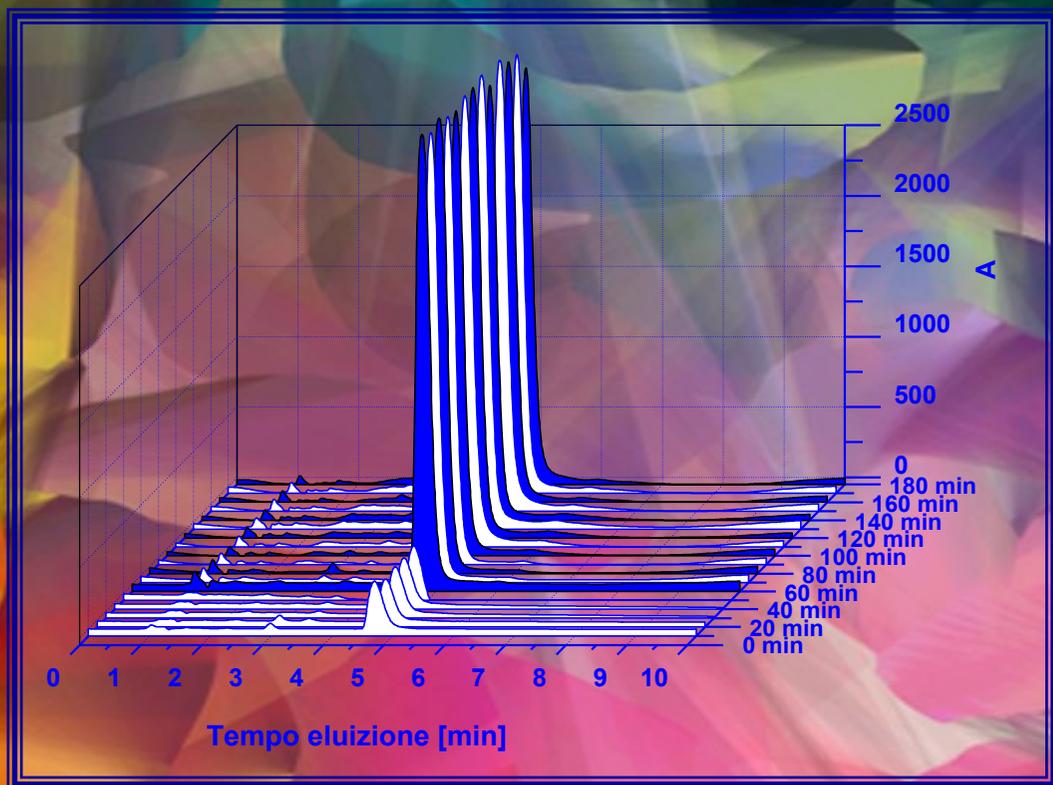


Produzione su scala pilota di chelati di ferro per l'agricoltura



**Donata Marialuisa
Santoro**

Produzione su scala pilota di chelati di ferro per l'agricoltura

Donata Marialuisa Santoro



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

Produzione su scala pilota di chelati di ferro per l'agricoltura

Tesi in
Principi di Ingegneria Chimica

Relatore:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Candidata:

Donata Marialuisa Santoro

matricola 0610200311

Correlatore:

Ing. Pietro Apicella

Anno Accademico 2012/2013

*Alle persone più importanti
della mia vita, i miei genitori,
mia sorella Annagrazia,
il mio ragazzo Danilo
... ma anche un po' a me stessa*

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman

La data prevista per la discussione della tesi è il 19.09.2013

Fisciano, 11.09.2013

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	III
Indice delle tabelle	VII
Abstract	IX
Introduzione.....	1
1.1 Generalità _____	2
1.1.1 L'importanza del ferro per la vita della pianta	2
1.1.2 Clorosi ferrica	6
1.1.3 Impiego di chelanti	8
1.2 Stato dell'arte _____	13
1.2.1 Processi di sintesi	14
1.2.2 Metodi analitici	16
1.3 Obiettivi _____	22
Materiali e metodi	23
2.1 Materiali _____	24
2.1.1 Reagenti	24
2.1.2 Solventi	26
2.1.3 Chelanti	27
2.1.4 Prodotto: o,o-EDDHA/Fe ³⁺	27
2.2 Apparecchiature _____	28

