

Producción de nanopartículas de dióxido de titanio por molienda de alta energía para su uso en la
agricultura

Angélica María Niño Gómez y Nathalia Isabel Guerrero Pacheco

Trabajo de Grado para Optar al Título de Ingeniero Químico

Directora

Mónica Andrea Botero Londoño

Doctora en Ciencias-Física

Codirectoras

Karen Viviana Amorocho Cubides

Ingeniera Química

Laura Yiceth Sanabria Medina

Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Ingeniería química

Bucaramanga

2024

Dedicatoria

A Dios, fuente de sabiduría y guía constante en mi camino, le agradezco por cada bendición y por permitirme alcanzar este y otros logros.

A mis padres, les dedico este trabajo, fruto de su apoyo incondicional y ejemplo de perseverancia. Gracias por cada uno de sus consejos, cada reto superado es gracias a su apoyo y fe en mí. Ustedes son mi más grande motivación.

A mi hermana Andrea, por ser un gran ejemplo toda mi vida. Gracias por su apoyo y motivación desde el comienzo hasta el final.

A Diego Buitrago, quien, con su apoyo incondicional, sus consejos y su amor, iluminó mi camino durante la elaboración de este trabajo. Tu aliento constante y perseverancia hicieron que cada logro alcanzado fuera celebrado con mayor alegría.

A Nathalia, mi compañera y gran amiga, por permitirme disfrutar de su amistad desde el comienzo hasta el final de mi carrera. Mis años de estudios y este proyecto no hubiesen sido disfrutados de igual manera sin ti.

- **Angélica**

Dedicatoria

A Dios, por ser mi guía en este camino de aprendizaje.

A mis padres Mariela y Fredy, por enseñarme que aun desde el nido más humilde se puede soñar con alcanzar el cielo. Les dedico este trabajo, por ser mi más grande apoyo en los momentos difíciles y creer en mi aun cuando ni yo misma lo hacía.

A mi querida hermana Vania y sobrina Mariana. Gracias por ser incondicionales, sus consejos y palabras de aliento han sido una luz en los momentos más oscuros.

A Angelica, mi compañera, por demostrarme que las amigas también pueden ser familia.

- **Nathalia**

Agradecimientos

A nuestra directora la Doctora Mónica Andrea Botero Londoño le agradecemos sinceramente por su orientación constante y apoyo durante todo el proceso de investigación.

A nuestras codirectoras la Ingeniera Química Karen Viviana Amorocho Cubides y a la Química Laura Yiceth Sanabria Medina les queremos agradecer por sus conocimientos y sugerencias que fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

Al Doctor Julián Mauricio Botero Londoño, la profesora Erika Celis y el agrónomo Camilo Otero por sus valiosas contribuciones y consejos que enriquecieron este proyecto.

A todo el personal docente, directivos, equipo del Laboratorio de Reconversión Ganadera y Agroforestal de la sede Málaga, compañeros de clase y amigos que a lo largo de este camino nos apoyaron, además, nos enriquecieron como profesionales y como personas.

Al Laboratorio de Rayos X, a Sergio Rincón y al Laboratorio de Ciencia de Superficies (SurfLab), a Rodrigo, Julieth y al Centro de Investigación en Catálisis (CICAT), a Jeison Velez y al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav) por todos los servicios prestados y la disposición que tuvieron para ayudarnos.

A la Universidad Industrial de Santander por permitirnos pertenecer a ella y formarnos como profesionales. A los grupos de investigación Ciencia de Materiales Biológicos y Semiconductores (CIMBIOS), Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias y Ecología (GICAE) y el Grupo de Investigación en Sistemas de Energía Eléctrica (GISEL) de la Universidad Industrial de Santander, vinculados al proyecto “Nanofertilizantes en el suelo y emisiones de óxido nitroso” financiado por el Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria FONTAGRO, queremos reconocer su apoyo que hizo posible la realización de esta investigación. Gracias infinitas.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	11
1. Objetivos	13
1.1 Objetivo General.....	13
1.2 Objetivos Específicos	13
2. Estado del arte y Marco Teórico	14
3. Metodología	19
3.1 Nanoestructuración de dióxido de titanio	20
3.2 Caracterización de las nanopartículas de dióxido de titanio.....	22
3.2.1 Dispersión de luz dinámica (DLS):.....	22
3.2.2 Microscopía de fuerza atómica (AFM):.....	22
3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM):.....	22
3.2.4 Difracción de rayos X (XRD):.....	23
3.2.5 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS):.....	23
3.3 Evaluación de nanopartículas de dióxido de titanio en invernadero	23
3.3.1 Cuantificación de producción de biomasa:	24
3.3.2 Cuantificación de absorción de nitrógeno:	25
3.3.3 Cuantificación de otras características nutricionales:	26
4. Resultados	26
4.1 Nanoestructuración de dióxido de titanio	26
4.2 Caracterización de las nanopartículas de dióxido de titanio.....	29

4.2.1 Dispersión de luz dinámica (DLS):.....	29
4.2.2 Microscopía de fuerza atómica (AFM):.....	30
4.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM):.....	32
4.2.4 Difracción de rayos X (XRD):.....	34
4.2.5 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS):.....	35
4.3 Evaluación de nanopartículas de dióxido de titanio en invernadero	38
4.3.1 Cuantificación de producción de biomasa:	38
4.3.2 Cuantificación de absorción de nitrógeno:	39
4.3.3 Cuantificación de otras características nutricionales:	40
5. Conclusiones	41
6. Recomendaciones.....	42
Referencias Bibliográficas	43

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 <i>Variación de los parámetros de molienda respecto a cada nivel</i>	21
Tabla 2 <i>Diseño experimental</i>	21
Tabla 3 <i>Gramos de muestra resultantes por cada FRV</i>	27
Tabla 4 <i>Significancia asociada al Valor-p de cada variable</i>	29
Tabla 5 <i>Cuantificación elemental en superficie a partir de XPS (% atómico)</i>	36
Tabla 6 <i>Cuantificación elemental en superficie a partir de XPS (% másico)</i>	36

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 <i>Diagrama de flujo</i>	19
Figura 2 <i>Tendencia de los gramos de muestra obtenidos por cada FRV</i>	28
Figura 3 <i>Efecto de la velocidad y el FRV sobre el tamaño de partícula</i>	30
Figura 4 <i>Caracterización AFM del nano-TiO₂ con rango de acercamiento a 2 μm</i>	31
Figura 5 <i>Caracterización AFM del nano-TiO₂ con rango de acercamiento a 500 nm</i>	31
Figura 6 <i>Migrografías SEM de TiO₂ antes y después de la molienda</i>	33
Figura 7 <i>Difractograma de Rayos X de las NP de TiO₂ en comparación con TiO₂ sin nanoparticular</i>	35
Figura 8 <i>Espectro general obtenido a partir de microscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) de la muestra de TiO₂ comercial y NP de TiO₂</i>	36
Figura 9 <i>Espectro del Ti2p obtenido a partir de microscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) de la muestra de TiO₂ comercial y NP de TiO₂</i>	37
Figura 10 <i>Materia fresca promedio y materia seca promedio obtenida en cada tratamiento</i>	38
Figura 11 <i>Porcentaje de nitrógeno presente en la planta y eficiencia en su recuperación</i>	39

Resumen

Título: Producción de nanopartículas de dióxido de titanio por molienda de alta energía para su uso en la agricultura*

Autor: Angélica María Niño Gómez y Nathalia Isabel Guerrero Pacheco**

Palabras Clave: Nanopartículas, Agricultura, Molienda de alta energía, Fertilizantes.

Descripción: Debido al crecimiento de la población mundial, se busca una agricultura sostenible para satisfacer la demanda de alimentos. En este contexto, se ha innovado en la implementación de nanopartículas, destacando las de dióxido de titanio - TiO₂. Éstas suelen sintetizarse mediante métodos costosos y contaminantes, por lo que la molienda de alta energía se presenta como una alternativa flexible, directa, de bajo costo y sin residuos. Por tanto, el objetivo de este proyecto fue producir nanopartículas de TiO₂ mediante molienda de alta energía para su uso en agricultura. Para ello, se obtuvieron nanopartículas de TiO₂ mediante la variación de parámetros de molienda como el factor de llenado, la velocidad y el tiempo de molienda. Posteriormente, se caracterizaron usando técnicas como DLS, AFM, SEM, XRD y XPS. Finalmente se evaluó el efecto de la adición de las nanopartículas de menor tamaño junto con un fertilizante balanceado en cultivos de Ray Grass bajo invernadero. Los resultados obtenidos mostraron que la variación de los parámetros de molienda influye en la cantidad y tamaño de las nanopartículas, alcanzando un tamaño promedio de 95,2 nm, lo que representa una reducción del 66,3%. Las técnicas de caracterización revelaron que las nanopartículas más pequeñas tienen una morfología esférica y una cristalinidad mayoritariamente de fase anatasa y sin cambios químicos en el material de molienda. Además, su aplicación con un fertilizante balanceado en cultivos resultó en una mayor producción de biomasa y una mayor eficiencia en la recuperación de nitrógeno.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Ingeniería química. Directora: Mónica Andrea Botero Londoño. Doctora en Ciencias-Física. Codirectoras: Karen Viviana Amorocho Cubides. Ingeniera Química. Laura Yiceth Sanabria Medina. Química.

Abstract

Title: Production of titanium dioxide nanoparticles by high energy ball milling for use in agriculture*

Author(s): Angélica María Niño Gómez y Nathalia Isabel Guerrero Pacheco**

Key Words: Nanoparticles, Agriculture, High-energy milling, Fertilizers.

Description: Due to the growth of the world population, sustainable agriculture is sought to meet the demand for food. In this context, innovation has been made in the implementation of nanoparticles, with TiO₂ nanoparticles standing out. These are usually synthesized by expensive and polluting methods, so high-energy milling is presented as a flexible, direct, low-cost, and waste-free alternative. Therefore, the objective of this project is to produce TiO₂ nanoparticles through high-energy milling for use in agriculture. To achieve this, TiO₂ nanoparticles were obtained by varying milling parameters such as filling factor, speed, and milling time. They were then characterized by techniques such as DLS, AFM, SEM, XRD, and XPS. Finally, the effect of adding the smaller nanoparticles together with fertilizer to Ray Grass crops in a greenhouse was evaluated. The results showed that the variation in milling parameters influences the quantity and size of nanoparticles, reaching average size of 191.5 nm, representing a 66.3% size reduction. Characterization techniques revealed that the smaller nanoparticles have a spherical morphology and a predominantly anatase crystallinity phase and without chemical changes in the milling material. Furthermore, their implementation with fertilizers in crops resulted in increased biomass production and higher efficiency in nitrogen recovery.

* Degree Work

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Chemical Engineering. Director: Mónica Andrea Botero Londoño. Doctor in Sciences-Physics. Co-directors: Karen Viviana Amorocho Cubides. Chemical engineer. Laura Yiceth Sanabria Medina. Chemistry.

Introducción

La población mundial se encuentra en constante crecimiento; según la Organización de las Naciones Unidas (ONU), se estima que para el 2050, la población aumentará aproximadamente a 9700 millones de seres humanos en el planeta, lo que plantea desafíos en la seguridad alimentaria (United Nations, 2023). Esto implica considerar un incremento en la producción para satisfacer la demanda de alimentos tanto para seres humanos como para animales (FAO, 2017). En ese sentido, Colombia tiene el potencial para responder a esa demanda alimentaria. Sin embargo, los costos de producción agrícola son elevados y generan efectos negativos sobre el medio ambiente, los cuales son producto de diversos factores como lo es el uso excesivo de fertilizantes (Barrera-Ramírez et al., 2019; Dubey & Mailapalli, 2016). Por lo tanto, es necesario implementar una agricultura sostenible que mejore la eficiencia de los fertilizantes convencionales y ayude a mitigar los impactos ocasionados por el cambio climático.

