería necesario un estudio en mayor profundidad, empleando otros rangos de concentración de ambos reactivos, para poder realizar un estudio cinético completo.

4.2.3. Estudios de desactivación

Se realizó un estudio de desactivación de los catalizadores, utilizando el catalizador 1%Pd/ACF(red) en reacciones sucesivas. Los resultados

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

obtenidos fueron casi idénticos en todas las reacciones llevadas a cabo, tal y como se puede observar en la Figura 4.69. La inexistencia de diferencias significativas confirma que no existe una desactivación del catalizador en el transcurso de la reacción tras varios reusos. Incluso se puede observar un leve incremento en la actividad catalítica en el segundo uso del catalizador, y ello pese a que tras cada ciclo se pierde algo de catalizador.

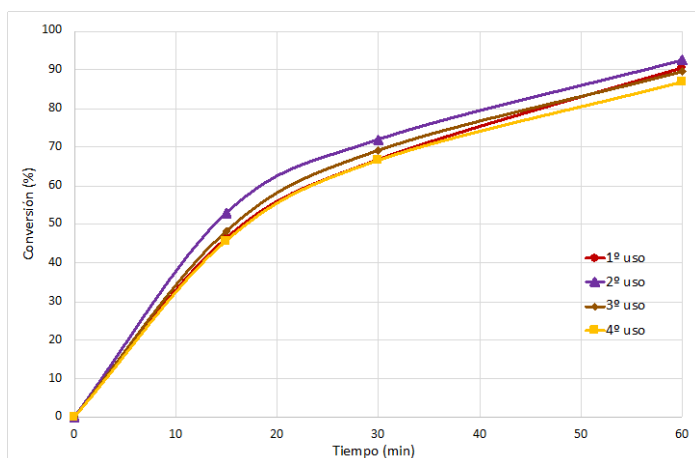


Figura 4.69: Eliminación catalítica de bromatos empleando el catalizador 1%Pd/ACF en 4 reacciones sucesivas (0,5g catalizador, 50 ppm bromatos, 0,6 L, Patm y Tamb)

La caracterización de los catalizadores usados mostró que el catalizador tras la primera reacción ve alterada su estructura macroscópica. Probablemente, la elevada agitación utilizada durante la reacción provoca la pérdida de la forma tejida de los catalizadores, pasando de ser un tejido o entramado de fibras totalmente ordenado a una maraña de fibras sin ningún orden, colocadas de forma aleatoria. La Figura 4.70 compara dos imágenes de FESEM a los mismos aumentos del catalizador 1%Pd/ACF, comprobándose que el entramado o tejido del catalizador se pierde completamente tras reacción, para formarse una mezcla aleatoria de las fibras del catalizador. Se observa también que hay una modificación en la longitud de la mayoría de las fibras que se acortan, mientras que el

diámetro de las fibras permanece constante. Esto podría explicar el ligero aumento en la actividad catalítica observada a partir del segundo uso del catalizador (Figura 4.69), ya que al deshacerse el tejido entramado existe un mejor contacto de los reactivos con el catalizador.

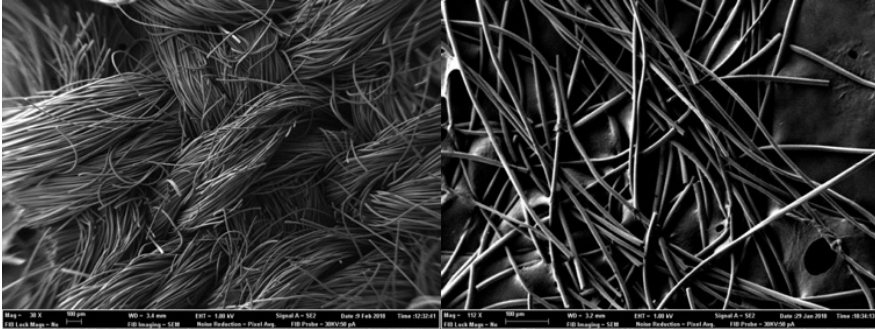


Figura 4.70: Imágenes FESEM del catalizador 1%Pd/ACF antes de su utilización en reacción (izq.) y tras su uso en reacción (dcha.)

Se realizó también un análisis químico (ICP-AES) del catalizador tras su reutilización, comprobando que tras los diferentes usos, el contenido en Pd se mantiene inalterado, sin observarse trazas del metal en el medio de reacción. Estos resultados confirman, de nuevo, que los catalizadores son estables y activos, pudiendo ser utilizados en reacciones en continuo donde se traten aguas contaminadas.

4.- ELIMINACIÓN CATALÍTICA DE BROMATOS

Así pues, los resultados obtenidos en este capítulo permiten concluir que los catalizadores de Pd soportados en fibras de carbón activo o alúmina son eficaces para eliminación de bromatos en agua contaminada, siendo probablemente más interesante el uso de los catalizadores basados en alúmina en forma de polvo para sistemas de tratamiento de agua en reactores de tanque agitado, mientras que la utilización de fibras de carbón activo parece más interesante cuando se empleen sistemas en continuo, como reactores de flujo pistón.

Asimismo, se ha establecido que la actividad del catalizador depende del tamaño de las partículas de Pd soportadas y de la dispersión del metal sobre el soporte. Se ha observado que en los catalizadores con tamaños de partícula inferior a 4 nm (aprox.) es la dispersión la variable más influyente, ofreciendo mejores actividades cuanto mayor es la dispersión del Pd. Sin embargo, en los catalizadores con partículas de Pd superiores a 4 nm, un mayor tamaño de partícula aumenta la actividad catalítica, debido a la formación de las especies β -PdH, que aparecen al adsorberse y disociarse el H₂ suministrado. Estas especies son las que reaccionarán con los bromatos, reduciéndolos a bromuros.

En los diferentes estudios llevados a cabo se ha observado que tanto la dispersión como el tamaño de partícula de Pd depende de la sal precursora utilizada, del contenido metálico y/o del soporte utilizado. Por último, se ha estudiado la cinética del proceso comprobando que la velocidad de reacción depende tanto de la concentración de bromatos del agua tratada, como de la concentración de H₂ disuelto, siendo una reacción de pseudo-primer orden frente a ambos reactivos.

5. MATERIALES BIOCIDAS

*“El uso apropiado de la ciencia no es conquistar la
naturaleza sino vivir de ella”
BARRY COMMONER*

El segundo objetivo de esta tesis es el desarrollo de aditivos con propiedades biocidas. Para ello, en el presente capítulo se estudia la actividad biocida de diferentes materiales preparados en el laboratorio frente a dos tipos de microorganismos patógenos: bacterias y hongos. Estos agentes biocidas se han incorporado en la formulación de otros materiales (polímeros y recubrimientos alimentarios), buscando nuevas funcionalidades bactericidas y antifúngicas.

5.1. Estudios bactericidas

En primer lugar, se analizaron los efectos biocidas de diversas zeolitas con plata frente a microorganismos procariotas, como son las bacterias. Este tipo de microorganismos unicelulares, son imprescindibles para nuestra supervivencia debido a los diferentes procesos metabólicos naturales que pueden desarrollar como, por ejemplo, la aceleración de la descomposición de animales y plantas muertas o la fijación de nitrógeno atmosférico [349]. Además, ciertas bacterias son utilizadas en industrias como la alimentaria por su capacidad fermentadora, o en la industria química para la producción de compuestos de todo tipo. No obstante, algunos de estos microorganismos también pueden producir graves problemas en la salud humana. Así, más del 90% de las enfermedades nosocomiales [350] y la mayoría de las enfermedades transmitidas por alimentos y agua están relacionadas con bacterias [351], lo que constituye un problema sanitario y económico de relevancia mundial [352].

Por ello, se seleccionaron dos tipos de bacterias comunes [353, 354] para estudiar el efecto de las zeolitas con plata sobre ellas. Por un lado, como ejemplo de bacteria Gram-positiva, se empleó la bacteria

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Staphylococcus aureus (*S.aureus*), una bacteria anaerobia, inmóvil, con forma de coco y que está presente en los propios seres humanos [355], pero que pueden ser causa de lesiones superficiales leves tales como inflamaciones cutáneas o infecciones ulcerosas, y de infecciones más peligrosas como endocarditis, neumonía o fiebre escarlatina [356, 357]. Además, hay que destacar que cierta mutación de esta bacteria, denominada específicamente MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), ha conseguido ser resistente a los principales antibióticos basados en penicilina y meticilina, y que el Centro Europeo de Control y Prevención de Enfermedades ha contabilizado más de 171000 infecciones causadas por esta bacteria en la Unión Europea [358].

Por otro lado, como ejemplo de bacteria Gram-negativa se escogió la bacteria *Escherichia coli* (EC). Este microorganismo anaerobio es uno de los más comunes entre la flora que habita el intestino grueso humano, y posee un papel determinante en el mantenimiento de las funciones fisiológicas (microbiota). Sin embargo, también es un patógeno humano muy común, responsable de enfermedades tales como la meningitis purulenta en neonatos, la cistitis en mujeres o diversas enfermedades diarreicas [359]. Esta bacteria de la familia de las enterobacterias suele tener forma de bacilo, no forma esporas y posee unos flagelos que rodean su cuerpo y permiten su movilidad.

Además de analizar las propiedades antibacterianas de las zeolitas con plata frente a estas dos bacterias, también se han estudiado las propiedades físico-químicas de estos materiales para intentar relacionar su actividad bactericida con dichas propiedades. Para realizar este estudio se han seleccionado diversos tipos de zeolitas: LTA, CHA, FAU, MFI y BEA, las cuales fueron seleccionadas [255] debido a:

- Su posibilidad de intercambio iónico en un amplio rango de concentraciones
- Su fácil disponibilidad, bien por ser comerciales o por ser zeolitas cuyos métodos de síntesis no son demasiado complejos
- Su bajo-medio coste
- La gran variedad de estructuras y composiciones (diferentes relaciones Si/Al)

La nomenclatura empleada se basa en las tres siglas empleadas por la Asociación Internacional de Zeolitas (IZA) para identificar la estructura zeolítica, seguida de "Ag" en aquellas zeolitas con plata incorporada, junto con un guion tras el que se indica la relación Si/Al de la zeolita (N) y de un guion bajo seguido del porcentaje de intercambio de plata respecto del máximo posible, (n), **XXXAg-N_n**. Un caso especial serán aquellas muestras con un 2% en peso de plata incorporada, las cuales serán identificadas de igual manera a las anteriores, pero sin incluir ningún porcentaje de intercambio y simplemente definida por las tres siglas de la estructura zeolítica, seguido de Ag y de la relación Si/Al de la estructura (N), **XXXAg-N**. Por ejemplo, FAUAg-2,4 define una zeolita con estructura faujasita, con una relación Si/Al de 2,4 y un 2% en peso de plata, mientras que BEAAg-1,3_100% definiría a una zeolita tipo beta con relación Si/Al de 1,3 y que ha intercambiado el 100% de los cationes originales por cationes Ag⁺.

5.1.1. Zeolitas LTA con plata

Los ensayos bactericidas se iniciaron con la familia zeolítica de estructura Linde Type A o LTA, zeolitas tridimensionales de poro pequeño que albergan grandes cavidades en su interior. Se prepararon diferentes zeolitas con relación Si/Al = 1 (zeolita comercial 4A) a distintos niveles de intercambio de plata, 10, 20, 50 y 100 %, y también se preparó otra zeolita

5.- MATERIALES BIOCIDAS

a la que se le incorporó aproximadamente un 2% en peso de plata. La actividad bactericida de estas zeolitas con plata fue estudiada frente a las dos bacterias anteriormente citadas en dos medios de cultivo distintos: agua de peptona (PW) y triptona de soja (TSB). Además, las muestras fueron caracterizadas mediante distintas técnicas permitiendo conocer algunas de sus propiedades físicas, químicas y estructurales.

5.1.1.1. Caracterización

En primer lugar, se realizó un estudio mediante difracción de rayos X de las diferentes zeolitas LTAs intercambiadas. En todos los difractogramas (Figura 5.1, 5.2 y 5.3) se pudieron observar las reflexiones características de la zeolita LTA a $2\theta = 7,2^\circ$; $10,3^\circ$; $12,6^\circ$; $21,8^\circ$; $24,0^\circ$; $27,2^\circ$; $30,0^\circ$ y $34,3^\circ$ (JCPDS: 00-38-0241); confirmando, que las dos zeolitas sintetizadas en nuestro laboratorio (LTA-2 y LTA-5), fueron preparadas correctamente [260, 360, 361].

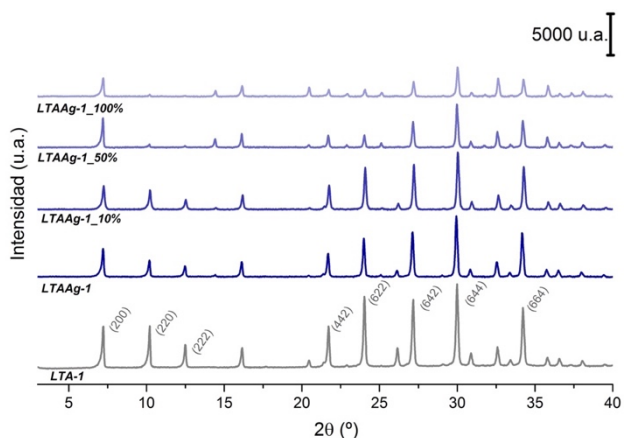


Figura 5.1: Difractogramas de los materiales basados en LTA-1 con diferente contenido en Ag (de abajo a arriba de menos a más contenido en plata)

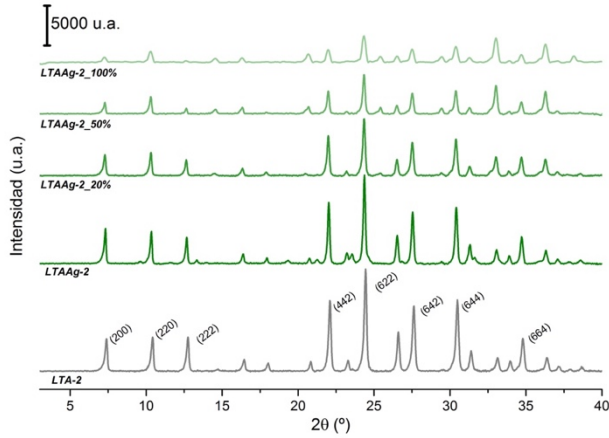


Figura 5.2: Difractogramas de los materiales basados en LTA-2 con diferente contenido en Ag (de abajo a arriba de menos a más contenido en plata)

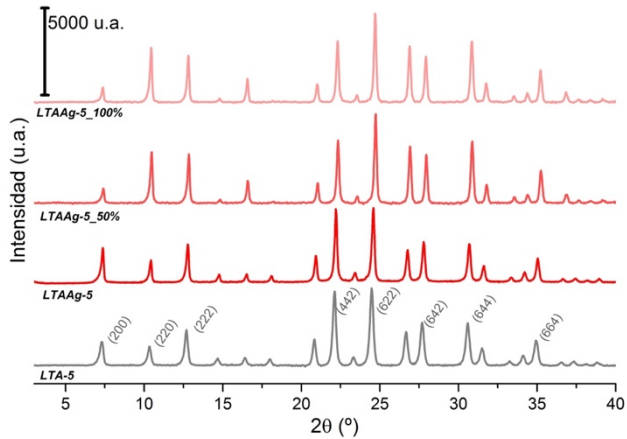


Figura 5.3: Difractogramas de los materiales basados en LTA-5 con diferente contenido en Ag (de abajo a arriba de menos a más contenido en plata)

En ningún caso, se observó la presencia de fases amorfas tras la incorporación de la plata, indicando que la incorporación del agente biocida no produce modificaciones en la estructura cristalina de la zeolita, ya que los picos de difracción se mantienen en las mismas posiciones. Se observó, además, que no aparece ningún pico de difracción característico de la plata metálica, ni del óxido de la plata, independientemente de la

5.- MATERIALES BIOCIDAS

cantidad de plata incorporada y de la relación Si/Al de las zeolitas LTAs, lo que permite asegurar que la plata incorporada se encuentra como cationes Ag^+ . Sin embargo, las intensidades de los picos asociados a la zeolita variaron según el contenido en plata incorporado, modificándose sus intensidades relativas. Esto podría estar relacionado con el intercambio de los cationes Na^+ que compensan el defecto de carga de la estructura [362] por los cationes Ag^+ y/o con la pérdida de cierta cristalinidad del material al incorporar el agente biocida [235]. La primera hipótesis es la más probable ya que la zeolita no ha sufrido ningún tratamiento agresivo que modifique su cristalinidad. Por ello, los cambios en la naturaleza, posición y contenido de especies extra-red que compensan el defecto de carga es, probablemente, la causa de las alteraciones en la intensidad de los picos de difracción [243].

Las áreas superficiales de las zeolitas sintetizadas (LTA-2 y LTA-5) y de las zeolitas intercambiadas fueron determinadas mediante el estudio de las isotermas de adsorción-desorción de N_2 y de Ar (Tabla 5.1). Estudiando estos datos, se observa que teniendo todas las zeolitas la misma estructura, la zeolita LTA-2 presenta una menor área que la LTA-5. Esto puede ser debido a la diferente cantidad de cationes de compensación (Na^+) presentes en el sistema poroso del material zeolítico, que hace disminuir el área superficial del material con mayor contenido en sodio, al impedir este catión de compensación el acceso a las cavidades microporosas de la zeolita. Estos datos son muy similares a los obtenidos por Palomino et al. [262], los cuales también observaron una disminución del área de las zeolitas al disminuir la relación Si/Al, o lo que es lo mismo, al aumentar el contenido en cationes de compensación.

Tabla 5.1: Valores de área superficial BET determinados por adsorción-desorción de N_2^a y Ar^b

Muestra	Área BET (m^2/g)	Tamaño de poro medio (Å)
LTA-5 ^a	619	-
LTA-2 ^a	559	-
LTAAg-5_100% ^b	382	40
LTAAg-2_100% ^b	270	33
LTAAg-1_100% ^b	214	24

Los estudios de área BET de las zeolitas intercambiadas con plata se realizaron empleando Ar como gas de adsorción, debido a su menor tamaño. Los resultados mostraron una disminución del área BET cuanto mayor es la cantidad de plata incorporada y menor la relación Si/Al en la zeolita, lo que, de nuevo, se puede relacionar con el bloqueo de las cavidades al aumentar el número y tamaño de los cationes de compensación. Si nos fijamos en el tamaño o distribución de poro medio analizado por este método, se observa una disminución del mismo conforme aumenta la relación Si/Al de la zeolita, y con ello, la cantidad de cationes de compensación incorporados.

Se realizó también un estudio de la morfología de las zeolitas empleadas. La Figura 5.4 muestra 6 imágenes obtenidas mediante el microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) a dos magnificaciones distintas, mostrando como las zeolitas sintetizadas (LTA-2 y LTA-5) presentan una morfología cúbica [363], al igual que la zeolita comercial (LTA-1). No obstante, mientras que la LTA-1 presenta un tamaño de cristal entre 1,3 y 4,2 μm , las zeolitas sintéticas muestran un tamaño de cristal algo inferior, entre 0,4 y 1,4 μm mostrando, además, un mayor número de agregados. De la misma forma, se tomaron imágenes de las mismas zeolitas una vez incorporada la plata a través de intercambio catiónico, sin observarse diferencias ni en el tamaño de partícula ni

5.- MATERIALES BIOCIDAS

tampoco en la morfología de las zeolitas tras la incorporación del metal. La Figura 5.5 muestra varios ejemplos de diferentes zeolitas con contenidos de plata variables, observándose únicamente diferencias en el tamaño de partícula de las zeolitas con distinta relación Si/Al.

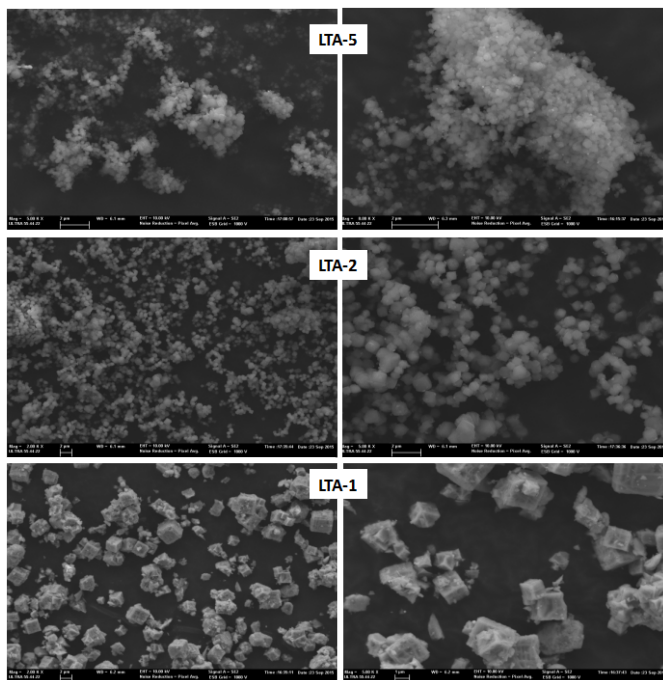


Figura 5.4: Imágenes FESEM de las zeolitas LTA con distinta relación Si/Al previamente al intercambio catiónico a 2000 aumentos (izq.) y a 5000 aumentos (dcha.), excepto LTA-5 a 5000 aumentos (izq.) y a 8000 aumentos (dcha)

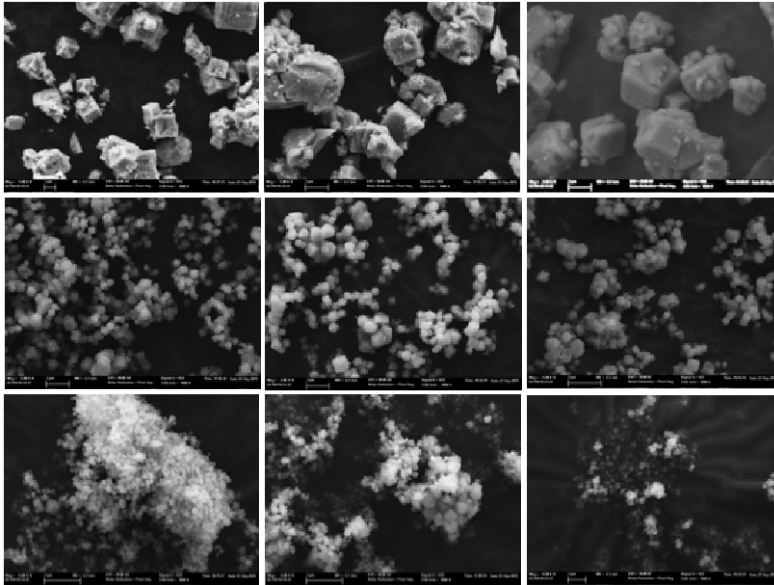


Figura 5.5: Imágenes FESEM de las zeolitas LTA con distinta relación Si/Al (1,2 y 5 de arriba a abajo). De izq. a dcha.: zeolitas sódicas, 100% intercambiadas y con un 2% en peso de Ag.

Se llevó a cabo también un mapeo elemental en algunas de las muestras (Figura 5.6) observando que la plata se distribuía homogéneamente en la zeolita, independientemente de la cantidad de plata incorporada, ocurriendo de igual manera en todas las zeolitas estudiadas.

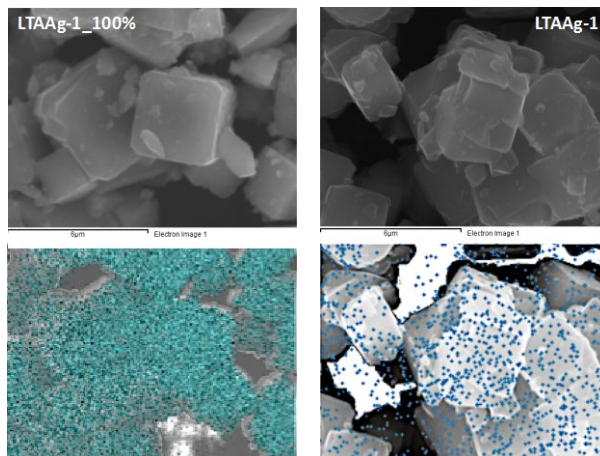


Figura 5.6: Imágenes FESEM de zeolitas con distinto contenido en Ag (48,4% Ag en LTA Ag-1_100% y 1,8% Ag en LTA Ag-1) a 10000 aumentos y mapeo elemental de plata (puntos azules)

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Se empleó también la técnica de EDS acoplada al FESEM para conocer el contenido en plata de los materiales de forma puntual. Estos datos se presentan en la Tabla 5.2 junto con la composición química de las distintas zeolitas determinadas mediante ICP-AES. Los contenidos de plata obtenidos mediante ambas técnicas son bastante similares, lo que evidencia una buena dispersión del metal en la estructura zeolítica. Calculando con este dato el porcentaje de intercambio se obtuvieron para la zeolita LTA-1 intercambios muy cercanos a los buscados, mientras que con las otras dos zeolitas no se llegaron a alcanzar los intercambios deseados, pues, sus características dificultan el proceso de intercambio iónico.

Tabla 5.2: Composición química de las distintas zeolitas LTA utilizadas medido por ICP-AES (a) y por EDS (b).

Material	% en peso Ag ^a	Grado de intercambio (%) ^a	Relación molar ^a Si/Al	% en peso Na ^a	% en peso Ag ^b
LTA-1	-	-	1,1	15,3	-
LTAAg-1_>100%	60,2	128,4	0,9	0	-
LTAAg-1_100%	48,4	95,9	0,9	0,5	49,1
LTAAg-1_50%	30,6	50,1	0,9	7,9	-
LTAAg-1_10%	7,6	9,4	0,8	-	-
LTAAg-1	1,8	2,7	0,9	13,9	1,9
LTA-2	-	-	2,0	9,7	-
LTAAg-2_100%	30,8	83,9	1,9	0,3	27,4
LTAAg-2_50%	17,2	38,6	2,1	-	-
LTAAg-2_20%	9,0	17,5	2,0	-	-
LTAAg-2	2,2	6,0	1,9	6,1	1,9
LTA-5	-	-	4,9	5,6	-
LTAAg-5_100%	17,0	77,9	4,6	1,0	20,9
LTAAg-5_50%	8,3	43,0	5,0	-	-
LTAAg-5	1,9	8,7	4,8	5,1	1,6

A parte de estos estudios, se realizó un estudio STEM en condiciones de campo oscuro anular de alto ángulo (HAADF) empleando un microscopio electrónico de transmisión de elevado potencial como es el Titan Themis

60-300. La zeolita analizada fue la zeolita LTA intercambiada al 100% de relación Si/Al de 5 (LTA_{Ag-5_100%}). Estos análisis fueron llevados a cabo en la Universidad de Cádiz, en colaboración con el grupo del profesor Calvino. En la Figura 5.7 se muestran imágenes a baja magnificación donde se observa un gran número de cristales zeolíticos con morfología cúbica, típica de la LTA [364]. Pero además, se pueden apreciar un elevado número de partículas sobre el soporte zeolítico que presentan un contraste distinto, y que deberían corresponder a especies de plata uniformemente distribuidas por el soporte.

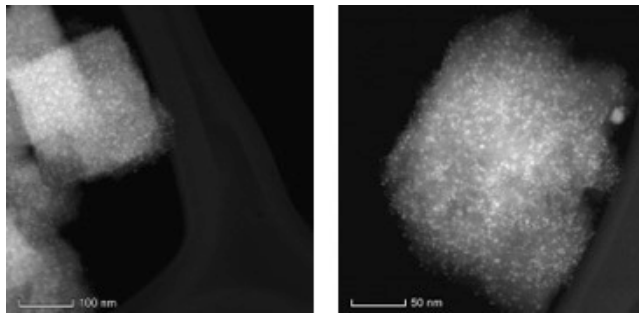


Figura 5.7: Imágenes STEM de la zeolita LTA_{Ag-5_100%} en modo HAADF

Esto se comprobó realizando un mapeo elemental de la muestra (Figura 5.8) observando que las partículas con diferente contraste eran especies de plata distribuidas uniformemente en los cristales zeolíticos. Además de la plata, el EDS mostró los elementos característicos de la zeolita, Al, Si y O, siendo la concentración de Al bastante inferior a la de Si, de acuerdo con la relación Si/Al de la zeolita analizada (LTA-5).

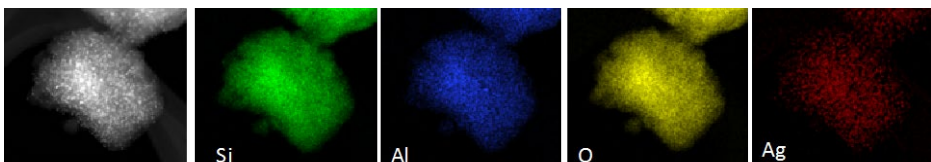


Figura 5.8: Imagen STEM de la zeolita LTA_{Ag-5_100%} junto con el mapeo elemental de la imagen (Si-verde, Al-azul, O-amarillo y Ag-rojo)

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Tomando imágenes a mayores aumentos (Figura 5.9) se consiguió observar cómo la mayor parte de la plata se encuentra distribuida siguiendo la topología zeolítica, lo que indicaría que se ha producido la incorporación de la plata como catión de compensación en toda la zeolita. Pero además, se observaron aglomeraciones de plata extra-red, en varias zonas de la superficie de los cristales zeolíticos (Figura 5.7 y Figura 5.9). De igual manera, se llevaron a cabo estudios sobre otras zonas y cristales de la misma muestra. La Figura 5.10 muestra desde otra perspectiva cómo las especies de plata se disponen tanto sobre la zeolita como en sus canales, observándose de nuevo partículas de gran tamaño que no pueden disponerse en el interior de la zeolita junto con, plata ultradispersa colocada en los canales y cavidades de la zeolita que se encontrará mayoritariamente intercambiada como especie Ag^+ . Así, del análisis de estas imágenes se puede decir que la plata incorporada en la zeolita se encuentra principalmente intercambiada, pero también formando pequeñas aglomeraciones en la superficie.

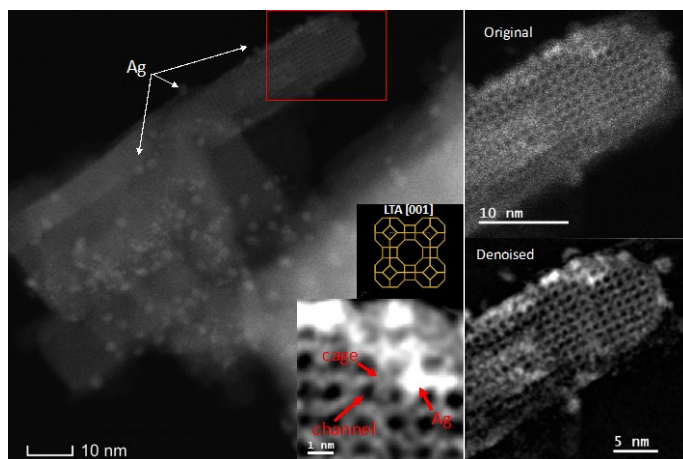


Figura 5.9: Imágenes STEM a diferentes aumentos de la zeolita LTAAg-5_100%

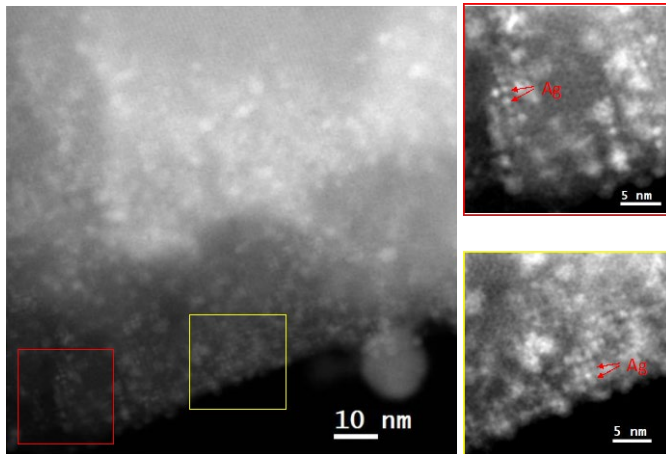


Figura 5.10: Imágenes STEM a diferentes aumentos de la zeolita LTA-Ag-5_100%

Se realizaron también estudios de reducción termoprogramada (TPR) de las muestras. La Figura 5.11 muestra los perfiles de las tres zeolitas intercambiadas con plata, observándose que las diferentes relaciones Si/Al y la diferente cantidad de plata incorporada influyen en el termograma obtenido. Así, la zeolita LTA-Ag-1_100% presenta dos picos principales a 100°C y 140°C, siendo este último el más significativo, junto con una pequeña banda a 350 °C. La atribución de estos picos a distintas especies de plata no es sencilla debido a que no existe demasiada literatura sobre estudios de TPR de zeolitas tipo LTA con plata. Diferentes autores [236, 365-367] han estudiado otras zeolitas intercambiadas con plata y han asignado los dos picos iniciales, a 100°C y 140°C, a la reducción de óxidos de plata (Ag_2O u AgO , formando *clusters*) localizados en la superficie de la zeolita. Por otro lado, el pico a 350 °C se atribuye a la reducción de *clusters* Ag_2O situados en las cavidades de la zeolita. Sin embargo, otros autores asignan los picos a bajas temperaturas a la reducción de cationes Ag^+ a *clusters* Ag_m^{n+} y a la reducción de Ag^+ a Ag^0 . El pico a temperatura más elevada se asigna a la reducción de los *clusters* Ag_m^{n+} hasta Ag metálica [368]. Debido a que los resultados obtenidos por difracción de rayos X no

5.- MATERIALES BIOCIDAS

mostraban la presencia de AgO, se puede asignar el primer pico a 100 °C a la reducción de Ag⁺ a *clusters* Ag_mⁿ⁺ y el pico a 350 °C a la reducción de estos *clusters* a Ag⁰, mientras que el pico a 140 °C estaría asignado a la reducción directa de Ag⁺ a Ag⁰.

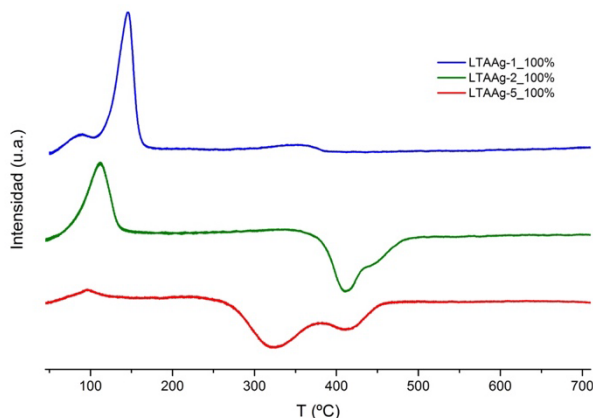
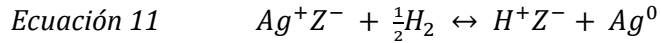


Figura 5.11: Perfiles H₂-TPR de las tres muestras LTA completamente intercambiadas

Por otro lado, las zeolitas LTAAg-2_100% y LTAAg-5_100% presentan únicamente un pico positivo a 100 ó 125 °C, respectivamente, atribuido a la reducción de cationes Ag⁺ situados en diferentes localizaciones de la estructura zeolítica a Ag⁰ y/o a *clusters* tipo Ag_mⁿ⁺. No obstante, no se observa el pico de reducción positivo a elevadas temperatura, lo que podría indicar que en estos materiales no se forman los *clusters* Ag_mⁿ⁺ y que los cationes Ag⁺ se reducen completamente hasta Ag⁰ a bajas temperaturas. Además, lo más significativo de estas muestras es la aparición de picos negativos de reducción a elevadas temperaturas. En el caso de la zeolita LTAAg-2_100%, este pico aparece alrededor de 420 °C con un hombro pronunciado a 450 °C, mientras que en el caso de la zeolita LTAAg-5_100% aparecen dos picos negativos a 325 °C y 420°C. Berndt et al [369] en estudios similares, atribuyen estos picos negativos a la reoxidación de Ag⁰,

asumiendo la reacción de reducción-oxidación como un proceso reversible, tal como se muestra en la *Ecuación 11*:



Por tanto, los distintos perfiles TPR de las tres LTA intercambiadas al 100% muestran una evolución de las especies de plata distinta en cada una de ellas, por lo que la distinta relación Si/Al junto con el diferente contenido en plata parece tener una cierta influencia en la reducibilidad de las mismas. No obstante, lo más significativo es que en todas ellas se observa como a temperatura ambiente todas las zeolitas poseen Ag^+ como especie predominante.

Se realizaron también estudios de espectroscopía de UV-visible a distintas temperaturas (temperatura ambiente y tras calentar a 400 °C) de las zeolitas intercambiadas. Como se puede observar en la Figura 5.12, correspondiente a la zeolita LTAAg-1_100%, las bandas de absorción son distintas dependiendo del tratamiento térmico sufrido. Estas variaciones coinciden con las modificaciones observadas en los colores de la muestra durante los tratamientos a distinta temperatura. De esta manera, tras el secado de la muestra y antes de calcinar (RT), la muestra posee un color blanco-amarillento, lo que se encuentra relacionado con la presencia de una banda de absorción ancha y poco definida entre 350 y 500 nm. En cambio, tras la calcinación y enfriamiento a temperatura ambiente (400-RT), aparecen dos bandas anchas centradas en 390 y 450 nm, con un hombro a 520 nm, observándose además una modificación del color de la muestra, que pasa a ser naranja oscuro. Todas estas bandas de absorción solamente pueden ser debidas a las especies de plata presentes en la zeolita, ya que es el único elemento de la muestra que posee orbitales d, que pueden absorber en la zona del visible [367, 370, 371]. La asignación

5.- MATERIALES BIOCIDAS

de estas bandas no es sencilla y diversos autores han estudiado el espectro UV-vis de diferentes zeolitas intercambiadas con plata, ofreciendo distintas interpretaciones. Por un lado, Seifert et al. [372] estudiaron la zeolita LTA-1 con diferentes grados de intercambio observando una banda de absorción entre 400 y 454 nm que asignaron a cationes Ag^+ coordinados a anillos de 4 miembros de la zeolita. Además, al estudiar las mismas zeolitas deshidratadas (tras tratamiento térmico), los espectros muestran una nueva banda de absorción a 520 nm, que atribuyeron a los mismos cationes pero que, tras eliminar el agua, interaccionaban con otro catión Ag^+ cercano, en una posición de coordinación con el anillo de 6 miembros, dando lugar a la aparición de esta banda. Por otro lado, Jacobs et al [373] propusieron en sus estudios que estas bandas son debidas a la presencia de *clusters* de plata parcialmente reducidos ($\text{Ag}^+-\text{Ag}-\text{Ag}^+$) en la zeolita LTA-1, generados por la auto-reducción de este metal. Además, en este estudio se asegura que este tipo de *clusters* solamente se pueden dar en zeolitas LTA con relación Si/Al de 1, debido a la elevada cantidad de plata que puede incorporar y al tipo de estructura abierta que presenta dicha zeolita. Ambas hipótesis pueden explicar los resultados obtenidos y probablemente todas las especies descritas se encuentren en esta zeolita. Además, en todos los casos aparecen también bandas en la zona del ultravioleta ($\lambda < 300$ nm), asignadas a los cationes Ag^+ aislados.

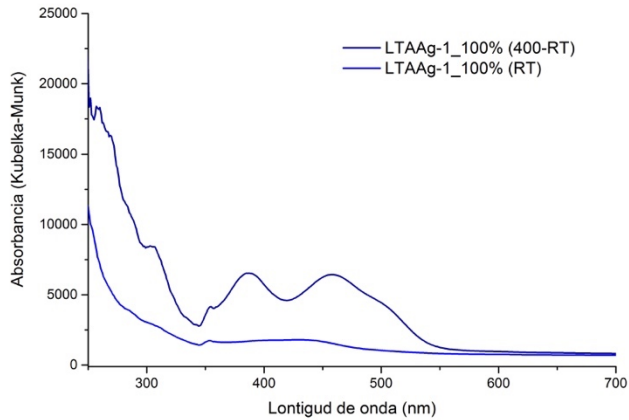


Figura 5.12: Espectros UV-visible de las zeolitas LTAAg-1_100% a temperatura ambiente (RT), y a temperatura ambiente tras calcinar a 400 °C (400-RT)

Por otro lado, los estudios UV-vis de las zeolitas LTAAg-2_100% y LTAAg-5_100% a temperatura ambiente no muestra bandas claras de absorción en la zona del visible (Figura 5.13 y Figura 5.14), pero muestran las bandas de absorción características de las especies Ag^+ en longitudes de onda menores a 300 nm, tal como ocurría en la zeolita de relación $\text{Si}/\text{Al} = 1$, con un elevado ruido. En ambos casos, tras calcinar a 400 °C y dejar enfriar, aparecen nuevas bandas como en el caso de la LTAAg-1_100% pero a longitudes de onda menores, específicamente entre 450 y 350 nm en la zeolita LTAAg-2_100%, y a longitudes de onda menores de 350 nm en la zeolita LTAAg-5_100%, es decir, en un rango más energético. Tanto las modificaciones de la intensidad de las bandas como su desplazamiento a longitudes de onda menores está relacionado con la cantidad de plata incorporada en la zeolita tal y como se ha descrito en la bibliografía [372].