La nanotecnología desempeña un papel fundamental en la agricultura sostenible, ya que permite mejorar la absorción de nutrientes al aumentar la interacción de los fertilizantes con el suelo (Lira-Saldivar et al., 2018). Las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) representan una gran alternativa debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad, estabilidad química y bajo costo (Vargas, 2011). Sin embargo, la mayoría de las nanopartículas son sintetizadas por métodos *bottom-up* que contaminan debido a los solventes utilizados y las impurezas presentes en el producto final (Abid et al., 2022). Por otro lado, entre los métodos *top-down* se encuentra la molienda mecánica de alta energía, caracterizada por ser una técnica flexible, directa, de bajo costo

y sin residuos (Badillo, 2021). No obstante, la variación de sus parámetros influye en propiedades de las nanopartículas resultantes, como su estructura, morfología, composición y tamaño, y su relevancia radica en la posibilidad de aplicarlas en cultivos para evaluar su eficacia en la mejora de la producción y en la absorción de nitrógeno (Kopp Alves et al., 2013; Mariño-Gómez et al., 2022). En este sentido, la experimentación con cultivos es esencial para determinar si estas nanopartículas tienen un impacto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

A partir de lo anterior, vale la pena preguntarse: ¿Cuál es el impacto de la molienda de alta energía en las propiedades de las nanopartículas de TiO₂ fabricadas y en su eficacia como aditivo a fertilizantes? Por lo tanto, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo elaborar nanopartículas de TiO₂ mediante un método de reducción de bajo costo, que es la molienda de alta energía, para su posterior uso en la agricultura como aditivo de fertilizantes comunes, con el fin de mejorar la absorción de nutrientes.

Este proyecto se desarrolló con el apoyo de los grupos de investigación Ciencia de Materiales Biológicos y Semiconductores (CIMBIOS), Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias y Ecología (GICAE) y el Grupo de Investigación en Sistemas de Energía Eléctrica (GISEL) de la Universidad Industrial de Santander, vinculados al proyecto “Nanofertilizantes en el suelo y emisiones de óxido nitroso” financiado por el Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria FONTAGRO.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Obtener nanopartículas de TiO₂ mediante el método de molienda de alta energía y evaluar su efecto en la agricultura.

1.2 Objetivos Específicos

Fabricar nanopartículas de TiO₂ mediante molienda de alta energía, variando parámetros como la velocidad de rotación del molino, el tiempo de molienda y el factor de llenado.

Caracterizar las nanopartículas de TiO₂ obtenidas mediante Dispersión de Luz Dinámica (DLS), Difracción de Rayos X (XRD), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) y Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS), con el fin de determinar sus propiedades estructurales, morfológicas y superficiales.

Evaluar el efecto de la adición de fertilizantes con nanopartículas de TiO₂ a cultivos de Ray Grass en invernadero en la producción de biomasa y la eficiencia en el uso de nitrógeno.

2. Estado del arte y Marco Teórico

La agricultura es un sector clave, ya que abastece la demanda de materias primas de la industria alimentaria. El aumento de la población humana y la mala gestión de los recursos naturales requieren que ésta sea más rentable, con un menor impacto al medio ambiente y una mayor eficiencia en la producción. Por lo tanto, es esencial innovar en la agricultura para garantizar su sostenibilidad (Patra et al., 2017).

Actualmente, la nanotecnología (NT) es un área de estudio con el potencial de innovar en diversos campos, como la medicina, la electrónica, la agricultura y la energía. Por esta razón, la investigación interdisciplinaria en esta ciencia ha captado la atención en la última década (Hamad et al., 2020). La agricultura se suma a este interés, buscando mejoras a través de la adopción de tecnologías avanzadas como ésta (Sahoo et al., 2022).

La NT tiene diversas aplicaciones en la agricultura. Se puede utilizar para mejorar los cultivos, detectar enfermedades en las plantas, controlar malezas y plagas, remediar el suelo y el agua (A. Singh & Imtiyaz, 2023; V. Singh, 2022). Su aplicación puede mejorar las prácticas agrícolas al suministrar nutrientes y agroquímicos a las plantas de manera controlada, así como aumentar el rendimiento de los cultivos (Bala et al., 2023; Khan et al., 2022).

Los agroquímicos basados en la NT, como los nanofertilizantes (NF), son una alternativa para optimizar los fertilizantes inorgánicos convencionales y reducir su impacto en el medio ambiente (Zahra et al., 2022). Su implementación mejora la disponibilidad de nutrientes para las plantas y reduce la pérdida de nutrientes por lixiviación (Ali et al., 2021). Según el estudio realizado por *Abdel-Hakim et al*, donde se evaluó el efecto de la incorporación de nanofertilizantes a fertilizantes comunes sobre el rendimiento y crecimiento de las plantas de lechuga (*Lactuca*

sativa L), se observó que al agregar un 25% de NF, aumentó la longitud de la raíz, el peso fresco y el peso seco en un 35%, 19% y 20% respectivamente (Abdel-Hakim et al., 2023).

Los nanofertilizantes se pueden clasificar como NF de macronutrientes y de micronutrientes (Yadav et al., 2023). Los de macronutrientes incluyen nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio, mientras que los de micronutrientes incluyen hierro, boro, zinc, cobre y silicio (Khatri & Bhateria, 2022). También se encuentran fertilizantes mejorados con nanopartículas, que utilizan materiales a escala nanométrica para mejorar el crecimiento y la productividad de los cultivos, y reducir el uso excesivo de fertilizantes. Los nanomateriales que se emplean en su mayoría son provenientes de óxidos metálicos como el TiO₂ (Deepika et al., 2020; Kopittke et al., 2019; Mandal & Lalrinchhani, 2021)

El TiO₂ es un compuesto ampliamente utilizado en diferentes sectores industriales, incluida la agricultura, debido a sus propiedades fotocatalíticas y antimicrobianas (Liu et al., 2022). Las NP de TiO₂ son utilizadas en la agricultura con el propósito de aumentar la actividad de varias enzimas y estimular la absorción de nitratos (Abushad et al., 2023). A su vez, aceleran la conversión del nitrógeno inorgánico en nitrógeno orgánico, lo que facilita su asimilación por la planta, favoreciendo así su crecimiento (Marek et al., 2021). En estudios como los realizados por Morteza et al, en donde se dispersaron nanopartículas de TiO₂ sobre cultivos de maíz (*Zea mays L*), se observó una mejora del 30% en el rendimiento de las plantas empleando concentraciones de 0,01% y 0,03% (Morteza et al., 2013)

A su vez, las NP de TiO₂ pueden actuar como catalizadores, acelerando los procesos bioquímicos necesarios. Este efecto se refleja en la investigación de Reliya et al, en donde se evaluó el efecto fisiológico de su aplicación en frijol mungo (*Vigna radiata L.*), obteniendo un

aumento del 94% en la proteína foliar soluble total (Raliya et al., 2015). Así mismo, la implementación de NP de TiO₂ logra una mayor producción de cultivos y una reducción en la cantidad de fertilizantes necesarios para obtener los mismos rendimientos (Chaudhary & Singh, 2020).

En la actualidad, existen diversos métodos de síntesis de NP de TiO₂, como los métodos físicos o químicos. Estos últimos son los más usados en investigaciones con enfoque hacia la agricultura (NDABA et al., 2022); sin embargo, provocan contaminación debido a los solventes utilizados. Entre los métodos físicos se encuentra la molienda de alta energía, donde existen factores a considerar en su operación, como el tiempo de molienda, el tamaño de los cuerpos molidores, la proporción de bola - polvo (BPR), la velocidad de rotación, el factor de llenado (FRV) y el tipo de medio (seco o húmedo). La variación adecuada de estos parámetros determinará las características de la nanopartícula ideal para su uso en la agricultura, ya que éstos pueden influir en la morfología, estructura, composición y tamaño (Ramírez Herrera, 2022).

La variación en la velocidad de molienda, el tiempo y el factor de llenado permite controlar la energía cinética aplicada al sistema, lo que favorece la fragmentación de las partículas para obtener nanopartículas de tamaño reducido y distribución uniforme. Disponer de una amplia gama de velocidades de molienda es crucial debido a su impacto en el tamaño de las partículas y la actividad fotocatalítica del material resultante. Los estudios han demostrado que las velocidades variables de molienda afectan a la reducción del tamaño de las partículas e influyen en el tamaño de los cristalitos y la morfología de las nanopartículas de TiO₂, lo que provoca cambios en la eficiencia fotocatalítica (Messai et al., 2018). Al explorar una amplia gama de velocidades de

molienda, es posible optimizar el proceso de molienda para lograr las características deseadas (Petrović et al., 2019).

El tiempo de molienda es un factor importante para considerar, ya que, tiempos prolongados pueden aumentar los costos debido al consumo de energía y al desgaste de los equipos. Utilizar tiempos de molienda cortos contribuye a minimizar los costos asociados al consumo de energía y al mantenimiento de los equipos, potenciando la eficiencia del proceso (Pohshna et al., 2020). Con la idea en mente de reducir el consumo de energía del proceso, la variación del factor de llenado cumple un papel crucial, ya que un factor de llenado muy alto puede llevar a una sobrecarga del molino y a una menor eficiencia al limitar la capacidad de movimiento de los cuerpos moledores (Carneiro et al., 2014). Debido a lo anterior, es importante utilizar un vaso de molienda y cuerpos moledores que permitan lograr un factor de llenado adecuado y a su vez obtener la mayor cantidad posible de muestra resultante, teniendo en cuenta que se debe mantener una proporción de bola - polvo (BPR) de 10:1 debido a que garantiza un número suficiente de bolas para impactar y triturar eficientemente el material (Petrović et al., 2019).

Respecto al medio de molienda, utilizar un medio seco en lugar de un medio húmedo ofrece varias ventajas significativas. En primer lugar, el medio seco reduce la formación de aglomerados al evitar la aglomeración causada por la presencia de agua, lo que resulta en una distribución de tamaño de partícula más homogénea y en partículas individuales más finas. Además, al no utilizar agua, se evita la oxidación de las nanopartículas de TiO₂, lo que podría afectar negativamente a sus propiedades físicas y químicas. Por último, el proceso en medio seco ofrece ventajas como costo-efectividad, no toxicidad y alta estabilidad química, lo que resulta en un menor consumo de

energía y en una mayor productividad en comparación con el método en medio húmedo (Anuratha & Lakshminarasimhan, 2014).

Algunos de los argumentos antes descritos llevan a la hipótesis de este trabajo, la cual sugiere que es posible reducir el tamaño del TiO₂ a escala nanométrica utilizando un molino planetario, obteniendo tamaños y morfologías adecuadas que mejoren la producción de biomasa y eficiencia en el uso de nitrógeno en cultivos de Ray Grass.