5.- MATERIALES BIOCIDAS

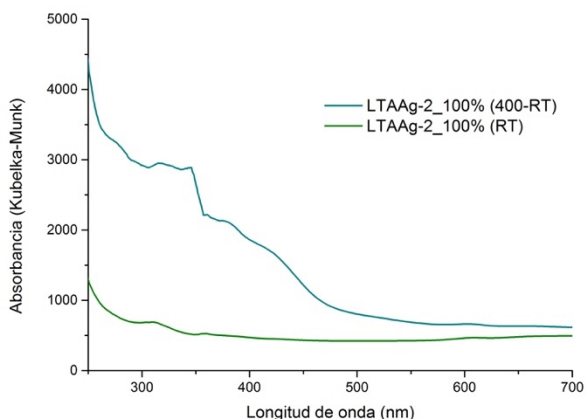


Figura 5.13: Espectro UV-visible de la zeolita LTA Ag-2_100% a temperatura ambiente (RT), y a temperatura ambiente tras calcinar a 400 °C (400-RT)

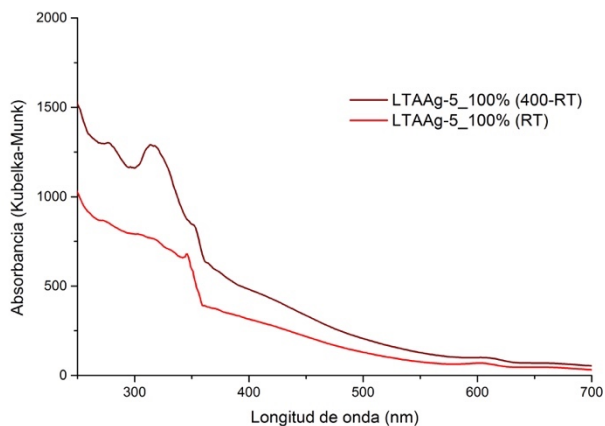


Figura 5.14: Espectro UV-visible de la zeolita LTA Ag-5_100% a temperatura ambiente (RT), y a temperatura ambiente tras calcinar a 400 °C (400-RT)

Los resultados obtenidos mediante TPR y espectroscopia UV-vis, indican la existencia de diferentes interacciones de la plata y/o la diversa localización de las especies de plata en las zeolitas LTA dependiendo de la relación Si/Al del soporte y del distinto contenido en plata. Para confirmar esto, se llevó a cabo un estudio de espectroscopia de absorción de rayos X (XAS) con estas muestras. Se realizaron medidas *in situ* en el borde de

absorción K de la plata (25514 eV) durante un tratamiento térmico y tras enfriar las muestras en una atmósfera inerte (He).

La Figura 5.15 (izq.) muestra los espectros de absorción de rayos X de las tres muestras LTA intercambiadas al 100% antes de calcinar junto con los espectros de las referencias utilizadas, citrato de plata como referencia del catión Ag^+ y plata metálica como referencia de Ag^0 . Estudiando los perfiles en la zona XANES, se observa que el salto de absorción para las tres muestras se da a 25517 eV, característico de las especies Ag^+ , pero además todos los perfiles son casi idénticos al descrito por la referencia de citrato de plata (Ag^+), por lo que se puede asegurar que tras los intercambios las zeolitas presentan en su gran mayoría cationes Ag^+ como especie predominante. Para analizar mejor las muestras se grafica la primera derivada de la señal XAS (Figura 5.15-dcha.), observándose claramente la similitud de la señal de Ag-LTA con la de la referencia Ag^+ .

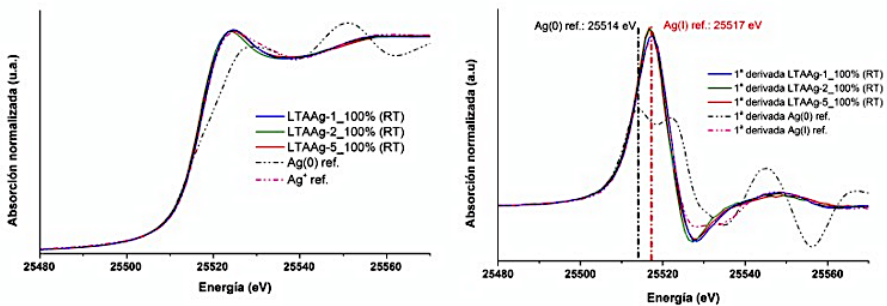


Figura 5.15: A la izquierda, espectro XAS de las muestras LTA intercambiadas totalmente con plata y los patrones $\text{Ag}(0)$ y $\text{Ag}(I)$ a temperatura ambiente y atmósfera inerte (He). A la derecha, primera derivada de la señal XAS de las mismas muestras y referencias.

Por otro lado, el estudio de la parte EXAFS del espectro (tras el salto de absorción) mediante la transformada de Fourier de la señal, permite obtener las distancias y números de coordinación de la plata, cuyos resultados aparecen en la Tabla 5.3. La zeolita LTA Ag -1_100% presenta dos

5.- MATERIALES BIOCIDAS

distancias de coordinación entre los átomos de Ag y los 4 átomos de O que les rodean. Estas distancias son de 2,3 Å en un caso y de 2,8 Å en otro. Además, el estudio de la distancia Ag-Ag muestran que los átomos de Ag tienen otros dos átomos de plata a una distancia de 2,9 Å. La LTA_{Ag-2_100%} también presenta 4 átomos de O a 2,3 y 2,8 Å de distancia del átomo de Ag, mientras que solo se encuentra un único átomo de plata a 2,9 Å. Por último, la LTA_{Ag-5_100%} presenta, de nuevo, los 4 átomos de O a las mismas distancias al átomo de Ag (Ag-O), pero en este caso no presenta átomos de plata en el entorno de coordinación cercano de la plata (<3,3 Å). Esto indicaría claramente que el aumento de la relación Si/Al y la disminución del contenido en plata de las zeolitas provocan un incremento en las distancias entre los átomos de plata, dificultando la formación de los *clusters*.

Tabla 5.3: Resultado del ajuste de los parámetros EXAFS de las zeolitas Ag-LTA

LTA_{Ag-1_100%}	Distancia (Å)	Núm. coordinación
Ag - O	2,3	3,1
Ag - O	2,8	1,4
Ag - Ag	2,9	1,9
LTA_{Ag-2_100%}	Distancia (Å)	Núm. coordinación
Ag - O	2,3	2,9
Ag - O	2,8	0,7
Ag - Ag	2,9	1,3
LTA_{Ag-5_100%}	Distancia (Å)	Núm. coordinación
Ag - O	2,3	2,9
Ag - O	2,9	0,7
Ag - Ag	-	-

En resumen, estos resultados muestran que las especies de plata tras la incorporación del metal en las zeolitas con estructura LTA son mayoritariamente cationes Ag⁺, pero con una distancia interatómica y una disposición relativa diferente, debido al distinto contenido en plata y a la distinta relación Si/Al de cada LTA. Estos datos confirman los resultados obtenidos por espectroscopia UV-vis donde al variar la relación Si/Al de las

zeolitas aparecían bandas asignadas a cationes Ag^+ dispuestos en los anillos de 4 miembros de las zeolitas [372], pero con distintas interacciones con los átomos vecinos. También concuerda con los resultados de TPR que mostraban la presencia de Ag^+ , pero con distinto comportamiento al reducirse, según la relación Si/Al de la zeolita.

Se realizó también un estudio de XAS de las tres muestras durante un tratamiento térmico en atmósfera inerte (He) hasta 400 °C, y tras su enfriamiento hasta temperatura ambiente. En la Figura 5.16 se muestran a la izquierda los espectros de absorción de rayos X de las tres zeolitas a diferentes temperaturas y a la derecha la transformada de Fourier de la señal EXAFS. Los resultados muestran que la zeolita LTAAg-1_100%, que es la zeolita con mayor contenido en plata, presenta un comportamiento ligeramente diferente al de las otras dos. En este caso, se observa que al aumentar la temperatura el salto de absorción se desplaza hacia la derecha, es decir, hacia los valores de $\text{Ag}(0)$. Sin embargo, no se consigue alcanzar la reducción completa, presentando tras el tratamiento térmico un estado de oxidación intermedio entre la muestra inicial (Ag^+), y la referencia de plata metálica (Ag^0). Además, analizando la transformada de Fourier de la señal EXAFS (dcha.) se comprueba la presencia de nanoclusters de 4-5 átomos de plata a una distancia más corta que la presentada por la referencia de plata metálica (Ag^0) [374-376].

5.- MATERIALES BIOCIDAS

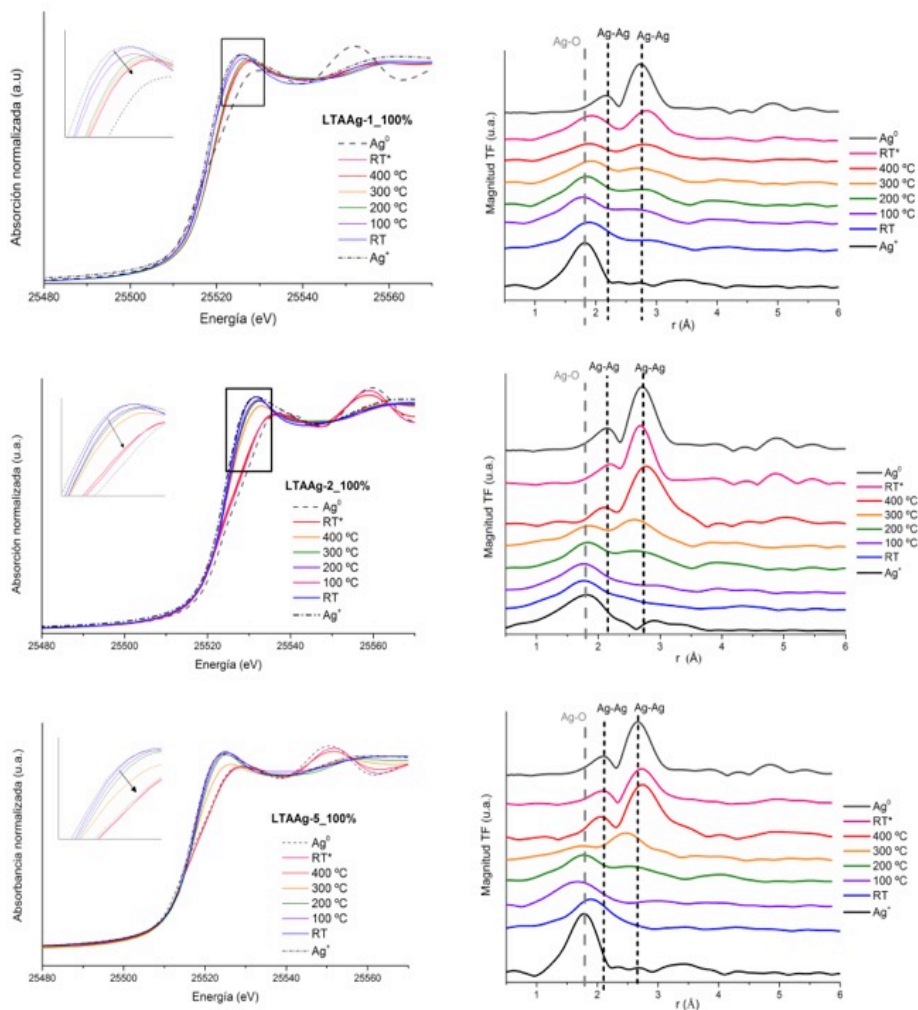


Figura 5.16: En la parte izquierda, espectros XANES medidos durante el tratamiento térmico en atmósfera de He de LTAAG-1_100%, LTAAG-2_100% y LTAAG-5_100%. En la parte derecha, señal EXAFS de las mismas muestras.

Por otro lado, los perfiles de las zeolitas LTAAG-2_100% y LTAAG-5_100% también presentan un desplazamiento hacia energías más altas al incrementarse la temperatura, lo que se traduce en una reducción de las especies de plata, pero a diferencia del caso anterior, en éstos la reducción es completa. Además, se alcanza la reducción total a menores temperaturas en la zeolita LTAAG-5_100% que en la zeolita LTAAG-2_100%.

El estudio de las transformadas de Fourier de la señal EXAFS (Figura 5.16-dcha.) muestra como en todos los casos las bandas correspondientes a Ag-Ag aumentan con la temperatura, mientras que las bandas Ag-O disminuyen. Asimismo se observa que tras el tratamiento, el número de coordinación de los átomos Ag-Ag llega a valores cercanos a 12, valores similares a la referencia de Ag(0), confirmando la reducción del metal y la formación de partículas de plata metálica. Estos resultados, demuestran que el aumento de la temperatura en atmósfera inerte lleva a la reducción de Ag⁺ hasta Ag metálica, y que la facilidad de esta reducción depende de la relación Si/Al y del contenido en plata.

Por tanto, de la caracterización de las muestras se puede concluir que la especie mayoritaria en las zeolitas sin calcinar es la Ag⁺, mientras que al aumentar la temperatura, sin necesidad de un reductor, estas especies evolucionan hacia la formación de Ag metálica o hacia nanoclusters de plata. Los resultados también han mostrado que la interacción de las especies de plata con la estructura zeolítica depende de la relación Si/Al, de la propia estructura y del contenido de plata de la propia zeolita.

5.1.1.2. Actividad bactericida

Tras ser caracterizadas, se estudió la actividad bactericida de las zeolitas LTA con diferente relación Si/Al, frente a una bacteria Gram-positiva (*S.aureus*) y frente a una bacteria Gram-negativa (*E.coli*), empleando dos medios de cultivo diferentes: triptona de soja (TSB) y agua de peptona (PW). La diferencia entre estos dos medios reside en el mayor poder nutritivo del TSB respecto a PW, debido al mayor nivel de nutrientes de este caldo. La actividad biocida se evaluó respecto a la concentración

5.- MATERIALES BIOCIDAS

mínima inhibitoria (MIC), de tal manera que cuando disminuye el valor de MIC aumenta la capacidad o actividad biocida del material evaluado.

En primer lugar, se estudiaron los resultados de la zeolita LTA de relación Si/Al = 1 con mayor contenido en plata (LTAAg-1_100%) en ambos medios. La Figura 5.17 muestra los resultados obtenidos frente a los dos microorganismos, observándose en ambos la inhibición del crecimiento de los microorganismos al utilizar zeolitas con plata como material biocida, aunque según el medio y la bacteria es necesario añadir una mayor o menor concentración del agente biocida para inhibir su crecimiento. En cualquier caso los resultados muestran que existe un efecto biocida de la LTAAg-1_100% para las dos bacterias modelo *S.aureus* y *E.coli*, siendo siempre la efectividad mayor frente a la *E.coli* que frente a la *S.aureus*. Se observó además que el efecto bactericida es mayor cuando se emplea PW como caldo de cultivo, ya que se obtiene una MIC menor. Esto es debido, posiblemente, a que este medio de cultivo presenta una menor concentración de nutrientes, y por tanto, inhibir el crecimiento de estos microorganismos es más fácil cuando el medio es más pobre en nutrientes.

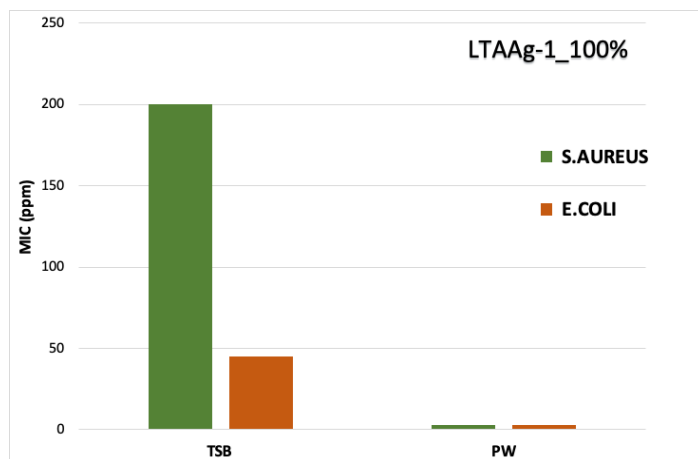


Figura 5.17: MIC de la LTAAg-1_100% en PW y TSB frente *E.coli* y *S.aureus*

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, y al comprobar que las diferencias respecto al poder bactericida se observan más fácilmente con los ensayos realizados en TSB, se presentarán únicamente los resultados de los estudios llevados a cabo en TSB como medio de cultivo. No obstante, todos los estudios fueron realizados en ambos medios, obteniéndose siempre una mayor efectividad bactericida cuando se empleó PW como medio de cultivo.

La influencia del contenido en plata en la actividad biocida se estudió la zeolita LTA con relación Si/Al = 1, y los resultados obtenidos se muestran en la Figura 5.18.

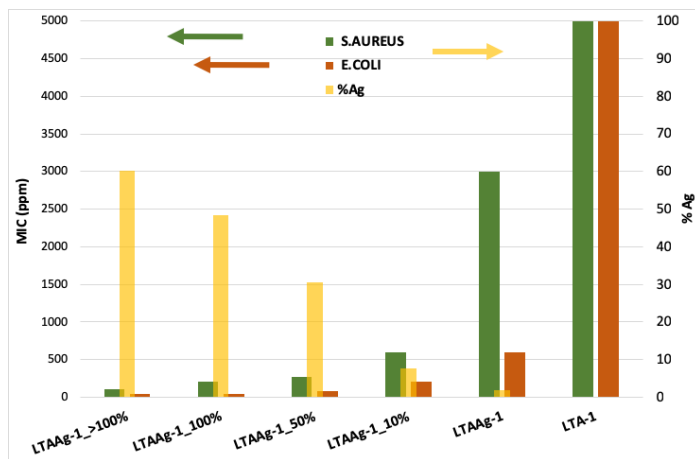


Figura 5.18: Actividad bactericida de zeolitas LTAAg-1 con distinto contenido en Ag empleando TSB como medio de cultivo

Tal como se observa, la zeolita sin plata presenta valores de MIC superiores a 5000 ppm, y por tanto, sin efectos bactericida reseñables. Sin embargo, en los otros cinco casos donde se incorporó plata a las zeolitas LTA-1, se obtuvieron MIC menores, apareciendo un efecto bactericida. Si se analizan los resultados de las cinco muestras con respecto al contenido en plata, se puede observar que existe un aumento en el poder biocida al

5.- MATERIALES BIOCIDAS

aumentar el contenido de plata incorporado en las zeolitas, indicando que la plata es el agente biocida. La Figura 5.19 relaciona el valor de MIC para los dos tipos de bacterias con el contenido en plata de las zeolitas, mostrando un descenso drástico en la MIC cuando se incorpora una mínima cantidad de plata, pero sin observarse grandes diferencias en la MIC cuando los contenidos en plata son superiores al 10%. Estos datos muestran que existe una relación exponencial negativa entre el contenido de plata y el valor de MIC, siendo más efectivos todos los materiales frente a *E. coli* que frente a *S. aureus*. Estos resultados son coherentes ya que, si la plata es el agente biocida, cuanto mayor sea la disposición de esta, mayor será su capacidad de acción biocida, existiendo un valor a partir del cual todas las bacterias mueren y no es necesaria la adición de concentraciones más elevadas de plata.

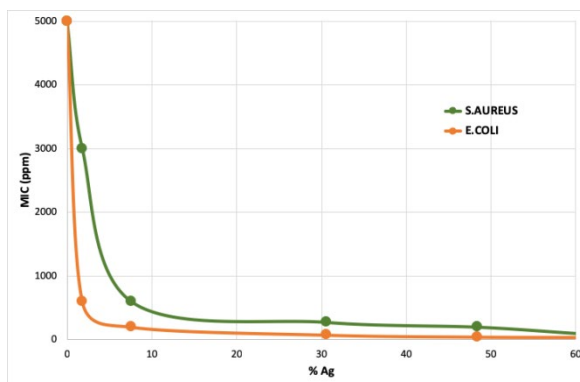


Figura 5.19: Actividad bactericida (MIC) frente al contenido en Ag de las zeolitas LTAAg-1

Tras esto, se estudió la influencia de la relación Si/Al de la zeolita respecto a la acción bactericida. Para ello, se compararon los resultados obtenidos con tres materiales con el mismo contenido en plata (2% en peso Ag), pero con distinta relación Si/Al (LTAAg-1, LTAAg-2 y LTAAg-5). La Figura 5.20 muestra estos resultados tanto frente a *E.coli* como frente a *S.aureus*, observándose que el material con una relación Si/Al = 2

presentaba la mayor actividad biocida, obteniendo los menores valores de MIC. Estos resultados parecen indicar que existe una relación Si/Al óptima (la de 2), que permite una mejor liberación del agente biocida o bien que permite la formación de especies de plata con mayor poder biocida. Como en los casos anteriores, se puede observar como las zeolitas con plata muestran un efecto bactericida mayor cuando se trabaja frente a *E.coli* (Gram-negativa) que cuando se trabaja frente a *S.aureus* (Gram-positiva).

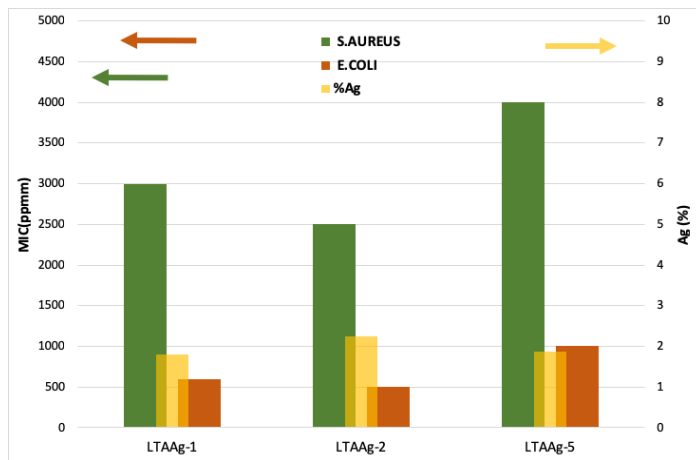


Figura 5.20: Porcentaje de plata y actividad bactericida en TSB de las zeolitas LTA-Ag con distinta relación Si/Al

Las diferencias observadas en la actividad bactericida de las zeolitas Ag-LTA con diferente relación Si/Al mostraron que la actividad bactericida no es debida únicamente a la diferente concentración de plata incorporada en cada una de ellas, sino que otra variable como la cantidad de Al de la estructura zeolítica también parece influir en dicho efecto biocida.

Comparando estos resultados con los obtenidos al caracterizar las muestras, se puede afirmar que las especies de plata que presentan los efectos biocidas son los cationes Ag^+ , ya que son las especies que están presentes en todas las zeolitas analizadas. Sin embargo, los estudios

5.- MATERIALES BIOCIDAS

también han demostrado que la actividad biocida depende de la relación Si/al y esto se puede relacionar con los resultados de caracterización. Estos últimos han mostrado que al variar la relación Si/Al de las zeolitas LTA, además de modificar la cantidad máxima de plata que podían albergar, se modificaba la posición de los cationes Ag^+ y su interacción con el entorno. Esto puede influir claramente en la facilidad con la que se produce la lixiviación de la plata hacia el medio, y por tanto, influir en la acción biocida de estos materiales.

Finalmente, se estudió también la actividad bactericida de las mismas zeolitas, pero tras ser calcinadas a $550\text{ }^\circ\text{C}$. La Figura 5.21 muestra los resultados obtenidos con las dos bacterias modelo, empleando las zeolitas calcinadas y sin calcinar. Como en todos los casos anteriores, se advierte que la bacteria Gram-positiva (*S.aureus*) presenta siempre una resistencia mayor (MICs mayores) al agente bactericida que la bacteria Gram-negativa empleada (*E.coli*). Sin embargo, la diferencia en el valor de MIC demuestra que las zeolitas calcinadas poseen menor actividad biocida, que las zeolitas sin calcinar. Esto es debido a que las muestras calcinadas, tal y como han mostrado los estudios de caracterización descritos anteriormente, poseen como especies mayoritarias Ag metálica o nanoclusters reducidos de Ag, y estos o bien tienen una menor actividad biocida que los cationes Ag^+ o bien su movilidad se encuentra más reducida, lo que impide que salgan al medio ejerciendo su efecto biocida sobre las bacterias. Por ello, el resto de estudios presentados en este capítulo se realizaron siempre con zeolitas sin calcinar, es decir, zeolitas donde los cationes Ag^+ son la especie mayoritaria.

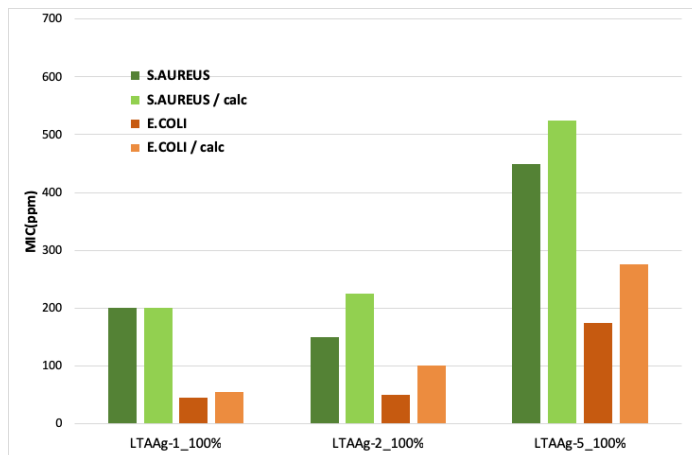


Figura 5.21: Actividad bactericida de zeolitas LTAAG intercambiadas al 100% en TSB calcinadas y sin calcinar

5.1.2. Zeolitas FAU con plata

Se estudió también la actividad biocida de materiales basados en plata incorporada en otros tipos de estructuras zeolíticas, en concreto, en zeolitas de poro grande tipo Faujasita. Esta estructura zeolítica se caracteriza por ser una zeolita tridimensional, con canales grandes y supercavidades en su interior. En este estudio se emplearon dos zeolitas comerciales, las denominadas *zeolita Y* y *zeolita 13X* ambas con estructura faujasita y con relaciones molares Si/Al de 2,4 y 1,3, respectivamente. Se prepararon zeolitas donde se realizaron intercambios totales de los iones de compensación (Na^+) por iones Ag^+ (FAUAg-1,3_100% y FAUAg-2,4_100%) y con zeolitas donde se realizó un intercambio parcial para conseguir un 2% en peso de plata aproximado (FAUAg-1,3y FAUAg-2,4). Como en el apartado anterior, se estudió la actividad biocida de las faujasitas con plata frente a las dos bacterias modelo en los dos medios de cultivo anteriormente citados.

5.1.2.1. Caracterización

Se realizó una caracterización de estos materiales para establecer sus características físico-químicas e intentar relacionarlas con sus propiedades biocidas. El análisis químico de las muestras y el porcentaje de intercambio iónico conseguido se presenta en la Tabla 5.4. Como se puede observar, las zeolitas presentan relaciones Si/Al cercanas a las teóricas (1,3 y 2,4) consiguiéndose un grado de intercambio casi completo en las muestras preparadas para ello. Las otras muestras preparadas para alcanzar un 2% en peso de plata, tenían un contenido de plata que oscilaron entre un 1,3 y 2,3% en peso. Los resultados obtenidos tanto por ICP-AES como por EDS (Tabla 5.4), fueron relativamente similares.

Tabla 5.4: Composición química Ag-FAU, obtenida mediante ICP-AES (a) y EDS (b).

Material	% en peso Ag ^a	Grado de intercambio (%) ^a	Relación molar ^a Si/Al	% en peso Na ^a	% en peso Ag ^b
FAU-1,3	-	-	1,3	13,9	-
FAUAg-1,3_100%	46,7	92,2	1,3	-	40,9
FAUAg-1,3	2,3	5,3	1,4	9,9	2,0
FAU-2,4	-	-	2,4	9,6	-
FAUAg-2,4_100%	30,6	93,4	2,5	1,2	32,5
FAUAg-2,4	1,3	3,5	2,4	6,8	1,6

Se realizó un estudio de difracción de rayos X de cada una de las muestras. Los difractogramas se muestran en la Figura 5.22 y en la Figura 5.23, observándose en ambos casos los picos de difracción característicos de la estructura zeolítica faujasita a $2\theta = 6,3^\circ$; $10,1^\circ$; $11,8^\circ$; $15,7^\circ$; $20,4^\circ$; $23,7^\circ$; $27,0^\circ$ y $31,4^\circ$ (JCPDS: 00-043-0168) [377, 378]. Sin embargo, algunos de estos picos variaron su intensidad cuando la plata fue incorporada en el material, siendo dicha alteración mayor cuanto mayor fue el contenido en

plata de la zeolita. Estas modificaciones son probablemente debidas a la redistribución de los cationes de compensación de carga y a los cambios en su naturaleza [362] o a la pérdida de cierta cristalinidad [235, 243]. Por otro lado, cabe destacar que no se observa ningún pico relacionado con el óxido de plata o con la plata metálica, lo que indicaría que la plata incorporada se encuentra mayoritariamente como cationes Ag^+ en las zeolitas, es decir, como cationes de compensación, tal y como ocurría con las zeolitas LTAs intercambiadas con plata.

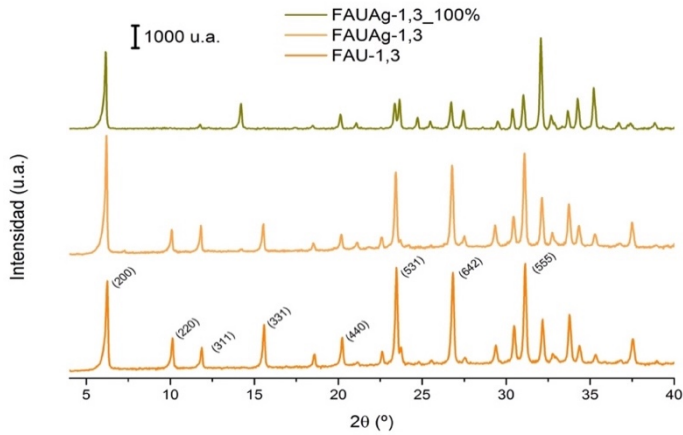
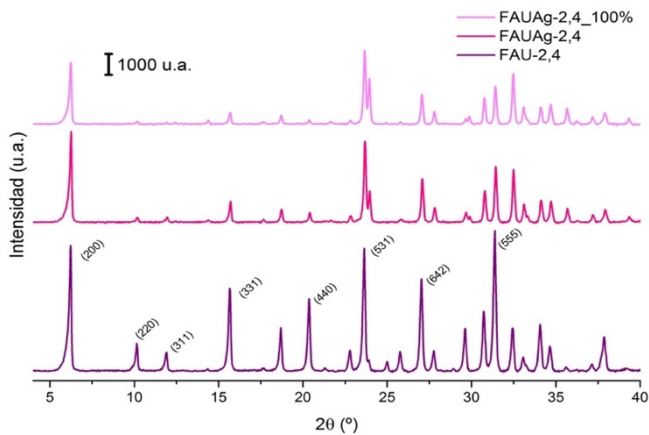


Figura 5.22: Difractogramas de los materiales basados en FAU-1,3 con diferente contenido en plata (de abajo a arriba de menos a más contenido en Ag)



5.- MATERIALES BIOCIDAS

Figura 5.23: Difractogramas de los materiales basados en FAU-2,4 con diferente contenido en plata (de abajo a arriba de menos a más contenido en Ag)

Los estudios FESEM permitieron observar la morfología de las zeolitas, observando que éstos no se modifican tras la incorporación de la plata, manteniéndose la morfología octaédrica y el tamaño de cristal para ambas zeolitas, tal como se observa en la Figura 5.24 donde aparecen varias imágenes de la zeolita FAU-2,4 antes y después del intercambio catiónico.

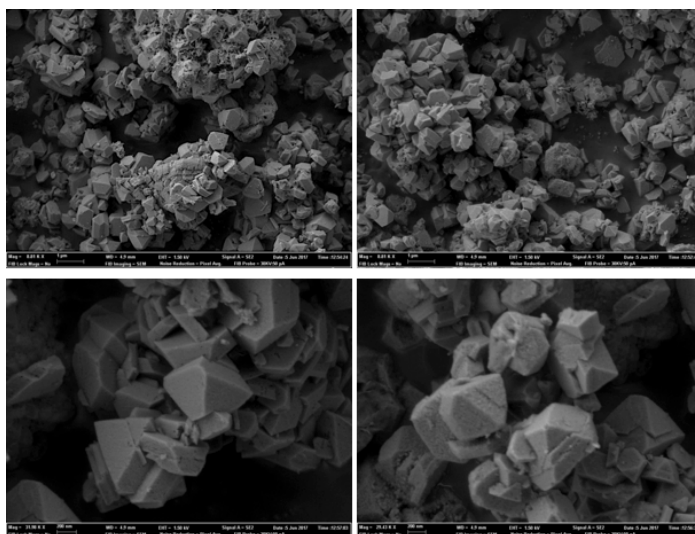


Figura 5.24: Imágenes FESEM de la zeolita FAU-2,4. A la izquierda la zeolita sódica (FAU-2,4) y a la derecha la intercambiada con Ag (FAUAg-2,4)

Se llevó a cabo también, un estudio de reducción termoprogramada (TPR) de las zeolitas Ag-FAU con distinta relación Si/Al. Los resultados obtenidos (Figura 5.25) con la muestra FAUAg-1,3-100% muestra dos picos importantes a 100 y 150 °C, similares a los observados en la zeolita LTAAg-1_100%, y que de acuerdo con la asignación realizada con aquella zeolita, corresponderían, el primer pico a la reducción de los cationes Ag^+ a $clusters Ag_m^{n+}$, y el segundo a la reducción de Ag^+ a Ag^0 [365-367]. Además, se observan otros picos de reducción menos significativos a temperaturas

mayores (250-350 °C) que están relacionados con la reducción de distintos *clusters* de plata con distintas localizaciones a Ag^0 . Por otro lado, la zeolita FAUAg-2,4_100% presenta dos picos principales a 100 °C y a 350 °C, que de acuerdo con lo anterior se pueden relacionar, el primero con la reducción de Ag^+ a *clusters* de plata y el segundo con la reducción de éstos a Ag^0 . Estos resultados indican de nuevo que la actividad de las especies de plata varía con la relación Si/Al y con el contenido de plata, probablemente debido a la diferente disposición y movilidad de las mismas. Estos resultados son similares a los observados anteriormente en los estudios llevados a cabo con las zeolitas Ag-LTA con diferentes relaciones Si/Al. Por último, cabe destacar que en estas zeolitas todos los picos son positivos, por lo que la autooxidación de la plata observada en las zeolitas LTA con relaciones Si/Al de 2 y 5, no ocurre cuando la plata se encuentra en la estructura zeolítica faujasita. Estos resultados indicarían también un diferente comportamiento de las especies de plata dependiendo de la topología de la zeolita.

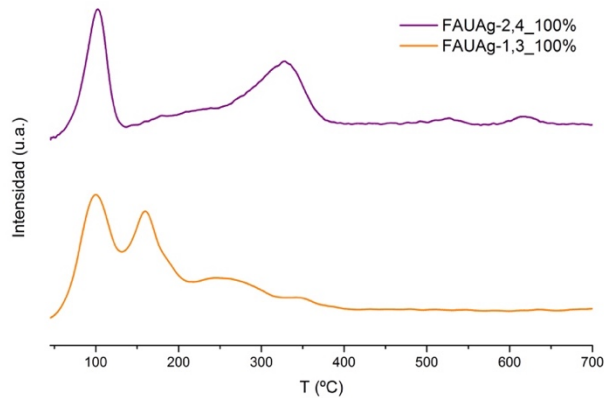


Figura 5.25: Perfiles TPR de las muestras FAUAg-1,3_100% y FAUAg-2,4_100%

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Así pues, de los diversos estudios de caracterización realizados se puede concluir que las zeolitas Ag-FAU no ven alteradas su morfología y estructura durante el proceso de incorporación de la plata y que las especies de plata son cationes Ag^+ . Se ha observado también que la diferente relación Si/Al de estas zeolitas provoca diferencias, no solo en el contenido máximo de plata intercambiable por la zeolita, sino también en la interacción de la plata con la estructura zeolítica y con los átomos de plata que la rodeen.

5.1.2.2. Actividad bactericida

Tras caracterizar las muestras se estudió su actividad biocida frente a los dos tipos de bacterias modelo seleccionadas, en los dos medios de cultivo anteriormente descritos. Como en el caso de la zeolita LTA con plata, los resultados de la actividad biocida en PW fueron mejores que los obtenidos en TSB, escogiéndose por ello este último medio para realizar comparaciones entre los distintos materiales.

En primer lugar, se analizó la actividad de los dos tipos de zeolitas faujasita intercambiadas al 100%, cuyos resultados se representan en la Figura 5.26. Tal como se observa, ambas zeolitas poseen una elevada actividad biocida, siendo más efectivas frente a la bacteria *E.coli* que frente a *S.aureus*. Comparando ambas, se observa una mayor eficacia en la zeolita con relación Si/Al próxima a 2. Estos resultados son sorprendentes pues esta zeolita presenta un contenido en plata inferior a la zeolita FAUAg-1,3_100% e incluso con esta menor concentración del agente biocida, se consiguen mejores resultados biocidas. Este resultado indica que no solamente la cantidad total de plata de la zeolita influye en su efectividad

biocida, otros factores dependientes de la relación Si/al de la zeolita como la distribución del metal y su interacción con la estructura del aluminosilicato, también influyen en la actividad bactericida del material.

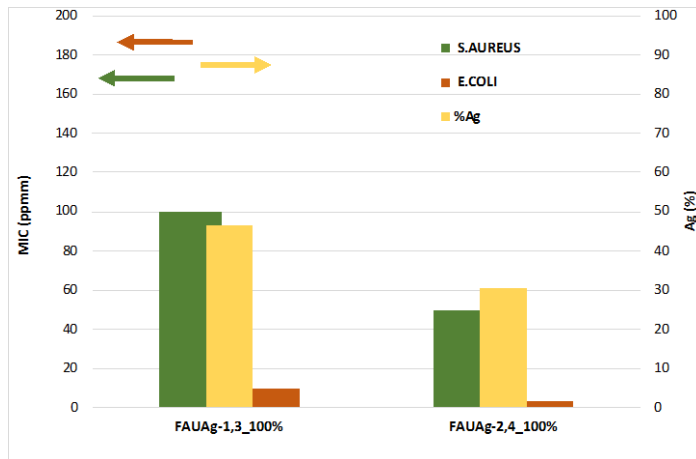


Figura 5.26: Porcentaje en peso de Ag y actividad bactericida de las FAUAg_100% con diferente relación Si/Al en TSB y

Se estudió también la actividad biocida de las dos zeolitas FAU con un menor contenido en plata (próximo a 2% en peso). En la Figura 5.27 se muestran los resultados obtenidos con estas zeolitas y con las zeolitas en su forma sódica, es decir, sin la incorporación de plata. Analizando los valores de MIC obtenidos se confirma que las zeolitas Na-FAU, tal y como ocurría con las LTAs, no presentan actividad bactericida, obteniendo valores de MIC muy elevados. Sin embargo, cuando se incorpora un contenido en plata del 1-2%, los valores de MIC descienden drásticamente, siendo de nuevo en ambos casos menores cuando se actúa frente a la *E.coli* (Gram-negativa) que cuando se actúa frente a *S.aureus* (Gram-positiva). En este caso, si se comparan las MICs obtenidas por ambas zeolitas con distinta relación Si/Al, se observa como la zeolita con una relación Si/Al más próxima a 2 (FAUAg-2,4) presenta mejores resultados, pese a tener también en este caso un menor contenido en plata. Este resultado confirma

5.- MATERIALES BIOCIDAS

que esta relación Si/Al es la que ofrece los mejores resultados y por tanto, se puede afirmar que ésta es la relación óptima para preparar materiales bactericidas basados en zeolitas con plata incorporada. Esta relación Si/Al es también la que ofrecía mejores resultados en las zeolita LTA (Figura 5.20), aunque los resultados obtenidos con al FAU son mejores que los obtenidos con la zeolita LTA.