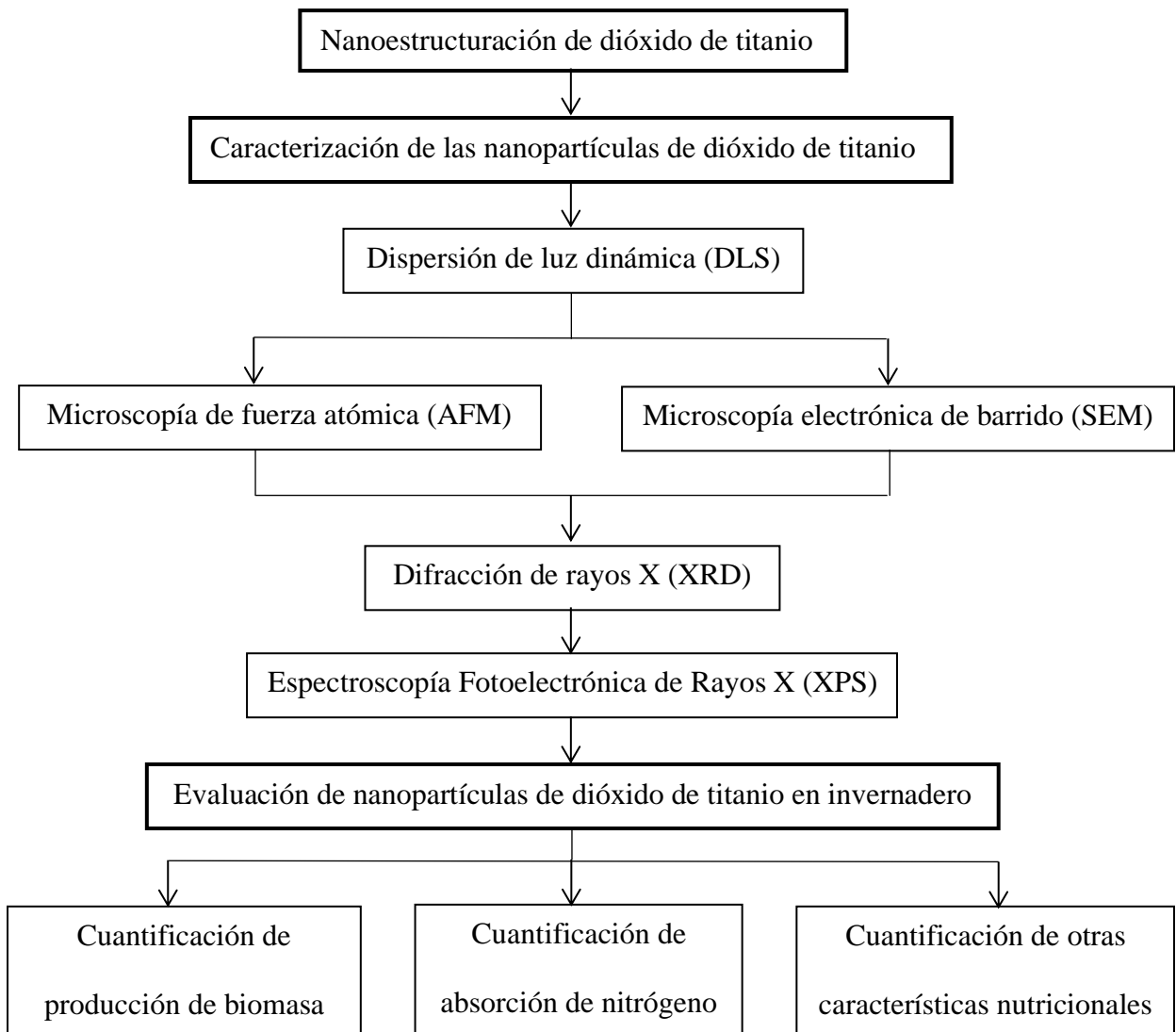
La elección del cultivo Ray Grass se debe a su fácil establecimiento, rápida germinación y su eficiencia en el uso de fertilizantes, lo que permite muestreo en poco tiempo. Tiene un alto contenido de proteína y buena digestibilidad, lo que lo convierte en una excelente opción para alimentar ganado y producir alimentos balanceados (Bracken et al., 2022; Cinar et al., 2020; Egan et al., 2018; Grace et al., 2019).

3. Metodología

El diagrama de flujo general que resume la metodología empleada en el proyecto se ve reflejado en la Figura 1.

Figura 1

Diagrama de flujo



3.1 Nanoestructuración de dióxido de titanio

Como material de partida se utilizó polvo comercial de TiO₂ obtenidos de Sigma-Aldrich CAS: 13463-67-7, con fases de Anatasa (98,4%) y Rutilo (1,6%), previamente caracterizado de acuerdo con las fichas ICSD-154602 y ICSD-51934 respectivamente.

La nanoestructuración del TiO₂ se realizó mediante el método top-down de molienda mecánica de alta energía utilizando un molino planetario RETSCH PM1000. La molienda fue realizada en medio seco usando un contenedor de 125 mL y cuerpos moledores de 3 mm de diámetro de acero inoxidable, con una relación de 10:1 entre los cuerpos moledores y la carga (Petrović et al., 2019).

Los parámetros evaluados fueron la velocidad de rotación, el tiempo efectivo de molienda y el grado de llenado FRV (Ec.1), el cual determinó el volumen de cuerpos moledores y de carga utilizados en cada experimento. Todos los procesos de obtención tuvieron 20 minutos de descanso entre cada hora efectiva de molienda.

$$FRV = \frac{V_{\text{cuerpos moledores}} + V_{\text{carga}}}{V_{\text{Total vaso}}} \quad (\text{Ec. 1})$$

La variación de los parámetros de molienda de acuerdo con cada nivel contenido dentro de los rangos permitidos por el equipo y los materiales utilizados se ve reflejada en la Tabla 1. La Tabla 2 muestra el diseño experimental 2³ ampliado a central compuesto centrado en las caras (DDC). con las combinaciones de cada variable definida de acuerdo con los niveles asignados en la Tabla 1. Este diseño es un cubo que consta de 15 combinaciones; 8 vértices, 6 centros de las caras y el centro del cubo. Las 15 combinaciones permiten analizar el efecto de cada variable y la interacción de 2 ó 3 factores (Montgomery, 2013).

Tabla 1*Variación de los parámetros de molienda respecto a cada nivel*

	Bajo	Medio	Alto
Velocidad de rotación [rpm]	200	350	500
Tiempo de molienda [h]	2	3	4
Grado de llenado [%]	15	25	35

Tabla 2*Diseño experimental*

Número de Experimento	Velocidad de rotación [rpm]	Tiempo de molienda [h]	Grado de llenado [%]
1	200	2	35
2	200	4	35
3	200	3	25
4	200	2	15
5	200	4	15
6	350	3	35
7	350	2	25
8	350	4	25
9	350	3	25
10	350	3	15
11	500	2	35
12	500	4	35
13	500	3	25
14	500	2	15
15	500	4	15

Nota. El orden de los experimentos se realizó de manera aleatoria.

3.2 Caracterización de las nanopartículas de dióxido de titanio

3.2.1 Dispersión de luz dinámica (DLS):

Todas las muestras resultantes del proceso de molienda fueron caracterizadas mediante la técnica de DLS en un equipo Litesizer500 (Anton Paar), con el fin de conocer un aproximado del tamaño de partícula e identificar con cuales parámetros se obtuvo un menor tamaño, para posteriormente realizar las siguientes caracterizaciones y las pruebas bajo invernadero con las nanopartículas de menor tamaño.

Se realizaron dispersiones de cada muestra en agua tipo I (solvente) con una concentración de 1ppm utilizando celdas desechables para la lectura en el equipo, realizando 3 lecturas por muestra.

3.2.2 Microscopía de fuerza atómica (AFM):

La caracterización mediante la técnica de AFM se llevó a cabo utilizando un equipo Hitachi AFM5100N en modo contacto. Se depositó una dispersión en agua tipo I, con una concentración de 1ppm de la muestra de menor tamaño identificada previamente mediante DLS, sobre una placa de silicio. El proceso comenzó con una lectura en un área de 20µm.

Este proceso se realizó para obtener una imagen aproximada de la muestra y un acercamiento a su posible morfología. Mediante el uso del software Gwyddion, se lograron identificar con mayor precisión los rangos de tamaño de las nanopartículas.

3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM):

La técnica de SEM se realizó para visualizar la morfología de las nanopartículas escogidas buscando obtener una morfología esférica que resulta ser más amigable para los cultivos. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-7600F, bajo atmósfera de alto vacío con un voltaje

de aceleración de 5 KeV con electrones secundarios. Mediante el uso del software ImageJ, se lograron identificar con mayor precisión los rangos de tamaño de las nanopartículas.

3.2.4 Difracción de rayos X (XRD):

La caracterización mediante la técnica de XRD se realizó en un difractómetro de polvo BRUKER modelo D8 ADVANCE con Geometría DaVinci $\theta / 2\theta$ 4°-70°, con una velocidad 0,6s.

El propósito de esta prueba es determinar si el proceso de molienda afectó la cristalinidad del material derivando en una reducción del tamaño de los cristales, además, observar si debido a la molienda se obtuvo algún cambio en la fase cristalina y cómo esto afecta su aplicación en la agricultura.

3.2.5 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS):

Los espectros XPS de las nanopartículas de TiO₂ se obtuvieron en un sistema de caracterización de superficies XPS/ISS/UPS- Acento construido por SPECS, con una fuente policromática de rayos X Al K α (FOCUS 500) operada a 100 W. Los espectros adquiridos se analizaron con el programa CasaXPS (Casa Software Ltd) utilizando la biblioteca SPECS Prodigy -Acento provista con RSF (Factor de sensibilidad de respuesta) determinado por el fabricante.

3.3 Evaluación de nanopartículas de dióxido de titanio en invernadero

El establecimiento del cultivo de *Ray Grass* se llevó a cabo en el invernadero ubicado en las instalaciones de la Universidad Industrial de Santander, Sede Málaga. Las pruebas de laboratorio correspondientes se desarrollaron en el Laboratorio de Reconversión Ganadera y Agroforestal de la sede.

Para el desarrollo experimental de la investigación se emplearon bandejas de 0,45 m de largo x 0,29 m de ancho x 0,1 m de profundidad (0,013 m³). Cada bandeja fue llenada con 34 kg de un suelo Inceptisol, el cual fue mezclado uniformemente y caracterizado fisicoquímicamente.

Se estableció un cultivo empleando 7 g de semilla por bandeja. Se implementó un diseño experimental al azar donde se utilizaron 3 bandejas a las cuales se les aplicaron 6 g de fertilizante balanceado junto a 0,1 g de NP de TiO₂ de menor tamaño, 3 bandejas con solo NP, 3 bandejas con solo fertilizante balanceado y 3 bandejas control sin fertilizante y sin NP.

Los tratamientos de fertilización se establecieron con base en el aporte de nutrientes del suelo, la concentración de nutrientes en la planta y la absorción de nutrientes. Con lo cual se formuló un fertilizante balanceado con los elementos requeridos por la planta (Urea – 56,99%, DAP – 17,60%, KCl – 12,57%, MgSO₄ – 11,73% y Azufre – 1,11%).

Una vez que el cultivo se estableció, se llevó a cabo un corte de uniformidad a los 30 días, seguido de la primera aplicación de fertilizante. Además, se realizó un segundo corte experimental a los 15 días del primer corte, con la aplicación de fertilizante programada para el día posterior al corte.

Los datos de las variables estudiadas fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), y en caso de encontrar diferencias significativas ($P < 0.05$), se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan para comparar las medias.

Los análisis bromatológicos se hicieron con base en los protocolos implementados por el Laboratorio de Reconversión Ganadera y Agroforestal de la Universidad Industrial de Santander con sede en Málaga.

3.3.1 Cuantificación de producción de biomasa:

Para cada uno de los cortes realizados se recolectó el total de las muestras, realizando el corte a 5 cm del suelo. Después, las muestras se depositaron en sobres de manila e identificaron según el

tratamiento correspondiente. Luego fueron pesadas para determinar su biomasa en peso fresco y con este valor junto al contenido de materia seca (MS) y algunos factores permitieron la estimación de proyecciones de producción de biomasa.

Para la estimación de cada una de las variables objeto de investigación, fue necesario deshidratar cada una de las muestras a una temperatura de 60 °C hasta obtener un valor de peso constante; posteriormente fueron sometidas a un proceso de molienda y tamizaje, para finalmente dar lugar a un proceso de empaclado y etiquetado.

Para el análisis de materia seca se realizó una estimación mediante diferencia gravimétrica en horno a 105 °C por 24 horas.

3.3.2 Cuantificación de absorción de nitrógeno:

Para cuantificar la concentración de nitrógeno en cada una de las muestras, se utilizó el analizador elemental CHNS/O del Laboratorio de Reconversión Ganadera y Agroforestal de la sede Málaga UIS. En una cápsula de estaño (0,5 cm de diámetro) se pesaron de 2–3 mg de muestra, luego se llevó al analizador elemental donde se determinó el porcentaje de carbono, nitrógeno e hidrógeno presente y el valor del nitrógeno se multiplicó por 6,25 indicado por software del equipo, para obtener así el valor de proteína bruta.

Para hallar la eficiencia de recuperación de nitrógeno (N) se empleó la Ecuación 2. Donde ERN: Eficiencia de Recuperación de Nitrógeno; NTf: g de nutriente (N) producido en el tratamiento con fertilización; NTt: g de nutriente (N) producido en el tratamiento sin fertilización y NTa: g del nutriente (N) aplicado en la fertilización.

$$ERN = \frac{(NTf - NTt)}{(NTa)} \quad (\text{Ec.2})$$

Este resultado se vinculó con la producción de biomasa en base seca antes hallada para obtener la absorción de nitrógeno del cultivo de Ray Grass.

3.3.3 Cuantificación de otras características nutricionales:

El porcentaje de minerales se realizó mediante una estimación por diferencia gravimétrica determinada en una mufla a 550°C por 7 horas. Tras realizar la cuantificación de materia seca, se introdujeron las muestras a la mufla.

Para determinar el valor de energía bruta se utilizaron aproximadamente 1,3 gramos de muestra previamente secada, se agregó un hilo de celulosa y se adicionó una pastilla de ácido benzoico. Se empleó un calorímetro (Parr 6200) cuyo resultado se expresa en Kcal/kg.

4. Resultados

4.1 Nanoestructuración de dióxido de titanio

En las nanopartículas resultantes se observó una variación en la cantidad de gramos obtenidos, con relación al factor de llenado utilizado. Con un factor de llenado del 15%, lo que indica una cantidad de 4,36 gramos de materia inicial, de los cuales se obtuvieron entre 85% y 93% de recuperación en el producto final, mientras que al aumentar el factor de llenado al 25%, lo que indica una cantidad de 7,26 gramos de materia inicial, la cantidad de gramos obtenidos aumentó, sin embargo, el porcentaje de recuperación disminuyó dando resultados entre 83% y 89%. Por otro lado, al utilizar un factor de llenado del 35%, lo que indica una cantidad de 10,17 gramos de materia inicial, la cantidad de gramos obtenidos alcanzó su máximo valor como se evidencia en la Tabla 3, sin embargo, el porcentaje de recuperación resultó en valores entre 84% y 91%. Estos resultados sugieren una relación directa entre el factor de llenado y la cantidad de

producto obtenido, mostrando un mayor porcentaje de recuperación en las moliendas donde se utilizó una velocidad de 200 rpm.

Tabla 3

Gramos de muestra resultantes por cada FRV

	FRV [%]	15		25			35		
	Velocidad de rotación [rpm]	Tiempo de molienda [h]	Masa muestra molida [g]	Velocidad de rotación [rpm]	Tiempo de molienda [h]	Masa muestra molida [g]	Velocidad de rotación [rpm]	Tiempo de molienda [h]	Masa muestra molida [g]
A	200	2	4,0731	200	3	6,4765	200	2	9,4699
B	200	4	3,9432	350	2	6,3493	200	4	9,2121
C	350	3	3,7984	350	4	6,2580	350	3	8,9850
D	500	2	3,7800	350	3	6,0827	500	2	8,9102
E	500	4	3,7171	500	3	6,0332	500	4	8,5150

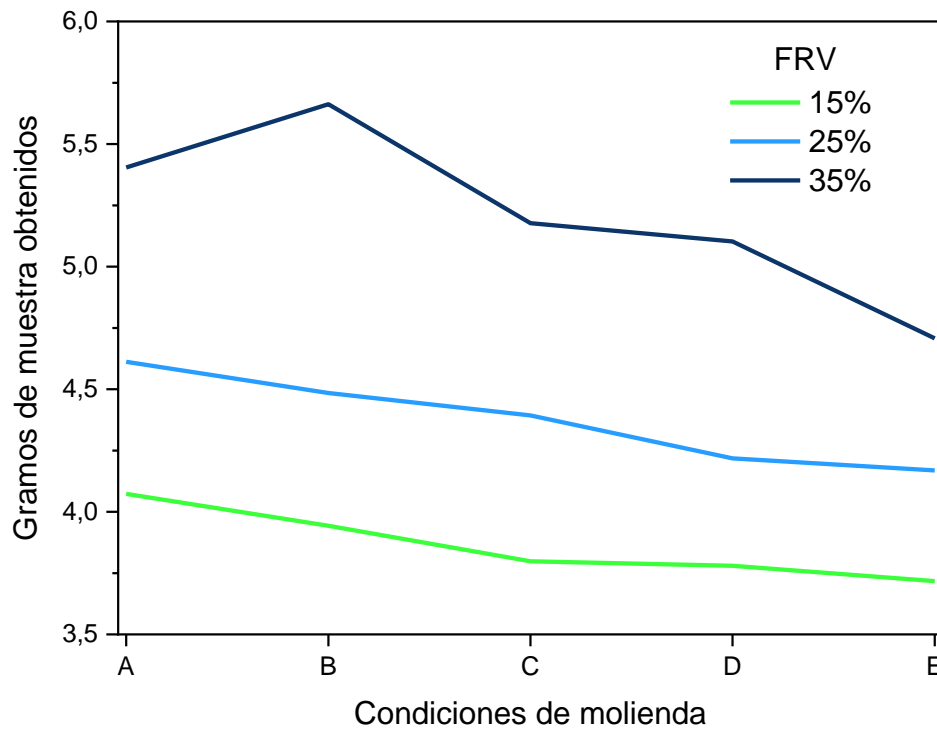
Se observa una tendencia decreciente, partiendo de los gramos obtenidos a una menor velocidad de rotación y menor tiempo, hasta la máxima velocidad y tiempo utilizados para cada FRV. Presentándose el mayor valor de gramos de muestra obtenidos cuando el tiempo y la velocidad de rotación son mínimos, es decir, cuando se utilizó una velocidad de molienda de 200 rpm y un tiempo de molienda de 2 o 3 horas dependiendo de cual haya sido el menor tiempo utilizado para cada factor de llenado. A su vez, se presenta el mínimo valor de gramos de muestra obtenidos cuando el tiempo y la velocidad de rotación son máximos, como se observa en la Figura 2. Las condiciones de molienda mostradas en la gráfica corresponden a las presentadas en la Tabla 3.

Lo anterior se debe a que, al aumentar la velocidad de rotación y el tiempo de molienda, las NP tienden a aglomerarse por el aumento en los niveles de la energía suministrada (Asari et al.,

2023), siendo más difícil su recolección y resultando en menos cantidad de muestra final recuperada.

Figura 2

Tendencia de los gramos de muestra obtenidos por cada FRV



Nota: Las condiciones de molienda descritas como A, B, C, D y E corresponden a las condiciones de molienda presentadas en la Tabla 3.

4.2 Caracterización de las nanopartículas de dióxido de titanio

4.2.1 Dispersión de luz dinámica (DLS):

Los resultados presentados en la Tabla 4 revelaron un efecto significativo de la velocidad de rotación y su combinación con el FRV, en el tamaño de partícula, al realizar un análisis estadístico ANOVA con una confiabilidad del 95% y utilizando una ecuación cuadrática para describir la tendencia de los datos con un R² de 0,9994.

Tabla 4

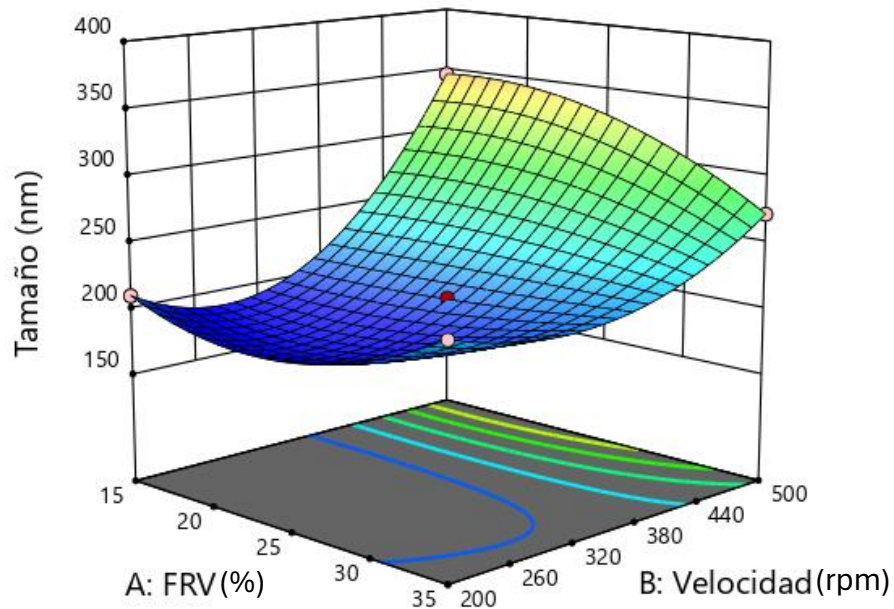
Significancia asociada al Valor-p de cada variable

Variable	A: FRV	B: Velocidad	C: Tiempo	AB	AC	BC
Valor-p	0,9000	0,0354	0,8279	0,0330	0,1465	0,3308

Se observó que, a menores velocidades de rotación, el tamaño de partícula medido por DLS disminuyó. Este hallazgo sugiere una correlación directa entre la velocidad de rotación y el tamaño de partícula. Lo anterior porque a mayores velocidades de rotación se da una mayor aglomeración por la energía suministrada (Asari et al., 2023), contrarrestada a altos FRV, ilustrado en la Figura 3. Los tamaños obtenidos en estas condiciones fueron menores a los registrados por otros autores (Septevani et al., 2021), los cuales obtuvieron tamaños de 358,9 nm en condiciones de 400 rpm y 4 horas de molienda en medio seco.