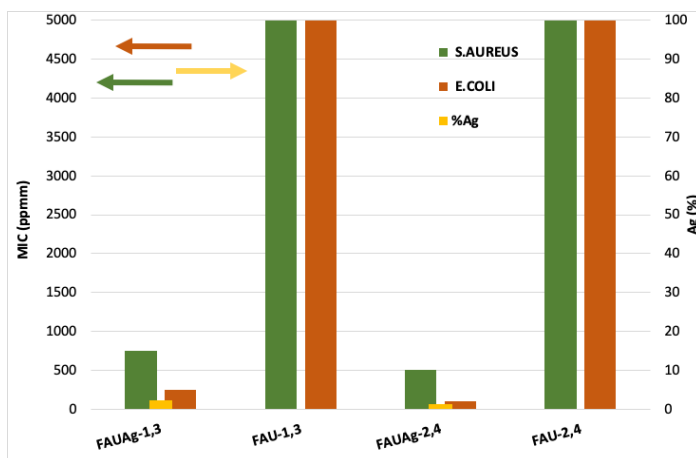


Figura 5.27: Porcentaje en peso de Ag y actividad bactericida de las zeolitas Na-FAU y Ag-FAU en TSB y

Como ocurría con la zeolita LTA, los mejores resultados obtenidos al utilizar zeolitas con relación Si/Al = 2 puede relacionarse con el hecho de que las especies Ag⁺ formadas tienen una mayor o menor interacción con la zeolita según su relación Si/Al. Así, la relación Si/Al aproximada de 2 parece facilitar la movilidad y/o la facilidad de liberación al medio de las especies Ag⁺, aumentando su actividad biocida.

5.1.3. Actividad biocida de zeolitas con diferente estructura

Tras observar que existe cierta diferencia en la actividad biocida de las zeolitas con plata en función de la topología del aluminosilicato, se realizó un estudio comparativo utilizando, además de las anteriores, otras estructuras zeolíticas: la chabacita (CHA) de tamaño de poro pequeño, la ZSM-5 (MFI) de tamaño de poro medio y la zeolita beta (BEA) de poro grande. Estas zeolitas fueron funcionalizadas con plata mediante un intercambio catiónico, incorporando en todas ellas entre un 1,8 y 2,6% en peso de plata (Tabla 5.5).

Tabla 5.5: Composición química de distintas zeolitas con Ag estudiadas

Material	% en peso Ag	Grado de intercambio (%)	Relación molar Si/Al
LTAAg-1	1,8	2,7	0,9
LTAAg-2	2,2	6,0	1,9
LTAAg-5	1,9	8,7	4,7
FAUAg,1,3	2,3	5,3	1,3
FAUAg-2,4	1,3	3,5	2,3
CHA-2	2,6	7,1	2,0
CHA-16	2,5	28,3	15,7
MFI-16	1,6	18,1	15,4
BEA-13	1,8	17,2	13,2

La actividad bactericida de todas las zeolitas fue evaluada previamente a la incorporación de la plata, obteniéndose en todos los casos valores de MIC superiores a 5000 ppm. Estos resultados permiten asegurar que las zeolitas por si mismas no presentan actividad bactericida, independientemente de su topología, siendo necesaria la incorporación de plata, para introducir esta cualidad antibacteriana en las zeolitas. Al incorporar la plata, se obtuvo una disminución de los valores de MIC en todas ellas, mostrando cada una de las zeolitas estudiadas distinta efectividad frente a los dos tipos de bacterias estudiadas, tal y como se puede observar en la Figura 5.28.

5.- MATERIALES BIOCIDAS

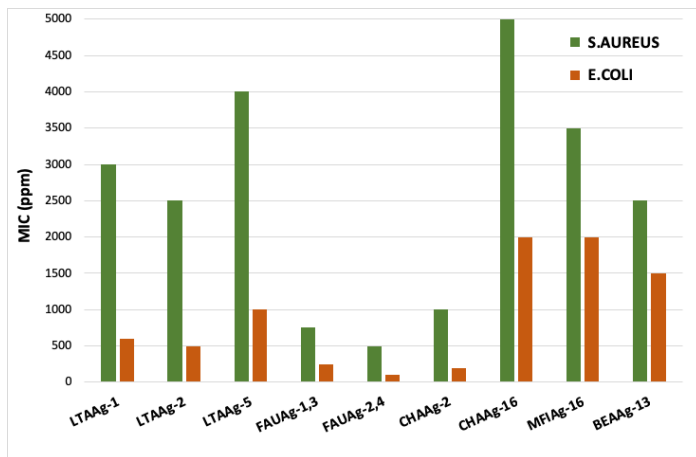


Figura 5.28: Actividad bactericida de diversas zeolitas con Ag en TSB.

Comparando los resultados de todas las zeolitas analizadas, se observa de nuevo, en todos los casos, una mayor actividad frente a la bacteria *E.coli*, es decir la bacteria Gram-negativa, que frente a la *S.aureus*, indicando una mayor resistencia de las bacterias Gram-positivas frente a la actuación de las zeolitas con plata.

Analizando estos resultados se demuestra que son las zeolitas FAU las zeolitas más activas, siendo en concreto la FAUAg-2,4 la más activa de todas ellas, pese a ser la que presenta un menor porcentaje de plata en su composición. Tras ella, el mejor resultado lo proporcionó la chabacita de relación Si/Al = 2, observando que en esta zeolita la actividad bactericida variaba mucho al modificar la relación Si/Al del aluminosilicato. Así, la zeolita con plata basada en chabacita de relación Si/Al = 16, presenta una actividad bactericida mucho menor que la chabacita de relación Si/Al = 2, presentando ambas un contenido de plata muy similar. Todo ello confirma que, tal y como se había observado en los estudios anteriores con LTA y FAU, la relación Si/Al de 2 es la relación óptima para conseguir materiales biocidas efectivos basados en plata soportada en zeolitas, corroborando

que la relación Si/Al es uno de los parámetros más importantes para conseguir una elevada actividad biocida en las zeolita con plata.

Por otro lado, también se observa que la topología es otra variable influyente. Así, comparando las zeolitas con relación Si/Al entre 13 y 15 (CHA, BEA y MFI) se observa que la zeolita que mejor funciona es la que presenta una topología con tamaño de poro grande (BEA). Lo mismo se puede afirmar que ocurre cuando se comparan las zeolitas FAU y CHA de relación Si/Al =2, ya que se obtienen mejores resultados con la zeolita de poro grande (FAU). Esto explicaría que la zeolita con mayor poder biocida sea la FAU con relación Si/Al = 2, pues esta zeolita presenta la relación Si/Al óptima y una topología abierta con tamaño de poro grande y supercavidades en su interior. Todas estas propiedades parecen facilitar la liberación de los iones Ag^+ a través de los canales hasta el medio donde se encuentran las bacterias, consiguiendo así una mayor actividad biocida.

En definitiva, el estudio realizado muestra que el contenido en plata, la relación Si/Al, el tipo de estructura y el tamaño de poro son los factores que determinan la actividad biocida de los materiales, obteniéndose los mejores resultados no solo cuanto mayor es la cantidad de plata disponible, sino también cuanto mayor es el tamaño de poro de la zeolita y cuando la relación Si/Al de la zeolita es próxima a 2.

5.1.4. Mecanismo de acción

Como se ha podido observar en todos los experimentos descritos anteriormente, existe una mayor actividad biocida de todas las zeolitas con plata frente a la bacteria *E.coli* (Gram-negativa) que frente a la *S.aureus* (Gram-positiva), mostrando esta última una mayor resistencia.

5.- MATERIALES BIOCIDAS

La diferente estructura celular que presentan estos dos tipos de bacterias afecta, probablemente, a la interacción entre el agente biocida (plata) y las células bacterianas, apareciendo efectos bactericidas diferentes según el tipo de bacteria que se estudie. Las bacterias Gram-negativas presentan una pared celular compuesta por una membrana citoplasmática, una pared estrecha de peptidoglicano y finalmente una membrana externa porosa de lipopolisacaridos. En cambio, las células de las bacterias Gram-positivas están formadas por una membrana citoplasmática y varias capas de peptidoglicano [379]. Por tanto, la principal diferencia entre estos dos tipos de bacterias (Figura 5.29) es la anchura de la capa de peptidoglicano y la estructura más compleja de la pared celular de las bacterias Gram-negativas. Según todos los resultados anteriormente descritos, esta mayor complejidad parece no mejorar la resistencia de las bacterias frente a la plata, siendo la capa de peptidoglicano la que proporciona una mayor resistencia al agente biocida, por lo que el tipo de bacteria que posee una capa de peptidoglicano más gruesa, la bacteria Gram-positiva, es la más resistente al ataque de la plata, dificultando su acción biocida [203].

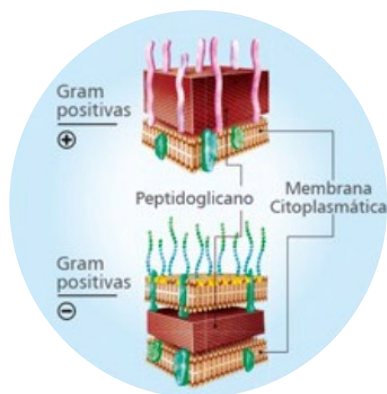
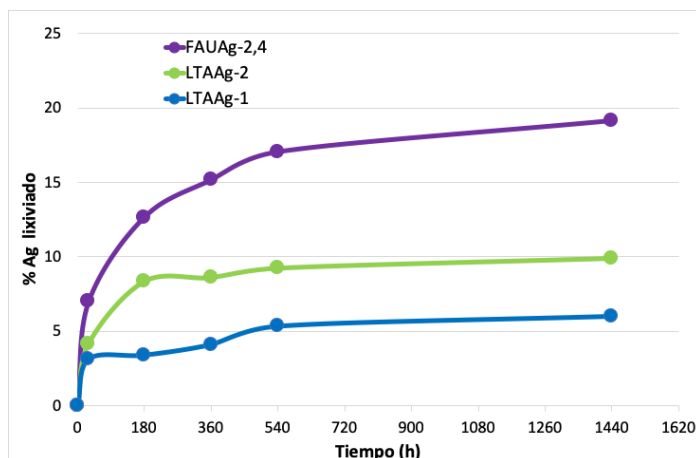


Figura 5.29: Estructura de la pared celular de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas

Sin embargo, no está claro cuál es el mecanismo de acción de la plata. La relación existente entre el contenido en plata y la actividad bactericida, junto con la mayor efectividad cuando se utilizan zeolitas de poro grande, son indicios claro de que el mecanismo de actuación de las zeolitas con plata está relacionado con la facilidad con la que se libera la plata al medio donde se encuentran las bacterias [240, 242, 247].

Para analizar esta variable, se realizaron diferentes estudios de lixiviación siguiendo el protocolo descrito por H. Liu et al. [310] modificado (ver apartado 3.5.4). Los resultados (Figura 5.30) muestran que se produce una liberación paulatina de la plata hacia el medio de cultivo desde los distintos soportes. Asimismo, se observa que la lixiviación depende de la topología de la zeolita y de la relación Si/Al. Comparando las dos zeolitas con la misma estructura, LTA, la de relación Si/Al = 2 libera más cantidad de plata en el mismo tiempo que la zeolita de relación Si/Al = 1, lo que explica su mayor poder bactericida. Por otro lado, al comparar las dos zeolitas con similar relación Si/Al pero distinta estructura zeolítica (LTAAg-2 y FAUAg-2,4), la FAUAg-2,4 presenta una mayor liberación del catión Ag^+ , probablemente debido a que su topología de mayor amplitud en poros y cavidades facilita la lixiviación del catión.



5.- MATERIALES BIOCIDAS

Figura 5.30: Estudio lixiviación de Ag en medio PW durante 1 día en estático con zeolitas con 2% en peso de Ag

Otros autores como Demirci et al. [241] también han realizado estudios similares de lixiviación, pero bajo condiciones distintas y empleando zeolitas con un mayor contenido en plata. Sus resultados muestran tendencias similares a los descritos, con una liberación rápida de la plata al inicio del experimento, que se va atenuando gradualmente, siendo la liberación mayor cuando la zeolita presenta poros de mayor tamaño. Otros estudios también han mostrado que la presencia de bacterias en los estudios de lixiviación favorece la liberación de los cationes Ag^+ hacia el medio [305].

Tras lixiviar la plata hacia el medio, ésta debe interactuar con la bacteria. Sin embargo, el mecanismo de actuación de la plata como agente antimicrobiano no ha sido completamente esclarecido [197] y se cree que existen varias opciones para explicar el mismo [213, 218], hablándose de una acción multi-diana de la plata, que puede actuar sobre diferentes zonas u órganos de las bacterias, causando su muerte por diversos mecanismos [206].

Esto se comprobó con un estudio de microscopía electrónica de transmisión (TEM) realizado a una muestra control que contenía la bacteria de estudio, *S.aureus* en PW como medio de cultivo, y a una muestra problema que además contenía 10 ppm de zeolita FAUAg-2,4. La selección de esta zeolita y de PW como medio de cultivo, fue debido a que dicha combinación mostró la mayor efectividad bactericida, proporcionando por tanto, la mayor probabilidad de encontrar células dañadas o muertas.

Las imágenes de la muestra control (Figura 5.31) muestran las células de las bacterias, observándose la pared celular y las diferentes zonas

internas de este microorganismo bien definidas. Sin embargo, las imágenes (Figura 5.32) tomadas en la muestra problema (la que contiene la zeolita con plata), revelan la presencia de células bacterianas alteradas junto a cristales zeolíticos en el medio. Analizando las imágenes se puede observar que aparece un menor número de células en comparación con la muestra control. Además, tomando la imagen a mayores aumentos, se observa que la densidad electrónica de las células en la muestra problema es diferente a las de la muestra control, siendo la densidad electrónica totalmente homogénea sin distinguirse la pared celular, lo que evidencia la muerte de la bacteria, denominada lisis [204]. Asimismo, si comparamos la distribución del material genético en las células tratadas y sin tratar, se puede observar como en las bacterias sin tratar el material genético está dispuesto por toda la bacteria (zonas más oscuras en el interior de la célula), sin embargo, en la muestra tratada, el material genético de la célula se encuentra aglomerado, siendo esto otra evidencia de la muerte de la bacteria [203].

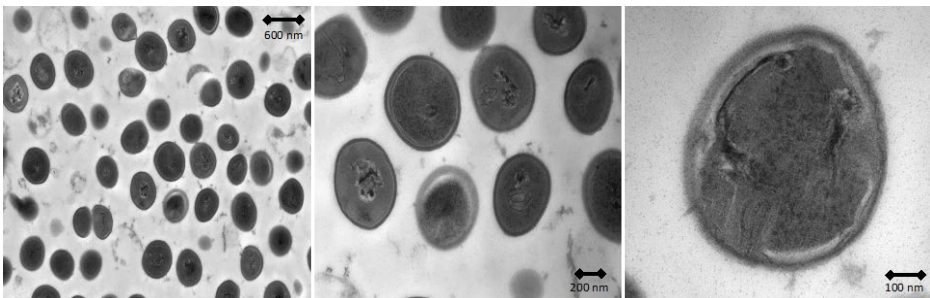


Figura 5.31: Imágenes TEM de la muestra control: *S.aureus* en PW

5.- MATERIALES BIOCIDAS

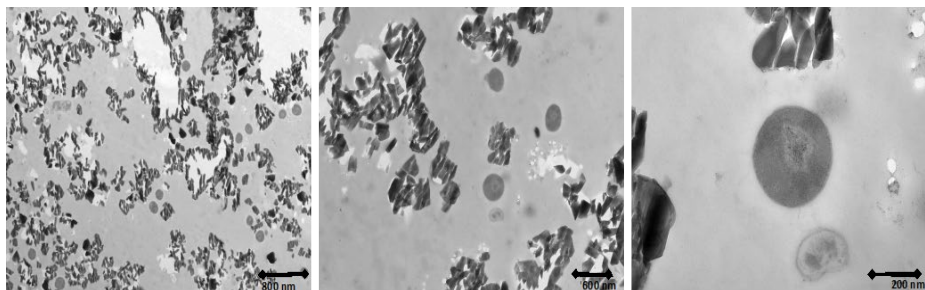


Figura 5.32: Imágenes TEM de la muestra problema: FAUAg-2,4 + *S.Aureus* en PW

Los mismos resultados se obtuvieron al realizar el mismo estudio empleando un microscopio de mayor potencia y resolución (HRTEM), que permitió observar claramente las bacterias en la muestra de referencia (Figura 5.33). Sin embargo, en la muestra que contenía el agente biocida FAUAg-2,4 (Figura 5.34), desaparecía la heterogeneidad en la densidad electrónica de las células bacterianas, lo que indicaba su muerte. En esta imagen se observan, además de forma muy clara, los cristales de la zeolita empleada.

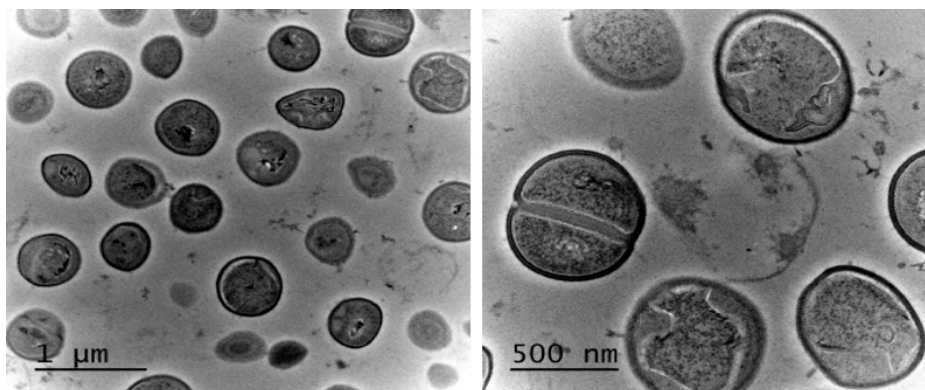


Figura 5.33: Imágenes HRTEM de la muestra control: *S.aureus* en PW

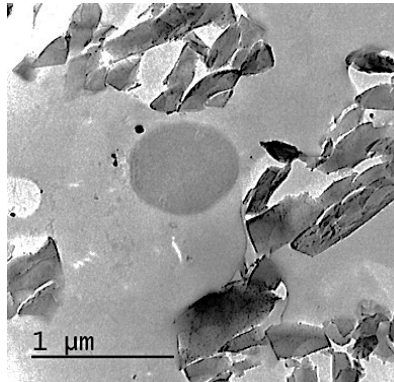


Figura 5.34: Imagen HRTEM de la muestra problema: FAUAg-2,4 + *S.aureus* en PW

Gracias al empleo del microscopio de mayor resolución y a la posibilidad de emplearse conjuntamente con un equipo EDS acoplado, se realizaron estudios de mapeo elemental de alguna de las imágenes del material inorgánico-biológico. En dicho estudio se analizaron en cada imagen los siguientes elementos:

- Osmio, como elemento de tinción del material biológico para identificar las bacterias, el cual es adicionado durante la preparación de las muestras biológicas para su análisis en TEM.
- Silicio, como elemento identificador de la posición de los diferentes cristales zeolíticos.
- Plata, para conocer la localización del agente biocida en toda la muestra y concretamente, en la célula del microorganismo.

En la Figura 5.35 y la Figura 5.36 se muestra el mapeo elemental de estos tres elementos en la muestra problema que contiene tanto a las bacterias como al material biocida (FAUAg-2,4). Como se puede observar, el Si marcado de color azul se encuentra exclusivamente en las regiones de la muestra donde existen cristales zeolíticos. El Os definido de color púrpura, se encuentra en toda la muestra aunque más concentrado en zonas de

5.- MATERIALES BIOCIDAS

geometría circular o como se define en microbiología “cocos”, indicando la presencia de células bacterianas de *S.aureus* de forma esférica. La plata identificada por el color amarillo, se encuentra tanto en los cristales zeolíticos como en las bacterias, y también en el medio. Como cabe esperar, la máxima concentración de plata aparece en los cristales zeolíticos desde donde se produce la liberación parcial del metal, actuando la zeolita como un reservorio de plata. Por otro lado, la presencia de plata en el medio confirma la lixiviación de la plata desde la zeolita hacia el medio donde están las bacterias. Finalmente, la presencia de plata en todas las zonas de la bacteria y no solamente en la membrana celular o limitada a ciertas localizaciones del interior de la célula, evidencia la acción multi-diana de la plata, a través de los distintos mecanismos de acción biocida frente a diversos orgánulos o partes de la bacteria, descritos en el apartado 1.4.3.

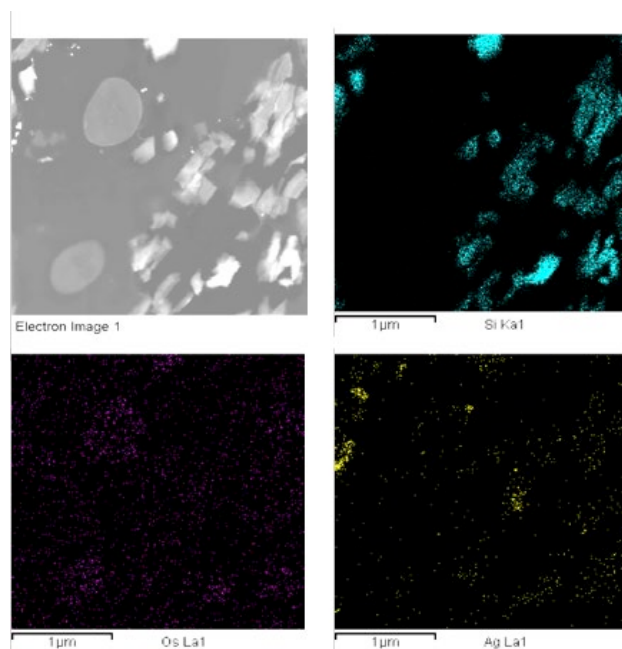


Figura 5.35: Mapeo de la muestra problema (*S.aureus* + FAUAg-2,4)

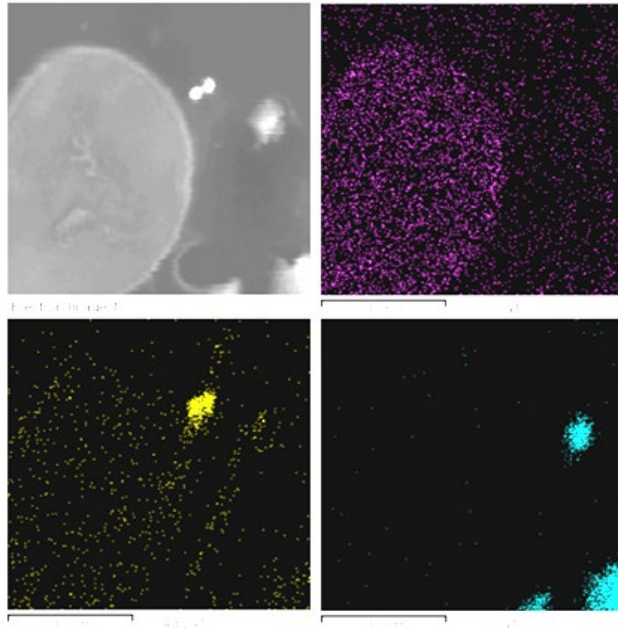


Figura 5.36: Mapeo de la muestra problema (*S.aureus* + FAUAg-2,4), foto ampliada

Así pues los resultados descritos hasta el momento, permiten afirmar que:

- Las zeolitas con plata incorporada presentan una acción bactericida tanto frente a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas, siendo mucho más efectivas frente a estas últimas.
- La actividad bactericida depende del contenido en plata, de la topología o estructura de las zeolitas y de su relación Si/Al. La zeolita faujasita de relación Si/Al = 2,4 con tamaño de poro grande y supercavidades en su interior es la más efectiva de todas las estudiadas, debido probablemente a que esta estructura facilita la lixiviación del catión desde las zeolitas al medio.
- Los cationes Ag^+ son la especie biocida en todas las zeolitas estudiadas y su mecanismo de actuación es muy diverso, actuando

5.- MATERIALES BIOCIDAS

en diferentes zonas y orgánulos de la célula bacteriana, causando la muerte de las mismas.

5.1.5. Incorporación de las zeolitas con plata en materiales poliméricos

Las zeolitas con plata descritas anteriormente fueron incorporadas en matrices poliméricas, obteniendo así un material plástico con actividad bactericida en la que no se han alterado las propiedades intrínsecas del polímero empleado. Este nuevo material podría ser empleado como recubrimiento en herramientas, utensilios, muebles, en envases de conservación de alimentos o incluso en diferentes materiales quirúrgicos u hospitalarios como catéteres o jeringas [380].

En base a los resultados obtenidos en los apartados anteriores, se escogieron tres zeolitas con plata para ser incorporadas en el material polimérico, evaluando a continuación su actividad bactericida. Las zeolitas seleccionadas fueron LTAAg-2, CHAAg-2 y FAUAg-2,4 debido a su facilidad de síntesis, su bajo coste y a su elevada efectividad biocida empleando bajas concentraciones de plata, lo que haría factible económicamente su uso comercial.

Se realizaron diferentes mezclas de polipropileno y de las zeolitas con plata seleccionadas, obteniendo diferentes planchas con las que se llevaron a cabo los estudios bactericidas. En la Tabla 5.6 se puede observar el porcentaje en masa en cada uno de los componentes de las mezclas, mientras que en la Figura 5.37 se observan las imágenes de las diferentes planchas preparadas. Estas imágenes muestran que cuando se añaden contenidos superiores a 0,2% de cualquiera de las zeolitas con plata

empleadas, se produce un oscurecimiento del material, probablemente debido a la reducción de los cationes Ag^+ a Ag^0 , durante el tratamiento térmico necesario para la preparación del material [381]. Debido a que la principal aplicación de este material es el recubrimiento de otros materiales, la aparición de cierto color al incorporar las zeolitas con plata es un efecto secundario indeseado.

Tabla 5.6: Composición de las mezclas

Polipropileno (%)	Ag-zeolita (%)	
99,77	FAUAg-2	0,22
98,99	FAUAg-2	1,00
99,81	CHAAg-2	0,18
99,55	CHAAg-2	0,45
99,05	CHAAg-2	0,94
99,80	LTAAG-2	0,20
99,04	LTAAG-2	0,50
98,95	LTAAG-2	1,05



Figura 5.37: Planchas preparadas con distinto % de Ag-zeolitas

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Debido a esto, se decidió trabajar en dos direcciones para intentar minimizar las modificaciones en el aspecto del polímero empleado:

- Utilizar zeolitas con menores contenidos en plata
- Utilizar aditivos que evitasen el oscurecimiento de los materiales

En el primer caso, se evaluó la actividad biocida frente a la bacteria *S.aureus* del polipropileno funcionalizado con tres tipos de zeolitas con plata que contenían un 2% en peso de plata, y que se incorporaron en un 0,2% en el polímero. La Figura 5.38 muestra los porcentajes de reducción del contenido en bacterias de la aplicación polimérica y los valores de MIC de los estudios bactericidas *in vitro* de las mismas zeolitas con plata frente a la misma bacteria. Los resultados muestran una correlación entre los resultados *in vitro* y los de la aplicación polimérica, siendo la zeolita FAUAg-2,4 y la plancha polimérica que la contienen la que presenta la mayor actividad bactericida, debido a que presenta los menores valores de MIC y el mayor porcentaje de las unidades formadoras de colonia (UFC). Estos resultados confirman que el polipropileno aditivado con zeolita con plata se puede usar como un material con efecto biocida. Además, se confirma, de nuevo, que los polímeros preparados con zeolitas de poro grande y supercavidades en su interior presentan los mejores resultados biocidas. Por otro lado, comparando los resultados obtenidos con los resultados de las planchas que contienen zeolitas de poro pequeño (LTAAg-2 y CHAAg-2) se puede observar como la plancha que contiene a la zeolita chabacita presenta una mayor actividad probablemente debido al mayor contenido en plata de la zeolita empleada (2,6% frente a 1,8%).

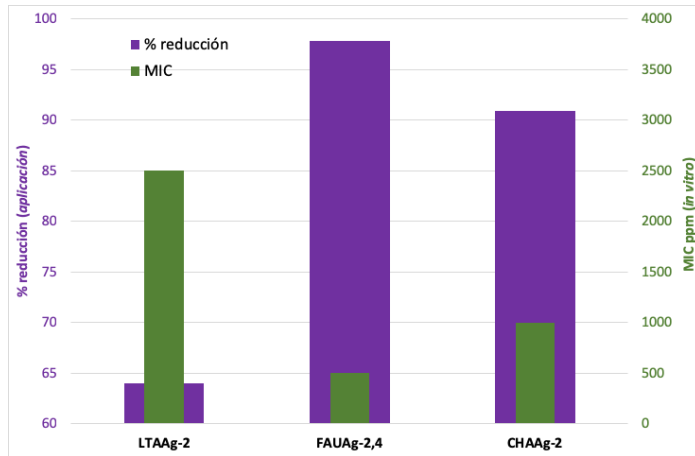


Figura 5.38: MIC de las zeolitas in vitro; % reducción de UFC para las mismas zeolitas incorporadas al 0,2% en el polímero (frente a *S.aureus*), in vivo

La segunda opción barajada fue incorporar al polímero, además de las zeolitas con plata, otro aditivo que evitara el oscurecimiento del material. Para ello, se utilizó un estabilizante fotoquímico denominado HALS (Hindered Amine Light Stabilizers), consistente en aminas impedidas derivadas del 2,2,6,6-tetrametilpiperidina que protegen a los polímeros del ataque de los radicales libres formados por efecto fotoquímico, impidiendo así la degradación fotoquímica del material.

De esta manera, se prepararon nuevas mezclas (Tabla 5.7) empleando aproximadamente 0,4% de HALS y diferentes contenidos de las distintas zeolitas estudiadas. Los resultados de estas mezclas permitieron obtener un 99,9% de reducción de las UFC, valores mayores que los obtenidos cuando no se añade HALS (Figura 5.38). Además, si se analiza el poder bactericida por el valor R, se observa que todas las muestras presentan valores de R superiores a 4, por tanto, con una actividad bactericida excelente (se considera que un material tiene actividad biocida cuando $R > 2$). Asimismo, en la Tabla 5.7 se presentan los resultados obtenidos cuando solamente se incorporó HALS al polímero, observándose cierta

5.- MATERIALES BIOCIDAS

eficacia bactericida, aunque no suficiente como para que dicha mezcla se considere material biocida por sí mismo ($R < 2$).

Tabla 5.7: Composición de las mezclas y resultados bactericidas en aplicación polimérica

Polipropileno (%)	Zeolita (%)	HALS (%)	R	% red. UFC	
99,30	FAUAg-2	0,38	0,34	4,13	99,99
99,15	LTAAG-2	0,40	0,45	3,62	98,88
99,05	LTAAG-2	0,50	0,45	4,14	99,99
98,59	LTAAG-2	1,02	0,39	4,13	99,99
99,76	CHAAg-2	0,24	0,41	4,24	99,99
99,59	-	-	0,41	0,99	> 30

En la Figura 5.39 se representan los resultados obtenidos junto con el porcentaje en plata incorporado. Comparando los resultados de la figura y de la tabla, con los obtenidos en las mezclas poliméricas sin la adición del fotoestabilizador, se puede afirmar claramente que la adición de HALS aumenta la actividad biocida de los materiales poliméricos que contienen zeolitas con plata. Además, al adicionar el fotoestabilizador, tanto a la plancha que contenía la zeolita FAUAg-2,4 como a la que contenía la zeolita CHAAg-2 que presentan un contenido menor de plata total en la formulación, se consiguen eficacias bactericidas muy similares a las de los materiales con LTAAG-2, que presentan un contenido más alto en plata (Figura 5.39). Estos resultados indican, de nuevo, que estas zeolitas son las mejores para ser empleadas en esta aplicación debido, probablemente, a que su estructura favorece la liberación de los cationes Ag^+ en el medio, incluso estando embebidas en el seno del polímero.

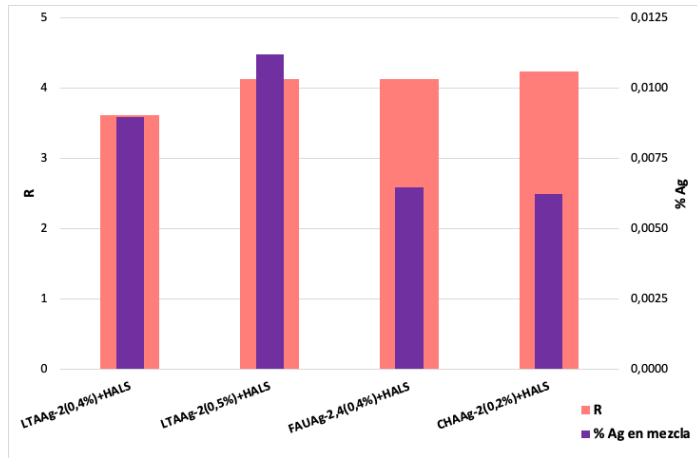


Figura 5.39: Actividad bactericida según el valor R de varias zeolitas con HALS, y % de Ag en peso de cada una.

Respecto al color del material, tras la incorporación del fotoestabilizador (HALS) se comprobó que disminuyó notablemente el oscurecimiento de los materiales, como se puede observar en la Figura 5.40, donde se compara el color de las planchas con y sin la adición de HALS. Por ello, se considera que lo más adecuado sería añadir los agentes biocidas junto al HALS, ya que esto minimizaría los cambios de color del polímero, al mismo tiempo que mejoraría la efectividad biocida.

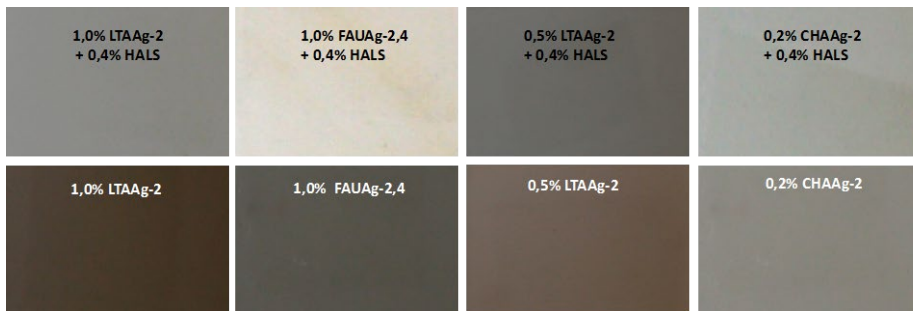


Figura 5.40: Fotografías de las planchas poliméricas con zeolitas en presencia y ausencia de HALS

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Por último, se estudió también la lixiviación de los cationes Ag^+ desde las planchas de polipropileno al medio de cultivo donde se encuentran las bacterias. Para ello, se reprodujo la norma JIS Z 2108:2010 (*apartado 3.5.1*) pero sin emplear bacterias en el caldo de cultivo. Tras ello, se tomaba el inóculo inerte y se medía el contenido en plata, empleando para ello la espectroscopía de absorción atómica en cámara de grafito (GFAAS), debido a presentar límites de detección inferiores al ICP-AES. Se realizaron los análisis con diferentes muestras: dos materiales con la misma concentración de LTAAg-2 (0,5%) y a las que se había añadido (o no) el fotoestabilizador (HALS) y otro material con un contenido menor de LTAAg-2 (0,2%). Los resultados obtenidos (Tabla 5.8) muestran que un mayor contenido de LTAAg-2 en el material polimérico resulta en una mayor liberación de Ag^+ , aumentando el valor de R, es decir, presentando una mayor capacidad de reducción de la población bacteriana.

Se observa, además, que la incorporación de HALS al material, favorece la liberación de la plata con el consiguiente incremento en la efectividad biocida, consiguiendo valores de R más altos.

Tabla 5.8: Porcentaje de Ag liberado medido por GFAAS y efectividad bactericida frente a *S.aureus* de diversas matrices de polipropileno conteniendo Ag-zeolita

Material polipropileno con:	% Ag liberado	R
LTAAg-2(0,2%)	7,3	0,44
LTAAg-2(0,5%)	16,9	3,62
LTAAg-2(0,5%)+HALS	24,5	4,13

Así pues, los resultados descritos en este apartado, en el que se han estudiado las propiedades bactericidas de diversas zeolitas con plata insertadas en el seno de polipropileno, permiten afirmar que:

- Las zeolitas con plata, incluso con bajos contenidos en plata cercanos al 2% en peso, pueden incorporar nuevas funciones bactericidas a los materiales poliméricos, como es el caso del polipropileno. De esta forma, se pueden conseguir materiales polifuncionales con un efecto diferenciador cuya aplicación podría ser muy variada.
- Las planchas de polipropileno a las que se ha añadido plata intercambiada en zeolitas de poro grande y con supercavidades en la estructura (FAUAg-2) presentan la mayor actividad biocida.
- La incorporación de las zeolitas con plata al polímero, dotan de cierta coloración al material siendo este un efecto indeseado. Sin embargo, esta coloración se consigue minimizar añadiendo a la composición del material un fotoestabilizador.
- La adición del fotoestabilizador, no supone una pérdida en la efectividad bactericida, sino que mantiene o mejora la actividad biocida de estos materiales, probablemente debido a que facilita la movilidad de los Ag^+ , hacia el medio, tal y como se ha podido observar en los estudios de lixiviación.

5.2. Estudios fungicidas

En este apartado se analizó el efecto fungicida de las zeolitas con plata descritas anteriormente y de otros materiales, como las hidrotalcitas, que se aplicaron para el control y reducción de microorganismos fitopatógenos, realizándose ensayos tanto *in vitro* como *in vivo*.

Los hongos son, en general, organismos eucariotas, heterótrofos y no fotosintéticos. La mayoría de ellos son pluricelulares y forman por sí mismos, uno de los reinos taxonómicos de los seres vivos [382]. Todos los hongos obtienen sus nutrientes por absorción, mediante una digestión enzimática externa y por tanto, obtienen la energía y los elementos necesarios para su supervivencia a partir de compuestos sintetizados por otros organismos [383]. Esta particular función de nutrición les permite participar en la descomposición de la materia orgánica, siendo parte imprescindible en los ciclos naturales de diversos elementos en el medio. Existen hongos que pueden ser utilizados para la producción de algunos comestibles o bebidas como el pan, el vino o la cerveza (levaduras) [384], hongos utilizados para la producción de sustancias químicas como por ejemplo el xilitol [385], u hongos para el tratamiento de aguas residuales de diferente naturaleza [386].

Sin embargo, otros hongos son patógenos oportunistas en animales y plantas, produciendo diversos tipos de enfermedades [387-389]. El control de estos organismos fitopatógenos en alimentos es muy importante, ya que son los responsables mayoritarios de las pérdidas del sector agroalimentario, sobre todo en el caso de frutas y hortalizas [390], cuyas pérdidas mundiales alcanzan aproximadamente el 40% de la producción global [391]. Las infecciones en frutas causadas por hongos provocan una pérdida en la calidad de las mismas y una disminución de su vida útil,

haciendo que se desperdicien los alimentos infectados. Por ello, es necesario buscar y utilizar de nuevos tratamientos que minimicen estas pérdidas [174].

En esta tesis se ha estudiado el uso de zeolitas con plata y de hidrotalcitas con aniones orgánicos como materiales fungicidas. La nomenclatura utilizada es la descrita en el apartado anterior y consta de tres siglas para identificar la estructura zeolítica empleada (XXX), seguida del elemento intercambiado (Y), junto con un guion tras el que se indica la relación Si/Al de la zeolita empleada (N) y de un guion bajo seguido del valor del porcentaje de intercambio (n), **XXX_Y-N_n**. Cuando no aparece “n”, **XXX_Y-N**, las muestras presentan un 2% en peso de metal aproximado. Además, se añade el porcentaje de material biocida incorporado (A%) en el medio/aplicación (**A%_XXX_Y-N_n**). Por ejemplo, 0,1%_LTA_{Ag}-1_100% significa que se ha incorporado 0,1% de la zeolita LTA de relación Si/Al = 1 intercambiada completamente con plata (100%) en el medio/aplicación. El otro tipo de material utilizado fueron hidrotalcitas, que han sido nombradas como en el caso anterior, pero utilizando las siglas HT en vez de las siglas de la estructura zeolítica. Tras estas siglas se añade la combinación de elementos metálicos utilizados para la síntesis de la hidrotalcita y un guion bajo seguido del anión fungicida intercambiado. Así por ejemplo, **0,1%_HT-ZnAl_Sorb**, indicaría que se ha utilizado una hidrotalcita de Zn y Al intercambiada con el anión sorbato, empleándose 0,1% de este material en el medio/aplicación. Los diferentes hongos tratados se designan por las iniciales de sus nombres en latín, y en ciertas ocasiones, seguidas del número de días que se mantuvieron en incubación.