Figura 3

Efecto de la velocidad y el FRV sobre el tamaño de partícula



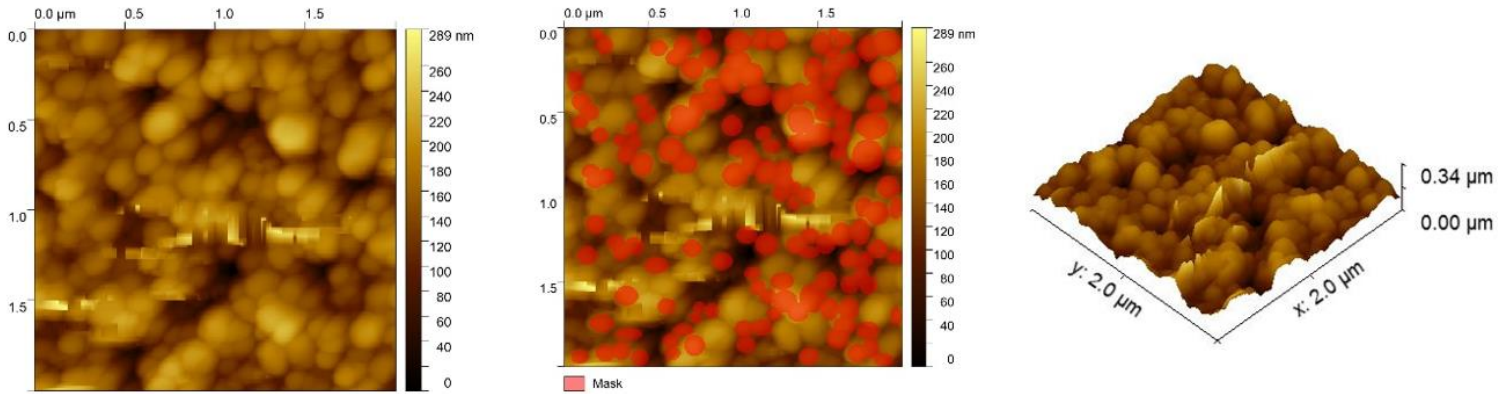
De acuerdo con la caracterización realizada por DLS, las condiciones de molienda que resultaron en nanopartículas de menor tamaño fueron una velocidad de rotación de 200 rpm, un tiempo de molienda de 3 h y un FRV de 25%, resultando en un tamaño de partícula promedio de 191,5 nm, lo que se traduce en una reducción de tamaño del 62,8% partiendo de un tamaño de partícula promedio de 514,7 nm.

4.2.2 Microscopía de fuerza atómica (AFM):

La caracterización por AFM mostró un acercamiento a la morfología de las nanopartículas, además, se determinó un tamaño aproximado de las nanopartículas mediante el contorno de las partículas visibles en las imágenes, como se muestra en las Figuras 4 y 5. Se obtuvieron tamaños de partícula de 151,3 nm y 117,0 nm respectivamente, para imágenes de 2 μm y 500 nm.

Figura 4

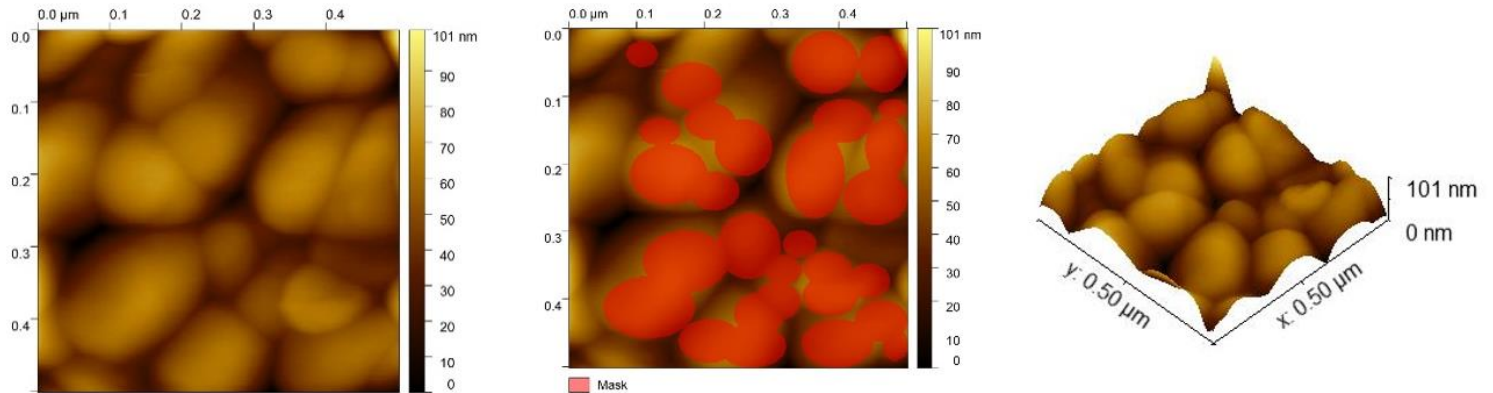
Caracterización AFM del nano-TiO₂ con rango de acercamiento a 2 μm



Nota: (a) Resultado con filtros. (b) Resultado con nanopartículas contorneadas. (c) Resultado 3D.

Figura 5

Caracterización AFM del nano-TiO₂ con rango de acercamiento a 500 nm



Nota: (a) Resultado con filtros. (b) Resultado con nanopartículas contorneadas. (c) Resultado 3D.

Las Figuras 4 y 5 revelan una morfología semejante a la esférica de las nanopartículas y una variabilidad en sus tamaños. También se evidencia la aglomeración entre las nanopartículas, en algunos casos dando la apariencia de una sola partícula de mayor tamaño, lo que concuerda con lo registrado por otros estudios (Petrović et al., 2019), donde reportan que, a mayor velocidad, las

partículas pequeñas tienden a unirse y formar aglomerados más sólidos. En las Figuras 4(c) y 5(c), se observa la topografía de la superficie de la muestra, sugiriendo una mayor interacción que beneficia un incremento en el área de contacto para los fertilizantes, así como la presencia de sitios activos más extensos.

4.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM):

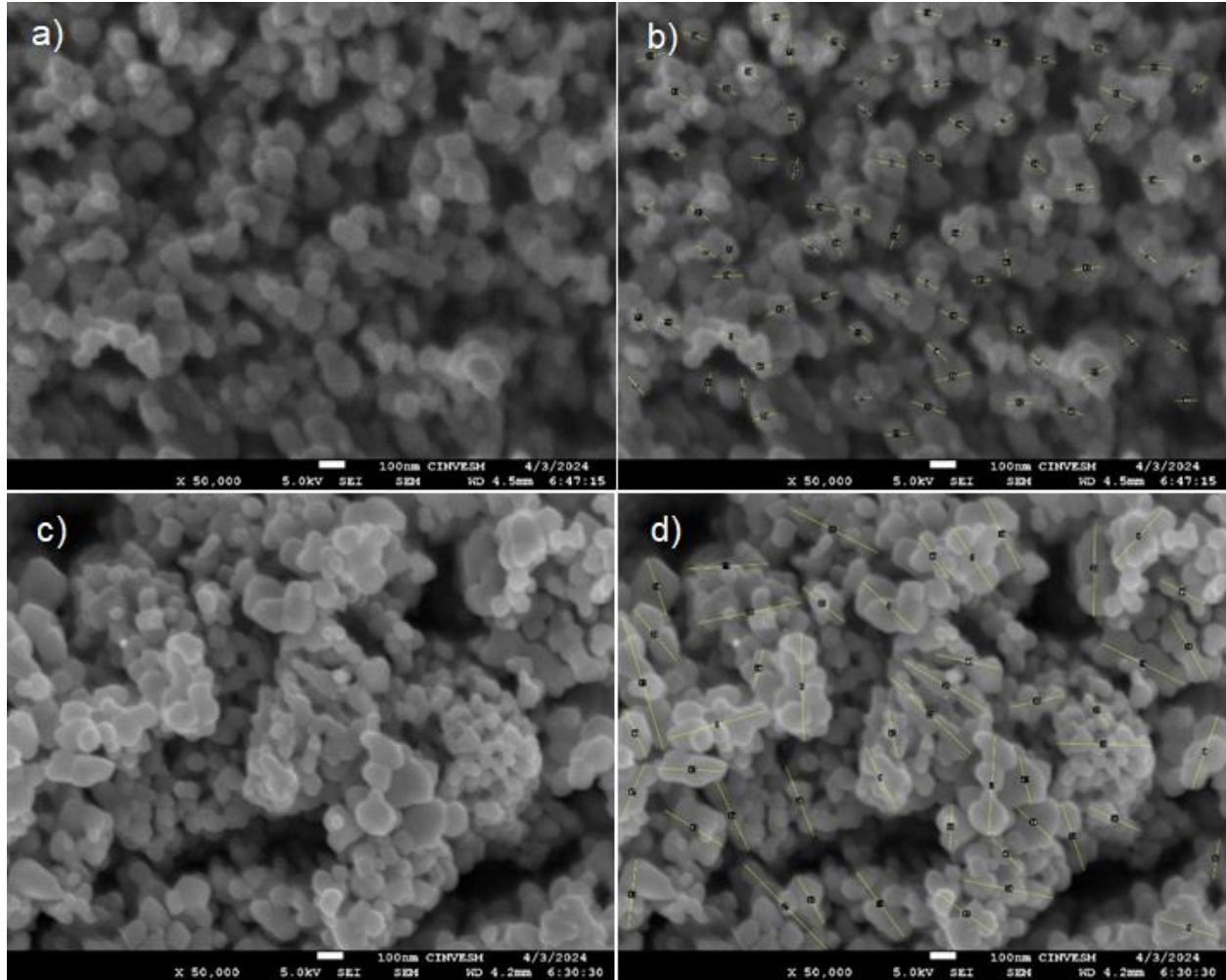
La caracterización de las nanopartículas mediante SEM permitió observar una morfología esférica y más uniforme en comparación al polvo comercial sin nanoparticular, como se muestra en la Figura 6. Para ser utilizadas en la agricultura, es importante que las nanopartículas presenten una forma esférica, ya que esto aumenta su área superficial y su actividad fotocatalítica, lo que permite una mejor absorción de nutrientes por las plantas. Así mismo, las nanopartículas de TiO₂ con formas distintas a la esférica, como las facetadas o alargadas, presentan una forma irregular que dificulta su aplicación en los campos de cultivo. Además, estas formas no esféricas pueden dificultar la distribución uniforme de los nanofertilizantes, lo que afecta negativamente el crecimiento de las plantas (Fazio et al., 2015; Gamedze et al., 2022; Šebesta et al., 2021).

Se identificó un tamaño promedio de las nanopartículas de 95,2 nm, lo que representa una reducción de tamaño del 66,3%, partiendo de un tamaño de partícula de 282,9 nm, identificado mediante la medición sobre las imágenes SEM como se observa en las Figuras 6 (b) y (d).

Estos resultados son congruentes con los presentados por otros estudios (Moshirian Farahi et al., 2023) donde nanopartículas de morfología esférica, tuvieron un efecto favorable sobre la producción de materia seca y algunas propiedades antioxidantes y bioquímicas en espinacas, ya que el uso de NP aumentó el almacenamiento de nitrógeno para la síntesis de clorofila y proteínas en comparación con el control, aumentando a su vez el crecimiento de las espinacas.

Figura 6

Miografías SEM de TiO_2 antes y después de la molienda



Nota: (a) Nanopartículas de TiO_2 . (b) Medición de diámetro de nanopartículas de TiO_2 . (c) Polvo comercial de TiO_2 sin nanoparticular. (d) Medición de diámetro partículas de polvo comercial de TiO_2 sin nanoparticular.