Las zeolitas estudiadas en este apartado, ya fueron caracterizadas, y los resultados han sido descritos anteriormente. Así pues, en este apartado solamente se discutirán los resultados antifúngicos, y cuando sea necesario

5.- MATERIALES BIOCIDAS

se remitirá a la caracterización de estos materiales descrita en el punto anterior.

5.2.1. Estudios *in vitro*

Los diferentes experimentos *in vitro* se llevaron a cabo en placas petri empleando PDA como medio de cultivo y 8 hongos distintos: *Monilinia fructicola* (MC), *Alternaria alternata* (AA), *Geotrichum citri-aurantii* (GC), *Penicillium digitatum* (PD), *Penicillium italicum* (PI), *Penicillium expansum* (PE), *Botrytis cinerea* (BC) o *Rhizopus stolonifer* (RS). Estos hongos fitopatógenos son los más comunes e importantes en fruta producida en España y son los causantes de las mayores pérdidas económicas en el mercado hortofrutícola.

Inicialmente, se escogieron dos zeolitas comerciales, LTA y FAU, que presentan distinto tipo de estructura, tamaño de poro y relación Si/Al (1 y 2,4 respectivamente). Estas zeolitas se intercambiaron con plata y zinc, buscando obtener, por un lado, zeolitas con un bajo contenido en metal (próximo al 2%), y por otro, zeolitas con un elevado contenido en metal próximo al intercambio catiónico completo. La composición de estas zeolitas aparece en la Tabla 5.9.

Tabla 5.9: Composición química de los materiales zeolíticos empleados

Material	% en peso Ag/Zn ^a	Grado de intercambio (%) ^a	Relación molar ^a Si/Al	% en peso Na ^a	% en peso Ag ^b
LTA-1	-	-	1,1	15,3	-
LTA _{Ag} -1_100%	48,4	95,9	0,9	0	49,1
LTA _{Ag} -1	1,8	2,7	0,9	13,9	1,9
LTA _{Zn} -1	17,7	75,9	1,0		-
FAU-2,4	-	-	2,4	9,6	-
FAU _{Ag} -2,4_100%	30,6	93,4	2,5	1,2	32,5
FAU _{Ag} -2,4	1,3	3,5	2,4	6,8	1,6

FAUZn-2,4	11,2	78,3	2,5	-	-
a – medido por ICP-AES			b – medido por EDS		

En primer lugar, se analizó la actividad fungicida de las zeolitas con plata, incorporando tres concentraciones distintas de cada una de ellas en el medio de cultivo (PDA) donde se evaluó su eficacia biocida (0,05%, 0,1% y 0,5%). Los resultados se presentan en la Figura 5.41, 5.42, 5.43 y 5.44, donde se representan los diversos porcentajes de reducción/inhibición del crecimiento para cada hongo al añadir distintos porcentajes de las zeolitas con plata.

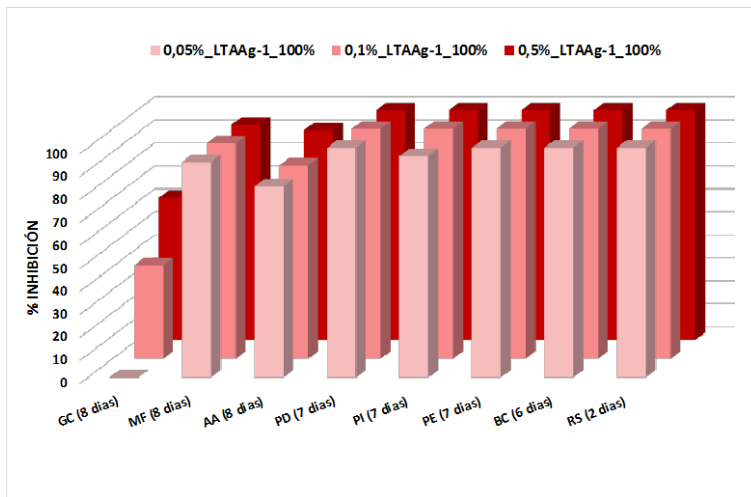


Figura 5.41: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de LTAAg-1_100% (48,4% en peso Ag)

5.- MATERIALES BIOCIDAS

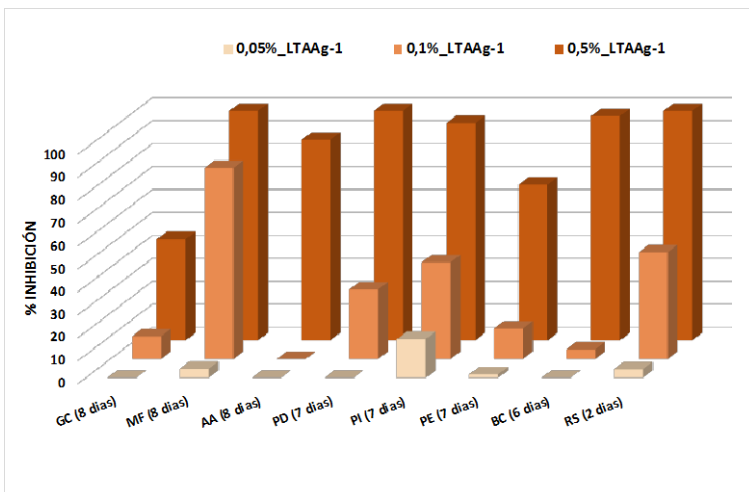


Figura 5.42: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de LTAAG-1 (1,8% en peso de Ag)

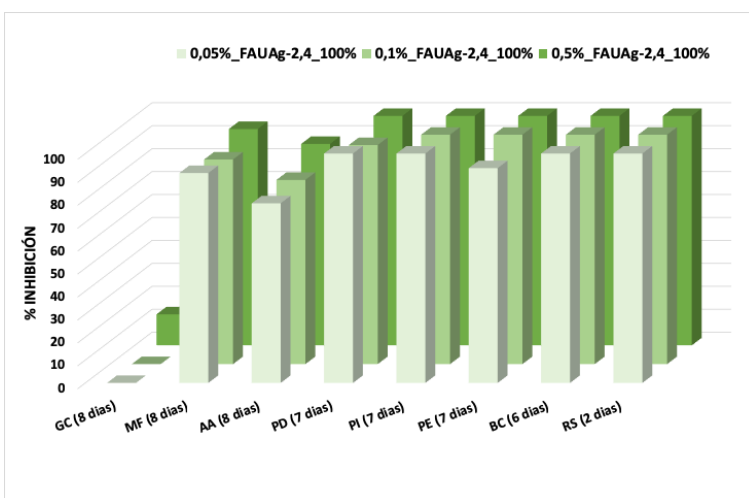


Figura 5.43: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de FAUAg-2,4_100% (30,6% en peso de Ag)

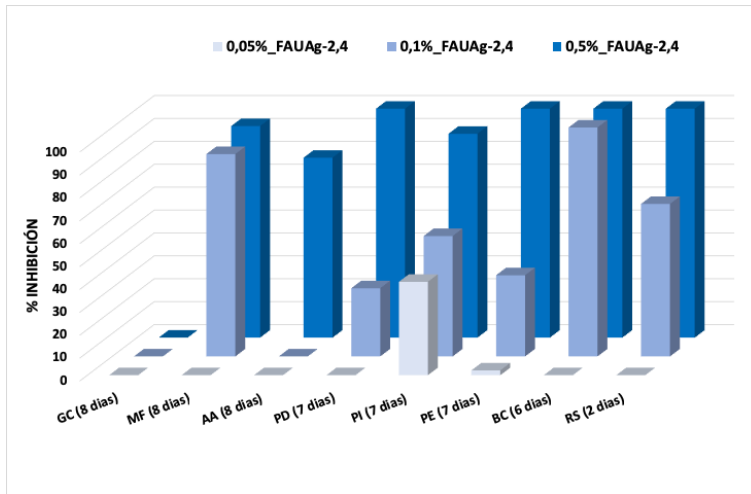


Figura 5.44: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de FAUAg-2,4 (1,3% en peso Ag)

Un análisis global de todos los resultados obtenidos indica que, un mayor concentración de cualquiera de las zeolitas empleadas, independientemente de su estructura o contenido en plata, se traduce en un aumento de la efectividad fungicida. Por otro lado, se observó también que los diferentes hongos estudiados se comportan de forma distinta frente a los mismos materiales. Así, en todos los casos analizados (Figura 5.41, 5.42, 5.43 y 5.44), el hongo GC es el más resistente, presentando los menores porcentajes de inhibición, seguido del hongo AA. Sin embargo, el resto de hongos muestran inhibiciones completas o casi completas, al menos en los ensayos con 0,5% de las zeolitas con mayor contenido en plata (0,5%_LTAAg-1_100% y 0,5%_FAUAg_100%).

Para poder hacer una mejor evaluación de la influencia del contenido en plata de cada zeolita en su actividad fungicida, se representaron los resultados de inhibición de los 8 hongos empleándose la misma concentración de las zeolitas (0,1%) con la misma estructura, pero con diferente contenido en plata. Los resultados se muestran en la Figura 5.45

5.- MATERIALES BIOCIDAS

y la Figura 5.46. La Figura 5.45 muestra los resultados obtenidos con las zeolitas LTA-Ag-1_100% (intercambio completo, lo que equivale a 48,4% en peso de plata), LTA-Ag-1 (2 % en peso de Ag) y LTA-1 (zeolita sódica), demostrando claramente que un aumento del contenido de plata en la zeolita, aumenta el porcentaje de inhibición del crecimiento en todos los hongos estudiados. No obstante, cabe resaltar que la zeolita sin plata (LTA-1) también presentó cierta actividad fungicida frente a algunos de los hongos, pero sin ser ésta significativa.

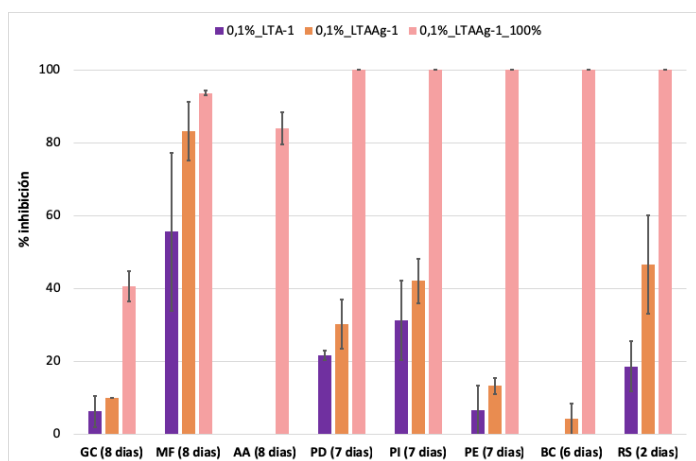


Figura 5.45: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando zeolita LTA-1 con distinto contenido de Ag

Los resultados obtenidos con las distintas zeolitas FAU-2,4 aplicadas al 0,1% en el medio de cultivo, se muestran en la Figura 5.46. En ellos se observa que tanto la faujasita sódica como las dos faujasitas con distinto contenido en plata mostraron tendencias muy similares a las observadas en el caso de la zeolita LTA-1, es decir, a mayor contenido en plata mayores eficacias. No obstante, cabe destacar que ninguna de las FAU empleadas, con o sin plata en su composición, fueron activas frente a GC cuando se empleó una concentración de 0,1%. Además, la zeolita sódica FAU, no presentó actividad biocida frente a ninguno de los hongos estudiados.

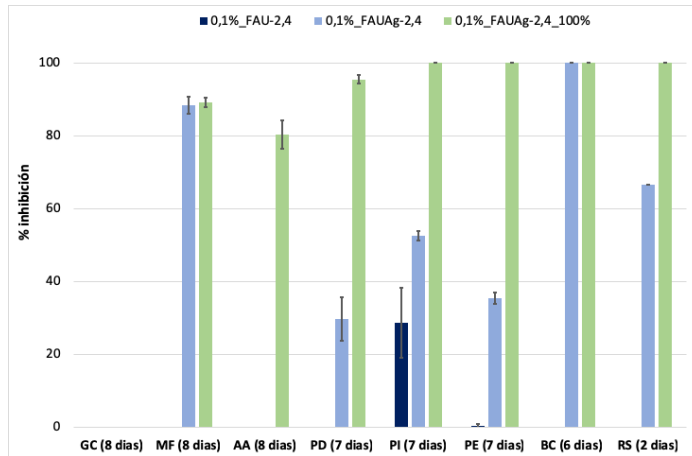


Figura 5.46: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando zeolitas FAU-2,4 con distinto contenido de Ag

Los mismos ensayos se realizaron utilizando directamente AgNO_3 en el medio, empleando también una concentración de 0,1%. Los resultados mostraron que la aplicación directa de cationes Ag^+ , sin estar soportados en material zeolítico, fueron similares a los obtenidos con las zeolitas completamente intercambiadas, consiguiendo reducciones superiores al 80% en todos los hongos, excepto frente a GC. Estos resultados permiten afirmar que la utilización de cationes plata tanto directamente (AgNO_3), como soportados en las zeolitas, consiguen inhibir el crecimiento de los distintos hongos (excepto en el hongo GC), con la ventaja de que las zeolitas con plata pueden permitir una liberación controlada y prolongada en el tiempo de las especies de plat, actuando como reservorio de la especie activa. Así, Chiericatti et al. describen que la actuación de plata libre posee una efectividad menor que la plata dispuesta en zeolitas como la mordenita, debido a que la plata libre puede formar complejos con otras sustancias del medio, perdiendo su eficacia biocida, mientras que cuando los cationes Ag^+ se encuentran encapsulados en la zeolita, la plata está más protegida aumentando su biodisponibilidad [236].

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Por último, cabe destacar que la incorporación de las Ag-zeolitas en el medio de cultivo no modificó apenas el color del medio con respecto al control. Sin embargo, la incorporación de AgNO_3 tinto el medio de cultivo de un color grisáceo-negro, lo que puede ser un grave problema para su aplicación real en recubrimientos o materiales.

La cuantificación de los datos discutidos anteriormente, indicaría que contenidos superiores a 0,03% de plata en el medio de cultivo (Tabla 5.10) son suficiente para el control del crecimiento de los hongos estudiados (excepto GC).

Tabla 5.10: Contenido de Ag (%) de los tratamientos empleados que produce inhibición > 80%

Material biocida	% Ag total
0,1%_AgNO ₃	0,064
0,1%_FAUAg-2,4_100%	0,031
0,1%_LTAAg-1_100%	0,048

Por último, se compararon los resultados obtenidos con las dos estructuras zeolíticas con bajo contenido en plata (Figura 5.47), estos fueron peores que los obtenidos con la zeolita completamente intercambiadas. No obstante, también se obtuvieron mejores resultados cuando se emplea la zeolita de poro grande (FAUAg-2,4), pese a presentar un contenido en plata menor que la zeolita LTA-1 (Tabla 5.11). Dichos resultados pueden explicarse debido a que, tal y como se ha discutido en los estudios biocidas frente a bacterias, un tamaño de poro mayor (estructura abierta) facilita la liberación de la plata, ofreciendo mayor actividad biocida. Pero además, la relación Si/Al de la faujasita es más próxima a la relación óptima de 2, y por lo tanto, este factor también podría mejorar la actividad fungicida de la FAUAg-2,4 frente a la LTAAg-1.

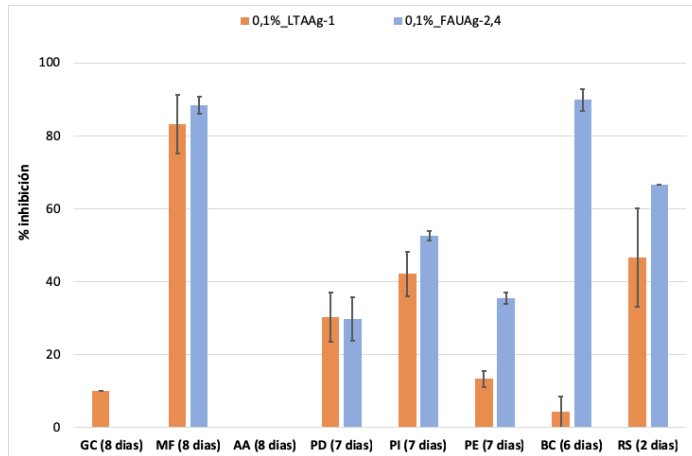


Figura 5.47: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando 0,1% de zeolitas LTAAg-1 y FAUAg-2,4

Tabla 5.11: Contenido de Ag (%) de los tratamientos empleados con zeolitas con bajo contenido en plata

Material biocida	% Ag total
0,1%_FAUAg-2,4	0,0013
0,1%_LTAAg-1	0,0018

Finalmente, cabe resaltar que los distintos hongos estudiados no se comportan igual frente a los diferentes agentes biocidas, lo que indicaría que la acción fungicida de las zeolitas con plata estudiadas depende, en gran medida, del tipo de hongo tratado y de sus propiedades y características biológicas intrínsecas [236, 381].

Por otro lado, se realizaron estudios similares empleando hidrotalcitas de Zn/Al y Zn/Fe a las que se les incorporó benzoato o sorbato, como aniones de compensación, ya que estos aniones poseen propiedades fungicidas y presentan baja toxicidad en humanos [392]. Para ello, se sintetizaron las hidrotalcitas inicialmente con nitratos que actúan como aniones de compensación, y éstos se intercambiaron con los aniones benzoato o sorbato, utilizando disoluciones concentradas en estos aniones. En todas las hidrotalcitas preparadas se utilizó Zn como elemento común

5.- MATERIALES BIOCIDAS

para su síntesis, ya que este elemento presenta también propiedades fungicidas [393].

Estas hidrotalcitas funcionalizadas fueron analizadas por diferentes técnicas de caracterización para conocer sus propiedades químicas y físicas. De esta manera, se realizaron estudios de composición química de los materiales mediante ICP-AES y se utilizó la técnica de análisis elemental para determinar el contenido de C en cada muestra. Los resultados de ambas técnicas se reflejan en la Tabla 5.12. El porcentaje en carbono de las distintas hidrotalcitas permitió determinar la eficacia de los intercambios llevados a cabo, siendo este mayor en el caso de la hidrotalcita con Zn/Al que con la hidrotalcita Zn/Fe, independientemente del anión intercambiado.

Tabla 5.12: Composición química de las diferentes hidrotalcitas sintetizadas (ICP-AES) y contenido en C determinado por análisis elemental

MUESTRA	% en peso Al	% en peso Fe	% en peso Zn	Relación M^{3+}/M^{2+}	% en peso C *	Intercambio logrado (%)
HT-ZnAl	11,2	-	19,8	1,48	-	-
HT-ZnAl_Sorb	5,9	-	10,2	1,51	16,8	99
HT-ZnAl_Benz	5,5	-	9,7	1,47	20,5	100
HT-ZnFe	-	9,1	7,2	1,48	-	-
HT-ZnFe_Sorb	-	8,4	6,6	1,48	8,1	72
HT-ZnFe_Benz	-	8,1	6,5	1,46	10,0	80

La actividad fungicida de estos materiales laminares se evaluó en análisis microbiológicos *in vitro* (Figura 5.48,5.49, 5.50 y 5.51), idénticos a los realizados con las zeolitas con plata, pero utilizando solamente 7 tipos de hongos, todos los anteriores a excepción del BE.

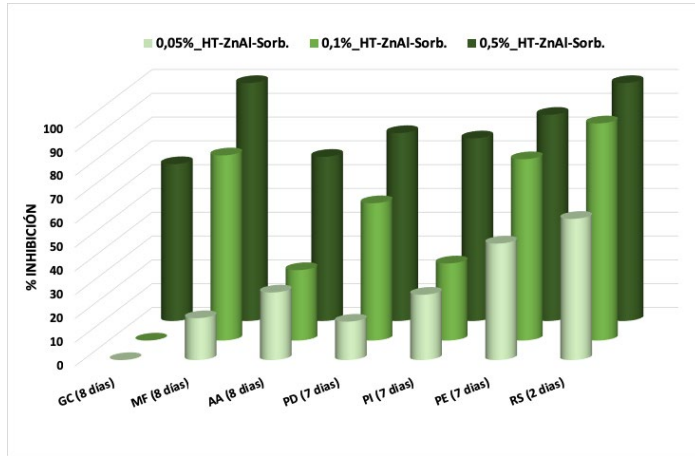


Figura 5.48: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnAl_Sorb

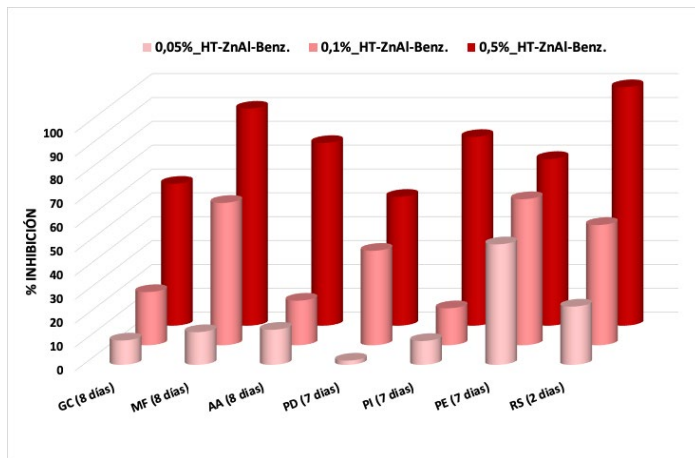


Figura 5.49: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnAl_Benz

5.- MATERIALES BIOCIDAS

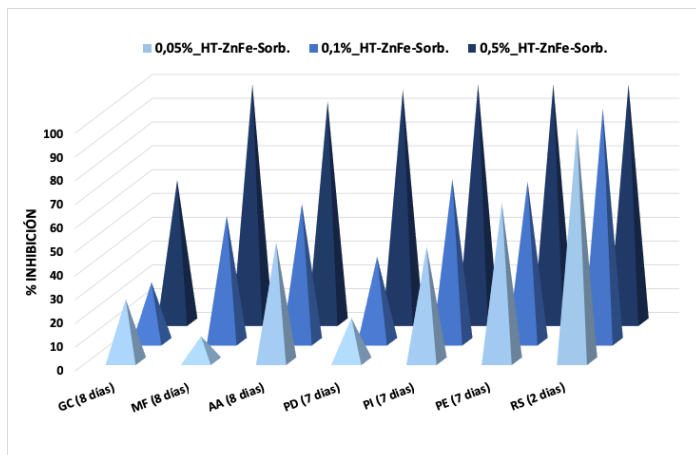


Figura 5.50: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnFe_Sorb

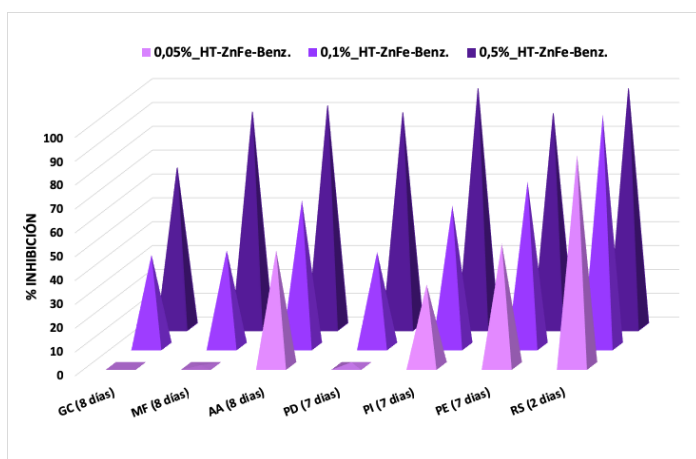


Figura 5.51: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnFe_Benz

Los resultados obtenidos muestran una gran dependencia de la actividad fungicida con el tipo de hongo tratado, obteniéndose los mejores resultados contra los hongos RS y MF. Además, se puede establecer una relación entre la cantidad de material incorporado en el medio de cultivo y los resultados antifúngicos, obteniendo mejores resultados cuanto mayor es la cantidad de hidrotalcita añadida. Ensayos similares se llevaron a cabo

con las hidrotalcitas sin intercambiar, es decir, sin presencia del catión orgánico con propiedades fúngicas, y sin observarse diferencias con las muestras-control o blancos, por lo que se puede afirmar que dichos materiales no tienen capacidad fungicida antes de ser intercambiados.

Para una mejor comparación, la Figura 5.52, muestra los resultados frente a los 7 hongos de estudio de las cuatro hidrotalcitas estudiadas usando una misma concentración dentro del medio de cultivo, 0,1%. De forma general, se puede decir que el anión sorbato posee una capacidad fungicida ligeramente superior al benzoato, ya que los resultados son mejores cuando éste se incorpora en las dos hidrotalcitas, no obstante las diferencias no son significativas. Por otro lado, si comparamos la acción fungicida de cada tipo de hidrotalcita utilizada, se observa que la hidrotalcita sintetizada a partir de Zn y Fe presenta mejores resultados en la mayoría de los casos. Esto podría indicar que, o bien el hierro tiene cierta actividad fungicida, o bien que en estas hidrotalcitas se produce más fácilmente la liberación de los aniones al medio, aumentando en ambos casos la capacidad biocida del material.

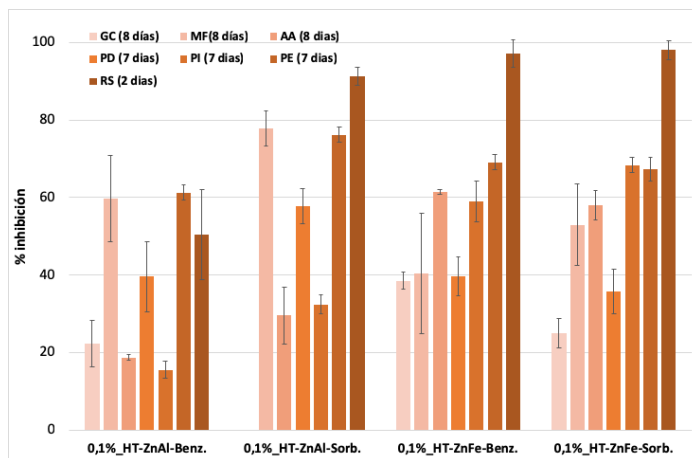


Figura 5.52: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando 0,1%HT

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Sin embargo, si se comparan estos resultados con los obtenidos con las zeolitas intercambiadas completamente con plata (0,1%_LTAAg-1_100% Figura 5.45 y 0,1%_FAUAg-2,4_100% Figura 5.46), se observa que las zeolitas con plata son mejores agentes antifúngicos, ya que se obtiene un mayor control del crecimiento de la mayoría de los hongos, mientras que las hidrotalcitas, en general, presentan porcentajes de inhibición menores para los mismos hongos. Esto permite afirmar que la plata como agente fungicida es más efectivo que los aniones orgánicos sorbato y benzoato, al menos, cuando se trabaja con ellos soportados en materiales inorgánicos de elevada área superficial como son las zeolitas o las hidrotalcitas.

5.2.2. Estudios *in vivo*

Una vez comprobado que tanto las zeolitas con plata como las hidrotalcitas funcionalizadas con sorbato y benzoato son efectivas como agentes fungicidas en experimento *in vitro* frente a distintos tipos de hongos fitopatógenos, se diseñaron una serie de experimentos *in vivo* con varios tipos de frutas infectadas con hongos característicos de las mismas, para analizar el efecto curativo de estos materiales.

Estos experimentos se engloban en los tratamientos poscosecha que pretenden mantener la calidad del producto hortofrutícola el mayor tiempo posible, evitando su deshidratación, podredumbre, pérdida de peso y pérdida de propiedades organolépticas y nutricionales. Estos procesos son muy diversos e incluyen nuevas funcionalidades como la protección frente a organismos patógenos, que son una de las causas más importantes de las pérdidas en el sector hortofrutícola.

En concreto, en la presente tesis se han aplicado los materiales biocidas ya estudiados en ensayos *in vitro*, sobre la superficie de naranjas y ciruelas infectadas con el hongo patógeno más común de cada una de ellas, *Penicillium digitatum* y *Monilinia fructicola* respectivamente. Para ello se emplearon diferentes tipos de formulaciones y aplicaciones, donde se modificaron variables como la composición de la formulación, el material fungicida o su concentración, analizando la influencia de cada variable en la actividad fungicida de la aplicación estudiada.

5.2.2.1. Estudios fungicidas en naranjas

5.- MATERIALES BIOCIDAS

La selección de este cítrico para realizar estos estudios se debe a que esta fruta es la de mayor producción y consumo en España, sobre todo, en la Comunidad Valenciana. Mundialmente, en 2017 se produjeron aproximadamente 70 millones de toneladas de naranjas de las cuales, un 6% se produjeron exclusivamente en España [394].

Las enfermedades originadas por hongos fitopatógenos en cítricos (podredumbres) causan numerosos problemas y pérdidas durante los periodos de poscosecha y comercialización de estos alimentos [395]. Las pérdidas son muy variables dependiendo de muchos factores como la zona productora, la especie y variedad del fruto, las condiciones climatológicas, el tipo recolección, el manejo en poscosecha y las condiciones de conservación [396].

El podrido de los cítricos, y en concreto de las naranjas, producido por los hongos de la familia *Penicillium* es el más común y conocido. Específicamente, el *Penicillium digitatum* (PD) y el *Penicillium italicum* (PI) son los hongos patógenos más habituales en enfermedades poscosecha que causan la podredumbre de cítricos, y que comúnmente se denominan moho verde y moho azul. En España se estima que las pérdidas causadas por los hongos tipo *Penicillium* representan entre el 55 y el 80% de las pérdidas totales de cítricos durante toda la temporada.

En el presente estudio se trabajó con el hongo PD o moho verde, debido a que se desarrolla fácilmente a 20 °C y humedad relativamente alta, siendo específico como patógeno de frutos cítricos [397]. Este hongo no consigue atacar a la fruta directamente, si no que precisa de heridas en la superficie o piel de las frutas para poder desarrollarse [398]. Sin embargo, este hongo puede presentarse en la superficie o piel de las naranjas durante meses sin actividad, desarrollándose en cualquier momento en cuanto entra en

contacto con los líquidos liberados por las heridas en superficie. Una vez infectada la herida de la fruta, el hongo excreta una enzima que deshace la lignina de la corteza, reblandeciendo los tejidos y pudriendo el fruto [399].

Toda la información anterior pone de manifiesto la importancia de la utilización de tratamientos poscosecha para mantener la calidad de los productos hortofrutícolas, evitando la aparición de podredumbres. Por ello, en este apartado se han analizado los efectos de la aplicación de los agentes fungicidas sobre cítricos en experimentos *in vivo*, cuya aplicación se puede realizar de varias maneras.

A.- Aplicación acuosa

Los primeros estudios llevados a cabo sobre naranjas consistieron en la aplicación directa sobre las heridas de cada naranja del material fungicida en una suspensión acuosa. Esta aplicación se denominó *tratamiento directo en gota* y consiste en aplicar una gota (30 μ L) de la suspensión acuosa del material antifúngico sobre la herida de cada pieza de fruta.

En primer lugar, se estudió la efectividad de este tipo de tratamientos empleando la zeolita LTAAg-1_100% en suspensiones acuosas de diferente concentración (2, 4 y 8% en peso). Los resultados se pueden observar en la parte izquierda de la Figura 5.53, que muestra como todas las aplicaciones poseen elevados efectos fungicidas, reduciendo tanto la severidad como la incidencia del hongo (PD) sobre la fruta, con valores de reducción superiores al 70%. Estos resultados son independientes de la concentración de plata total en la aplicación, que varía de 1 a 4%. Por ello, se estudió también la actividad de la misma zeolita, pero con un contenido en plata mucho menor, empleando para ello la zeolita LTAAg-1 que

5.- MATERIALES BIOCIDAS

contiene un 2% en peso Ag. Esta zeolita se incorporó en agua creando una suspensión acuosa con 5% en peso de LTAAg-1, lo que resultó en una concentración total de plata LTA en la aplicación próxima al 0,1%. La actividad fungicida (Figura 5.53-izq.) de esta aplicación también mostró cambios considerables frente al control (Figura 5.54), presentando cierta actividad antifúngica pero muy inferior a los casos anteriores donde se empleó la zeolita con mayor contenido en plata (LTAAg-1_100%). En concreto, en este caso, el porcentaje de reducción de la incidencia del hongo fue del 35% mientras que la severidad solo se redujo un 8% respecto del control.

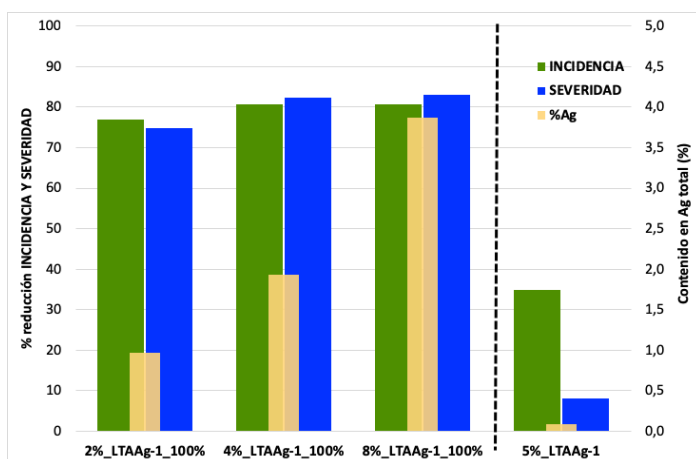


Figura 5.53: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control y el contenido en Ag de la formulación

Conjuntamente a los estudios anteriores, se realizaron ensayos en blanco, donde se incorporaron los mismos contenidos de zeolita LTA-1 sin plata, no obteniéndose resultados positivos (datos no mostrados). De esta forma, se puede afirmar que la plata es el verdadero agente biocida, y que la zeolita no presenta efectos fungicidas. Asimismo, se observa que concentraciones de plata superiores a 1% en la formulación presentan la máxima actividad antifúngica posible y un aumento en el contenido de

plata en las formulaciones no mejoran significativamente los resultados en este tipo de aplicación.

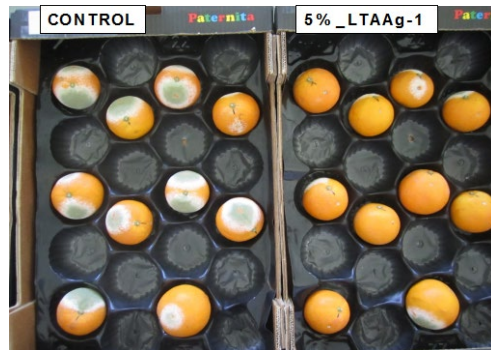
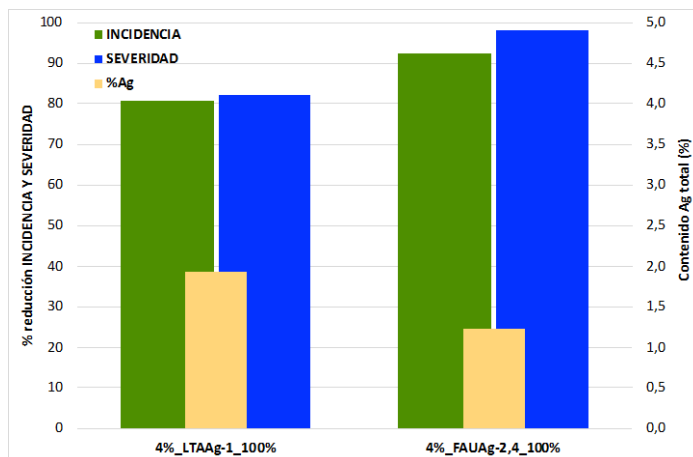


Figura 5.54: Imágenes de las naranjas tras los 7 días de incubación a 20 C y humedad relativa del 90% de las muestras control (izq.) y de las naranjas tratadas con 5%_LTAAg-1

Se estudió también la actividad de otra de las zeolitas intercambiada al 100%, la FAUAg-2,4_100%. Esta zeolita de poro grande presenta una estructura distinta y una relación Si/Al mayor a la LTA y por ello, su contenido máximo de plata es menor. Como se observa en la Figura 5.55, la zeolita faujasita, aun presentando un contenido menor en plata, muestra un mayor porcentaje de reducción de la incidencia y de la severidad que la zeolita LTAAg-1_100%.



5.- MATERIALES BIOCIDAS

Figura 5.55: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control y contenido en Ag de la formulación basada en LTA y FAU.

Estos resultados son similares a los obtenidos en los estudios bactericidas y a los estudios *in vitro*, donde las zeolitas tipo faujasita presentaban actividades mayores, posiblemente debido a una estructura más abierta con tamaño de poro grande, que facilita notablemente el movimiento y la liberación de los cationes de compensación (Ag^+), además de presentar la relación Si/Al determinada como óptima en los estudios bactericidas. Las imágenes de los frutos tratados con las distintas aplicaciones se pueden observar en la Figura 5.56.



Figura 5.56: Imágenes de las naranjas tratadas, de izquierda a derecha: control (sin tratamiento), tratadas con 4%_LTA-1_100% y tratadas con 4%_FAU-2,4_100%

Por otro lado, también se estudió la actividad de zeolitas intercambiadas completamente con Zn^{2+} . Estas zeolitas fueron preparadas análogamente a las de plata, pero empleando disoluciones con diferente concentración de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Los difractogramas de estas zeolitas intercambiadas con Zn (no mostrados) eran idénticos a los de las zeolitas sódicas, indicando que no se producía ninguna modificación de la estructura zeolítica tras el intercambio con Zn^{2+} . La composición química de estos materiales se muestra en la Tabla 5.9.

Los resultados antifúngicos obtenidos con estas nuevas zeolitas intercambiadas con Zn fueron muy pobres (Figura 5.57) comparados con

los obtenidos con las zeolitas con plata, aun siendo el Zn^{2+} un conocido agente fungicida utilizado en muy diversas aplicaciones. Como en el caso anterior, la zeolita FAUZn-2,4_100% presentó mejores efectos fungicidas que la LTAZn-1_100%, aun presentando un contenido en Zn inferior, confirmando de nuevo que el tipo de estructura zeolítica influye en la actividad fungicida de estos tratamientos y que las zeolitas con plata tienen propiedades fungicidas más efectivas que las zeolitas con zinc.

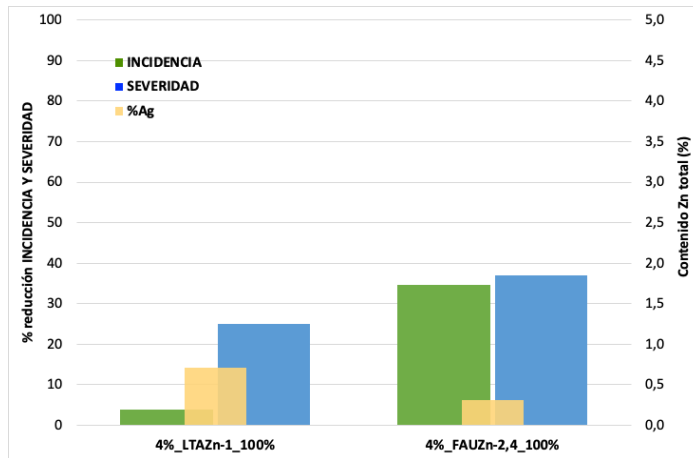


Figura 5.57: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control y el contenido en Zn de la formulación basada en LTA y FAU.

De igual manera, se realizaron estudios utilizando como agente biocida la hidrotalcita Zn/Al con benzoato o sorbato descritas en el apartado anterior. Los resultados (Figura 5.58) muestran que las hidrotalcitas con sorbato presentan una actividad fungicida menor que las zeolitas con plata pero mayores que las zeolitas con zinc (Figura 5.57), mientras que las que tienen benzoato presentan resultados similares a los obtenidas con las zeolitas LTAAg-1_100%. Estos resultados en los ensayos *in vivo* parecen diferir de los resultados *in vitro* donde las hidrotalcitas con el anión sorbato funcionaba mejor que las que tenían el anión benzoato.