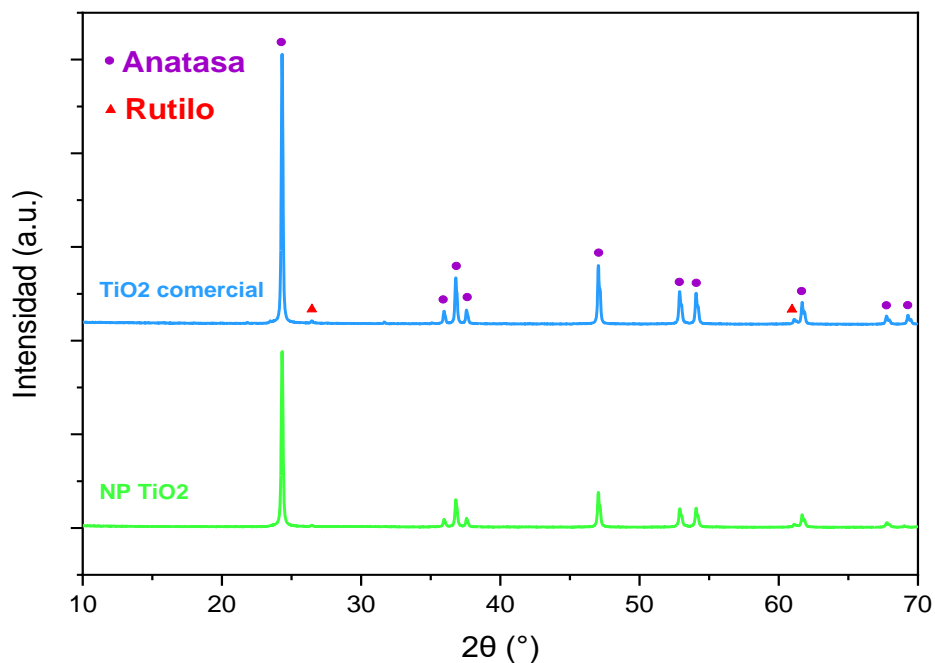
4.2.4 Difracción de rayos X (XRD):

La caracterización microestructural de las nanopartículas mediante XRD determinó que no hubo cambio en la formación de estructuras cristalinas, ya que como se observa en la Figura 7, los picos presentados en el TiO₂ sin nanoestructurar se mantienen presentes en las nanopartículas, es decir, se mantiene el porcentaje inicial de rutilo y anatasa después de la molienda. Además, se evidencia una disminución en la intensidad de difracción debido a la reducción en el número de átomos que contribuyen al patrón de difracción. Estos resultados son congruentes a los de otros estudios (Hernández Enríquez et al., 2008) en los que se registraron picos de menor intensidad a medida que disminuía el tamaño de partícula, sin embargo, en este estudio se evidencian diferencias en los picos registrados de la fase rutilo, ya que presentan variación respecto al polvo comercial sin nanoparticular.

La presencia mayoritaria de la fase anatasa resulta en beneficios para la planta, ya que en estudios donde evalúan el efecto nanocristales de anatasa y de rutilo sobre hojas de vid, los tratamientos con anatasa mejoraron la biosíntesis de piridoxina, incluso en una concentración más baja. Además, Se formó un nivel más alto de grupos hidroxilo usando anatasa que rutilo en las mismas condiciones experimentales, por lo que esto explica la actividad fotocatalítica superior de la anatasa (Luttrell et al., s/f; Odling & Robertson, 2015), sin embargo, en altas concentraciones puede ser un actor de estrés para la planta. (Kőrösi et al., 2022)

Figura 7

Difractograma de Rayos X de las NP de TiO_2 en comparación con TiO_2 sin nanoparticular



4.2.5 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS):

La caracterización de las nanopartículas mediante la técnica XPS determinó la cuantificación elemental de la muestra, la cual se puede evidenciar en las Tablas 5 y 6. Al observar el espectro general presentado en la Figura 8, se evidencian picos de elementos como Carbono (C), Oxígeno (O), Titanio (Ti) y la presencia de Hierro (Fe) en la muestra después de la molienda, lo que puede deberse a la fuerza de fricción de los cuerpos molidores y el recipiente de acero inoxidable, ya que algunos estudios (Martínez-González et al., 2022) reportan impurezas de Hierro de alrededor 0,5% atómico en la muestra final debido al uso de materiales como acero en la molienda.

Tabla 5

Cuantificación elemental en superficie a partir de XPS (% atómico)

Muestra/Elemento	C	O	Ti	Fe
TiO ₂ comercial	61,60%	35,09%	3,31%	ND
NP TiO ₂	61,65%	34,18%	2,54%	1,63%

Nota: ND: Elemento No Detectado. La profundidad de lectura de la muestra fue hasta 10nm

Tabla 6

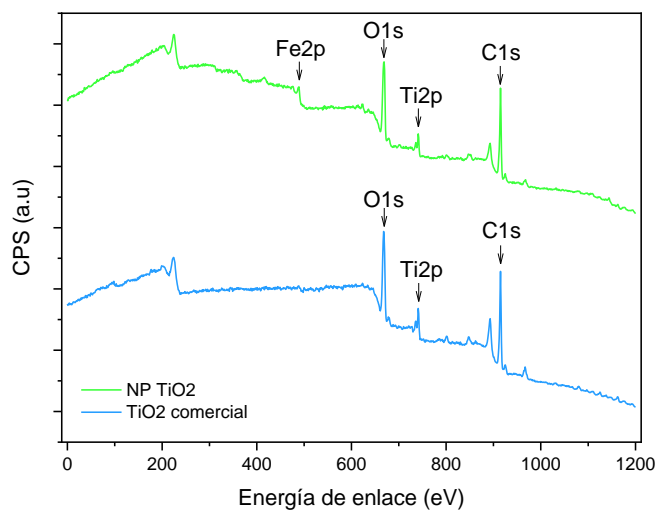
Cuantificación elemental en superficie a partir de XPS (% másico)

Muestra/Elemento	C	O	Ti	Fe
TiO ₂ comercial	50,68%	38,45%	10,87%	ND
NP TiO ₂	49,36%	36,45%	8,11%	6,08%

Nota: ND: Elemento No Detectado. La profundidad de lectura de la muestra fue hasta 10nm

Figura 8

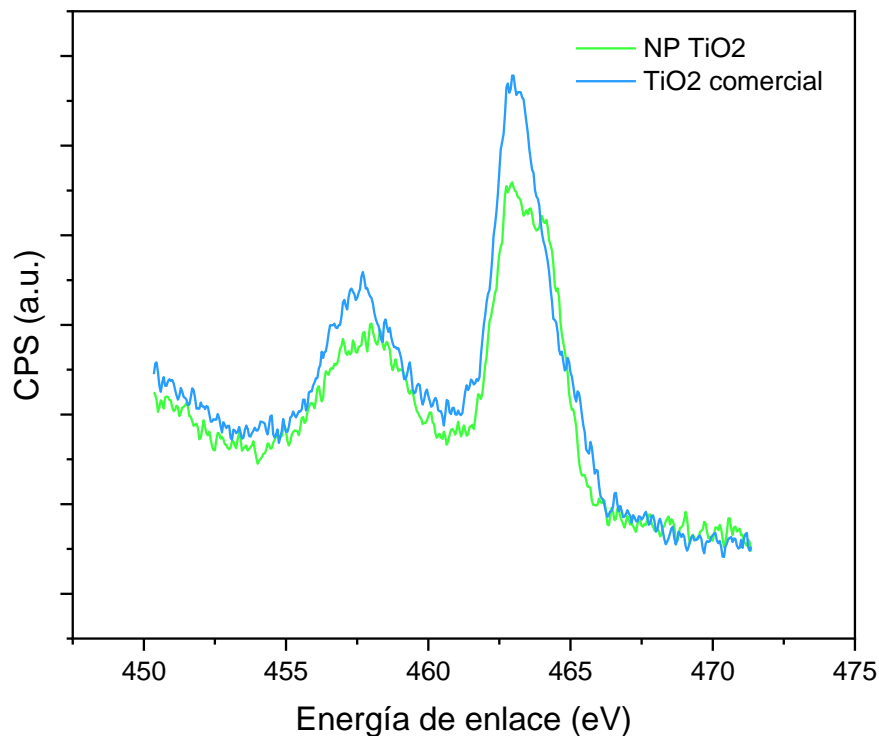
Espectro general obtenido a partir de microscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) de la muestra de TiO₂ comercial y NP de TiO₂



En la Figura 9, se observa el espectro ampliado del Ti2p, evidenciando que no hay corrimiento químico significativo entre la muestra sin moler y la muestra después de la molienda, encontrándose una energía de enlace de 458,78 eV. Revisando los espectros de alta resolución del Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy y la base de datos del NIST (*NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database, s/f*), esta energía corresponde a TiO₂, por lo que comprueba que antes y después de la molienda se mantuvo el TiO₂ químicamente.

Figura 9

Espectro del Ti2p obtenido a partir de microscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) de la muestra de TiO₂ comercial y NP de TiO₂



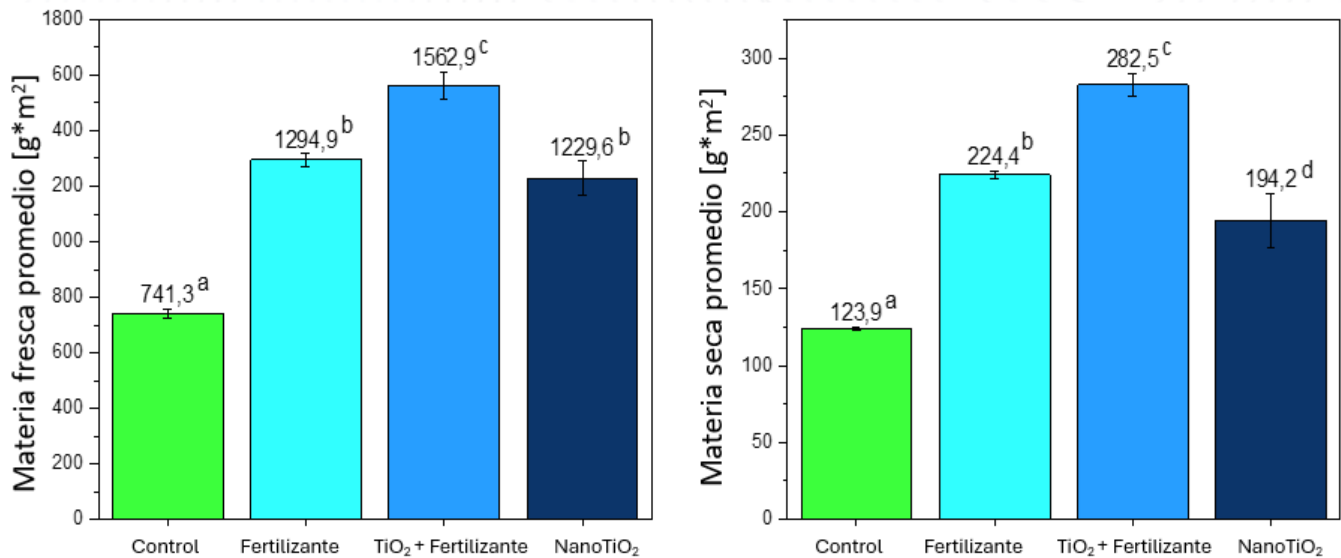
4.3 Evaluación de nanopartículas de dióxido de titanio en invernadero

4.3.1 Cuantificación de producción de biomasa:

Al realizar la proyección para obtener el promedio de biomasa en base fresca y seca, el mayor valor fue registrado por el tratamiento donde se utilizó fertilizante balanceado con inclusión de nanopartículas, seguido del que usó solo fertilizante, luego el de solo NP y el control, presentando la misma tendencia que su valor en peso fresco, como se observa en la Figura 10. Observándose un aumento en la producción de biomasa en base fresca del 20% y un aumento del 25% en base seca al implementar NP con fertilizante respecto al tratamiento con sólo fertilizante.