5.- MATERIALES BIOCIDAS

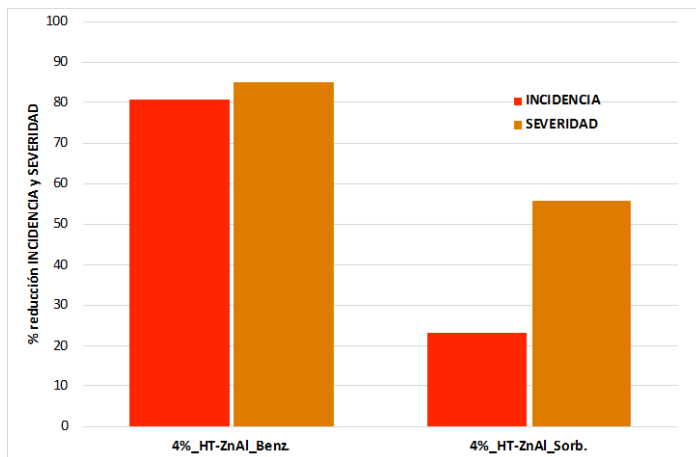


Figura 5.58: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control de las formulaciones con 4%_HT-ZnAl con benzoato o sorbato

Todos los resultados expuestos hasta el momento indican que los tratamientos poscosecha como aplicación de gota directa de una suspensión acuosa que contienen los aditivos fungicidas estudiados, son tratamientos efectivos frente al control de la podredumbre verde causada por *Penicillium digitatum* en naranjas. Se ha comprobado que la acción fungicida depende de la cantidad del agente biocida incorporado, así como de la estructura zeolítica utilizada como soporte, ofreciendo mejores resultados las zeolitas de poro grande como la faujasita. Además, se ha demostrado que el uso de zeolitas con plata es mucho más efectivo que el uso de las zeolitas con zinc, aunque, las hidrotalcita Zn/Al con benzoato en su composición presentan una reducción del PD similar a las zeolitas con plata. No obstante, la aplicación de las hidrotalcitas y la aplicación de las zeolitas con altos contenido en plata (intercambios del 100%) generan efectos de fitotoxicidad en la superficie de las naranjas es decir, tintaban la superficie de la naranja donde fueron tratadas, tal y como se puede observar en la Figura 5.59, siendo por ello necesario trabajar con un menor contenido en agente fungicida.



Figura 5.59: Imagen de una de las naranjas tratadas con 4%_FAUAg-2,4_100%, fitotoxicidad

B.- Aplicación de formulaciones comestibles

Tras los estudios iniciales con suspensiones acuosas, se realizaron ensayos incorporando los materiales biocidas en formulaciones comestibles, es decir, en mezclas de compuestos naturales que se suelen emplear para el recubrimiento de alimentos, que consiguen alargar su vida útil y mejorar su aspecto, siendo inocuos para el ser humano.

Los recubrimientos comestibles se formularon combinando hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y cera de abeja (BW) como compuestos principales. De esta forma, el polisacárido (HPMC) actúa como matriz formadora de films y mejora la barrera al intercambio de gases, mientras que el componente lipídico ofrece una barrera al vapor de agua. Además, algunas formulaciones incluyeron goma laca (Shellac), que es una resina natural ampliamente utilizada en los recubrimientos comerciales para cítricos, debido a que aportan brillo a las frutas. A estos ingredientes mayoritarios, se incorporó glicerol y ácido esteárico que actuaron como plastificante y emulsionante respectivamente, mejorando las propiedades mecánicas de los recubrimientos y la estabilidad de las emulsiones. Por último, a esta formulación se adicionó una cantidad determinada de los materiales biocidas, obteniendo distintos recubrimientos comestibles de

5.- MATERIALES BIOCIDAS

los que se evaluó su acción curativa. En todos los casos, la concentración de los distintos ingredientes y el contenido en sólidos de las formulaciones se seleccionó para obtener emulsiones estables y con una viscosidad en el rango de 20-80 cp. La Tabla 5.13 muestra la composición de los distintos recubrimientos utilizados, preparados siguiendo el protocolo descrito por Valencia-Chamorro et al. [180]. Una vez preparados se estudiaron diferentes factores que pueden influir en la actividad fungicida de los mismos.

Tabla 5.13: Composición básica de las formulaciones comestibles (% en peso)

Nombre de la formulación (C)	F-1a	F-1b	F-1c	F-2	F-3	F-4a	F-4b
Compuestos	%	%	%	%	%	%	%
Hydroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	1,2	1,7	1,2	0,9	1,8	3,0	3,0
Cera de abeja (BW)	3,5	3,5	3,5	2,8	4,0	-	1,0
Ácido esteárico	0,7	0,7	0,7	1,1	0,8	-	0,2
Glicerol	0,6	0,7	0,6	0,4	0,7	1,0	1,0
Shellac	-	-	-	2,8	-	-	-
Agua	92	90	93	88	92	94	92
Material biocida	2,0	3,3	1,0	4,0	1,0	2,0	2,0
Contenido en sólidos	8,0	10	7,0	12	8,0	6,0	7,2

- *Efecto del tipo de aplicación*

El primer ensayo consistió en comparar como variaba la actividad fungicida de las zeolitas con plata al aplicarse una gota de la formulación comestible (*edible*) respecto a como funcionaba al aplicarse directamente como gota de la suspensión acuosa en la herida (*acuoso*). Para ello se empleó la formulación F-1a (Tabla 5.13), que contiene un 2% en peso de LTAAg-1, debido a que este compuesto biocida no mostró problemas de

fitotoxicidad en los estudios previos. En la Figura 5.60 aparecen los resultados obtenidos, observándose que se obtienen mejores resultados al aplicar el material biocida incorporado en la formulación comestible directamente sobre la herida que cuando se hace lo mismo pero aplicando una gota de la suspensión acuosa. Esto es así incluso cuando su contenido en agente biocida es menor, y es probablemente debido a la mayor viscosidad de la formulación comestible, que permite que la mayoría de la formulación fungicida se acumule en la oquedad o herida desde la que crecerá el hongo, mientras que la aplicación acuosa eluye por la superficie del fruto, resultando en una aplicación menos concentrada.

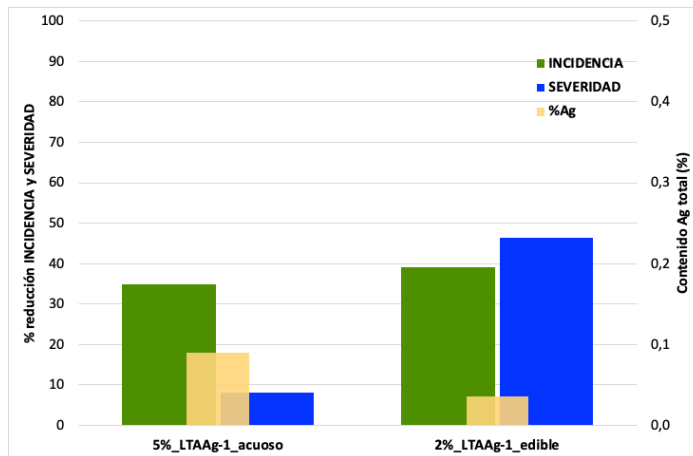


Figura 5.60: Porcentajes de reducción de incidencia y severidad del PD de la aplicación acuosa y de la formulación comestible de LTAAG-1 como gota directa sobre la herida de la naranja y contenido en Ag de cada aplicación.

Por otro lado, se compararon las eficacias fungicidas de la aplicación de formulación comestible cuando se aplicó por dos métodos distintos, por un lado la aplicación directa como gota de la formulación comestible sobre las heridas de los frutos (30 μ L) denominada “drop” y, por otro lado, como recubrimiento manual, empleando 0,3 mL de la formulación comestible denominada “coating” [308]. Los resultados de ambos tipos de aplicaciones

5.- MATERIALES BIOCIDAS

se muestran en la Figura 5.61, mostrando que la aplicación en gota es más efectiva que el recubrimiento manual. Estos resultados se pueden explicar debido a que la aplicación en gota es mucho más directa, concentrada y específica, ya que el material biocida se coloca exclusivamente en la zona de la naranja herida e infectada por el hongo, desde donde comienza el crecimiento o proliferación y por tanto, la acción curativa es más sencilla y directa. En el caso del recubrimiento, la acción es más dispersa ya que la formulación con el agente biocida se dispone por toda la superficie del fruto, y no exclusivamente en la herida.

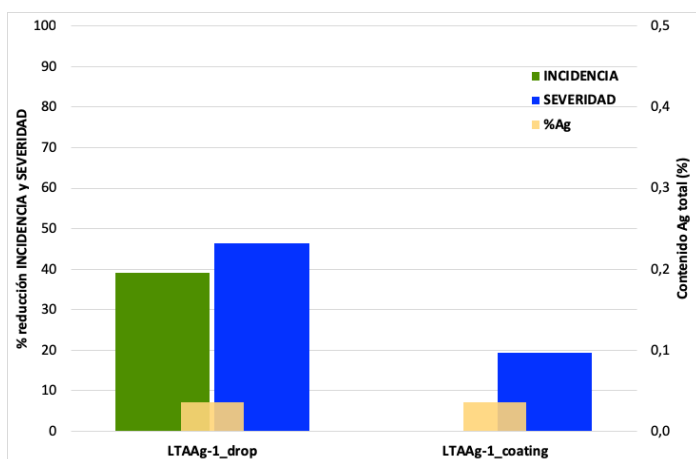


Figura 5.61: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD de las formulaciones comestibles que contienen LTAAG-1 (F-1a) aplicado tanto como gota (drop) como recubrimiento manual (coating)

No obstante, aunque la aplicación directa fue más efectiva, en una aplicación real o industrial se debe optar por la aplicación de la formulación comestible en forma de recubrimiento sobre la superficie de las naranjas, siendo necesario encontrar formulaciones que presenten una mayor actividad fungicida.

- *Efecto de la concentración de zeolita con plata en la formulación comestible*

Para este análisis, se realizó un ensayo donde se estudió la relación entre el contenido de zeolita con plata utilizada en la formulación y la efectividad fungicida. Para ello, se estudiaron los resultados fungicidas de 2 concentraciones distintas de LTAAg-1 (1% y 2%) incorporadas en la formulación comestible (F-1c y F-1a) y aplicadas como recubrimiento manual. Los resultados muestran claramente (Figura 5.62) mejores resultados en cuanto a la reducción de la severidad y la esporulación cuanto mayor es el contenido de LTAAg-1 incorporado en la formulación, de acuerdo con los experimentos *in vitro* realizados previamente.

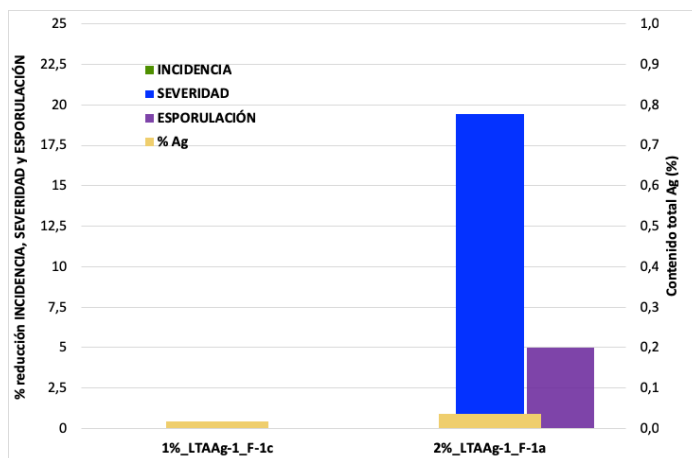


Figura 5.62: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible F-1c (1%), F1a (2%) junto al contenido en Ag de cada aplicación

- *Efecto de la composición de la formulación comestible*

5.- MATERIALES BIOCIDAS

En este punto se analizó como afectaba la modificación de la formulación comestible a la actividad fungicida. En primer lugar, se estudió la influencia de la presencia de goma laca (Shellac) en la composición de la formulación que presenta como agente fungicida la zeolita LTAAg-1. Este nuevo ingrediente confiere a las naranjas un brillo característico y es muy utilizada en la industria hortofrutícola.

En la Figura 5.63 se muestra el resultado obtenido al aplicar la goma laca, revelando que incluso presentando esta formulación (F-2) un mayor contenido de plata, los resultados fungicidas obtenidos son peores. Este hecho se puede explicar, probablemente, debido a que la presencia de goma laca (Shellac) en la composición de la formulación impide la liberación de los cationes Ag^+ al medio donde se encuentra el hongo y por tanto, se puede concluir que la adición de esta goma laca no es un ingrediente aceptable en estas formulaciones debido a que la efectividad fungicida disminuye notablemente.

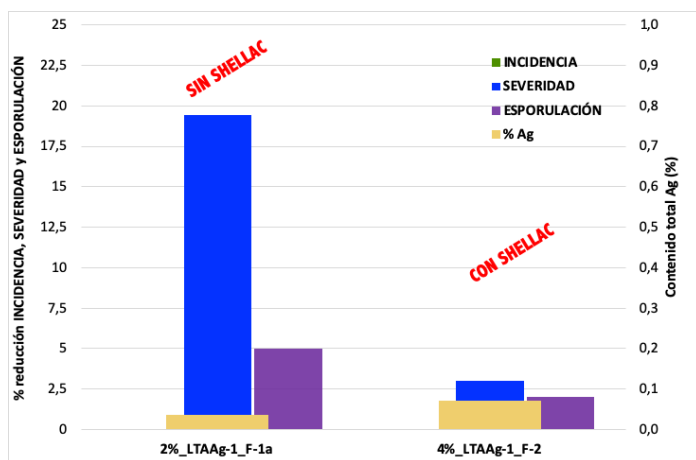


Figura 5.63: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible con goma laca (F-2) y sin (F-1a) junto al contenido en Ag de cada aplicación

Se analizó la influencia de otro de los componentes de la formulación comestible, la cera de abeja (BW). Las formulaciones preparadas se describen en la Tabla 5.13 como F-4a y F-4b presentando ambas un contenido de 2% de material antifúngico (LTAA-1_100%) y diferenciándose entre ellas por la utilización (F-4b) o no (F-4a) de la cera.

La Figura 5.64 muestra los resultados de estos análisis, mostrando que aunque disminuye un poco la incidencia en la formulación con cera de abeja, las diferencias no son significativas entre la incorporación o no de cera de abeja en la composición de las formulaciones comestibles, al contrario de lo que ocurría cuando se aplicaba goma laca en las formulaciones. Por ello, se puede concluir que la incorporación de la cera de abeja es un ingrediente aceptable para su utilización en los recubrimientos, ya que no influye en la acción fungicida de las zeolitas con plata, y consigue mejoras en el recubrimiento como un mejor aspecto visual y una barrera frente al vapor de agua.

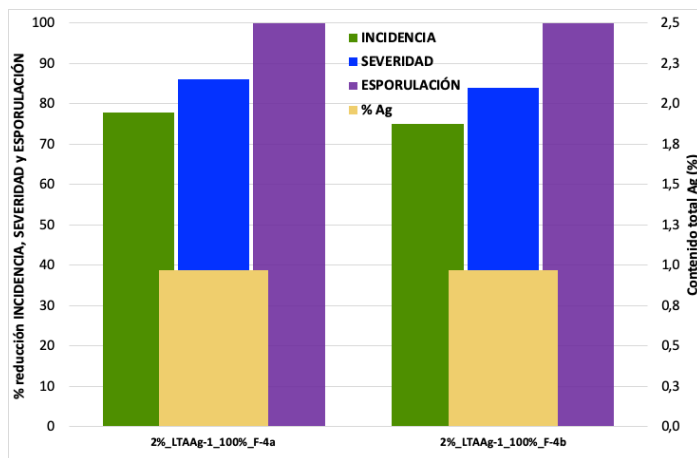


Figura 5.64: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible sin cera de abeja (F-4a) y con cera de abeja (F-4b) basados en LTAAg-1_100% junto al contenido en Ag de cada aplicación

5.- MATERIALES BIOCIDAS

- *Efecto de la zeolita utilizada*

Se comparó la actividad fungicida de la zeolita LTA con plata con la actividad de la zeolita FAU con plata aplicadas en formulaciones comestibles. Para ello, se empleó una nueva formulación, F-1b, cuya composición es similar a la de la formulación F-1a, pero empleando 3,3% de FAUAg-2,4 como agente biocida, de forma que ambas formulaciones comestibles contenían la misma cantidad de plata total (0,04% en peso de Ag).

La Figura 5.65 muestra los resultados obtenidos tanto al aplicarse las formulaciones como gota directa (drop) o como recubrimiento (coating). Como se ha discutido anteriormente, los resultados demuestran que en ambos casos la actividad fungicida es mayor cuando se aplica como gota directa (drop), independientemente cual sea la formulación y la zeolita con plata aplicada. Sin embargo, comparando la actividad antifúngica de ambas zeolitas con plata, ésta es bastante mayor cuando se emplea la zeolita de poro grande, es decir, la formulación con FAUAg-2,4, independientemente del tipo de aplicación llevada a cabo. Este mejor funcionamiento de la faujasita, cuando ambas presentan contenidos de plata en la formulación muy similares, está de acuerdo con todos los resultados anteriores, en los que se ha visto que el uso de una zeolita con estructura de poro grande y en definitiva, más abierta, presenta mejor actividad biocida debido, probablemente, a la mayor facilidad de movimiento y liberación de los iones Ag^+ al medio, donde ejercen su actividad biocida. La Figura 5.66 muestra las imágenes de las naranjas tras el ensayo realizado.

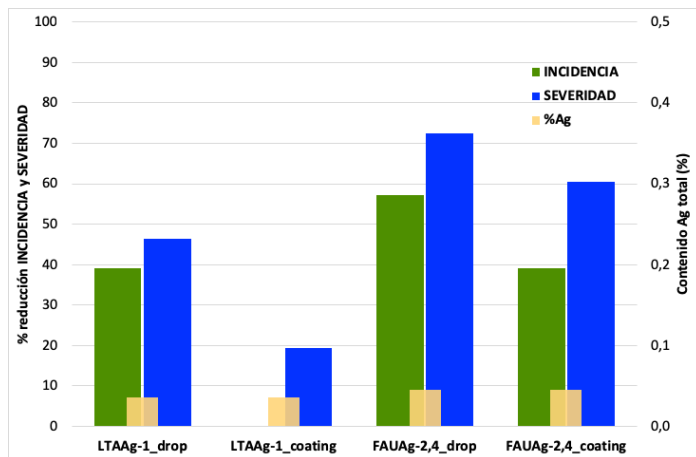


Figura 5.65: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD de las formulaciones que contienen LTAAG-1 (F-1a) y FAUAg-2,4 (F-1b) aplicadas tanto como gota (drop) como recubrimiento manual (coating).



Figura 5.66: Imagen de las naranjas tratadas con 3,3% FAUAg-2,4 mediante aplicación de recubrimiento manual (F-1b)

Finalmente, cabe resaltar que ninguno de estos últimos tratamientos presentó efectos fitotóxicos importantes en la superficie de las naranjas tratadas (Figura 5.66 y Figura 5.67). Además, y tras los 7 días de incubación, los parámetros de calidad de las naranjas como la pérdida de peso o la pérdida de firmeza en la piel, fueron inapreciables y por tanto, cumplían su objetivo manteniendo las propiedades organolépticas de las naranjas.

5.- MATERIALES BIOCIDAS



Figura 5.67: Imágenes naranjas: A-sin recubrimiento, B-recubiertas sin agente fungicida, C-recubrimiento con FAUAg-2,4, tras el secado del recubrimiento

- *Efecto de la relación Si/Al*

Se estudió también la influencia de la relación Si/Al de las zeolitas con plata aplicadas en formulaciones comestibles. Para ello, se compararon los resultados fungicidas de dos zeolitas faujasita, una de relación Si/Al = 2,4 (FAUAg-2,4_F-1c) y otra de relación Si/Al = 6 (FAUAg-6_F-3), ambas con Ag⁺ y Na⁺ como cationes de compensación, en formulaciones muy similares.

Los resultados antifúngicos obtenidos muestran de nuevo una mejor actividad antifúngica cuando la relación Si/Al es próxima a 2. Así, se puede afirmar que tal y como se había observado en los estudios *in vivo* previos, esta variable influye en la acción antifúngica, siendo ligeramente más activos los materiales con relación Si/Al cercana a dos, tal y como ya se había observado en el resto de análisis microbiológicos frente a estos y otros microorganismos patógenos.

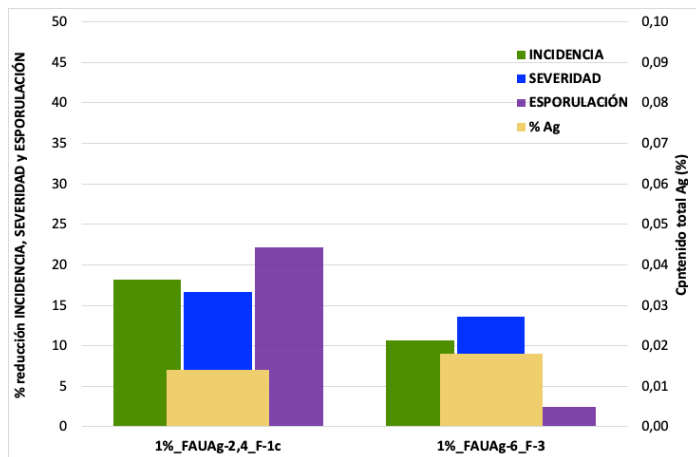


Figura 5.68: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con 1% de material fungicida basado en Ag-FAU con distinta relación Si/Al (2,4 y 6) y similar contenido en Ag (2% wt.)

- *Aplicación de las formulaciones optimizadas*

Teniendo en cuenta todos los estudios anteriores, se estableció que la zeolita faujasita de relación Si/Al cercana a 2 a la óptima para ser usada en las formulaciones comestibles aplicadas como recubrimiento manual sobre naranjas. Por ello, se prepararon recubrimientos que contenían la formulación optimizada F-5 (Tabla 5.14) con un contenido menor del material fungicida para conseguir una concentración de plata total de 0,01%. Este valor se escogió pues, aunque no existe legislación específica sobre este tipo de aplicaciones en recubrimientos directos sobre fruta, si que existe legislación sobre la cantidad de plata en contacto con alimentos (envases) que es de 0,05 mg de Ag por Kg de alimento. El valor escogido de zeolita con plata supondría que cada fruto contuviese 0,03 mg de Ag por Kg de fruta, valor que se encontraría por debajo del límite anterior [251]. La cantidad de plata deseada (0,01%) se consiguió variando la cantidad de

5.- MATERIALES BIOCIDAS

zeolita con plata aplicada o variando el contenido de plata de las zeolitas empleadas. Además, se empleó como referencia para su comparación una formulación similar basada en AgNO_3 .

Tabla 5.14: Composición básica de las formulaciones comestibles (% en peso)

Nombre de la formulación (C)	F-5		
	AgNO_3	FAUAg-2,4 (20%wt)	FAUAg-2,4 (2% Ag)
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	3,0	3,0	3,0
Cera de abeja (BW)	1,0	1,0	1,0
Ácido esteárico	0,2	0,2	0,2
Glicerol	1,0	1,0	1,0
Agua	94,8	94,7	94,0
Material biocida	0,015	0,05	0,8
Contenido en sólidos	5,216	5,25	6,0

Los resultados obtenidos se representan en la Figura 5.69, observándose la siguiente tendencia en eficacia: FAUAg-2,4_20%wt. > FAUAg-2,4 ~ AgNO_3 . La mayor efectividad obtenida empleando la zeolita faujasita con alto contenido en plata es debida, probablemente, a una liberación mayor de los cationes Ag^+ y a una mayor dispersión de esta zeolita con plata en la formulación, ya que al usar una zeolita con mayor contenido en plata es posible usar una cantidad menor de la misma en la formulación y conseguir así que ésta esté más dispersa. Estos dos factores parecen mejorar la efectividad del tratamiento, consiguiendo una inhibición del crecimiento del hongo en la superficie de las naranjas. Por otro lado, la FAUAg-2,4 y la plata dispuesta sin ningún soporte (AgNO_3) presentan actividades fungicidas similares pero peores que la zeolita FAUAg-2,4_20%wt. Esto puede deberse a que la sal de plata (sin *carrier* que pueda actuar como reservorio) se libera inmediatamente, presentando al principio una elevada eficacia antifúngica pero que desaparece

rápida, permitiendo el crecimiento del hongo durante 8 días. En el caso de la FAUAg-2,4 con 2% en peso de plata (con *carrier* pero con bajo contenido en plata en zeolita) el problema sería el contrario, es decir, la lenta liberación de la plata debido al bajo contenido en plata, permite que el *Penicillium* crezca, aunque siempre a menor velocidad que en un control, siendo pues menos efectiva. Por último, en la aplicación de la zeolita FAUAg-2,4_20%wt. la actividad fungicida es mayor y permanece durante más tiempo, alcanzándose un óptimo en la velocidad de liberación de plata, que permite una actuación más prolongada en el tiempo

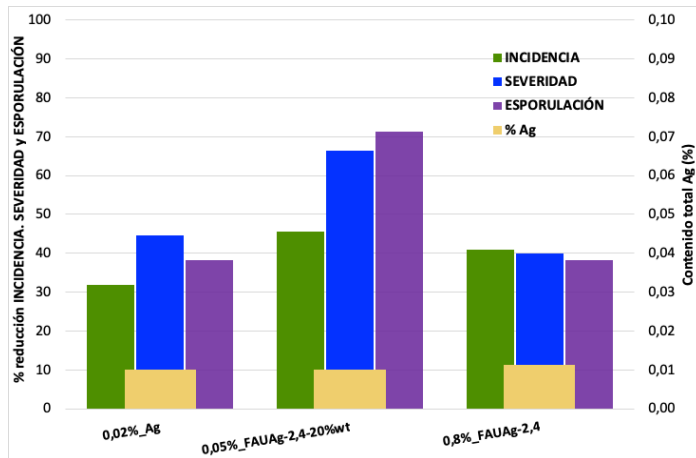


Figura 5.69: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible F-5 con los mismos contenidos totales de Ag ($AgNO_3$, FAUAg-2,4 y FAUAg-2,4_20%)

Los resultados de este estudio permiten así asegurar que la formulación F-5 es una de las más adecuadas para la aplicación de las zeolitas con plata como tratamientos poscosecha con capacidades fungicidas para el control de PD en naranjas infectadas. Además se comprueba que, todos estos tratamientos no presentaron problemas de fitotoxicidad, sin observarse ninguna modificación de la superficie de las naranjas tratadas. De igual manera, la pérdida de peso de los frutos tratados tras ocho días de

5.- MATERIALES BIOCIDAS

incubación fue inapreciable, al igual que no se vio alterada la firmeza de la piel de los frutos y por tanto, se mantuvieron estables las propiedades intrínsecas de los frutos, alargando su vida útil.

En resumen, se ha comprobado que las zeolitas con plata pueden ser buenos materiales antifúngicos para ser utilizados en tratamiento poscosecha, tanto en su aplicación directa sobre heridas en naranjas, como en una aplicación más real como recubrimientos de la superficie de las naranjas. Se comprobó que, cuanto mayor es el contenido en plata de las distintas formulaciones, mejores resultados antifúngicos se obtienen, aunque otras características como las estructuras zeolíticas y la relación Si/Al también influyen. Así, la formulación con faujasita demostró ser la más eficaz debido probablemente a que la estructura de poro grande de la zeolita, permite una mayor facilidad en la liberación de los iones Ag^+ . Además, la relación Si/Al de la zeolita cercana a 2 parece ser la más efectiva, igual que ocurría en los ensayos bactericidas, siendo la zeolita FAUAg-2,4 la que mejores resultados ofreció. Esto abre una puerta hacia la aplicación real de estos materiales en recubrimientos alimenticios para cítricos, ya que además de presentar una acción fungicida, la aplicación de este recubrimiento no afectaba a otros factores de calidad de estos frutos como la pérdida de peso, el color o la firmeza entre otros.

C.- Análisis microscópico de los recubrimientos en naranjas

Junto al estudio biocida, se realizó un estudio de caracterización de uno de los recubrimientos comestibles aplicados sobre las naranjas. Este estudio se realizó empleando el microscopio electrónico de barrido con criogenización (CrioSEM).

Para ello, se utilizó la zeolita LTAAg-1_100%, debido a su mayor contenido en plata, incorporada al 2% en una formulación comestible cuya composición se define en la Tabla 5.13 según F-4b. Estas formulaciones fueron incorporadas en naranjas mediante recubrimiento manual en frutos que habían sido previamente heridos, pero sin incorporar el hongo. Tanto las zonas sanas de la superficie de las naranjas, como las zonas donde existían heridas fueron seccionadas con ayuda de un bisturí, intentando tomar solamente corteza del fruto, es decir, sin profundizar en el cuerpo de la naranja (Figura 5.70). Una vez conseguidas las muestras, éstas fueron depositadas adecuadamente en el portamuestras del microscopio y posteriormente, introducidas en N₂ líquido para su criogenización (Figura 5.71), impidiendo así una alteración de las mismas durante el estudio.



Figura 5.70: Toma de muestras de naranjas tratadas para el estudio CrioSEM

5.- MATERIALES BIOCIDAS

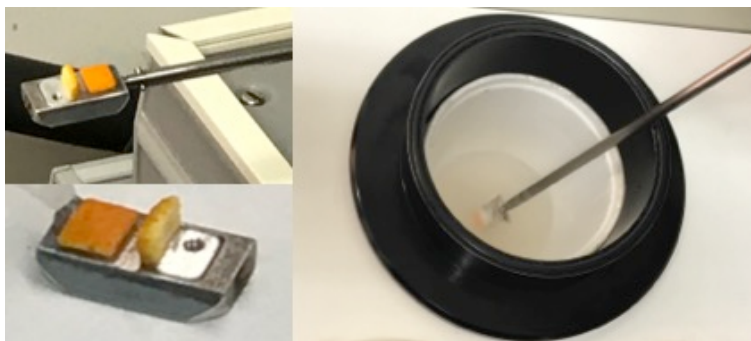


Figura 5.71: Colocación y criogenización de muestras de naranjas tratadas para CryoSEM

Una vez las muestras estuvieron listas, se introdujeron en el microscopio donde fueron recubiertas con carbono para incrementar la conductividad de la muestra y poder obtener mejores resultados. Finalmente, tras 30 minutos en una pre-cámara donde se eliminó el agua de la superficie mediante vacío, las muestras fueron analizadas mediante el microscopio de barrido utilizando tanto el detector de electrones secundarios para observar la morfología de las muestras, como el detector de electrones retrodispersados para observar por diferencia de contraste la presencia de elementos más pesados como Si, Al y Ag.

Las imágenes tomadas en la zona sana de la naranja empleando el detector de electrones secundarios aparece en la Figura 5.72-izq. En ella se observa una especie de recubrimiento en forma de escamas, debido seguramente a la criogenización de la muestra que rompe el recubrimiento comestible aplicado. Además, aparecen ciertas partículas con un contraste mayor, que gracias a la imagen obtenida con el detector de electrones retrodispersados (Figura 5.72-dcha), se consiguen ver de forma más clara. Estas partículas se atribuyen a la zeolita, es decir, partículas de LTAAg-1_100% incorporada en la formulación aplicada. Imágenes a mayores aumentos (Figura 5.73) permiten corroborar estas hipótesis, observándose claramente las partículas de LTAAg-1_100%. Estas

observaciones evidencian la presencia y estabilidad del material biocida en el recubrimiento comestible aplicado.

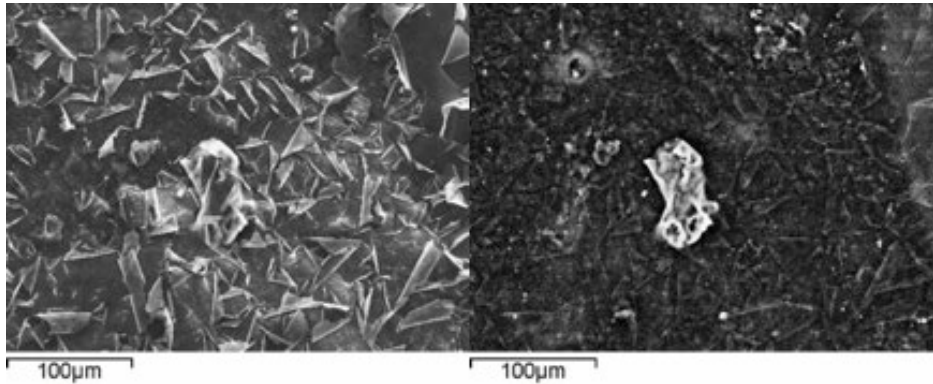


Figura 5.72: Imágenes CryoSEM (x350) de la superficie sana de naranjas recubiertas mediante el detector de electrones secundarios (izq.) y el detector de electrones retrodispersados (dcha.)

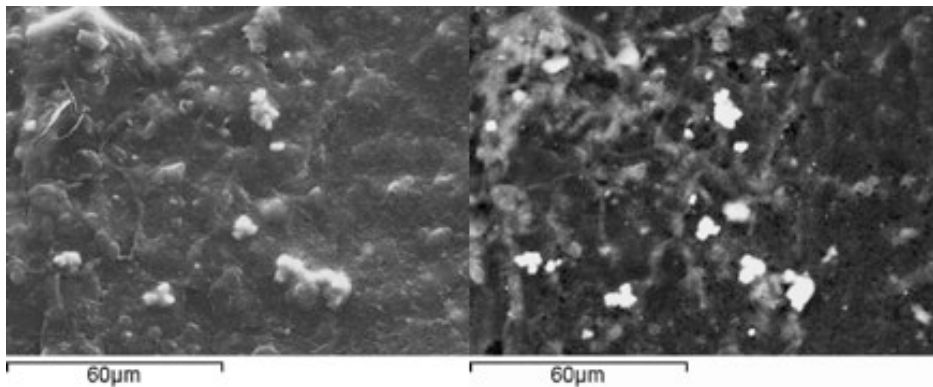


Figura 5.73: Imágenes CryoSEM (x1000) de la superficie sana de naranjas recubiertas mediante el detector de electrones secundarios (izq.) y el detector de electrones retrodispersados (dcha.)

Una vez estudiadas las zonas sanas de la superficie de la naranja, se realizó un estudio sobre la herida creada en la superficie de la fruta. Para ello, la muestra seccionada fue colocada de forma transversal al haz de electrones para poder observar las paredes de la herida. Como se aprecia en la Figura 5.74, las diferencias en la estructura de la zona sana y la zona herida son muy evidentes, perdiéndose en este último caso la morfología y

5.- MATERIALES BIOCIDAS

evidenciando la hendidura o herida realizada. Por otro lado, tomando imágenes de la sección transversal de la zona herida y de la zona sana (Figura 5.75), se identifican fácilmente las partículas de LTAAg-1_100% en la hendidura de la herida, mientras que en la zona sana aparecen exclusivamente en la superficie de la naranja. Al no atravesar la piel de la naranja, las zeolitas no modifican las propiedades organolépticas del alimento, actuando el recubrimiento como una capa protectora de su superficie.

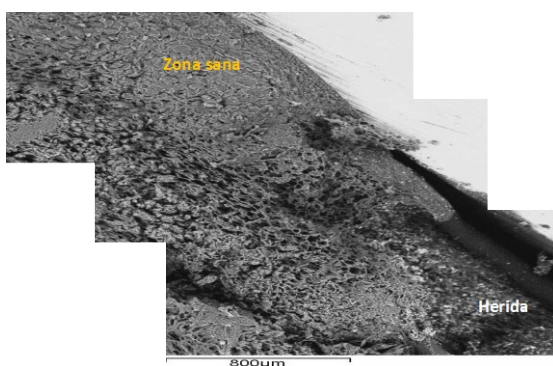


Figura 5.74: Montaje de distintas imágenes tomadas de forma continua con el detector de electrones secundarios (x75), apreciando la zona sana y la zona herida de la sección transversal de la fruta

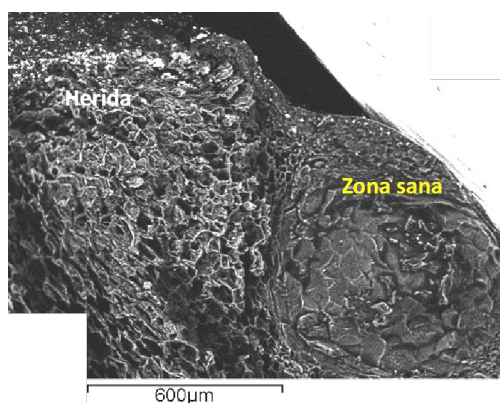


Figura 5.75: Montaje de distintas imágenes tomadas de forma continua con el detector de electrones retrodispersados (x100), donde se puede apreciar la zona sana y la zona herida de la sección transversal de la fruta

Además, empleando el detector de electrones retrodispersados se tomaron diferentes imágenes cada vez a mayores aumentos de la zona herida (Figura 5.76), donde se observó claramente que las partículas de LTAAg-1_100% se encuentran más concentradas en la zona herida, lo que facilitará la acción frente al hongo cuando dicha herida esté infectada por el patógeno. Esta mayor concentración es debido probablemente a la perforación generada por el punzón al realizar la herida en las naranjas y que crea, por tanto, un espacio vacío donde se deposita una mayor cantidad de recubrimiento. Por otro lado, tampoco hay que descartar que se produzca una migración de la plata hacia esta zona, debido a la afinidad de los cationes Ag^+ con los compuestos orgánicos del interior de la naranja.

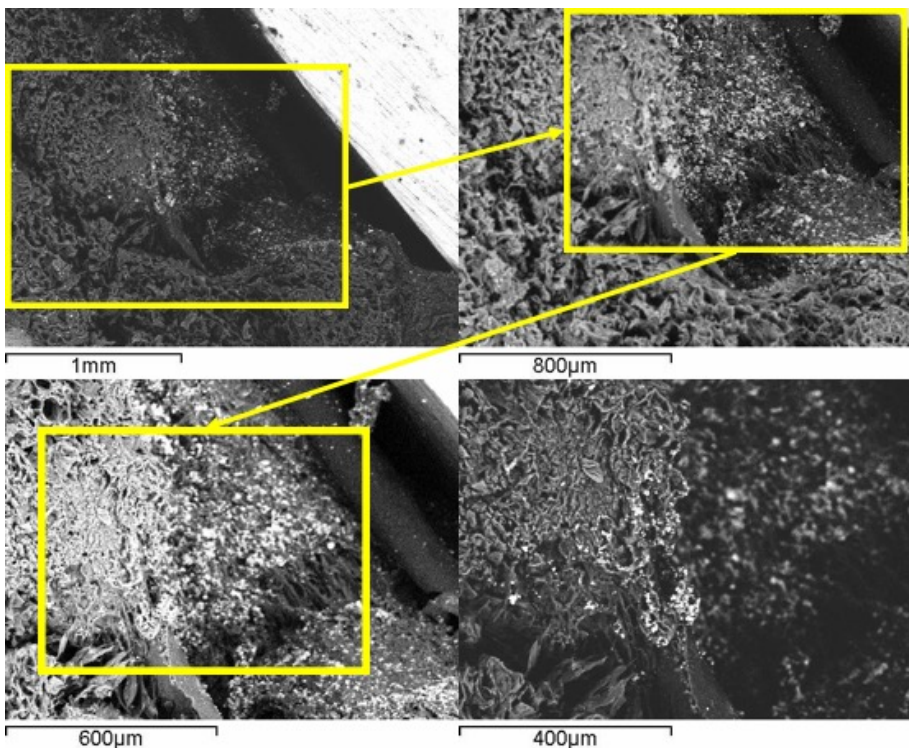


Figura 5.76: Imágenes CrioSEM a distintos aumentos de la sección transversal de la herida

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Un segundo estudio de las mismas muestras se realizó en el microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM). Para poder realizar dichas medidas, se tomaron las secciones de la superficie de las naranjas de la misma forma que en el CrioSEM, pero éstas fueron deshidratadas durante 7 días en un horno a 65 °C, seguido de un tratamiento a vacío para conseguir una deshidratación completa de las muestras (Figura 5.77), evitando la criogenización.

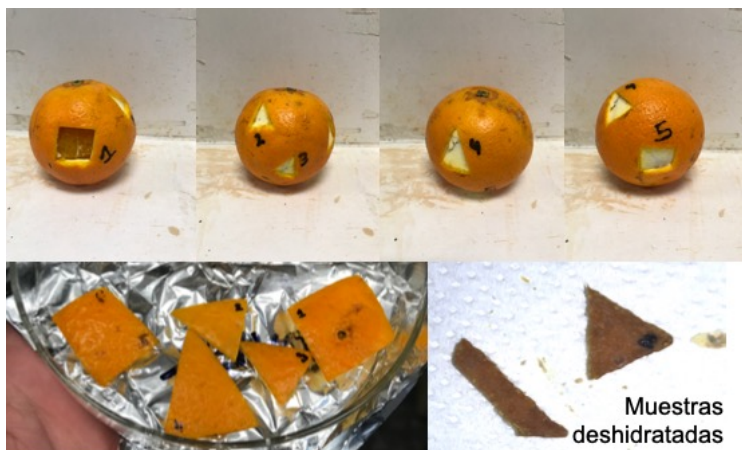


Figura 5.77: Preparación de muestras de naranjas tratadas para el estudio de FESEM, por deshidratación

Una vez listas las muestras, se observó la morfología de la superficie de una de las zonas sanas. La Figura 5.78-izq. muestra dicha zona, donde se puede identificar claramente el recubrimiento, tal y como se había observado en los análisis de CrioSEM, pero sin la escamación del mismo. Se identifican también partículas del material zeolítico incorporado en la formulación comestible, que fueron claramente visibles en imágenes a mayores aumentos, como se observa en la Figura 5.78-dcha.

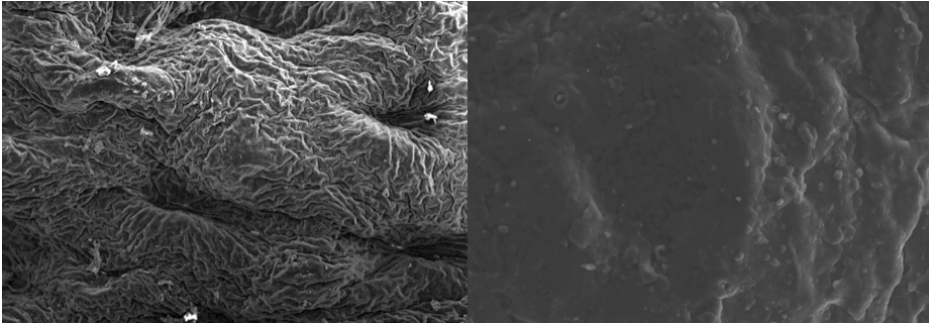


Figura 5.78: Imagen FESEM de zona sana de la superficie de la naranja (x 56 izq. y x300 dcha)

De igual modo, se realizaron estudios similares en la zona herida. Las imágenes obtenidas a diferentes aumentos permitieron observar la presencia de partículas de LTAAg-1_100% tanto en la propia herida como en las inmediaciones, evidenciando la presencia de material antifúngico en toda la superficie de la naranja. Las imágenes a mayores aumentos presentadas en la Figura 5.79, muestran claramente partículas con morfología cúbica, típicas de LTA, e incluso, en las imágenes a elevados aumentos, se pueden observar zonas muy pequeñas con mayor contraste (brillantes), atribuibles a partículas de plata liberadas desde la zeolita hacia el seno de la formulación comestible y que serían las responsables de controlar el patógeno si hubiese sido inoculado en dichas heridas.

5.- MATERIALES BIOCIDAS

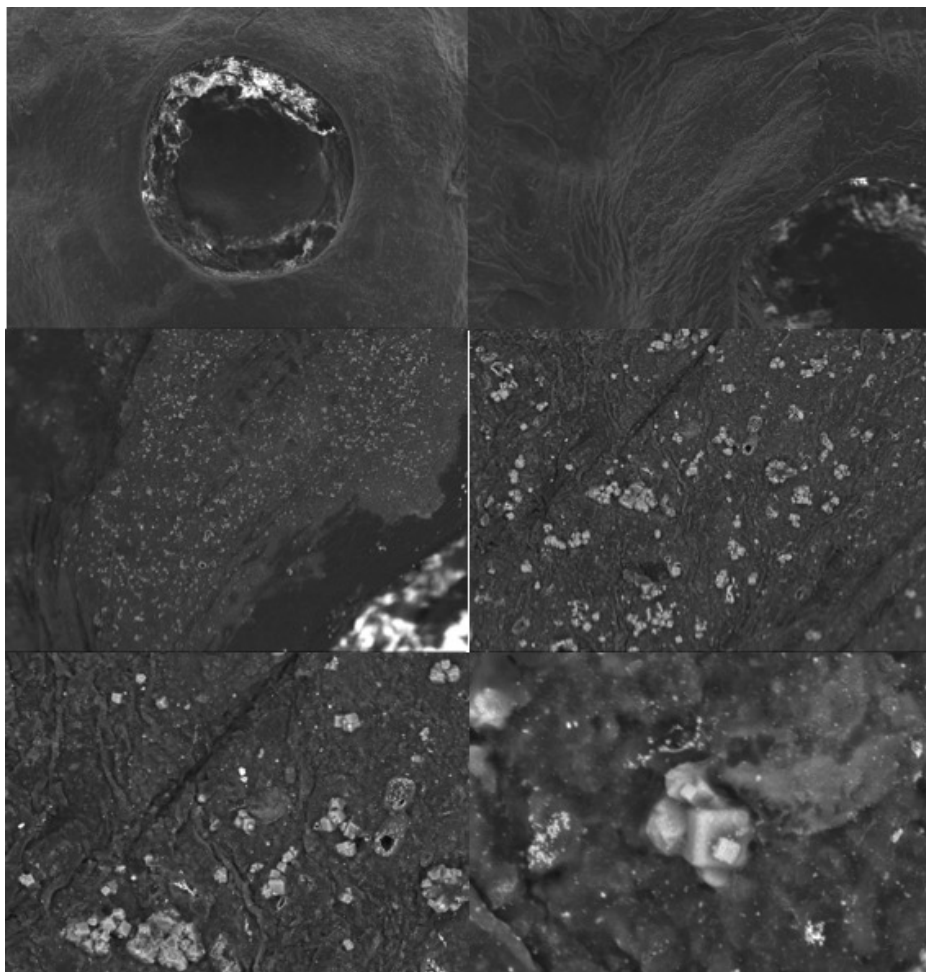


Figura 5.79: Imágenes FESEM a distintos aumentos de las inmediaciones y la propia herida de la superficie de una naranja tratada (en orden x35, x75, x100, x500, x1000 y x5000)

Así pues, se puede afirmar que los recubrimientos comestibles con zeolitas con plata aplicados en las naranjas muestran una buena distribución de las partículas del agente biocida por toda su superficie. Además, se pudieron observar diferencias claras entre la morfología de la zona herida y las zonas sanas de la naranja, consiguiéndose distinguir también la morfología típica de la zeolita empleada. Además, se ha comprobado la presencia de plata fuera de la zeolita, evidenciando su

liberación hacia el medio desde la matriz zeolítica, explicando los efectos fungicidas observados en los ensayos microbiológicos.

5.2.2.2. Estudios fungicidas en ciruelas

Una vez demostrada la efectividad de las distintas Ag-zeolitas frente al *Penicillium digitatum* en naranjas, se realizó una evaluación *in vivo* de la actividad de estos materiales como ingredientes en recubrimientos comestibles contra la podredumbre marrón causada por la *Monilinia fructicola* (MF), el hongo patógeno que más problemas causa en ciruelas. El hongo MF ataca a diferentes frutos de hueso como ciruelas, albaricoques o melocotones (Figura 5.80), generando una pudrición blanda y acuosa de color pardo y con abundante esporulación, que produce el momificado de los frutos afectados por este hongo [400].



Figura 5.80: Imágenes de frutas afectadas por la podredumbre marrón causada por MF
(Fuente: CAB International, 2010)

Los ensayos se llevaron a cabo en ciruelas artificialmente inoculadas mediante la creación de una herida con un punzón sumergido previamente en una suspensión del patógeno de 10^3 esporas·mL⁻¹. Transcurridas 24 horas tras la inoculación del hongo (Figura 5.81), se llevaron a cabo los diferentes tratamientos poscosecha y se evaluó la capacidad para controlar

5.- MATERIALES BIOCIDAS

la infección tras 10 días de incubación de los frutos, tratados a 20 °C y 90% de humedad relativa.



Figura 5.81: Fotografías de la inoculación del hongo MF en ciruelas

En estos experimentos siempre se ha trabajado con un 3% de las zeolitas con plata.

A.- Aplicación acuosa

Los primeros ensayos en ciruelas se llevaron a cabo mediante la aplicación de una gota de 30 μL de una suspensión acuosa al 3% de las zeolitas con plata estudiadas sobre la herida infectada.

La Figura 5.82 muestra los resultados obtenidos con las dos zeolitas comerciales que contenían aproximadamente un 2% en peso de plata, aplicadas a una concentración del 3% en el tratamiento. Como se observa, la faujasita presenta reducciones superiores de los tres factores analizados, incluso presentando una concentración final de plata menor. De nuevo, la zeolita con tamaño de poro grande (faujasita) presenta mejores resultados, debido a que facilita la movilidad y liberación de la plata al medio, confirmando que el soporte influye en la actividad fungicida. Además, como en casos anteriores, las zeolitas sin plata no presentaron una actividad fungicida remarcable, demostrando que es la presencia y actuación de los cationes Ag^+ el verdadero agente antifúngico.

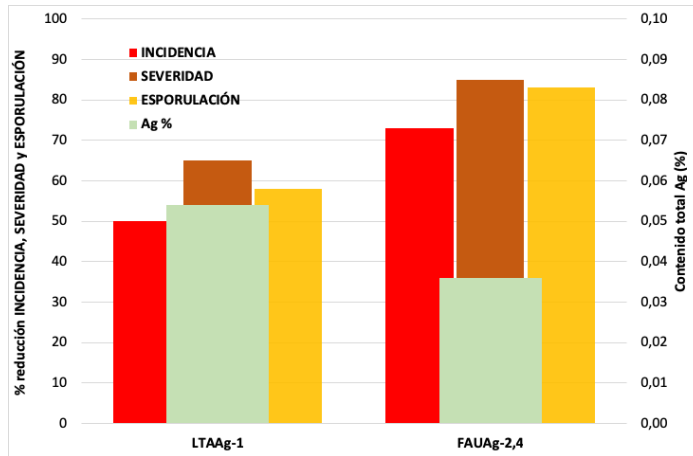


Figura 5.82: Porcentajes de reducción de incidencia, severidad y esporulación del tratamiento en forma de gota directa de la suspensión acuosa de LTAAg-1 y FAUAg-2,4, junto con el contenido en Ag

B.- Aplicación de formulación comestible

Siguiendo el mismo procedimiento que en el estudio con naranjas, se prepararon distintas formulaciones comestibles que contenían un 3% en peso de las zeolitas con plata.

Los estudios realizados emplearon las dos zeolitas (LTAAg-1 y FAUAg-2,4) con contenidos en plata muy similares (cerca de 2% en peso) y en dos formulaciones distintas, que se diferencian en el contenido total de sólidos utilizados en los recubrimientos preparados, como se puede observar en la Tabla 5.15.

Tabla 5.15: Composición de las formulaciones comestibles (% en peso)

Nombre de la formulación (C)	C-6	C-10
Compuestos / Mat. fungicida	%	%
Hydroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	1,17	3,5
Cera de abeja (BW)	1,2	2,0

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Ácido esteárico	0,2	0,4
Glicerol	0,4	1,2
Agua	94	90
Material biocida	3,0	3,0
Contenido en sólidos	6	10

Los resultados de los diferentes tratamientos se resumen en la Figura 5.83. La primera idea que podemos extraer de los resultados obtenidos es que, un mayor contenido en sólidos en la formulación mejora la eficacia del tratamiento. Esto puede ser debido a la mayor viscosidad de estas formulaciones, que consiguen que la gota aplicada en la herida del fruto no se extienda hacia la superficie adyacente, si no que se concentre en la herida con una actividad más directa, debido a su mayor viscosidad. En segundo lugar, se observó que los tratamientos donde se empleó FAUAg-2,4 fueron más efectivos que aquellos en los que se aplicó LTAAg-1, tal y como ya se observó en el tratamiento mediante gota acuosa. Finalmente, si se comparan estos resultados con los obtenidos en la aplicación directa de gota acuosa, la aplicación de la formulación comestible en forma de gota parece ser menos efectiva, lo que difiere del resultado obtenido en los experimentos realizados en naranjas, y que puede estar relacionado con la distinta estructura de la superficie del fruto o incluso, la diferente actuación frente a los distintos hongos.

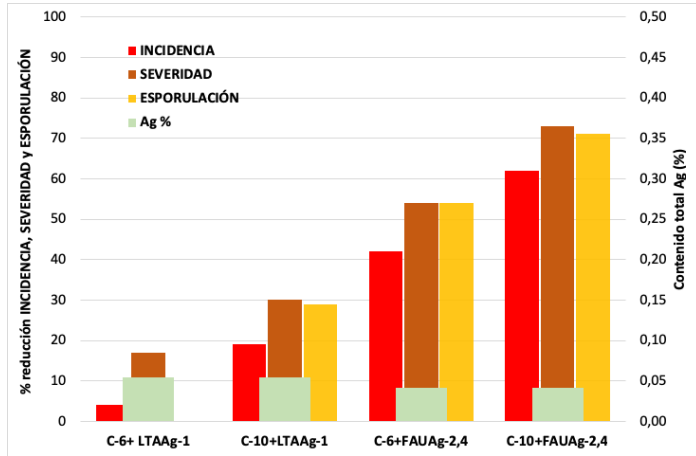


Figura 5.83: Porcentajes de reducción de incidencia, severidad y esporulación del tratamiento en forma de gota directa de distintas formulaciones comestibles basadas en 3% de LTAAg-1 y FAUAg-2,4, junto al contenido en Ag

Se realizó también la aplicación de estas formulaciones comestibles como recubrimiento manual sobre la superficie de las ciruelas, empleando 0,3 mL de la formulación para cada fruto. Los resultados se describen en la Figura 5.84.

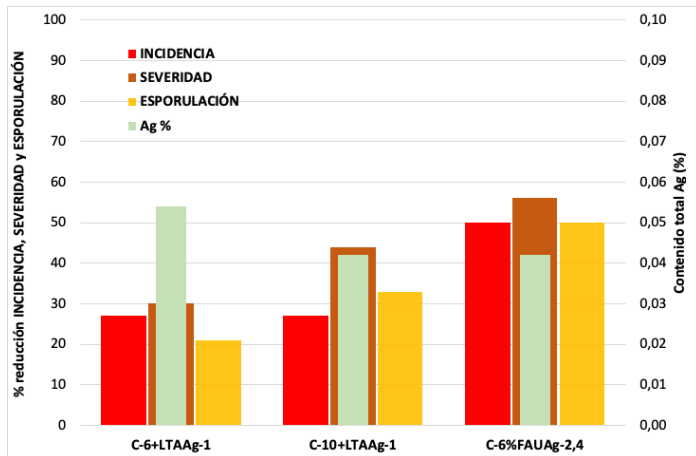


Figura 5.84: Porcentajes de reducción de incidencia, severidad y esporulación del tratamiento en forma de recubrimiento manual de distintas formulaciones comestibles basadas en 3% de LTAAg-1 y FAUAg-2,4, junto al contenido en Ag

5.- MATERIALES BIOCIDAS

Como cabe esperar, la efectividad del tratamiento sobre todo el fruto (recubrimiento) es menor que la conseguida al aplicar la formulación de forma directa sobre la herida con el hongo (gota), siendo los tratamientos más efectivos los que presentaban FAUAg-2,4 en su composición y una formulación con un mayor contenido de sólidos.

Por último, se llevó a cabo un estudio de calidad de los frutos tras todos los tratamientos poscosecha anteriormente explicados. Dichos estudios de calidad consistieron en el análisis de algunos de los factores más importantes en la calidad de las ciruelas como son: pérdida de peso, firmeza de la piel, color externo y sabor del fruto (evaluación sensorial). El estudio de estos factores no mostró diferencias significativas en cuanto al peso de las ciruelas tratadas, ni en su color, siendo el sabor global de todas las ciruelas tratadas satisfactorio. La firmeza de los frutos se vio algo mermada en los tratamientos con las formulaciones con un menor contenido de sólidos (C-6), mientras que los tratamientos con la formulación de mayor contenido en sólidos (C-10), mantuvieron la firmeza de la piel de las ciruelas. La Figura 5.85 muestra fotografías de ciruelas tras 10 días de incubación sin ser tratadas y de ciruelas tratadas con C-10+FAUAg-2,4 tras el mismo tiempo, ambas infectadas con MF. En ellas se puede observar que las muestras no tratadas presentan la podredumbre marrón, evidenciando el crecimiento del patógeno, y la pérdida de color y firmeza en la superficie de la ciruela, factores decisivos en la calidad de la fruta. Por contra, las ciruelas tratadas con el agente fungicida, no muestran el moho pardo y mantienen un aspecto saludable.



Figura 5.85: Fotografías de las ciruelas sin tratar (arriba) y con el tratamiento C-10+FAUAg-2,4 aplicado como recubrimiento manual (abajo)

Por todo ello, se puede decir que el tratamiento más efectivo como recubrimiento total del fruto (aplicación real) es el nombrado como C-10+FAUAg-2,4 con buenas propiedades fungicidas contra el hongo MF y manteniendo casi intactos los distintos apartados de calidad que debe cumplir una ciruela para su buena conservación y posterior consumo.

En general, se ha observado que la aplicación de zeolitas con plata como aditivo fungicida para tratamientos poscosecha contra *Monilinia fructicola* en ciruelas es una opción eficaz para el control de dicho hongo, y que podría plantearse como aplicación real en la industria de tratamientos poscosecha.

6. CONCLUSIONES

“Ciencia es desechar una bonita teoría por un asqueroso hecho”
THOMAS HENRY HUXLEY

El análisis de los resultados obtenidos y descritos en la presente tesis permite establecer las siguientes conclusiones, referidas a los dos principales objetivos postulados:

⇒ Respecto al primer objetivo establecido, concretamente, la eliminación de bromatos en agua mediante su hidrogenación catalítica se puede afirmar que:

- Es posible eliminar los aniones bromatos disueltos en aguas mediante el método de reducción catalítica empleando hidrógeno como agente reductor y utilizando catalizadores basados en un metal noble como el Pd.
- La caracterización de los catalizadores en las diferentes fases de preparación confirma que las especies activas se forman tras la reducción del catalizador, siendo el Pd(0) la especie catalíticamente activa que permite la reducción de los bromatos a bromuros en presencia de H₂ trabajando a temperatura ambiente y presión atmosférica. En todos los casos estudiados la selectividad de la reacción fue total, transformándose todos los bromatos en bromuros, sin apreciar productos secundarios.
- Los estudios llevados a cabo con diferentes catalizadores basados en Pd sobre Al₂O₃ han demostrado que a partir de 4 nm, el aumento del tamaño de partícula de Pd mejora la actividad catalítica de la reacción. Esto es debido a que las partículas grandes de Pd favorecen la formación de las especies β-PdH, mejorando la etapa de disociación del H₂ y facilitando la reducción de los aniones bromatos a bromuros. Para catalizadores con tamaño de partícula de Pd similar o tamaño de partícula bajo (inferior a 4 nm), la principal característica que determina su actividad es la dispersión,

6.- CONCLUSIONES

obteniéndose mejores resultados cuanto mayor es ésta. Los estudios realizados determinan que el tamaño de partícula depende del soportes utilizado, de la cantidad de Pd incorporado y del precursor de Pd seleccionado, siendo el PdCl₂ el precursor que proporciona los mejores resultados.

- Las fibras de carbón activo (ACF) con contenidos de Pd bajos (1 a 0,25% en peso de Pd) también presentan una buena actividad catalítica en esta reacción, aunque esta es menor que la de los catalizadores soportados sobre alúmina. Sin embargo, debido a sus características físicas, las fibras serían el soporte idóneo para un escalado a sistemas en continuo. Se ha comprobado que con este tipo de catalizadores la velocidad de reacción es dependiente de la concentración de los dos reactivos de la reacción de estudio, H₂ y BrO₃⁻.
 - La reutilización directa de todos los catalizadores estudiados es factible, sin apreciar pérdidas importantes en su actividad catalítica y sin modificarse sus propiedades físico-químicas.
 - Los resultados muestran que, el catalizador que presenta mayor actividad por mol de Pd accesible es el que contiene un 7% de Pd y esta soportado sobre alúmina, preparado con PdCl₂ como sal precursora. Sin embargo, para un uso comercial sería mucho más conveniente el uso del catalizador 1%Pd/Al₂O₃ preparado con la misma sal de Pd, ya que su actividad por mol total de Pd es mayor, debido a que en este caso el Pd se encuentra mucho más disperso.
- ⇒ En cuanto al segundo objetivo establecido en esta tesis, la preparación de materiales multifuncionales con propiedades biocidas, se puede afirmar que:

- Las zeolitas con plata son materiales eficaces frente al control de diferentes organismos patógenos como las bacterias y los hongos. Además, estos materiales actúan como reservorios de plata, de forma que su actividad biocida es prolongada en el tiempo, al existir una liberación controlada del metal al medio.
- Los resultados tanto bactericidas como fungicidas, demostraron que tanto el contenido en plata, como la topología de la zeolita o su relación Si/Al, pueden influir en la actividad biocida de estos materiales. Concretamente, las zeolitas con tamaño de poro grande y estructuras con grandes cavidades, es decir, abiertas como la faujasita, presentan los mejores resultados. No obstante, esta actividad depende ampliamente del tipo de microorganismo patógeno tratado. Además, se ha encontrado que relaciones molares Si/Al cercanas a dos presentan siempre mejores actividades biocidas.
- La caracterización realizada a estos materiales demuestra que las especies de plata presentes en las zeolitas y que tienen actividad biocida son cationes Ag^+ , aunque dependiendo de la relación Si/Al y de la topología o morfología de cada zeolita, la posición e interacción de los cationes Ag^+ con la zeolita varían, lo que consigue alterar la movilidad y la facilidad de su liberación al medio.
- Los distintos estudios de microscopía electrónica han mostrado la acción multidiana de los cationes Ag^+ sobre las células de las bacterias estudiadas.
- Se ha comprobado, que es posible aplicar las zeolitas con bajos contenidos en plata (2% en peso Ag) en la composición de materiales poliméricos, produciendo materiales plásticos con

6.- CONCLUSIONES

cualidades biocidas duraderas en el tiempo, pero siendo necesaria la incorporación de fotoestabilizadores para no alterar el color de estos materiales poliméricos.

- Se ha comprobado que es posible aplicar las zeolitas con plata en recubrimiento comestibles de frutas, consiguiendo inhibir el crecimiento de los hongos más comunes en naranjas y ciruelas.

7. BIBLIOGRAFÍA

“La verdadera sabiduría está en reconocer la propia ignorancia”
SÓCRATES

- [1] R.A.d.l.l. Española (RAE), *DICCIONARIO DE LA LENGUA ESPAÑOLA*, (2017), Madrid
- [2] F. García, J.A. Dobado, *Anales de Química*, 104(3) (2008) 205
- [3] R.H. Petrucci, W.S. Harwood, F.G. Herring, *QUÍMICA GENERAL*, 8ª, *Pearson Education* (2003), 84-205-3533-8
- [4] B. Altava, M.I. Burguete, S.V. Luis, *Educación química*, 24 (2013) 132
- [5] B. Herrandón, *LOS AVANCES DE LA QUÍMICA*, *Consejo Superior de Investigaciones Científicas* (2011), 978-84-00-09420-1
- [6] Bhopal, la «gran cámara de gas» de Union Carbide, Periódico ABC, www.abc.es/archivo/20141203/abci-desastre-bhopal-union-carbide-201412021918.html, 09/2018
- [7] R.A. Sheldon, *Green Chemistry*, 9 (2007) 1273
- [8] R.A. Sheldon, *Chem. Ind.*, (1992) 903
- [9] J.C. Warner, A.S. Cannon, K.M. Dye, *Environmental Impact Assessment Review*, 24 (2004) 775
- [10] P.T. Anastas, J.C. Warner, *GREEN CHEMISTRY: THEORY AND PRACTICE*, *Oxford University Press* (1998), 0198502346
- [11] M.C. Doria-Soriano, R. Miranda-Ruvalcaba, *Educación química*, 24 (2013) 94
- [12] R.L. Carson, *PRIMAVERA SILENCIOSA*, *Editorial Crítica* (2010), 9788498921373
- [13] L. B. Reyes-Sánchez, *Educación química*, 23 (2012) 222
- [14] T. Anastas Paul, B. Zimmerman Julie, *Environmental science & technology*, 37 (2003) 94A
- [15] R. Mestres, *Educación química*, 24 (2013) 103
- [16] P.T. Anastas, M.M. Kirchhoff, T.C. Williamson, *Applied Catalysis, A: General*, 221 (2001) 3
- [17] G.H. Brundtland, *OUR COMMON FUTURE*, *ONU & Oxford University Press* (1987),
- [18] J.M. López-Nieto, *LA QUÍMICA VERDE*, *Consejo Superior de Investigaciones Científicas; Los libros de la Catarata* (2011), 978-84-00-09397-6
- [19] Sustainable Development Goal indicators, Organización de las Naciones Unidas (ONU), <https://unstats.un.org/sdgs/>, 10/2018
- [20] ONU, *INFORME: TRANSFORMAR NUESTRO PLANETA: AGENDA 2030 PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE* (2015), A.G. ONU, A/RES/69/315
- [21] *Radiografía del Sector Químico Español 2017*, FEIQUE (2018)
- [22] INE - Ciencia y tecnología Instituto Nacional de Estadística, <http://www.ine.es>, 10/2018
- [23] *Informe de Responsabilidad Social del Sector Químico*, FEIQUE (2018)
- [24] B. Cornils, W.A. Herrmann, C. Wong, et al., *CATALYSIS FROM A TO Z: A CONCISE ENCYCLOPEDIA*, 4th, *Wiley* (2013), 978-3-527-33307-3
- [25] A. Corma, H. García, *Investigación y Ciencia*, 319 (2003) 68
- [26] W. Ostwald, *Zeitschrift für physikalische Chemie*, 15 (1894) 705
- [27] Y. Zhou, C. Jin, Y. Li, et al., *Nano Today*, 20 (2018) 101
- [28] *Catalyst Market analysis and Segment forecast to 2020*, (2018)
- [29] A. Kokel, C. Schäfer, *APPLICATION OF GREEN CHEMISTRY IN HOMOGENEOUS CATALYSIS*, B. Török, T. Dransfield, *GREEN CHEMISTRY*, *Elsevier* (2018), 375
- [30] R.V. Chaudhari, *FUNDAMENTALS OF HOMOGENEOUS CATALYSIS*, S.S. Joshi, V.V. Ranade, *INDUSTRIAL CATALYTIC PROCESSES FOR FINE AND SPECIALTY CHEMICALS*, *Elsevier* (2016), 17

7.- BIBLIOGRAFÍA

- [31] C. Lima, N.M. Moreira, M.W. Paixao, et al., *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 15 (2019) 7
- [32] C. Coperet, M. Chabanas, R.P. Saint-Arroman, et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 42 (2003) 156
- [33] J.J. Bravo-Suárez, R.V. Chaudhari, B. Subramaniam, DESING OF HETEROGENEOUS CATALYSTS FOR FUELS AND CHEMICALS PROCESSES: AN OVERVIEW, J.J. Bravo-Suárez, M.K. Kidder, V. Schwartz, NOVEL MATERIALS FOR CATALYSIS AND FUELS PROCESSING, *American Chemical Society (ACS)* (2013), 3
- [34] A. Pellis, S. Cantone, C. Ebert, et al., *New Biotechnology*, 40 (2018) 154
- [35] H. Sun, H. Zhang, E.L. Ang, et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26 (2018) 1275
- [36] J.-M. Choi, S.-S. Han, H.-S. Kim, *Biotechnology Advances*, 33 (2015) 1443
- [37] F. Franks, WATER: A MATRIX OF LIFE, *Royal Society of Chemistry (RSC)* (2000), 9780854045839
- [38] V.L. Snowyink, D. Jenkins, QUÍMICA DEL AGUA, *Limusa* (1999), 968-18-1608-0
- [39] Water for people, water for life: The United Nations World Water Development Report: Executive summary, UNESCO (2003)
- [40] WBCSD, WATER: FACT AND TRENDS, *World Bussiness Council for Sustainable Development* (2009), 2-940240-70-1
- [41] J.J. Ordoñez-Gálvez, CARTILLA TÉCNICA: CICLO HIDROLÓGICO. CONTRIBUYENDO AL DESARROLLO DE UNA CULTURA DEL AGUA Y LA GESTIÓN INTEGRAL DE RECURSO HÍDRICO., 1ª, (2012), 978-9972-602-77-1
- [42] FAO-ONU, Data-base: AQUASTAT
- [43] G.F. Hougbo, INFORME MUNDIAL DE LAS NACIONES UNIDAS SOBRE EL DESARROLLO DE LOS RECURSOS HÍDRICOS 2018: SOLUCIONES BASADAS EN LA NATURALEZA PARA LA GESTIÓN DEL AGUA, (2018), 978-92-3-300083-4
- [44] OMS/UNICEF, SAFELY MANAGED DRINKING WATER - THEMATIC REPORT ON DRINKING WATER, *Organización Mundial de la Salud* (2017), 978-92-4-156542-4
- [45] J.A. Mendoza, M.T. Montañés, A.E. Palomares, CIENCIA Y TECNOLOGÍA DEL MEDIO AMBIENTE, *Universitat Politècnica de València* (2000), 978-84-7721-689-6
- [46] S. Zandaryaa, INICIATIVA INTERNACIONAL SOBRE LA CALIDAD DEL AGUA, *Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO)* (2015),
- [47] R. Butler, A. Godley, L. Lytton, et al., *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 35 (2005) 193
- [48] U.S.E.P.A. (EPA), ALTERNATIVE DISINFECTANTS AND OXIDANTS GUIDANCE MANUAL, EPA Guidance Manual (1999)
- [49] R. Andreozzi, V. Caprio, A. Insola, et al., *Catalysis Today*, 53 (1999) 51
- [50] U. von Gunten, *Water Research*, 37 (2003) 1469
- [51] U. von Gunten, *Water Science and Technology*, 55 (2007) 25
- [52] M.G. Antoniou, H.R. Andersen, *Environmental Technology*, 33 (2012) 1747
- [53] S. Ghafari, M. Hasan, M.K. Aroua, *Bioresource Technology*, 99 (2008) 3965
- [54] Y.E. Lin, *Science and Technology of Industrial Water Treatment*, (2010) 411
- [55] Bromate in Drinking-water - Guidelines for Drinking-water Quality, OMS (2005)
- [56] M. Siddiqui, G. Amy, K. Ozekin, et al., *Journal - American Water Works Association*, 86 (1994) 81

- [57] L. Xie, C. Shang, *Water Science & Technology: Water Supply*, 6 (2006) 131
- [58] Y. Kurokawa, Y. Hayashi, A. Maekawa, et al., *JNCI, Journal of the National Cancer Institute*, 71 (1983) 965
- [59] Y. Kurokawa, S. Takayama, Y. Konishi, et al., *Environmental Health Perspectives*, 69 (1986) 221
- [60] A.B. DeAngelo, M.H. George, S.R. Kilburn, et al., *Toxicologic Pathology*, 26 (1998) 587
- [61] Potassium Bromate (summary of Data Reported and Evaluation), IARC (1999)
- [62] B. McCann, *Water*, 21 (1999) 15
- [63] R. Song, R. Minear, P. Westerhoff, et al., *Environmental Technology*, 17 (1996) 861
- [64] S. Bouland, J.P. Duguet, A. Montiel, *Environmental Technology*, 26 (2005) 121
- [65] C.M. Fitzpatrick, The hydrogeology of bromate contamination in the Hertfordshire chalk: coublé-porosity on catchmen-scale evolution (2010), University College of London
- [66] M.O. Buffle, S. Galli, U. von Gunten, *Environmental Science and Technology*, 38 (2004) 5187
- [67] U. Pinkernell, U. von Gunten, *Environmental Science and Technology*, 35 (2001) 2525
- [68] M.S. Siddiqui, G.L. Amy, *J. Am. Water Works Assoc.*, 85 (1993) 63
- [69] B. Legube, B.K. Koudjonou, J.P. Croue, et al., *Water Supply*, 13 (1995) 51
- [70] T. Marhaba, S. Medler, *Ozonews*, 21 (1993) 10
- [71] K. Ozekin, P. Westerhoff, G.L. Amy, et al., *J. Environ. Eng.*, 124 (1998) 456
- [72] M. Prados-Ramirez, N. Ciba, M.M. Bourbigot, *Water Supply*, 13 (1995) 61
- [73] A. Zeino, A. Abulkibash, M. Khaled, et al., *Journal of Nanomaterials*, (2014) 561920/1
- [74] Y. Yang, Q. Ding, D. Wen, et al., *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (2018) 27503
- [75] J.A. Wisniewski, M. Kabsch-Korbutowicz, S. Lakomska, *Separation and Purification Technology*, 145 (2015) 75
- [76] A. Bhatnagar, Y.-H. Choi, Y.-J. Yoon, et al., *Journal of Hazardous Materials*, 170 (2009) 134
- [77] M. Siddiqui, G. Amy, W. Zhai, et al., REMOVAL OF BROMATE AFTER OZONATION DURING DRINKING WATER TREATMENT, A. Minear, G. Amy, DISINFECTION BY-PRODUCTS IN WATER TREATMENT. THE CHEMISTRY OF THEIR FORMATION AND CONTROL, *CRC Press* (1995), 520
- [78] M.S. Siddiqui, G.L. Amy, W.J. Cooper, BROMATE ION REMOVAL BY ELECTRI-ARC AND HIGH-ENERGY ELECTRON BEAM PROCESSES, G.L.A. R. A. Minear, WATER DISINFECTION AND NATURAL ORGANIC MATTER, *American Chemical Society (ACS)* (1996),
- [79] M.S. Siddiqui, G.L. Amy, W.J. Cooper, et al., *Journal - American Water Works Association*, 88 (1996) 90
- [80] P. Han, Y. Xia, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6 (2018) 3384
- [81] G. Gordon, R.D. Gauw, G.L. Emmert, et al., *Journal - American Water Works Association*, 94 (2002) 91
- [82] S. Krasner, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION ANNUAL CONFERENCE, Toronto (1996)
- [83] L. Xie, C. Shang, *Chemosphere*, 64 (2006) 919

7.- BIBLIOGRAFÍA

- [84] P. Westerhoff, *J. Environ. Eng.*, 129 (2003) 10
- [85] H. Zhang, R. Deng, H. Wang, et al., *Chem. Eng. J.*, 292 (2016) 190
- [86] Y.-T. Chiu, P.-Y. Lee, T. Wi-Afedzi, et al., *Journal of Colloid and Interface Science*, 532 (2018) 416
- [87] K.-Y.A. Lin, C.-H. Lin, H. Yang, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5 (2017) 5085
- [88] W.A.M. Hijnen, R. Voogt, H.R. Veenendaal, et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (1995) 239
- [89] C.G. van Ginkel, A.M. van Haperen, B. van der Togt, *Water Research*, 39 (2005) 59
- [90] T. Stephenson, K. Brindle, S. Judd, et al., MEMBRANE BIOREACTORS FOR WASTEWATER TREATMENT, *The International Water Association (IWA)* (2000),
- [91] C.T. Matos, S. Velizarov, M.A.M. Reis, et al., *Environmental Science and Technology*, 42 (2008) 7702
- [92] M. Asami, T. Aizawa, T. Morioka, et al., *Water Research*, 33 (1999) 2797
- [93] T. Marhaba, S. Medlar, PROCEEDING AWWA WATER QUALITY TECHNOLOGY CONFERENCE, Florida (1993)
- [94] M.L. Bao, O. Griffini, D. Santianni, et al., *Water Research*, 33 (1999) 2959
- [95] A.H. Konsowa, *Desalination and Water Treatment*, 12 (2009) 375
- [96] P. Westerhoff, ENGINEERING DESIGN CONFERENCE PROCEEDINGS, Cincinnati (1994)
- [97] W. Farooq, H.-J. Hong, E.J. Kim, et al., *Separation Science and Technology (Philadelphia, PA, United States)*, 47 (2012) 1906
- [98] D. Han, Z. Zhao, Z. Xu, et al., *Journal of Chemical & Engineering Data*, 63 (2018) 2243
- [99] M.J. Kirisits, V.L. Snoeyink, *Journal - American Water Works Association*, 91 (1999) 74
- [100] M.J. Kirisits, V.L. Snoeyink, H. Inan, et al., *Water Res*, 35 (2001) 891
- [101] X. Zhao, H. Liu, A. Li, et al., *Electrochimica Acta*, 62 (2012) 181
- [102] A. Mills, INTERNATIONAL CONFERENCE ON WATER AND WASTE TREATMENT HARROGATE, United Kingdom (1995)
- [103] A. Mills, A. Belghazi, D. Rodman, *Water Research*, 30 (1996) 1973
- [104] F. Chen, Q. Yang, Y. Zhong, et al., *Water Research*, 101 (2016) 555
- [105] V.S. Botlaguduru, B. Batchelor, A. Abdel-Wahab, *J. Water Process Eng*, 5 (2015) 76
- [106] D.B. Thakur, R.M. Tiggelaar, Y. Weber, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 102 (2011) 243
- [107] K.-Y. Andrew Lin, S.-Y. Chen, *RSC Advances*, 5 (2015) 43885
- [108] K.-Y.A. Lin, S.-Y. Chen, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3 (2015) 3096
- [109] H. Chen, Z. Xu, H. Wan, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 96 (2010) 307
- [110] W. Sun, Q. Li, S. Gao, et al., *Journal of Materials Chemistry A: Materials for Energy and Sustainability*, 1 (2013) 9215
- [111] A.E. Palomares, C. Franch, T. Yuranova, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 146 (2014) 186
- [112] C.M.A.S. Freitas, O.S.G.P. Soares, J.J.M. Orfao, et al., *Green Chemistry*, 17 (2015) 4247

- [113] A.J. Kedir, M.S. Vohra, *Desalination and Water Treatment*, 80 (2017) 255
- [114] A.M. Perez-Coronado, O.S.G.P. Soares, L. Calvo, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 237 (2018) 206
- [115] B.P. Chaplin, M. Reinhard, W.F. Schneider, et al., *Environmental Science and Technology*, 46 (2012) 3655
- [116] X. Chen, X. Huo, J. Liu, et al., *Chem. Eng. J.*, 313 (2017) 745
- [117] S. Uemiyama, N. Sato, H. Ando, et al., *Journal of Membrane Science*, 56 (1991) 303
- [118] H. Conrad, G. Ertl, E.E. Latta, *Surface Science*, 40 (1974) 435
- [119] C. Lu, M. Wang, Z. Feng, et al., *Catalysis Science & Technology*, 7 (2017) 1581
- [120] M.E. Domine, M.C. Hernandez-Soto, M.T. Navarro, et al., *Catalysis Today*, 172 (2011) 13
- [121] S.H. Krishna, D.J. McClelland, Q.A. Rashke, et al., *Green Chemistry*, 19 (2017) 1278
- [122] Y.-C. Lin, G.W. Huber, *Energy & Environmental Science*, 2 (2009) 68
- [123] P.A. Kalmykov, M.V. Klyuev, *Petroleum Chemistry*, 56 (2016) 27
- [124] C. Dai, F. Liu, W. Zhang, et al., *Applied Catalysis, A: General*, 538 (2017) 199
- [125] A.K. Khudorozhkov, I.A. Chetyrin, A.V. Bukhtiyarov, et al., *Topics in Catalysis*, 60 (2017) 190
- [126] Y. Zhao, N. Koteswara Rao, L. Lefferts, *Journal of Catalysis*, 337 (2016) 102
- [127] M. Haneda, Y. Kintaichi, I. Nakamura, et al., *Journal of Catalysis*, 218 (2003) 405
- [128] H.S. Gandhi, G.W. Graham, R.W. McCabe, *Journal of Catalysis*, 216 (2003) 433
- [129] Y. Xie, H. Cao, Y. Li, et al., *Environmental Science and Technology*, 45 (2011) 4066
- [130] Y. Gao, W. Sun, W. Yang, et al., *Scientific Reports Nature*, 7 (2017) 41797
- [131] J. Restivo, O.S.G.P. Soares, J.J.M. Orfao, et al., *Catalysis Today*, 249 (2015) 213
- [132] J. Restivo, O.S.G.P. Soares, J.J.M. Orfao, et al., *Chem. Eng. J.*, 263 (2015) 119
- [133] J. Restivo, O.S.G.P. Soares, J.J.M. Orfao, et al., *Chem. Eng. J.*, 309 (2017) 197
- [134] C.R. Henry, *Surface Science Reports*, 31 (1998) 231
- [135] Y. Marco, E. Garcia-Bordeje, C. Franch, et al., *Chem. Eng. J.*, 230 (2013) 605
- [136] T. Yuranova, L. Kiwi-Minsker, C. Franch, et al., *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52 (2013) 13930
- [137] H. Chen, P. Zhang, W. Tan, et al., *RSC Advances*, 4 (2014) 38743
- [138] Z. Zhang, Y. Luo, Y. Guo, et al., *Chem. Eng. J.*, 344 (2018) 114
- [139] Z. Zhang, J. Cheng, Y. Luo, et al., *Catalysis Communications*, 105 (2018) 11
- [140] J. Sun, J. Zhang, H. Fu, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 229 (2018) 32
- [141] P. Zhang, F. Jiang, H. Chen, *Chem. Eng. J.*, 234 (2013) 195
- [142] Y. Wang, J. Liu, P. Wang, et al., *ACS Catalysis*, 4 (2014) 3551
- [143] O.S.G.P. Soares, C.M.A.S. Freitas, A.M. Fonseca, et al., *Chem. Eng. J.*, 291 (2016) 199
- [144] Report on Critical Raw Materials for the EU, EC (2014)
- [145] Annual Report 2017, Investing in Sustainable development, Nornickel (2017)
- [146] Mineral Commodity Summaries 2018, U.S. Geological_Survey (2018)