Figura 10

Materia fresca promedio y materia seca promedio obtenida en cada tratamiento



Nota: Datos que presenten la misma letra no son significativamente diferentes.

Lo anterior se debe al efecto de las NP sobre el fertilizante, promoviendo la mejor absorción de los nutrientes que éste aporta, resultando en un mayor crecimiento para la planta. En el caso del

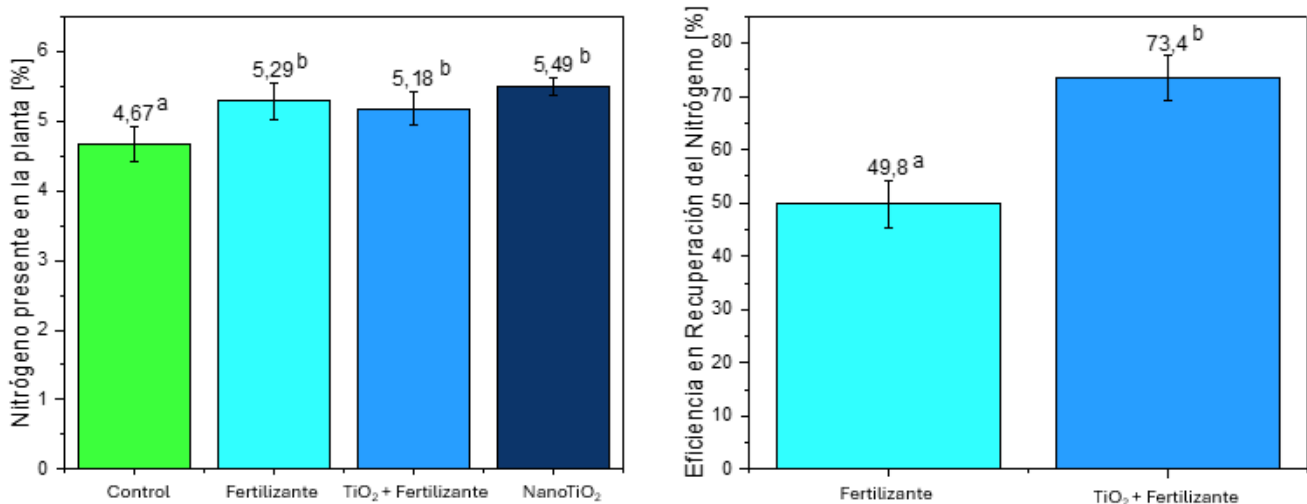
tratamiento con sólo NP, se evidencia mayor crecimiento que el control, debido a que las NP permiten la absorción de los nutrientes presentes en el suelo con mayor velocidad. Esto tiene sentido respecto a otros autores (Kumar et al., 2022), los cuales afirman que las nanopartículas de TiO₂ afectan la actividad metabólica, la bioquímica y la morfología de las plantas al aumentar la producción de biomasa.

4.3.2 Cuantificación de absorción de nitrógeno:

Los resultados indican que el porcentaje de nitrógeno presente en la planta no varía significativamente entre tratamientos, excepto en el control. La eficiencia en la recuperación del nitrógeno se calculó para los experimentos donde se agregó fertilizante, mostrando el valor más alto en el tratamiento donde se empleó fertilizante balanceado y nanopartículas, como se evidencia en la Figura 11. Comprobando así, que el uso de NP promueve la absorción de nitrógeno en un 24%, debido a las propiedades fotocatalíticas del TiO₂.

Figura 11

Porcentaje de nitrógeno presente en la planta y eficiencia en su recuperación



Nota: Datos que presenten la misma letra no son significativamente diferentes.

4.3.3 Cuantificación de otras características nutricionales:

Los resultados de la calidad nutricional de las plantas del tratamiento donde se usó fertilizante balanceado junto a nanopartículas mostraron un contenido de carbono del 43,77%, hidrógeno 4,70%, proteína 32,42%, minerales 18,64%, y una energía de 3634 kcal/kg. Estas cifras indican un perfil nutricional equilibrado, con un alto contenido de proteína y energía, que no se ve afectado significativamente por las nanopartículas, lo que mantiene al *Ray Grass* como una fuente beneficiosa para la alimentación animal o como suplemento dietético.

Los resultados obtenidos muestran un contenido de proteína más alto que otros forrajes conocidos por su elevado contenido proteico, ya que en otros estudios (López et al., 2021) llevaron a cabo un análisis nutricional de henos de alfalfa destinados a la alimentación de rumiantes, y descubrieron que los niveles de proteína oscilaban entre el 18,73% y el 22,44%.

5. Conclusiones

La fabricación de nanopartículas de TiO₂ mediante molienda de alta energía es un proceso altamente influenciado por varios parámetros, incluido el tiempo de molienda, el factor de llenado y la velocidad de rotación del molino, siendo ésta última la más significativa en el tamaño de partícula obtenido. Las condiciones de molienda que resultaron en nanopartículas de menor tamaño fueron 200 rpm, 2 horas de molienda y un factor de llenado del 15%, obteniéndose porcentajes de recuperación del 93% y una reducción de tamaño del 66,3%.

La caracterización de las nanopartículas de TiO₂ mediante técnicas como DLS, XRD, SEM, AFM y XPS ha permitido determinar sus propiedades estructurales, morfológicas y superficiales con gran detalle. Obteniendo nanopartículas con un tamaño promedio de 95 nm, esféricas, en su mayoría con anatasa como fase cristalina y sin cambio químico significativo durante el proceso de molienda.

La adición de nanopartículas a los fertilizantes en cultivos de Ray Grass ha demostrado mejorar la producción de biomasa en base seca en un 25% y la eficiencia en el uso de nitrógeno en un 24%. Estos resultados sugieren que las nanopartículas de TiO₂ tienen un efecto beneficioso en el crecimiento de las plantas y en el aprovechamiento de nutrientes, lo que puede tener implicaciones importantes para la agricultura sostenible y la seguridad alimentaria.

6. Recomendaciones

Implementar una metodología para evitar la aglomeración de las NP durante la molienda de alta energía para evaluar el efecto de un menor tamaño de partícula a mayores velocidades y tiempos de molienda, probando otros materiales para el recipiente y cuerpo molidores para evitar impurezas en el proceso.

Evaluar el efecto del uso de fertilizantes con nanopartículas de TiO₂ en cultivos de plantas que produzcan fruto, para analizar su influencia sobre la germinación de éste.

Realizar estudios del uso de nanopartículas de TiO₂ en fertilizantes variando la dosis de nanopartículas que se agrega para así encontrar la cantidad óptima para el cultivo.

Referencias Bibliográficas

- Abdel-Hakim, S. G., Shehata, A. S. A., Moghannem, S. A., Qadri, M., El-Ghany, M. F. A., Abdeldaym, E. A., & Darwish, O. S. (2023). Nanoparticulate Fertilizers Increase Nutrient Absorption Efficiency and Agro-Physiological Properties of Lettuce Plant. *Agronomy*, *13*(3), 691. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY13030691/S1>
- Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., Haider, J., Khan, M., Khan, Q., & Maqbool, M. (2022). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, *300*. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2021.102597>
- Abushad, M., Naseem, S., Arshad, M., Shafi, A., Khan, M. Z., Ansari, A., Chakradhary, V. K., Singh, F., Husain, S., & Khan, W. (2023). Physical properties and photocatalytic activity of Cr-doped TiO₂ nanoparticles. *Journal of Microscopy*, *291*(3), 210–228. <https://doi.org/10.1111/JMI.13211>
- Ali, S. S., Darwesh, O. M., Kornaros, M., Al-Tohamy, R., Manni, A., El-Shanshoury, A. E. R. R., Metwally, M. A., Elsamahy, T., & Sun, J. (2021). Nano-biofertilizers: Synthesis, advantages, and applications. *Biofertilizers: Volume 1: Advances in Bio-inoculants*, 359–370. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00007-5>
- Anuratha, K. S., & Lakshminarasimhan, N. (2014). Role of synthesis medium of TiO₂ nanoparticles in enhancing the open circuit voltage and efficiency in dye-sensitized solar cell. *Journal of Solid State Electrochemistry*, *18*(12), 3407–3414. <https://doi.org/10.1007/S10008-014-2565-1/FIGURES/10>

- Asari, S. A. M., Yusoff, M., Masri, M. N., Jaafar, H., Razali, M. H., & Nik, W. M. N. W. (2023). Influence of Milling Parameters on the Characteristics of Alumina-Titania Nanocomposite Prepared by High-Energy Ball Milling. *Lecture Notes in Mechanical Engineering*, 25–32. https://doi.org/10.1007/978-981-19-9509-5_4/COVER
- Badillo, E. (2021). *SÍNTESIS POR MOLIENDA MECÁNICA, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES DE SULFUROS DE COBRE*. CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.
- Bala, M., Kumar Bansal, S., & Fatima, F. (2023). Nanotechnology: A boon for agriculture. *Materials Today: Proceedings*, 73, 267–270. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2022.09.498>
- Barrera-Ramírez, J., Prado, V., & Solheim, H. (2019). Life cycle assessment and socioeconomic evaluation of the illicit crop substitution policy in Colombia. *Journal of Industrial Ecology*, 23(5), 1237–1252. <https://doi.org/10.1111/JIEC.12917>
- Bracken, C. J., Lanigan, G. J., Richards, K. G., Müller, C., Tracy, S. R., & Murphy, P. N. C. (2022). Seasonal effects reveal potential mitigation strategies to reduce N₂O emission and N leaching from grassland swards of differing composition (grass monoculture, grass/clover and multispecies). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 340, 108187. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2022.108187>
- Carneiro, J. O., Azevedo, S., Fernandes, F., Freitas, E., Pereira, M., Tavares, C. J., Lanceros-Méndez, S., & Teixeira, V. (2014). Synthesis of iron-doped TiO₂ nanoparticles by ball-milling process: The influence of process parameters on the structural, optical, magnetic, and photocatalytic properties. *Journal of Materials Science*, 49(21), 7476–7488. <https://doi.org/10.1007/S10853-014-8453-3/FIGURES/11>

- Chaudhary, I., & Singh, V. (2020). Titanium Dioxide Nanoparticles and its Impact on Growth, Biomass and Yield of Agricultural Crops under Environmental Stress: A Review. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.3923/RJNN.2020.1.8>
- Cinar, S., Ozkurt, M., & Cetin, R. (2020). Effects of nitrogen fertilization rates on forage yield and quality of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) in central black sea climatic zone in Turkey. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(1), 417–432. https://doi.org/10.15666/AEER/1801_417432
- Deepika, J., Prasad, T., Rao, C. S., Luther, M. M., & Rao, V. S. (2020). Emergence of nanoscale fertilizers in agriculture: A review. *International Journal of Chemical Studies*, 8(6), 1164–1169. <https://doi.org/10.22271/CHEMI.2020.V8.I6Q.10919>
- Dubey, A., & Mailapalli, D. R. (2016). *Nanofertilisers, Nanopesticides, Nanosensors of Pest and Nanotoxicity in Agriculture*. 307–330. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_7
- Egan, M., Galvin, N., & Hennessy, D. (2018). Incorporating white clover (*Trifolium repens* L.) into perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) swards receiving varying levels of nitrogen fertilizer: Effects on milk and herbage production. *Journal of dairy science*, 101(4), 3412–3427. <https://doi.org/10.3168/JDS.2017-13233>
- FAO. (2017). *El futuro de la alimentación y la agricultura – Tendencias y desafíos | Economía Agroalimentaria | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. <https://www.fao.org/agrifood-economics/publications/detail/es/c/1475527/>
- Fazio, G., Ferrighi, L., & Di Valentin, C. (2015). Spherical versus Faceted Anatase TiO₂ Nanoparticles: A Model Study of Structural and Electronic Properties. *Journal of Physical*

Chemistry, *C*, *119*(35), 20735–20746.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b06384>

Gamedze, N. P., Mthiyane, D. M. N., Babalola, O. O., Singh, M., & Onwudiwe, D. C. (2022). Physico-chemical characteristics and cytotoxicity evaluation of CuO and TiO₂ nanoparticles biosynthesized using extracts of *Mucuna pruriens utilis* seeds. *Heliyon*, *8*(8).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10187>

Grace, C., Lynch, M. B., Sheridan, H., Lott, S., Fritch, R., & Boland, T. M. (2019). Grazing multispecies swards improves ewe and lamb performance. *animal*, *13*(8), 1721–1729.
<https://doi.org/10.1017/S1751731118003245>

Hamad, H. T., Al-Sharif, Z. T., Al-Najjar, S. Z., & Gadooa, Z. A. (2020). A review on nanotechnology and its applications on fluid flow in agriculture and water resources. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *870*(1).
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/870/1/012038>

Hernández Enríquez, J. M., Serrano, L. A. G., Soares, B. H. Z., Alamilla, R. G., Zermeño Resendiz, B. B., Del, T., Sánchez, A., & Cueto Hernández, A. (2008). *Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de N-TiO₂-Anatasa*.

Khan, F., Pandey, P., & Upadhyay, T. K. (2022). Applications of Nanotechnology-Based Agrochemicals in Food Security and Sustainable Agriculture: An Overview. *Agriculture* *2022*, *Vol. 12*, *Page 1672*, *12*(10), 1672. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE12101672>

Khatri, A., & Bhatia, R. (2022). *Nature Environment and Pollution Technology An International Quarterly Scientific Journal Open Access Journal Original Research Paper Efficacy of*

- Nanofertilizers Over Chemical Fertilizers in Boosting Agronomic Production*. 22, 767–776.
<https://doi.org/10.46488/NEPT.2023.v22i02.019>
- Kopittke, P. M., Lombi, E., Wang, P., Schjoerring, J. K., & Husted, S. (2019). Nanomaterials as fertilizers for improving plant mineral nutrition and environmental outcomes. *Environmental Science: Nano*, 6(12), 3513–3524. <https://doi.org/10.1039/C9EN00971J>
- Kopp Alves, A., Bergmann, C. P., & Berutti, F. A. (2013). High-Energy Milling. *Engineering Materials*, 77–85. https://doi.org/10.1007/978-3-642-41275-2_7/COVER
- Kőrösi, L., Bognár, B., Czégény, G., & Lauciello, S. (2022). Phase-Selective Synthesis of Anatase and Rutile TiO₂ Nanocrystals and Their Impacts on Grapevine Leaves: Accumulation of Mineral Nutrients and Triggering the Plant Defense. *Nanomaterials 2022, Vol. 12, Page 483*, 12(3), 483. <https://doi.org/10.3390/NANO12030483>
- Kumar, D., Biswal, B., Kashyap, S., Kumar, R., Yadav, M. R., Singh, P., Makarana, G., Rajput, V. D., & Jatav, H. S. (2022). Effects, uptake, translocation and toxicity of Ti-based nanoparticles in plants. *Toxicity of Nanoparticles in Plants: An Evaluation of Cyto/Morpho-physiological, Biochemical and Molecular Responses*, 211–239. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90774-3.00014-3>
- Lira-Saldivar, R. H., Argüello, B. M., Villarreal, G. D. los S., & Reyes, I. V. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2), 9–24. <https://doi.org/10.15174/AU.2018.1575>
- Liu, Z., Yin, H., Liu, H., Zhang, N., Zhang, X., & Xu, Q. (2022). Antibacterial and photocatalytic degradation properties of TiO₂-based composite. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1080/03067319.2022.2081080>

- López, Vargas, Yáñez, Haro, & Vargas. (2021). Nutritional Characterization of *Medicago sativa* (Alfalfa) for Feeding to Ruminants. *ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.*, 1(5), 1311-1321–1311–1321. <https://doi.org/10.18502/ESPOCH.V1I5.9570>
- Luttrell, T., Halpegamage, S., Tao, J., Kramer, A., Sutter, E., & Batzill, M. (s/f). *Why is anatase a better photocatalyst than rutile?-Model studies on epitaxial TiO₂ films.* <https://doi.org/10.1038/srep04043>
- Mandal, D., & Lalrinchhani. (2021). Nanofertilizer and its application in horticulture. *Journal of Applied Horticulture*, 23(1), 70–77. <https://doi.org/10.37855/JAH.2021.V23I01.14>
- Marek, K., Lucia, N., Martin, Š., Martin, U., Dávid, E., Gabriela, K., & Zuzana, K. (2021). Effect of TiO₂ as Plant Growth-Stimulating Nanomaterial on Crop Production. *Nanotechnology in the Life Sciences*, 129–144. https://doi.org/10.1007/978-3-030-36740-4_5/FIGURES/4
- Mariño-Gámez, A. E., Acosta-González, G. E., Pech-Canul, M. I., Hernández, M. B., García-Villarreal, S., Zambrano-Robledo, P., Vera Barrios, B. S., & Aguilar-Martínez, J. A. (2022). Influence of high energy ball milling on structural, microstructural and optical properties of TiO₂ nanoparticles. *Ceramics International*, 48(3), 3362–3367. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2021.10.111>
- Martínez-González, J., Flores Gil, A., Reyes-Contreras, D., Viguera-Santiago, E., & García-Orozco, I. (2022). *Materiales avanzados y nanomateriales. Aprovechamiento de fuentes naturales y sus beneficios al medio ambiente.* <https://doi.org/10.3926/oms>
- Messai, Y., Vileno, B., Martel, D., Turek, P., & Mekki, D. E. (2018). Milling effect on the photo-activated properties of TiO₂ nanoparticles: electronic and structural investigations. *Bull. Mater. Sci*, 41, 57. <https://doi.org/10.1007/s12034-018-1572-8>

- Montgomery, D. C. (2013). *Design and Analysis of Experiments* (8a ed.).
- Morteza, E., Moaveni, P., Farahani, H. A., & Kiyani, M. (2013). Study of photosynthetic pigments changes of maize (*Zea mays* L.) under nano Tio₂ spraying at various growth stages. *SpringerPlus*, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-247/TABLES/4>
- Moshirian Farahi, S. M., Taghavizadeh Yazdi, M. E., Einafshar, E., Akhondi, M., Ebadi, M., Azimipour, S., Mahmoodzadeh, H., & Iranbakhsh, A. (2023). The effects of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on physiological, biochemical, and antioxidant properties of Vitex plant (*Vitex agnus - Castus* L). *Heliyon*, 9(11), e22144. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2023.E22144>
- NDABA, B., ROOPNARAIN, A., RAMA, H., & MAAZA, M. (2022). Biosynthesized metallic nanoparticles as fertilizers: An emerging precision agriculture strategy. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(5), 1225–1242. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(21\)63751-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(21)63751-6)
- NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database*. (s/f). Recuperado el 5 de abril de 2024, de <https://srdata.nist.gov/xps/XPSSummaryPage/67366>
- Odling, G., & Robertson, N. (2015). Why is Anatase a Better Photocatalyst than Rutile? The Importance of Free Hydroxyl Radicals. *ChemSusChem*, 8(11), 1838–1840. <https://doi.org/10.1002/CSSC.201500298>
- Patra, J. K., Loganathan, K., Tripathi, D. K., Prasad, R., Bhattacharyya, A., & Nguyen, Q. D. (2017). *Nanotechnology in Sustainable Agriculture: Recent Developments, Challenges, and Perspectives*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
- Petrović, S., Rožić, L., Grbić, B., Radić, N., Stefanov, P., Stojadinović, S., Jović, V., & Lamovec, J. (2019). Effect of high energy ball milling on the physicochemical properties of TiO₂ –

- CeO₂ mixed oxide and its photocatalytic behavior in the oxidation reaction. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, 127(1), 175–186. <https://doi.org/10.1007/S11144-019-01564-2/TABLES/2>
- Pohshna, C., Rao Mailapalli, D., Laha, T., Pohshna, C., Mailapalli, D. R., & Laha, T. (2020). *Synthesis of Nanofertilizers by Planetary Ball Milling*. 75–112. https://doi.org/10.1007/978-3-030-33281-5_3
- Raliya, R., Biswas, P., & Tarafdar, J. C. (2015). TiO₂ nanoparticle biosynthesis and its physiological effect on mung bean (*Vigna radiata* L.). *Biotechnology Reports*, 5(1), 22–26. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2014.10.009>
- Ramírez Herrera, A. D. (2022). *Síntesis y toxicidad de nanopartículas de óxido de titanio propuestas para su uso agrícola* [Instituto Politécnico Nacional]. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/30636>
- Sahoo, A., Sethi, J., Satapathy, K. B., Sahoo, S. K., & Panigrahi, G. K. (2022). Nanotechnology for precision and sustainable agriculture: recent advances, challenges and future implications. *Nanotechnology for Environmental Engineering*. <https://doi.org/10.1007/S41204-022-00277-7>
- Šebesta, M., Ramakanth, I., Zvěřina, O., Šeda, M., Diviš, P., & Kolenčík, M. (2021). Effects of Titanium Dioxide Nanomaterials on Plants Growth. *Nanotechnology in Plant Growth Promotion and Protection*, 17–44. <https://doi.org/10.1002/9781119745884.CH2>
- Septevani, A. A., Devy, Y. A., Khaerudini, D. S., Septiyanti, M., & Sampora, Y. (2021). Facile and low-cost production of TiO₂ nanoparticles using high-energy milling for dye degradation. *AIP Conference Proceedings*, 2382(1). <https://doi.org/10.1063/5.0060035/783360>

- Singh, A., & Imtiyaz, A. (2023). Applications of Nanotechnology in Agriculture and Food Science: A Review. *Asian Journal of Chemistry*, 35(5), 1049–1062. <https://doi.org/10.14233/AJCHEM.2023.27735>
- Singh, V. (2022). Nanotechnology and its application in agriculture biotechnology. *Knowledgeable Research: A Multidisciplinary Journal*, 1(4), 34–52. <https://doi.org/10.57067/PPRT.2022.1.4.34-52>
- United Nations. (2023). *Una población en crecimiento*. <https://www.un.org/es/global-issues/population>
- Vargas. (2011). *Nanopartículas de TiO₂, fase anatasa, sintetizadas por métodos químicos*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-34612011000200004&script=sci_abstract&tlng=es
- Yadav, A., Yadav, K., & Abd-Elsalam, K. A. (2023). Nanofertilizers: Types, Delivery and Advantages in Agricultural Sustainability. *Agrochemicals 2023, Vol. 2, Pages 296-336*, 2(2), 296–336. <https://doi.org/10.3390/AGROCHEMICALS2020019>
- Zahra, Z., Habib, Z., Hyun, H., & Shahzad, H. M. A. (2022). Overview on Recent Developments in the Design, Application, and Impacts of Nanofertilizers in Agriculture. *Sustainability (Switzerland)*, 14(15). <https://doi.org/10.3390/SU14159397>