7.- BIBLIOGRAFÍA

- [147] Y. Zhang, S. Zhong, M. Zhang, et al., *Journal of Materials Science*, 44 (2009) 457
- [148] B.D. Kalyon, U. Olgun, *American journal of infection control*, 29 (2001) 124
- [149] E.N. Rees, S.E. Tebbs, T.S. Elliott, *The Journal of hospital infection*, 39 (1998) 323
- [150] C.N. Kraft, M. Hansis, S. Arens, et al., *Journal of Biomedical Materials Research*, 49 (2000) 192
- [151] L. Esteban-Tejeda, F. Malpartida, A. Esteban-Cubillo, et al., *Nanotechnology*, 20 (2009) 085103/1
- [152] A. Llorens, E. Lloret, P.A. Picouet, et al., *Trends in Food Science & Technology*, 24 (2012) 19
- [153] W. De Muynck, N. De Belie, W. Verstraete, *J Appl Microbiol*, 108 (2010) 62
- [154] Y. Inoue, M. Hoshino, H. Takahashi, et al., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 92 (2002) 37
- [155] D. Green John-Bruce, T. Fulghum, A. Nordhaus Mark, *Biointerphases*, 6 (2011) CL2
- [156] T. Moretro, T. Sonerud, E. Mangelrod, et al., *Journal of food protection*, 69 (2006) 627
- [157] M.M. Cowan, K.Z. Abshire, S.L. Houk, et al., *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 30 (2003) 102
- [158] C. Marambio-Jones, E.M.V. Hoek, *Journal of Nanoparticle Research*, 12 (2010) 1531
- [159] H. Nikawa, T. Yamamoto, T. Hamada, et al., *Journal of Oral Rehabilitation*, 24 (1997) 350
- [160] W.-K. Loke, S.-K. Lau, L.L. Yong, et al., *Journal of Biomedical Materials Research*, 53 (2000) 8
- [161] M. Zilberman, J.J. Elsner, *Journal of Controlled Release*, 130 (2008) 202
- [162] G. Khorasani, J. Hosseinimehr Seyed, M. Azadbakht, et al., *Surgery today*, 39 (2009) 587
- [163] I. Johansson, P. Somasundaran, *HANDBOOK OF CLEANING/DECONTAMINATION OF SURFACES, Elsevier Science* (2007), 978-0-444-51664-0
- [164] Annual Epidemiological Report 2015 ECDPC (2017)
- [165] Y. Wu, R. Li, M. Pan, et al., *The Journal of hospital infection*, 101 (2019) 231
- [166] D. Bhatt, S. Dahal, R. Singh, et al., *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6 (2017) 136
- [167] F. Furno, K.S. Morley, B. Wong, et al., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54 (2004) 1019
- [168] S.-B. Lee, U. Otgonbayar, J.-H. Lee, et al., *Surface and Coatings Technology*, 205 (2010) S172
- [169] J. Schijven, J.M. Foret, J. Chardon, et al., *Water Research*, 96 (2016) 148
- [170] C.E. Pena-Gonzalez, E. Pedziwiatr-Werbicka, T. Martin-Perez, et al., *International Journal of Pharmaceutics (Amsterdam, Netherlands)*, 528 (2017) 55
- [171] J. Yin, B. Deng, *Journal of Membrane Science*, 479 (2015) 256
- [172] H. Basri, A.F. Ismail, M. Aziz, et al., *Desalination*, 261 (2010) 264
- [173] P. Gong, H. Li, X. He, et al., *Nanotechnology*, 18 (2007) 285604/1
- [174] S. Sarrocco, G. Vannacci, *Crop Protection*, 110 (2018) 160

- [175] S.-Y. Sung, L.T. Sin, T.-T. Tee, et al., *Trends in Food Science & Technology*, 33 (2013) 110
- [176] A. Trigos, K. Ramírez, A. Salinas, *Revista Mexicana de Micología*, 28 (2008) 125
- [177] Objetivos de Desarrollo Sostenible, Agenda 2030, Organización de las Naciones Unidas (ONU), <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/sustainable-development-goals/>, 10/2018
- [178] Iniciativa mundial sobre la reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos, SAVE FOOD FAO, www.fao.org/save-food, 02/2019
- [179] L. Vilanova, I. Vinas, R. Torres, et al., *Postharvest Biology and Technology*, 88 (2014) 54
- [180] S.A. Valencia-Chamorro, L. Palou, M.A. del Rio, et al., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (2008) 11270
- [181] M. Ismail, J. Zhang, *Outlooks on Pest Management*, 15 (2004) 29
- [182] X. Deng, A.Y. Nikiforov, C. Leys, ANTIMICROBIAL NANOCOMPOSITES FOR FOOD PACKAGING, A.M. Grumezescu, FOOD PRESERVATION, *Academic Press* (2017), 792
- [183] M. Ozdemir, J.D. Floros, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (2004) 185
- [184] P. Appendini, J.H. Hotchkiss, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3 (2002) 113
- [185] R. Tekin, N. Bac, *Microporous and Mesoporous Materials*, 234 (2016) 55
- [186] H. Gu, P.L. Ho, E. Tong, et al., *Nano Letters*, 3 (2003) 1261
- [187] C. Civardi, F.W. Schwarze, P. Wick, *Environmental Pollution (Oxford, United Kingdom)*, 200 (2015) 126
- [188] N. Cioffi, L. Torsi, N. Ditaranto, et al., *Chemistry of Materials*, 17 (2005) 5255
- [189] The Silver Institute, The Silver Institute, <https://www.silverinstitute.org>, 01/2019
- [190] R.A. Van Santen, H.P.C.E. Kuipers, *Advances in Catalysis*, 35 (1987) 265
- [191] Y. Shiraishi, N. Toshima, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 141 (1999) 187
- [192] X. Hu, J. Bai, C. Li, et al., *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, 120 (2017) 359
- [193] R. Wang, X. Guo, X. Wang, et al., *Catalysis Letters*, 90 (2003) 57
- [194] D.B. Nguyen, V.T. Nguyen, I.J. Heo, et al., *J. Ind. Eng. Chem.*, 72 (2019) 400
- [195] H. Choi, J.-P. Lee, S.-J. Ko, et al., *Nano Letters*, 13 (2013) 2204
- [196] A.D. Russell, W.B. Hugo, *Progress in Medicinal Chemistry*, 31 (1994) 351
- [197] N. Cioffi, M. Rai, NANO-ANTIMICROBIALS. PROGRESS AND PROSPECTS, *Springer* (2012), 9783642244278
- [198] J. Ravelin, *Sic Nat*, 11 (1869) 93
- [199] N. Tsiouras, C.J. Rix, P.H. Brady, *Clinical Chemistry (Washington, D. C.)*, 43 (1997) 290
- [200] S. Medici, M. Paena, V.M. Nurchi, et al., *Journal of Medicinal Chemistry*, (2019) XXX
- [201] D.R. Monteiro, L.F. Gorup, A.S. Takamiya, et al., *International Journal of Antimicrobial Agents*, 34 (2009) 103

7.- BIBLIOGRAFÍA

- [202] P. Lalueza, M. Monzon, M. Arruebo, et al., *Materials Research Bulletin*, 46 (2011) 2070
- [203] Q.L. Feng, J. Wu, G.Q. Chen, et al., *Journal of Biomedical Materials Research*, 52 (2000) 662
- [204] W.K. Jung, H.C. Koo, K.W. Kim, et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (2008) 2171
- [205] D. Armstrong, S.M. Kirk, C. Murphy, et al., *Inorganic Chemistry*, 57 (2018) 6309
- [206] E.M. Petrus, S. Tinakumari, L.C. Chai, et al., *International Food Research Journal*, 18 (2011) 55
- [207] F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, et al., *Research in Microbiology*, 162 (2011) 542
- [208] W.-R. Li, X.-B. Xie, Q.-S. Shi, et al., *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85 (2010) 1115
- [209] J.V. Rogers, C.V. Parkinson, Y.W. Choi, et al., *Nanoscale Research Letters*, 3 (2008)
- [210] J.L. Elechiguerra, J.L. Burt, F.R. Morones, et al., *Journal of Nanobiotechnology*, 3 (2005) 1
- [211] S.C.G.K. Daniel, V. Tharmaraj, T.A. Sironmani, et al., *Applied Clay Science*, 48 (2010) 547
- [212] K. Chaloupka, Y. Malam, A.M. Seifalian, *Trends in Biotechnology*, 28 (2010) 580
- [213] J.B. Chappell, G.B. Greville, *Nature*, 174 (1954) 930
- [214] C.N. Banti, L. Kyros, G.D. Geromichalos, et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 77 (2014) 388
- [215] R.H. Jensen, N. Davidson, *Biopolymers*, 4 (1966) 17
- [216] W. Yang, C. Shen, Q. Ji, et al., *Nanotechnology*, 20 (2009) 085102/1
- [217] W.J.A. Schreurs, H. Rosenberg, *Journal of Bacteriology*, 152 (1982) 7
- [218] H.-J. Park, J.Y. Kim, J. Kim, et al., *Water Research*, 43 (2009) 1027
- [219] S.L. Percival, P.G. Bowler, D. Russell, *The Journal of hospital infection*, 60 (2005) 1
- [220] S. Silver, *FEMS Microbiology Reviews*, 27 (2003) 341
- [221] A. Gupta, L.T. Phung, D.E. Taylor, et al., *Microbiology (Reading, England)*, 147 (2001) 3393
- [222] X. Chen, H.J. Schluesener, *Toxicology Letters*, 176 (2008) 1
- [223] Z. Ahmadi, M. Ashjari, R. Hosseini, et al., *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 19 (2009) 322
- [224] A. Martinez-Abad, J.M. Lagaron, M.J. Ocio, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (2012) 5350
- [225] M.A. Busolo, P. Fernandez, M.J. Ocio, et al., *Food Additives & Contaminants, Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 27 (2010) 1617
- [226] T.M. Benn, P. Westerhoff, *Environmental Science and Technology*, 42 (2008) 4133
- [227] S.Y. Yeo, S.H. Jeong, *Polymer International*, 52 (2003) 1053
- [228] A.K. Yetisen, H. Qu, A. Manbachi, et al., *ACS Nano*, 10 (2016) 3042
- [229] Y. Gao, R. Cranston, *Textile Research Journal*, 78 (2008) 60

- [230] V. Ilic, Z. Saponjic, V. Vodnik, et al., *Carbohydrate Polymers*, 78 (2009) 564
- [231] C. Lorenz, L. Windler, N. von Goetz, et al., *Chemosphere*, 89 (2012) 817
- [232] Q. Chang, H. He, Z. Ma, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102 (2008) 1736
- [233] C. Costa, A. Conte, G.G. Buonocore, et al., *International Journal of Food Microbiology*, 148 (2011) 164
- [234] K.Y. Yoon, J.H. Byeon, C.W. Park, et al., *Environmental Science and Technology*, 42 (2008) 1251
- [235] D.L. Boschetto, L. Lerin, R. Cansian, et al., *Chem. Eng. J.*, 204-206 (2012) 210
- [236] C. Chiericatti, J.C. Basilico, M.L.Z. Basilico, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 188 (2014) 118
- [237] P. Lalueza, M. Monzon, M. Arruebo, et al., *Chem. Commun.*, 47 (2011) 680
- [238] M.J. Sanchez, J.E. Mauricio, A.R. Paredes, et al., *Materials Letters*, 191 (2017) 65
- [239] R.S. Bedi, R. Cai, C. O'Neill, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 151 (2012) 352
- [240] K.K. Krishnani, Y. Zhang, L. Xiong, et al., *Bioresource Technology*, 117 (2012) 86
- [241] S. Demirci, Z. Ustaoglu, G.A. Yilmazer, et al., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172 (2014) 1652
- [242] B. Kwakye-Awuah, C. Williams, M.A. Kenward, et al., *Journal of Applied Microbiology*, 104 (2008) 1516
- [243] L. Ferreira, A.M. Fonseca, G. Botelho, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 160 (2012) 126
- [244] S. Chen, J. Popovich, N. Iannuzo, et al., *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9 (2017) 39271
- [245] T. Haile, G. Nakhla, J. Zhu, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 127 (2009) 32
- [246] P. Saint-Cricq, Y. Kamimura, K. Itabashi, et al., *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2012 (2012) 3398
- [247] J. Hrenovic, J. Milenkovic, I. Goic-Barisic, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 169 (2013) 148
- [248] R.N.M. Missengue, N.M. Musyoka, G. Madzivire, et al., *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 51 (2016) 97
- [249] R. Guerra, E. Lima, M. Viniegra, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 147 (2011) 267
- [250] Z.U. Iyigundogdu, S. Demirci, N. Bac, et al., *Turkish Journal of Biology*, 38 (2014) 420
- [251] A. Fernandez, E. Soriano, P. Hernandez-Munoz, et al., *Journal of Food Science*, 75 (2010) E186
- [252] H. Shi, F. Liu, L. Xue, *Journal of Membrane Science*, 437 (2013) 205
- [253] K.A. Rieger, H.J. Cho, H.F. Yeung, et al., *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8 (2016) 3032
- [254] K.O. Kongshaug, H. Fjellvag, K. Petter Lillerud, *Microporous and Mesoporous Materials*, 39 (2000) 341
- [255] IZA, Data-base:Framework types Zeolites

7.- BIBLIOGRAFÍA

- [256] A. Mayoral, T. Carey, P.A. Anderson, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 166 (2013) 117
- [257] D.W. Breck, W.G. Eversole, R.M. Milton, et al., *Journal of the American Chemical Society*, 78 (1956) 5963
- [258] C. Martínez, J. Pérez-Pariente, ZEOLITES AND ORDERED POROUS SOLIDS: FUNDAMENTALS AND APPLICATIONS, *Universitat Politècnica de València* (2011), 978-84-8363-707-4
- [259] R. Ekhteiari Salmas, B. Demir, E. Yildirim, et al., *Journal of Physical Chemistry C*, 117 (2013) 1663
- [260] V. Gramlich, W.M. Meier, *Z. Kristallogr., Kristallgeometrie, Kristallphys., Kristallchem.*, 133 (1971) 134
- [261] J. Singh, R.L. White, *Vibrational Spectroscopy*, 94 (2018) 37
- [262] M. Palomino, A. Corma, F. Rey, et al., *Langmuir*, 26 (2010) 1910
- [263] W.H. Baur, *American Mineralogist*, 49 (1964) 697
- [264] W. Lutz, *Advances in Materials Science and Engineering*, 2014 (2014) 724248
- [265] R.Y. Rohling, E. Uslamin, B. Zijlstra, et al., *ACS Catalysis*, 8 (2018) 760
- [266] W.E. Garwood, P.B. Venuto, *Journal of Catalysis*, 11 (1968) 175
- [267] J.V. Smith, *Acta Crystallographica*, 15 (1962) 835
- [268] J.V. Smith, F. Rinaldi, L.S. Dent Glasser, *Acta Crystallographica*, 16 (1963) 45
- [269] L.S. Dent, J.V. Smith, *Nature*, 181 (1958) 1794
- [270] Q. Sun, N. Wang, D. Xi, et al., *Chem. Commun.*, 50 (2014) 6502
- [271] D.K. Pappas, E. Borfecchia, M. Dybala, et al., *Journal of the American Chemical Society*, 139 (2017) 14961
- [272] J.M. Newsam, M.M.J. Treacy, W.T. Koetsier, et al., *Proceedings of the Royal Society of London, Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 420 (1988) 375
- [273] R.S. Rawajfeh, H.A. Hodali, *Asian Journal of Chemistry*, 30 (2018) 1044
- [274] W. Wang, W. Zhang, Y. Chen, et al., *Journal of Catalysis*, 362 (2018) 94
- [275] I.R. Shaikh, R.A. Shaikh, A.A. Shaikh, et al., *Journal of Catalysis*, (2015) 1
- [276] D.H. Olson, G.T. Kokotailo, S.L. Lawton, et al., *Journal of Physical Chemistry*, 85 (1981) 2238
- [277] Crystalline Zeolite Zsm-5 And Method Of Preparing The Same, R.J. Argauer, G.R. Landolt (1972), M.O. Corp., US 3702886
- [278] C.D. Chang, A.J. Silvestri, *Journal of Catalysis*, 47 (1977) 249
- [279] N.Y. Chen, R.L. Goring, H.R. Ireland, et al., *Oil & Gas Journal*, 75 (1977) 165
- [280] C.T.W. Chu, G.H. Kuehl, R.M. Lago, et al., *Journal of Catalysis*, 93 (1985) 451
- [281] F. Cavani, F. Trifiro, A. Vaccari, *Catalysis Today*, 11 (1991) 173
- [282] J.S. Valente, F. Figueras, M. Gravelle, et al., *Journal of Catalysis*, 189 (2000) 370
- [283] M. Faraldos, C. Goberna, TÉCNICAS DE ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES, *Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)* (2003), 9788400080938
- [284] E. Lifshin, X-RAY CHARACTERIZATION OF MATERIALS, *Wiley - VCH* (1999), 3-527-29657-3
- [285] S. Brunauer, L.S. Deming, W.E. Deming, et al., *Journal of the American Chemical Society*, 62 (1940) 1723

- [286] M. Thommes, K. Kaneko, A.V. Neimark, et al., *Pure and Applied Chemistry*, 87 (2015) 1051
- [287] S. Brunauer, P.H. Emmett, E. Teller, *Journal of the American Chemical Society*, 60 (1938) 309
- [288] J. Rouquerol, P. Llewellyn, F. Rouquerol, *Studies in Surface Science and Catalysis*, 160 (2007) 49
- [289] F. Rouquerol, J. Rouquerol, K.S.W. Sing, et al., ADSORPTION BY POWDERS AND POROUS SOLIDS, PRINCIPLES, METHODOLOGY AND APPLICATIONS, 2nd, *Elsevier* (2014), 978-0-08-097035-6
- [290] J.R. Anderson, STRUCTURE OF METALLIC CATALYSTS, *Academic Press* (1918), 0120571501
- [291] A. Martinez, M.A. Arribas, M. Derewinski, et al., *Applied Catalysis, A: General*, 379 (2010) 188
- [292] A.M. Venezia, *Catalysis Today*, 77 (2003) 359
- [293] D.C. Koningsberger, B.I. Mojet, G.E. Van Dorssen, et al., *Topics in Catalysis*, 10 (2000) 143
- [294] Línea CLAES del sincrotrón español ALBA-Cells, ALBA Cells, www.cells.es/en/beamline/bl22-claess, 10/2018
- [295] G. Guílera, F. Rey, J. Hernández-Fenollosa, et al., *Journal of Physics: Conference Series*, 430 (2013) 012057
- [296] M.V. Traffano-Schiffo, M. Castro-Giraldez, R.J. Colom, et al., *Food and Bioprocess Technology*, 11 (2018) 399
- [297] N. Pugazhenthiran, S. Anandan, G. Kathiravan, et al., *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (2009) 1811
- [298] A. Méndez-Vilas, J. Diaz, MICROSCOPY: SCIENCE, TECHNOLOGY, APPLICATIONS AND EDUCATION, *Formatex Research Center* (2010), 978-84-614-6191-2
- [299] O. Levenspiel, EL MINILIBRO DE LOS REACTORES QUÍMICOS, *Editorial Reverté* (1987), 978-84-291-7339-0
- [300] Guía teórica de ISE, M. Toledo (2016)
- [301] H. Schäfer, M. Láubi, R. Cöriq, ION CROMATOGRAPHY: METHROM MONOGRAPHS, *Methrom* (1996), 8.014.5003
- [302] J. Cazes, R.P.W. Scott, CROMATOGRAPHY SCIENCE, CROMATOGRAPHY THEORY, *CRC Press* (2002), 978-0824707781
- [303] H. Small, T.S. Stevens, W.C. Bauman, *Analytical Chemistry*, 47 (1975) 1801
- [304] K. Kawahara, K. Tsuruda, M. Morishita, et al., *Dental Materials*, 16 (2000) 452
- [305] Y. Matsumura, K. Yoshikata, S.-i. Kunisaki, et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (2003) 4278
- [306] W.A.C. A.L. Barry, H. Nadler, L. B. Reller, C.C. Sanders, J. M. Swenson, *Approved Guideline CLSI document*, M26-A (1999)
- [307] C. Fagundes, M.B. Pérez-Gago, A.R. Monteiro, et al., *International Journal of Food Microbiology*, 166 (2013) 391
- [308] H. Karaca, M.B. Perez-Gago, V. Taberner, et al., *International Journal of Food Microbiology*, 179 (2014) 72
- [309] M.L. Camaró, V. Catala, R. Martínez, et al., PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (2013), 978-84-616-6564-8

7.- BIBLIOGRAFÍA

- [310] H. Liu, Q. Chen, L. Song, et al., *Journal of Non-Crystalline Solids*, 354 (2008) 1314
- [311] J. Sa, D. Gasparovicova, K. Hayek, et al., *Catalysis Letters*, 105 (2005) 209
- [312] U. Prusse, M. Hahnlein, J. Daum, et al., *Catalysis Today*, 55 (2000) 79
- [313] J. Lee, H. Jeon, D.G. Oh, et al., *Applied Catalysis, A: General*, 500 (2015) 58
- [314] L. Samain, A. Jaworski, M. Eden, et al., *Journal of Solid State Chemistry*, 217 (2014) 1
- [315] K. Kouachi, G. Lafaye, S. Pronier, et al., *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 395 (2014) 210
- [316] F. Yang, L. Zhao, B. Gao, et al., *Environmental Science and Technology*, 50 (2016) 2264
- [317] S. Penner, D. Wang, B. Jenewein, et al., *Journal of Chemical Physics*, 125 (2006) 094703/1
- [318] S. Yang, J. Dong, Z. Yao, et al., *Scientific Reports*, 4 (2014) 4501/1
- [319] O.M. Ilinitch, F.P. Cuperus, L.V. Nosova, et al., *Catalysis Today*, 56 (2000) 137
- [320] J.K. Chinthaginjala, L. Lefferts, *Applied Catalysis, B: Environmental*, 101 (2010) 144
- [321] C.E. Gigola, H.R. Aduriz, P. Bodnariuk, *Applied Catalysis*, 27 (1986) 133
- [322] M.A. Aramendia, V. Borau, I.M. Garcia, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 20 (1999) 101
- [323] G. Neri, M.G. Musolino, C. Milone, et al., *Applied Catalysis, A: General*, 208 (2001) 307
- [324] M.A. Aramendia, V. Borau, I.M. Garcia, et al., *Journal of Catalysis*, 187 (1999) 392
- [325] A. Mills, G. Meadows, *Water Research*, 29 (1995) 2181
- [326] N.S. Babu, N. Lingaiah, R. Gopinath, et al., *Journal of Physical Chemistry C*, 111 (2007) 6447
- [327] A.B. Gaspar, L.C. Dieguez, *Applied Catalysis, A: General*, 201 (2000) 241
- [328] C. Contescu, D. Macovei, C. Craiu, et al., *Langmuir*, 11 (1995) 2031
- [329] Y. Tuo, G. Liu, B. Dong, et al., *Scientific Reports*, 5 (2015) 13515
- [330] E. Groppo, G. Agostini, A. Piovano, et al., *Journal of Catalysis*, 287 (2012) 44
- [331] A. Frenkel, *Zeitschrift fuer Kristallographie*, 222 (2007) 605
- [332] J. Goralski, B. Szczepaniak, J. Grams, et al., *Polish Journal of Chemical Technology*, 9 (2007) 77
- [333] C.N. Satterfield, HETEROGENEOUS CATALYSIS IN INDUSTRIAL PRACTICE, McGraw-Hill (1991), 9780070548862
- [334] R.F. Liu, W.B. Li, A.Y. Peng, *Applied Surface Science*, 427 (2018) 608
- [335] B.C. Bai, C.W. Lee, Y.-S. Lee, et al., *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 509 (2016) 73
- [336] A.C.O. Plens, D.L.G. Monaro, A.R. Coutinho, *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 87 (2015) 1149
- [337] S. Singh, A. Srivastava, S.P. Singh, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410 (2018) 2241
- [338] Y. Matatov-Meytal, M. Sheintuch, *Applied Catalysis, A: General*, 231 (2002) 1
- [339] V. Gaur, R. Asthana, N. Verma, *Carbon*, 44 (2006) 46
- [340] Kynol Products, Kynol Novoloid fibers, Kynol, http://www.kynol.de/fiber_details.html,

- [341] L. Chen, A. Yelon, E. Sacher, *Journal of Physical Chemistry C*, 115 (2011) 7896
- [342] M. Gentile, P. Xiao, T. Abram, *Journal of Nuclear Materials*, 462 (2015) 100
- [343] E. Groppo, G. Agostini, E. Borfecchia, et al., *Journal of Physical Chemistry C*, 118 (2014) 8406
- [344] E. Groppo, W. Liu, O. Zavorotynska, et al., *Chemistry of Materials*, 22 (2010) 2297
- [345] W.J. Shen, Y. Ichihashi, H. Ando, et al., *Applied Catalysis, A: General*, 217 (2001) 165
- [346] A.L. Bugaev, A.A. Guda, A. Lazzarini, et al., *Catalysis Today*, 283 (2017) 119
- [347] B.C. Bai, C.W. Lee, Y.-S. Lee, et al., *Materials Chemistry and Physics*, 200 (2017) 361
- [348] S.E. Lyashenko, I.V. Soboleva, V.M. Drobyshev, *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 52 (2018) 97
- [349] L. Constanza, D.M. Antolinez, J.A. Bohórquez, et al., *NOVA*, 13 (2015) 55
- [350] R.M. Klevens, J.R. Edwards, C.L. Richards, et al., *Public Health Reports*, 122 (2007) 160
- [351] M.J. Ruiz, R. Colello, N.L. Padola, et al., *Revista Argentina de Microbiología*, 49 (2017) 174
- [352] The World Health Report 2017 - A safer future: global public health security in the 21st century, Organización Mundial de la Salud (OMS), <https://www.who.int/whr/2007/en/>, 02/2019
- [353] G. Socorro, H. Avalos-Flores, M.Y. Soto-Padilla, *Revista Biomédica*, 25 (2014) 129
- [354] P.S. Mead, L. Slutsker, V. Dietz, et al., *Emerg Infect Dis*, 5 (1999) 607
- [355] A. Limone Britton, E. Jacob Sharon, *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 45 (2018) 21
- [356] F.C. Tenover, J.W. Biddle, M.V. Lancaster, *Emerging Infectious Diseases*, 7 (2001) 327
- [357] M.N. Seyyed Mousavi, B. Mehramuz, J. Sadeghi, et al., *Microbial Pathogenesis*, 111 (2017) 503
- [358] K.B. R. Köck, B. Cookson, J. E. Gemert-Pijnen, S. Harbarth, J. Kluytmans, M. Mielke, G. Peters, R. L. Skov, M. J. Struelens, E. Tacconelli, W. Witte, A. W. Friedrich, *Eurosurveillance*, 19 (2014) 23
- [359] M.M. Levine, *The New England journal of medicine*, 313 (1985) 445
- [360] J. Kugbe, N. Matsue, T. Henmi, *Journal of Hazardous Materials*, 164 (2009) 929
- [361] A. Corma, F. Rey, J. Rius, et al., *Nature*, 431 (2004) 287
- [362] M. Salavati-Niasari, *Polyhedron*, 28 (2009) 2321
- [363] V.Y. Prokofev, N.E. Gordina, T.N. Borisova, et al., *Microporous and Mesoporous Materials*, 280 (2019) 116
- [364] C. Belviso, A. Lettino, F. Cavalcante, *Molecules*, 23 (2018) 2122/1
- [365] T. Furusawa, K. Seshan, J.A. Lercher, et al., *Applied Catalysis, B: Environmental*, 37 (2002) 205
- [366] K.A. Bethke, H.H. Kung, *Journal of Catalysis*, 172 (1997) 93
- [367] E. Sayah, D. Brouri, P. Massiani, *Catalysis Today*, 218-219 (2013) 10
- [368] D. Chen, Z.-P. Qu, S.-J. Shen, et al., *Catalysis Today*, 175 (2011) 338

7.- BIBLIOGRAFÍA

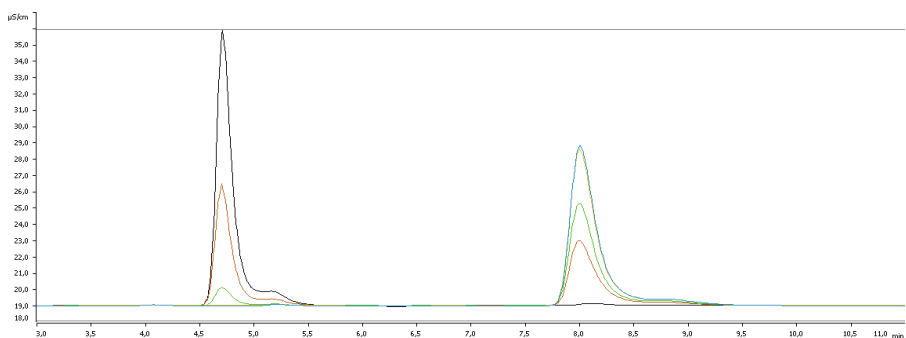
- [369] H. Berndt, M. Richter, T. Gerlach, et al., *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 94 (1998) 2043
- [370] C. Prestipino, C. Lamberti, A. Zecchina, et al., *Studies in Surface Science and Catalysis*, 142B (2002) 1963
- [371] N.S. Flores-Lopez, J. Castro-Rosas, R. Ramirez-Bon, et al., *Journal of Molecular Structure*, 1028 (2012) 110
- [372] R. Seifert, R. Rytz, G. Calzaferri, *Journal of Physical Chemistry A*, 104 (2000) 7473
- [373] P.A. Jacobs, B. Uytterhoeven Jan, H.K. Beyer, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 75 (1979) 56
- [374] T. Miyanaga, H. Hoshino, H. Endo, et al., *Journal of Synchrotron Radiation*, 6 (1999) 442
- [375] T. Miyanaga, H. Hoshino, H. Endo, *Journal of Synchrotron Radiation*, 8 (2001) 557
- [376] T. Yamamoto, S. Takenaka, T. Tanaka, et al., *Journal of Physics: Conference Series*, 190 (2009)
- [377] Y. Petit de Pena, W. Rondon, *American Journal of Analytical Chemistry*, 4 (2013) 387
- [378] A. Said, H. Nouali, L. Limousy, et al., *Comptes Rendus Chimie*, 19 (2016) 486
- [379] L.M. Prescott, J.P. Harley, D.A. Klein, MICROBIOLOGÍA, McGraw Hill - Interamericana de España (2010), 9788448605254
- [380] G. Bertini, S. Elia, F. Ceciari, et al., *Early Human Development*, 89 (2013) 21
- [381] A.M. Pereyra, M.R. Gonzalez, V.G. Rosato, et al., *Progress in Organic Coatings*, 77 (2014) 213
- [382] J. Ponton, M.D. Moragues, J. Gene, et al., *Revista Iberoamericana de Micología*, (2002) 1
- [383] C. Alexopoulos, C.W. Mims, M.M. Blackwell, INTRODUCTORY MYCOLOGY, 4th, Wiley & Sons (1996), 978-0-471-52229-4
- [384] R. Renneberg, BIOTECNOLOGIA PARA PRINCIPIANTES, 1st, Reverte (2008), 978-8429174830
- [385] I.A.V. Cordoba, M. del Socorro Yepes Perez, O.S.R. Villadiego, *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6 (2004) 31
- [386] S. Gómez, D. Amaya, C. Maldonado, et al., *Revista Internacional de contaminación ambiental*, 24 (2008) 93
- [387] J. Chander, M. Jayant, K. Bala, et al., *Rev Iberoam Micol*, 32 (2015) 93
- [388] R. Garcia-Agudo, P. Garcia-Martos, *Nefrología : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia*, 29 (2009) 506
- [389] R. Tormo-Molina, A. Gonzalo-Garijo Maria, S. Fernandez-Rodriguez, et al., *Rev Iberoam Micol*, 29 (2012) 227
- [390] M.B. Pérez-Gago, L. Palou, ANTIMICROBIAL PACKAGING FOR FRESH AND FRESH-CUT FRUITS AND VEGETABLES, S. Pareek, FRESH-CUT FRUITS AND VEGETABLES, CRC Press (2016), 50
- [391] Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo - Alcance, causas y prevención, J. Gustavsson, C. Cederberg, U. Sonneson, et al. (2012)
- [392] U.K. Parjo, N.M. Sunar, A.M. Leman, et al., *Conf. Series: Materials Science and Engineering* 160 (2016) 012051

- [393] P.C.R. Fontes, M.A. Moreira, R.L.F. Fontes, et al., *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 30 (1999) 1847
- [394] Citrus Fruit - Fresh and Processed. Statistical Bulletin, FAO (2017)
- [395] F.S. Davies, L.G. Albrigo, CITRICOS, *Acribia* (1994), 978-84-2000-8899
- [396] I. Viñas, N. Teixidó, M. Abadias, et al., *Phytohemeroteca*, 173 (2005)
- [397] M. Marcet-Houben, A. Ballester, B.d.l. Fuente, et al., *BMC Genomics*, 13 (2012) 646
- [398] L. Palou, J. Smilanick, C. Montesinos-Herrero, et al., PENICILLIUM DIGITATUM, PENICILLIUM ITALICUM (GREEN MOLD, BLUE MOLD), S. Bautista-Baños, POSTHARVEST DECAY, CONTROL STRATEGIES, *Academic Press* (2014), 394
- [399] G. Visintin, I. Gioco, B. García, et al., *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 34 (2007) 229
- [400] J.M.M. Fischer, D.C. Savi, R. Aluizio, et al., *Plant Pathology*, 66 (2017) 423

ANEXOS

ANEXO I

Representación gráfica de un cromatograma típico de la reacción de eliminación catalítica de bromatos, donde en el eje de abscisas se representa el tiempo (min) y en el eje de ordenadas la concentración (ppm) de cada analito. De esta manera, se puede observar como los bromatos aparecen entre 4,5 y 5 minutos, mientras que los bromuros aparecen aproximadamente entre 8 y 8,5 minutos.



ANEXO II

Índice de tablas

<i>Tabla 1.1: Índice de producción de desechos por la industria [9]</i>	14
<i>Tabla 1.2: Los doce principios de la Química Verde [10]</i>	15
<i>Tabla 1.3: Los doce principios de la Ingeniería Verde [14]</i>	16
<i>Tabla 1.4: Algunos de los procesos químicos producidos mediante catalizadores heterogéneos</i>	26
<i>Tabla 1.5: Disposición del agua dulce [40]</i>	29
<i>Tabla 1.6: Concentración de bromatos en diferentes tipos de agua en distintos países [57]</i>	37
<i>Tabla 1.7: Análisis bibliográfico de la reducción catalítica de bromatos en agua empleando H₂ como agente reductor</i>	54
<i>Tabla 1.8: Productos textiles comerciales con propiedades biocidas basados en plata</i>	78
<i>Tabla 4.1: Contenido en Pd (% - ICP-AES,) área superficial (BET) y área externa (t-plot) de los catalizadores Pd-Al₂O₃</i>	155
<i>Tabla 4.2: Contenido en Pd medido por ICP-AES y composición química medida por EDS (% en peso) de los catalizadores</i>	162
<i>Tabla 4.3: Contenido en Pd y propiedades texturales de los diversos catalizadores reducidos</i>	177
<i>Tabla 4.4: Contenido en Pd medido por ICP-AES y composición química medida por EDS (% en peso) de los catalizadores preparado con distintos precursores</i>	184
<i>Tabla 4.5: Números de coordinación (NC) y distancias entre átomos vecinos (R) obtenidos a partir del estudio de la parte EXAFS de los tres catalizadores</i>	194
<i>Tabla 4.6: Tamaño de partícula (nm) y dispersión (%) de los tres catalizadores estudiados a partir de medidas TEM</i>	197
<i>Tabla 4.7: Contenido en Pd (ICP-AES), área superficial (BET), área externa (t-plot) y volumen total de poro de diversos catalizadores con 1% en Pd</i>	201
<i>Tabla 4.8: Contenido en Pd medido por ICP-AES y composición química medida por EDS (% en peso) de los catalizadores reducidos 1%Pd/Al₂O₃</i>	203
<i>Tabla 4.9: Tamaño de partícula y dispersión metálica de los catalizadores 1%Pd/Al₂O₃_red medido por TEM</i>	205
<i>Tabla 4.10: Propiedades texturales del soporte ACFs y de los catalizadores preparados</i>	215
<i>Tabla 4.11: Composición química de los catalizadores medidos mediante EDS</i>	219
<i>Tabla 4.12: Dispersión metálica y tamaño medio de partícula (nm) de los catalizadores con distinta carga metálica medido por quimisorción de CO (a) y por STEM (b)</i>	222
<i>Tabla 4.13: Parámetros optimizados del ajuste de la señal EXAFS de la referencia de Pd y del catalizador 5%Pd/ACF</i>	228
<i>Tabla 4.14: Moles Pd, TOF, tamaño de partícula, dispersión, moles Pd disponible y TOF* de los tres catalizadores estudiados calculado con datos de quimisorción CO</i>	231

ANEXO II: Índice de tablas

<i>Tabla 5.1: Valores de área superficial BET determinados por adsorción-desorción de N₂^o y Ar^b.....</i>	<i>247</i>
<i>Tabla 5.2: Composición química de las distintas zeolitas LTA utilizadas medido por ICP-AES (a) y por EDS (b).....</i>	<i>250</i>
<i>Tabla 5.3: Resultado del ajuste de los parámetros EXAFS de las zeolitas Ag-LTA.....</i>	<i>260</i>
<i>Tabla 5.4: Composición química Ag-FAU, obtenida mediante ICP-AES (a) y EDS (b). 270</i>	<i>270</i>
<i>Tabla 5.5: Composición química de distintas zeolitas con Ag estudiadas.....</i>	<i>277</i>
<i>Tabla 5.6: Composición de las mezclas.....</i>	<i>289</i>
<i>Tabla 5.7: Composición de las mezclas y resultados bactericidas en aplicación polimérica.....</i>	<i>292</i>
<i>Tabla 5.8: Porcentaje de Ag liberado medido por GFAAS y efectividad bactericida frente a S.aureus de diversas matrices de polipropileno conteniendo Ag-zeolita.....</i>	<i>294</i>
<i>Tabla 5.9: Composición química de los materiales zeolíticos empleados.....</i>	<i>298</i>
<i>Tabla 5.10: Contenido de Ag (%) de los tratamientos empleados que produce inhibición > 80%.....</i>	<i>304</i>
<i>Tabla 5.11: Contenido de Ag (%) de los tratamientos empleados con zeolitas con bajo contenido en plata.....</i>	<i>305</i>
<i>Tabla 5.12: Composición química de las diferentes hidrotalcitas sintetizadas (ICP-AES) y contenido en C determinado por análisis elemental.....</i>	<i>306</i>
<i>Tabla 5.13: Composición básica de las formulaciones comestibles (% en peso).....</i>	<i>320</i>
<i>Tabla 5.14: Composición básica de las formulaciones comestibles (% en peso).....</i>	<i>330</i>
<i>Tabla 5.15: Composición de las formulaciones comestibles (% en peso).....</i>	<i>343</i>

ANEXO III

Índice de figuras

<i>Figura 1.1: Los tres pilares fundamentales del Desarrollo Sostenible [13]</i>	17
<i>Figura 1.2: Objetivos de Desarrollo Sostenible para el periodo 2015-2030, ONU</i>	18
<i>Figura 1.3: Personal investigador contratado por la Industria Química respecto al total industrial [22]</i>	19
<i>Figura 1.4: Toneladas de gases con efecto invernadero emitidos a la atmósfera por tonelada de producto generado en el sector químico español [23]</i>	19
<i>Figura 1.5: Kg de residuos generados por tonelada de producto producido en el sector químico español [23]</i>	20
<i>Figura 1.6: Diagrama de energía potencial para una reacción catalítica y una no catalítica</i>	21
<i>Figura 1.7: Cantidad de catalizadores utilizados por la industria (kilotoneladas) y los ingresos generados por el mercado de catalizadores (USD). Datos 2013 [28]</i>	23
<i>Figura 1.8 Distribución mundial del mercado de catalizadores por sectores. Datos 2013 [28]</i>	24
<i>Figura 1.9: Ejemplos de catálisis homogénea utilizados actualmente [30]</i>	25
<i>Figura 1.10: Ingresos por catalizadores utilizados por la industria (USD). Datos 2013 [28]</i>	27
<i>Figura 1.11: Cuota de mercado global de cada tipo de catalizador [33]</i>	28
<i>Figura 1.12: Ciclo hidrológico del agua [41]</i>	30
<i>Figura 1.13: Usos del agua por sectores [40]</i>	31
<i>Figura 1.14: Gasto de agua por sectores entre 1983 y 2012 en España [42]</i>	31
<i>Figura 1.15: Reacciones de formación de bromatos en la ozonización de aguas que contienen bromuros [50, 63]</i>	36
<i>Figura 1.16: Mapa del área contaminada en 2006 del acuífero Chalk [65]</i>	37
<i>Figura 1.17: Muestreo de bromatos en aguas potables en España (izquierda) y concentración media de bromatos en España de 2003 a 2015 (derecha). FUENTE: Ministerio de Sanidad</i>	38
<i>Figura 1.18: Esquema adsorción disociativa de H₂ en catalizadores de Pd soportado [115]</i>	49
<i>Figura 1.19: Esquema del tratamiento de diferentes contaminantes del agua con catalizadores de Pd y usando hidrógeno como agente reductor [116]</i>	50
<i>Figura 1.20: Precio medio anual de onza de Pd (izquierda) y distribución del consumo de Pd mundial por áreas (derecha)</i>	61
<i>Figura 1.21: Estrategias para inmovilizar agentes biocidas en diferentes materiales [155]</i>	65
<i>Figura 1.22: Demanda de plata por sectores en 2017</i>	71
<i>Figura 1.23: Modos de actuación de los cationes Ag⁺ sobre células de microorganismos</i>	76
<i>Figura 1.24: Mecanismos de acción de AgNPs y Ag⁺[182]</i>	76

ANEXO III: Índice de figuras

<i>Figura 1.25: Descripción gráfica de la actuación de Agion® (Imagen adaptada de Agion)</i>	81
<i>Figura 3.1: Red cristalina de la zeolita LTA vista desde <001> [255]</i>	98
<i>Figura 3.2: Anillos de 8 miembros de la zeolita LTA, vistos desde <100>[255]</i>	98
<i>Figura 3.3: Sistema de canales y cavidades de la zeolita LTA [255]</i>	98
<i>Figura 3.4: Esquema del programa de calcinación empleado en la síntesis de zeolitas</i>	100
<i>Figura 3.5: Red cristalina de la zeolita FAU vista desde <111> [255]</i>	101
<i>Figura 3.6: Anillos de 12 miembros de la zeolita FAU, vistos desde <111>[255]</i>	101
<i>Figura 3.7: Sistema de canales y cavidades de la zeolita FAU [255]</i>	101
<i>Figura 3.8: Red cristalina de la zeolita CHA vista desde <111> [255]</i>	102
<i>Figura 3.9: Sistema de canales y cavidades de la zeolita CHA [255]</i>	103
<i>Figura 3.10: Red cristalina de la zeolita BEA vista desde <100> [255]</i>	105
<i>Figura 3.11: Anillos de 12 miembros de la zeolita BEA, vistos desde <001> [255]</i>	105
<i>Figura 3.12: Sistema de canales de la zeolita BEA [255]</i>	105
<i>Figura 3.13: Red cristalina de la zeolita MFI vista desde <100> [255]</i>	106
<i>Figura 3.14: Anillos de 10 miembros de la zeolita MFI, vistos desde <010> [255]</i>	106
<i>Figura 3.15: Sistema de canales de la zeolita MFI [255]</i>	107
<i>Figura 3.16: Esquema del programa de calcinación empleado</i>	109
<i>Figura 3.17:Esquema del programa de reducción</i>	110
<i>Figura 3.18: Esquema experimental de la línea CLÆSS en la fuente de luz sincrotrón ALBA</i>	123
<i>Figura 3.19: Imágenes celda sólido-gas</i>	124
<i>Figura 3.20: Imágenes celda sólido-líquido</i>	124
<i>Figura 3.21: Microscopía electrónica. Diferentes procesos físicos tras la interacción del haz de electrones con la muestra</i>	126
<i>Figura 3.22: Imágenes tomadas por el microscopio de barrido acoplado a FIB durante la preparación de las lamelas (a-c: ~x2000; d: x400; e:x10000)</i>	132
<i>Figura 3.23: Esquema del sistema del reactor discontinuo de tanque agitado utilizado</i>	134
<i>Figura 3.24: Esquema electrodo selectivo de iones</i>	136
<i>Figura 3.25: Cromatógrafo iónico</i>	138
<i>Figura 3.26: Dibujo esquemático de la mezcladora interna intensiva por cargas</i>	140
<i>Figura 3.27: Inoculación del hongo en naranjas</i>	143
<i>Figura 3.28: Aplicación gota acuosa en la herida infectada de una naranja</i>	144
<i>Figura 3.29: Recubrimiento manual de la formulación comestible</i>	145
<i>Figura 4.1: Porcentaje en peso de Pd de los catalizadores soportados sobre γ-Al₂O₃</i>	153
<i>Figura 4.2: Isotermas de adsorción de N₂ del soporte (Al₂O₃) y de los catalizadores con diferente contenido en Pd</i>	154
<i>Figura 4.3: Difractogramas de rayos X de 7%Pd/Al₂O₃(ap), del Al₂O₃ y de AlCl₃</i>	156
<i>Figura 4.4: Difractogramas de rayos X de 7%Pd/Al₂O₃ en las distintas etapas de preparación</i>	157
<i>Figura 4.5: Difractogramas de rayos X de los catalizadores Pd/Al₂O₃ tras la reducción</i>	158

Figura 4.6: Dispersión metálica y tamaño de partícula de los catalizadores Pd/Al ₂ O ₃ , medido por quimisorción de CO.....	159
Figura 4.7: Imágenes FESEM catalizadores 2,5% (izq.), 5% (ctro.) y 7% (der.) Pd sobre Al ₂ O ₃	159
Figura 4.8: Imagen FESEM del catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃ (ap) y mapeo mediante EDS de los elementos O (rojo), Al(amarillo), Pd (azul) y Cl (verde).....	160
Figura 4.9: Imagen FESEM del catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃ (calc) y mapeo mediante EDS de los elementos O (rojo), Al(amarillo), Pd (azul) y Cl (verde).....	161
Figura 4.10: Imagen FESEM del catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃ (red) y mapeo mediante EDS de los elementos O (rojo), Al(amarillo), Pd (azul) y Cl (verde).....	161
Figura 4.11: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al ₂ O ₃ y distribución de tamaño de partícula.....	163
Figura 4.12: Imágenes STEM del catalizador 2,5%Pd/Al ₂ O ₃ y distribución de tamaño de partícula.....	164
Figura 4.13: Imágenes STEM del catalizador 5%Pd/Al ₂ O ₃ y distribución de tamaño de partícula.....	164
Figura 4.14: Imágenes STEM del catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃ y distribución de tamaño de partícula.....	164
Figura 4.15: Dispersión metálica y tamaño de partícula de los catalizadores Pd-Al ₂ O ₃ , medido por TEM.	165
Figura 4.16: Moles bromato y bromuro a distintos tiempos de reacción (no catalítica).....	167
Figura 4.17: Reacción de reducción de bromatos en agua empleando H ₂ como agente reductor sin catalizador, con 0,05g Al ₂ O ₃ , con 0,05g 7%Pd/Al ₂ O ₃ (sin activar) o con 0,05g 7%Pd/Al ₂ O ₃ (red) activado (50 ppm bromatos, 0,6 L, T _{amb} y P _{atm}).....	168
Figura 4.18: Conversión de bromatos tras 2,5 min de reacción a diferentes velocidades de agitación (50 ppm BrO ₃ ⁻ iniciales, 0,05 g catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃ (red), 0,6 L, T _{amb} y P _{atm}).....	169
Figura 4.19: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores Pd/Al ₂ O ₃ (red) con distinto % de Pd (50 ppm BrO ₃ ⁻ iniciales, 0,05 g catalizador, 0,6 L, T _{amb} y P _{atm}).....	170
Figura 4.20: TOF vs. tamaño de partícula de los diferentes catalizadores medido por TEM (morado) y Quimisorción CO (rojo).....	171
Figura 4.21: Representación del TOF*, tamaño de partícula y dispersión metálica de los catalizadores Pd-Al ₂ O ₃ medida por quimisorción de CO.....	172
Figura 4.22: Esquema de la reducción catalítica de bromato o ciclo catalítico.....	174
Figura 4.23: moles de BrO ₃ ⁻ , Br ⁻ y totales en la disolución tras 10 min de reacción en 6 reusos consecutivos (50 ppm BrO ₃ ⁻ , 0,6 L, ~ 0,05 g cat., P _{atm} y T _{amb}) con el catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃	175
Figura 4.24: Difractogramas del catalizador 7%Pd/Al ₂ O ₃ tras la activación (abajo) y después de reacción (arriba).....	176
Figura 4.25: Isotermas de adsorción de N ₂ del soporte (Al ₂ O ₃) y de los catalizadores 7%Pd/Al ₂ O ₃ preparados con diversos precursores.....	178
Figura 4.26: Difractogramas del soporte Al ₂ O ₃ y de los catalizadores 7%Pd/Al ₂ O ₃ (ap) impregnados con diferentes sales.....	179

ANEXO III: Índice de figuras

<i>Figura 4.27: Difractogramas del PdO y de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(calc) preparados con diferentes precursores</i>	180
<i>Figura 4.28: Difractogramas del Pd metálico y de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados empleando diferentes precursores</i>	181
<i>Figura 4.29: Perfiles TPR de los catalizadores con 7% Pd en peso, preparados con los diferentes precursores: cloruro (azul), acetato (rojo) y nitrato (verde)</i>	182
<i>Figura 4.30: Análisis elemental de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃ preparados mediante Pd(NO₃)₂ y Pd(OAc)₂ en las diferentes etapas de preparación</i>	185
<i>Figura 4.31: Imágenes TEM de los catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados mediante cloruro (izq.), nitrato (centro) y acetato (der.)</i>	186
<i>Figura 4.32: Distribución tamaño partícula de Pd en los catalizadores preparados mediante nitrato (izq.), acetato (der.) y cloruro (abajo)</i>	187
<i>Figura 4.33: Distancias interplanares en las nanopartículas de Pd obtenidas por HRTEM para el catalizador 7%Pd/Al₂O₃(Ac)_red.</i>	188
<i>Figura 4.34: Espectro XANES de los patrones (izquierda) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS de los mismos compuestos (derecha)</i>	189
<i>Figura 4.35: Espectro XANES normalizado de los catalizadores con 7% Pd preparados con tres precursores distintos (izq.) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS (dcha.)</i>	191
<i>Figura 4.36: Espectro XANES normalizado del catalizador 7%Pd/Al₂O₃ preparado a partir de PdCl₂ a distintas temperaturas de calcinación (izq.) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS (dcha.)</i>	192
<i>Figura 4.37: Espectro XANES normalizado de los catalizadores con 7% Pd preparado con tres precursores distintos reducidos a 25 °C (arriba izq.) y a 200 °C(abajo izq) y transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS de los catalizadores (dcha.)</i>	193
<i>Figura 4.38: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados a partir de tres precursores diferentes (50 ppm BrO₃⁻ iniciales, 0,05 g catalizador, 0,6 L, T_{amb} y P_{atm})</i>	196
<i>Figura 4.39: moles de BrO₃⁻ (colores oscuros), Br⁻ (colores claros) y totales (línea) en la disolución tras 10 min de reacción en 3 reúsos consecutivos empleando catalizadores 7%Pd/Al₂O₃(red) preparados con distintos precursores (50 ppm BrO₃⁻, 0,6 L, ~ 0,05 g cat., P_{atm} y T_{amb})</i>	198
<i>Figura 4.40: Imagen FESEM catalizador 7%Pd/Al₂O₃(N)_red tras 3 reúsos. En la izq. Se muestra la imagen obtenida con el detector de electrones secundarios y a la dcha. la imagen obtenida con el detector de electrones retrodispersados.</i>	199
<i>Figura 4.41: Difractogramas de los catalizadores 1%Pd/Al₂O₃(red) preparados con tres precursores distintos</i>	202
<i>Figura 4.42: Perfiles TPR de los catalizadores con 1% Pd en peso</i>	203
<i>Figura 4.43: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃(N) y distribución de tamaño de partícula</i>	204
<i>Figura 4.44: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃(Cl) y distribución de tamaño de partícula</i>	204
<i>Figura 4.45: Imágenes STEM del catalizador 1%Pd/Al₂O₃(Ac) y distribución de tamaño de partícula</i>	205

Figura 4.46: Área metálica, dispersión y tamaño de partícula calculado mediante quimisorción de CO para los catalizadores 1%Pd/Al ₂ O ₃ preparados con distintos precursores de Pd	206
Figura 4.47: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores 1%Pd/Al ₂ O ₃ (red) preparados a partir de tres precursores diferentes (50 ppm BrO ₃ ⁻ iniciales, 0,05 g catalizador, 0,6 L, T _{amb} y P _{atm})	207
Figura 4.48: Representación del TOF* frente a la dispersión y el tamaño de partícula medido por TEM de los catalizadores 1%Pd/Al ₂ O ₃ preparados mediante diferentes precursores de Pd	208
Figura 4.49: Actividad catalítica del catalizador 1%Pd/Al ₂ O ₃ (N)_red en reacciones con 50 ppm y 100 ppm de bromatos iniciales (0,05 g catalizador, 0,6 L, T _{amb} y P _{atm}).....	210
Figura 4.50: Eliminación de bromatos y producción de bromuros en reacciones con 50 ppm y 100 ppm de bromatos iniciales (0,05 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm, catalizador 1%Pd/Al ₂ O ₃).....	210
Figura 4.51: Datos de la reducción de bromatos (50 ppm BrO ₃ ⁻) ajustados al modelo cinético de pseudo-primer orden	211
Figura 4.52: Datos de la reducción de bromatos (100 ppm) ajustados al modelo cinético de pseudo-primer orden	211
Figura 4.53: Isotermas de adsorción de N ₂ del soporte (ACF) y catalizadores con diferentes contenidos en Pd	215
Figura 4.54: Imagen FESEM (x50) del ACFs antes de la incorporación del Pd (izq.), del catalizador 0,25%Pd/ACF(red) (centro) y del catalizador 1%Pd/ACF(red) (dcha.)....	217
Figura 4.55: Imágenes FESEM (x200) de los catalizadores 1%, 0.5% y 0,25%Pd/ACF(red) a aumentos similares	217
Figura 4.56: Imágenes FESEM a distintos aumentos (x50, x200 y x300) del catalizador 1%Pd/ACF(red)	218
Figura 4.57: Imagen TEM del catalizador 0,25%Pd/ACF(red).....	219
Figura 4.58: Imágenes STEM de las lamelas preparadas mediante FIB de los catalizadores 0,25%Pd/ACF(red) (izq.) y 1%Pd/ACF(red) (dcha.).....	220
Figura 4.59: Imagen HRTEM de una de las partículas formadas en la lamela del catalizador 0,25%Pd/ACF(red).....	221
Figura 4.60: Señal XPS del catalizador 1%Pd/ACF(red) donde aparecen los picos relacionados con Pd 3d, además de la deconvolución del pico Pd 3d _{5/2}	223
Figura 4.61: Espectro XAS normalizado del catalizador 5%Pd/ACF durante las diversas etapas de preparación del catalizador.....	225
Figura 4.62: Transformada de Fourier (FT) de la señal EXAFS del catalizador 5%Pd/ACF en las diferentes etapas de preparación	227
Figura 4.63: Espectro XAS normalizado del catalizador 5%Pd/ACF(red) previamente a su utilización (azul) y en contacto durante 10 min con el medio de reacción (verde).....	229
Figura 4.64: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizadores ACFs, 0,5%Pd/ACF y 0,5%Pd/ACF(red) (50 ppm BrO ₃ ⁻ iniciales, 0,5 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm).....	230
Figura 4.65: Eliminación catalítica de bromatos empleando los catalizadores 0,25%Pd/ACF, 0,5%Pd/ACF y 1%Pd/ACF reducidos (50 ppm BrO ₃ ⁻ , 0,5 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm)	231

ANEXO III: Índice de figuras

<i>Figura 4.66: Eliminación catalítica de bromatos empleando catalizador 1%Pd/ACF(red) con tres masas de catalizador distintas (50 ppm BrO₃⁻ iniciales,, 0,6 L, Tamb y Patm)</i>	233
<i>Figura 4.67: Eliminación catalítica de bromatos empleando el catalizador 1%Pd/ACF(red) con tres [BrO₃⁻] iniciales diferentes 50, 100 y 150 ppm (0,5 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm).</i>	234
<i>Figura 4.68: Eliminación catalítica de bromatos empleando el catalizador 0,5%Pd/ACF(red) con tres presiones parciales de H₂ diferentes 1; 0,5 y 0,25 atm (50 ppm BrO₃⁻ iniciales, 0,5 g catalizador, 0,6 L, Tamb y Patm).</i>	235
<i>Figura 4.69: Eliminación catalítica de bromatos empleando el catalizador 1%Pd/ACF en 4 reacciones sucesivas (0,5g catalizador, 50 ppm bromatos, 0,6 L, Patm y Tamb)</i>	236
<i>Figura 4.70: Imágenes FESEM del catalizador 1%Pd/ACF antes de su utilización en reacción (izq.) y tras su uso en reacción (dcha.).</i>	237
<i>Figura 5.1: Difractogramas de los materiales basados en LTA-1 con diferente contenido en Ag (de abajo a arriba de menos a más contenido en plata)</i>	244
<i>Figura 5.2: Difractogramas de los materiales basados en LTA-2 con diferente contenido en Ag (de abajo a arriba de menos a más contenido en plata)</i>	245
<i>Figura 5.3: Difractogramas de los materiales basados en LTA-5 con diferente contenido en Ag (de abajo a arriba de menos a más contenido en plata)</i>	245
<i>Figura 5.4: Imágenes FESEM de las zeolitas LTA con distinta relación Si/Al previamente al intercambio catiónico a 2000 aumentos (izq.) y a 5000 aumentos (dcha.), excepto LTA-5 a 5000 aumentos (izq.) y a 8000 aumentos (dcha)</i>	248
<i>Figura 5.5: Imágenes FESEM de las zeolitas LTA con distinta relación Si/Al (1,2 y 5 de arriba a abajo). De izq. a dcha.: zeolitas sódicas, 100% intercambiadas y con un 2% en peso de Ag.</i>	249
<i>Figura 5.6: Imágenes FESEM de zeolitas con distinto contenido en Ag (48,4% Ag en LTA_{Ag-1_100%} y 1,8% Ag en LTA_{Ag-1}) a 10000 aumentos y mapeo elemental de plata (puntos azules).</i>	249
<i>Figura 5.7: Imágenes STEM de la zeolita LTA_{Ag-5_100%} en modo HAADF.</i>	251
<i>Figura 5.8: Imagen STEM de la zeolita LTA_{Ag-5_100%} junto con el mapeo elemental de la imagen (Si-verde, Al-azul, O-amarillo y Ag-rojo)</i>	251
<i>Figura 5.9: Imágenes STEM a diferentes aumentos de la zeolita LTA_{Ag-5_100%}.</i>	252
<i>Figura 5.10: Imágenes STEM a diferentes aumentos de la zeolita LTA_{Ag-5_100%}.</i>	253
<i>Figura 5.11: Perfiles H₂-TPR de las tres muestras LTA completamente intercambiadas</i>	254
<i>Figura 5.12: Espectros UV-visible de las zeolitas LTA_{Ag-1_100%} a temperatura ambiente (RT), y a temperatura ambiente tras calcinar a 400 °C (400-RT).</i>	257
<i>Figura 5.13: Espectro UV-visible de la zeolita LTA_{Ag-2_100%} a temperatura ambiente (RT), y a temperatura ambiente tras calcinar a 400 °C (400-RT)</i>	258
<i>Figura 5.14: Espectro UV-visible de la zeolita LTA_{Ag-5_100%} a temperatura ambiente (RT), y a temperatura ambiente tras calcinar a 400 °C (400-RT)</i>	258
<i>Figura 5.15: A la izquierda, espectro XAS de las muestras LTA intercambiadas totalmente con plata y los patrones Ag(0) y Ag(I) a temperatura ambiente y</i>	

<i>atmósfera inerte (He). A la derecha, primera derivada de la señal XAS de las mismas muestras y referencias.</i>	259
<i>Figura 5.16: En la parte izquierda, espectros XANES medidos durante el tratamiento térmico en atmósfera de He de LTAAG-1_100%, LTAAG-2_100% y LTAAG-5_100%. En la parte derecha, señal EXAFS de las mismas muestras.</i>	262
<i>Figura 5.17: MIC de la LTAAG-1_100% en PW y TSB frente E.coli y S.aureus.</i>	264
<i>Figura 5.18: Actividad bactericida de zeolitas LTAAG-1 con distinto contenido en Ag empleando TSB como medio de cultivo.</i>	265
<i>Figura 5.19: Actividad bactericida (MIC) frente al contenido en Ag de las zeolitas LTAAG-1.</i>	266
<i>Figura 5.20: Porcentaje de plata y actividad bactericida en TSB de las zeolitas LTA-Ag con distinta relación Si/Al.</i>	267
<i>Figura 5.21: Actividad bactericida de zeolitas LTAAG intercambiadas al 100% en TSB calcinadas y sin calcinar.</i>	269
<i>Figura 5.22: Difractogramas de los materiales basados en FAU-1,3 con diferente contenido en plata (de abajo a arriba de menos a más contenido en Ag).</i>	271
<i>Figura 5.23: Difractogramas de los materiales basados en FAU-2,4 con diferente contenido en plata (de abajo a arriba de menos a más contenido en Ag).</i>	272
<i>Figura 5.24: Imágenes FESEM de la zeolita FAU-2,4. A la izquierda la zeolita sódica (FAU-2,4) y a la derecha la intercambiada con Ag (FAUAg-2,4).</i>	272
<i>Figura 5.25: Perfiles TPR de las muestras FAUAg-1,3_100% y FAUAg-2,4_100%.</i>	273
<i>Figura 5.26: Porcentaje en peso de Ag y actividad bactericida de las FAUAg_100% con diferente relación Si/Al en TSB y.</i>	275
<i>Figura 5.27: Porcentaje en peso de Ag y actividad bactericida de las zeolitas Na-FAU y Ag-FAU en TSB y.</i>	276
<i>Figura 5.28: Actividad bactericida de diversas zeolitas con Ag en TSB.</i>	278
<i>Figura 5.29: Estructura de la pared celular de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.</i>	280
<i>Figura 5.30: Estudio lixiviación de Ag en medio PW durante 1 día en estático con zeolitas con 2% en peso de Ag.</i>	282
<i>Figura 5.31: Imágenes TEM de la muestra control: S.aureus en PW.</i>	283
<i>Figura 5.32: Imágenes TEM de la muestra problema: FAUAg-2,4 + S.Aureus en PW.</i>	284
<i>Figura 5.33: Imágenes HRTEM de la muestra control: S.aureus en PW.</i>	284
<i>Figura 5.34: Imagen HRTEM de la muestra problema: FAUAg-2,4 + S.aureus en PW.</i>	285
<i>Figura 5.35: Mapeo de la muestra problema (S.aureus + FAUAg-2,4).</i>	286
<i>Figura 5.36: Mapeo de la muestra problema (S.aureus + FAUAg-2,4), foto ampliada.</i>	287
<i>Figura 5.37: Planchas preparadas con distinto % de Ag-zeolitas.</i>	289
<i>Figura 5.38: MIC de las zeolitas in vitro; % reducción de UFC para las mismas zeolitas incorporadas al 0,2% en el polímero (frente a S.aureus), in vivo.</i>	291
<i>Figura 5.39: Actividad bactericida según el valor R de varias zeolitas con HALS, y % de Ag en peso de cada una.</i>	293
<i>Figura 5.40: Fotografías de las planchas poliméricas con zeolitas en presencia y ausencia de HALS.</i>	293

ANEXO III: Índice de figuras

<i>Figura 5.41: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de LTA_{Ag-1}_100% (48,4% en peso Ag)</i>	<i>299</i>
<i>Figura 5.42: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de LTA_{Ag-1} (1,8% en peso Ag).....</i>	<i>300</i>
<i>Figura 5.43: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de FAU_{Ag-2,4}_100% (30,6% en peso de Ag)</i>	<i>300</i>
<i>Figura 5.44: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando distintas concentraciones de FAU_{Ag-2,4} (1,3% en peso Ag).....</i>	<i>301</i>
<i>Figura 5.45: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando zeolita LTA-1 con distinto contenido de Ag.....</i>	<i>302</i>
<i>Figura 5.46: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando zeolitas FAU-2,4 con distinto contenido de Ag.....</i>	<i>303</i>
<i>Figura 5.47: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distinto hongos empleando 0,1% de zeolitas LTA_{Ag-1} y FAU_{Ag-2,4}.....</i>	<i>305</i>
<i>Figura 5.48: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnAl_Sorb.....</i>	<i>307</i>
<i>Figura 5.49: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnAl_Benz</i>	<i>307</i>
<i>Figura 5.50: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnFe_Sorb</i>	<i>308</i>
<i>Figura 5.51: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando varias concentraciones de HT-ZnFe_Benz.....</i>	<i>308</i>
<i>Figura 5.52: Porcentajes de inhibición del crecimiento de distintos hongos empleando 0,1%HT</i>	<i>309</i>
<i>Figura 5.53: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control y el contenido en Ag de la formulación.....</i>	<i>314</i>
<i>Figura 5.54: Imágenes de las naranjas tras los 7 días de incubación a 20 C y humedad relativa del 90% de las muestras control (izq.) y de las naranjas tratadas con 5%_LTA_{Ag-1}.....</i>	<i>315</i>
<i>Figura 5.55: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control y contenido en Ag de la formulación basada en LTA y FAU.</i>	<i>316</i>
<i>Figura 5.56: Imágenes de las naranjas tratadas, de izquierda a derecha: control (sin tratamiento), tratadas con 4%_LTA_{Ag-1}_100% y tratadas con 4%_FAU_{Ag-2,4}_100%</i>	<i>316</i>
<i>Figura 5.57: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control y el contenido en Zn de la formulación basada en LTA y FAU.</i>	<i>317</i>
<i>Figura 5.58: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD respecto del control de las formulaciones con 4%_HT-ZnAl con benzoato o sorbato.....</i>	<i>318</i>
<i>Figura 5.59: Imagen de una de las naranjas tratadas con 4%_FAU_{Ag-2,4}_100%, fitotoxicidad.....</i>	<i>319</i>
<i>Figura 5.60: Porcentajes de reducción de incidencia y severidad del PD de la aplicación acuosa y de la formulación comestible de LTA_{Ag-1} como gota directa sobre la herida de la naranja y contenido en Ag de cada aplicación.</i>	<i>321</i>

<i>Figura 5.61: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD de las formulaciones comestibles que contienen LTAAg-1 (F-1a) aplicado tanto como gota (drop) como recubrimiento manual (coating)</i>	<i>322</i>
<i>Figura 5.62: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible F-1c (1%), F1a (2%) junto al contenido en Ag de cada aplicación.....</i>	<i>323</i>
<i>Figura 5.63: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible con goma laca (F-2) y sin (F-1a) junto al contenido en Ag de cada aplicación.....</i>	<i>324</i>
<i>Figura 5.64: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible sin cera de abeja (F-4a) y con cera de abeja (F-4b) basados en LTAAg-1_100% junto al contenido en Ag de cada aplicación</i>	<i>325</i>
<i>Figura 5.65: Porcentajes de reducción de la incidencia y severidad del PD de las formulaciones que contienen LTAAg-1 (F-1a) y FAUAg-2,4 (F-1b) aplicadas tanto como gota (drop) como recubrimiento manual (coating).</i>	<i>327</i>
<i>Figura 5.66: Imagen de las naranjas tratadas con 3,3%_FAUAg-2,4 mediante aplicación de recubrimiento manual (F-1b).....</i>	<i>327</i>
<i>Figura 5.67: Imágenes naranjas: A-sin recubrimiento, B-recubiertas sin agente fungicida, C-recubrimiento con FAUAg-2,4, tras el secado del recubrimiento</i>	<i>328</i>
<i>Figura 5.68: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con 1% de material fungicida basado en Ag-FAU con distinta relación Si/Al (2,4 y 6) y similar contenido en Ag (2% wt.)</i>	<i>329</i>
<i>Figura 5.69: Porcentajes de reducción de la incidencia, severidad y esporulación del PD de los recubrimientos con formulación comestible F-5 con los mismos contenidos totales de Ag (AgNO₃, FAUAg-2,4 y FAUAg-2,4_20%)</i>	<i>331</i>
<i>Figura 5.70: Toma de muestras de naranjas tratadas para el estudio CrioSEM.....</i>	<i>333</i>
<i>Figura 5.71: Colocación y criogenización de muestras de naranjas tratadas para CrioSEM.....</i>	<i>334</i>
<i>Figura 5.72: Imágenes CrioSEM (x350) de la superficie sana de naranjas recubiertas mediante el detector de electrones secundarios (izq.) y el detector de electrones retrodispersados (dcha.)</i>	<i>335</i>
<i>Figura 5.73: Imágenes CrioSEM (x1000) de la superficie sana de naranjas recubiertas mediante el detector de electrones secundarios (izq.) y el detector de electrones retrodispersados (dcha.)</i>	<i>335</i>
<i>Figura 5.74: Montaje de distintas imágenes tomadas de forma continua con el detector de electrones secundarios (x75), apreciando la zona sana y la zona herida de la sección transversal de la fruta</i>	<i>336</i>
<i>Figura 5.75: Montaje de distintas imágenes tomadas de forma continua con el detector de electrones retrodispersados (x100), donde se puede apreciar la zona sana y la zona herida de la sección transversal de la fruta</i>	<i>336</i>
<i>Figura 5.76: Imágenes CrioSEM a distintos aumentos de la sección transversal de la herida.....</i>	<i>337</i>
<i>Figura 5.77: Preparación de muestras de naranjas tratadas para el estudio de FESEM, por deshidratación.....</i>	<i>338</i>

ANEXO III: Índice de figuras

<i>Figura 5.78: Imagen FESEM de zona sana de la superficie de la naranja (x 56 izq. y x300 dcha)</i>	<i>339</i>
<i>Figura 5.79: Imágenes FESEM a distintos aumentos de las inmediaciones y la propia herida de la superficie de una naranja tratada (en orden x35, x75, x100, x500, x1000 y x5000).....</i>	<i>340</i>
<i>Figura 5.80: Imágenes de frutas afectadas por la podredumbre marrón causada por MF (Fuente: CAB International, 2010).....</i>	<i>341</i>
<i>Figura 5.81: Fotografías de la inoculación del hongo MF en ciruelas.....</i>	<i>342</i>
<i>Figura 5.82: Porcentajes de reducción de incidencia, severidad y esporulación del tratamiento en forma de gota directa de la suspensión acuosa de LTAAg-1 y FAUAg-2,4, junto con el contenido en Ag.....</i>	<i>343</i>
<i>Figura 5.83: Porcentajes de reducción de incidencia, severidad y esporulación del tratamiento en forma de gota directa de distintas formulaciones comestibles basadas en 3% de LTAAg-1 y FAUAg-2,4, junto al contenido en Ag</i>	<i>345</i>
<i>Figura 5.84: Porcentajes de reducción de incidencia, severidad y esporulación del tratamiento en forma de recubrimiento manual de distintas formulaciones comestibles basadas en 3% de LTAAg-1 y FAUAg-2,4, junto al contenido en Ag.....</i>	<i>345</i>
<i>Figura 5.85: Fotografías de las ciruelas sin tratar (arriba) y con el tratamiento C-10+FAUAg-2,4 aplicado como recubrimiento manual (abajo).....</i>	<i>347</i>

ANEXO IV

Resumen en castellano

En esta Tesis Doctoral se ha estudiado el desarrollo de nuevos materiales basados en metales nobles y seminobles para su aplicación como catalizadores para su uso en tratamiento de aguas contaminadas y como aditivos con propiedades biocidas para la conservación de frutas y para recubrimiento de superficies.

En primer lugar, se pretende disminuir la concentración de bromatos en agua, que son contaminantes tóxicos y cancerígenos, mediante el uso de catalizadores que permitan su hidrogenación catalítica, transformándolos en sustancias inocuas como los correspondientes bromuros. Para ello, se han empleado diferentes catalizadores de Pd soportados en alúmina y fibras de carbón activo. Las propiedades físicas, químicas y estructurales de los catalizadores han sido relacionadas con su actividad catalítica en la hidrogenación de aniones bromato. Se ha determinado que estos catalizadores son activos a temperatura ambiente y presión atmosférica, siendo el Pd(0) la especie catalíticamente activa. Un análisis exhaustivo de los resultados ha mostrado que las nanopartículas de Pd de mayor tamaño presentan una mayor actividad intrínseca, pues facilitan la disociación del H₂ mediante la formación de las especies β-PdH, que son las especies activas en la reducción catalítica de bromatos. Sin embargo, el aumento del tamaño de partícula de Pd conlleva una disminución en su dispersión metálica sobre el soporte, por lo que se debe encontrar un óptimo entre dispersión y tamaño de partícula de Pd para alcanzar la máxima actividad de los catalizadores. Ambos factores dependen del contenido en Pd, de la sal precursora utilizada y de la naturaleza del soporte, siendo el catalizador más activo por mol de Pd, el catalizador con 1% de Pd soportado sobre

ANEXO IV: Resúmenes

Al_2O_3 y preparado a partir de PdCl_2 . Por otro lado, se ha analizado la influencia de diversas variables de reacción en la actividad catalítica, comprobándose que la velocidad de reacción se encuentra directamente relacionada con la concentración de bromatos y la presión parcial de H_2 .

En segundo lugar, se ha estudiado la capacidad biocida de distintos materiales frente a varias bacterias y hongos en ensayos in vivo e in vitro. Se ha determinado que los materiales más activos son las zeolitas intercambiadas con plata, comprobándose que el tipo de estructura zeolítica, la relación Si/Al y el contenido en plata son las variables más influyentes en la actividad biocida de los materiales. En este sentido, se ha demostrado que las zeolitas de poro grande, con supercavidades en su estructura y relación Si/Al cercana a dos son las más efectivas en todas las aplicaciones, aunque su actividad depende del tipo de organismo estudiado. Así, los mejores resultados se han obtenido con materiales basados en zeolita faujasita con plata de relación Si/Al=2,4, siendo muy efectivas con bajos contenidos en plata y pudiendo ser incorporadas a materiales poliméricos y recubrimientos comestibles, lo que permite su uso en la conservación de frutas y para dotar de propiedades biocidas a recubrimientos de superficies, tales como encimeras, material quirúrgico o embalajes.

Resumen en valenciano

En aquesta tesi Doctoral s'ha estudiat el desenvolupament de nous materials basats en metalls nobles i seminobles per a la seua aplicació com catalitzadors per l'ús en tractament d'aigües contaminades i com additius en propietats biocides per a la conservació de fruites i recobriment de superfícies.

Primerament, es pretén disminuir la concentració de bromats a l'aigua, contaminants tòxics i cancerígens, mitjançant l'ús de catalitzadors que permeten la seua hidrogenació catalítica, transformant-los en substàncies innòcues com els corresponents bromurs. Per aconseguir-ho, s'han utilitzat diferents catalitzadors de Pd suportats en alumina i fibres de carbó actiu. Les propietats físiques, químiques i estructurals dels catalitzadors han sigut relacionades amb la seua activitat catalítica en la hidrogenació d'anions bromats. S'ha determinat que aquests catalitzadors són actius a temperatura ambient i pressió atmosfèrica, sent el Pd(0) l'espècie catalíticament activa. L'anàlisi exhaustiu dels resultats ha mostrat que les nanopartícules de Pd de major grandària presenten una major activitat intrínseca, perquè faciliten la dissociació del H₂ a través de la formació de les espècies β-PdH, que són les espècies actives en la reducció catalítica de bromats. No obstant això, l'increment de la grandària de partícula de Pd comporta una disminució en la seua dispersió metàl·lica en el suport, pel que s'ha de trobar un òptim entre dispersió i grandària de partícula de Pd per arribar a la màxima activitat dels catalitzadors. Aquests dos factors depenen del contingut de Pd, de la sal precursora utilitzada i de la natura del suport, sent el catalitzador més actiu per mol de Pd, el de contingut 1% de Pd suportat en Al₂O₃ i preparat a partir de PdCl₂. Per una altra banda,

ANEXO IV: Resúmenes

s'ha analitzat la influència de diferents variables de reacció en l'activitat catalítica, comprovant-se que la velocitat de reacció es troba directament relacionada en la concentració de bromats i en la pressió parcial de H₂.

En segon lloc, s'ha estudiat la capacitat biocida de diferents materials per tractar bacteris i fongs en assajos *in vivo* i *in vitro*. S'ha determinat que els materials més actius són les zeolites intercanviades amb argent, comprovant-se que el tipus d'estructura zeolítica, la relació Si/Al i el contingut d'argent són les variables més influents en l'activitat biocida dels materials. En aquest sentit, s'ha demostrat que les zeolites de porus gran, amb supercavitats en la seua estructura i relació Si/Al propera a dos són les més efectives en totes les aplicacions, encara que l'activitat depèn molt del tipus de l'organisme estudiat. D'aquesta manera, els millors resultats han sigut obtinguts amb materials basats en la zeolita faujasita en argent amb una relació Si/Al = 2,4, gaudint de bones efectivitats inclús en baixos continguts en argent. A més a més, aquestes zeolites han pogut ser incorporades en materials polimèrics i recobriments comestibles, que permeten el seu ús en la conservació de fruites i poden afegir propietats biocides a recobriments de superfícies, com ara bancades, material quirúrgic o embalatges.

Summary

In the present Doctoral Thesis the development of new materials based on noble and seminobles metals has been studied for its application as catalysts in water treatment and as additives with biocide properties for fruit preservation and coating of surfaces.

Firstly, one of the principal aims is the decrease of the carcinogenic and toxic bromates in water using catalytic hydrogenation, obtaining harmless substances such as the corresponding bromides. To this end, different catalysts based on Pd supported in alumina and activated carbon fibers have been used. The physical, chemical and structural properties of these catalysts have been related to the catalytic activity in the hydrogenation of bromates anions. It has been determined that these catalysts are active at room temperature and atmospheric pressure, being the specie Pd(0) the catalytic active specie. A deep analysis of the results has demonstrated that big Pd nanoparticles present a better intrinsic activity, facilitating the dissociation of H₂ through the formation of β -PdH species, responsible of the catalytic reduction of bromates. However, the increase of the size of the Pd particles produces a decrease of the metallic dispersion over the support. Because of that, it is necessary to find an optimum between the dispersion and the Pd particle size in order to achieve the highest activity of the catalysts. Both factors depend on Pd content, on the Pd salt precursor and on the nature of the supports, being the most active catalyst per mol of Pd, the catalyst with 1wt. % of Pd supported in Al₂O₃ and prepared using PdCl₂. On the other hand, the influence of different variables of the reaction have been studied, checking that the reaction velocity is directly related to the bromates concentration and the parcial pressure of H₂.

ANEXO IV: Resúmenes

Furthermore, the biocide capacity of different materials has been studied against diverse bacteria and fungi using both *in vitro* and *in vivo* test. The results determine that the most active materials are the Ag-exchanged zeolites, showing that the type of zeolitic structure, the Si/Al ratio and the silver content are the most significant parameters in the biocide activity of the materials. In that sense, the zeolites with large porous and large supercavities in their structures and with Si/Al ratio close to 2 are the most effective in all the studied applications, although the activity depends widely in the type of organisms treated. Thereby, the best results have been obtained with the materials based on the faujasite zeolite with a Si/Al ratio of 2.4 and doped with silver, being effective even with low contents of silver. Moreover, these Ag-zeolites have been incorporated in polymeric materials and covering materials, permitting their use for the fruit preservation and adding biocide properties to covering materials, such as packaging, worktops or surgical material.