2.2.1 Impianto pilota	28
2.2.2 HPLC	31
2.3 Sintesi o,o-EDDHA/Fe ³⁺	34
2.3.1 Conduzione prove	34
2.4 Determinazioni analitiche	37
2.4.1 Analisi cromatografica	38
2.4.2 Analisi dei prodotti e Bilanci di materia	47
Risultati e discussione	49
3.1 Sintesi	50
3.1.1 Sintesi 1	50
3.1.2 Sintesi 2	58
3.1.3 Sintesi 3	64
3.2 Confronto con i campioni commerciali	70
Conclusioni	73
4.1 Conclusioni e prospettive future	74
Bibliografia	77

Indice delle figure

Figura 1. Percentuale di clorofilla nelle radici e nelle piante di mais al variare del ferro [2].....	2
Figura 2. Solubilità e assorbimento degli elementi nutritivi in relazione al pH del terreno [6].....	4
Figura 3. Disponibilità degli ioni Fe (II) e Fe (III) in base al pH del terreno [7].....	5
Figura 4. Grave clorosi del pioppo bianco (<i>Populus alba</i> ; a sinistra) e tipica clorosi su foglia di Liquidambar (a destra) [4].....	7
Figura 5. Carenza di ferro su una pianta ornamentale (a destra) e su una pianta orticola-frutticola (a sinistra) [9].....	7
Figura 6. Sequenza di chelazione di uno ione metallico [37].....	9
Figura 7. Meccanismo di acquisizione del ferro [37].....	9
Figura 8. Stabilità di alcuni chelati di ferro al variare del pH del suolo. Per 100µM di chelato e per un massimo di 10µM di Cu ²⁺ in soluzione [14].....	10
Figura 9. Ferro-chelanti "deboli". EDTA, acido etilen-diammino-tetracetico; HEDTA, acido 2-idrossietilen-diammino-tetracetico; DTPA, acido dietilenti-triammino-pentacetico [13].....	11
Figura 10. Formula di struttura dei tre isomeri posizionali dell'EDDHA [17].....	11
Figura 11. Agenti chelanti derivati dell'EDDHA presenti in commercio. EDDHMA, acido etilendiammino-di(orto-idrossifenilmetilacetico); EDDHSA, acido etilendiammino-di(2-idrossi-5-solfonatofenilacetico); EDDCHA, acido etilendiammino-di(5-carbossi-2-idrossifenilacetico) [13].....	12
Figura 12. Stabilità del EDDHAFeed analoghi (con gruppi funzionali e posizioni di sostituzione diverse) al variare del pH del suolo (a sinistra) [13]. Isomeri posizionali (orto e para) e geometrici (racemico e meso) dell'o,o-EDDHA/Fe ³⁺ e dell'o,o-EDDHMA/Fe ³⁺ [14]. Per 100µM di chelato e per un massimo di 10µM di Cu ²⁺ in soluzione.....	12
Figura 13. Confronto tra gli isomeri [o,o] ed [o,p] dell'EDDHA [37].....	13
Figura 14. Tipico cromatogramma di una soluzione 25 mg Fe/l di o,o-EDDHAFe standard. Picco 1, racemico-o,o-EDDHA/Fe ³⁺ ; Picco 2, meso-o,o-EDDHA/Fe ³⁺ ; X=tempo [min] [30].....	18

Figura 15. Tipico cromatogramma di un prodotto commerciale di EDDHAFe. Picco 1, racemico-o,o-EDDHA/Fe ³⁺ ; Picco 2, meso-o,o-EDDHA/Fe ³⁺ ; Picco 3, o,p-EDDHA/Fe ³⁺ ; Picco 4, p,p-EDDHA/Fe ³⁺ ; X=tempo [min] [30].....	18
Figura 16. Influenza del pH sul tempo di ritenzione dell'o,p-EDDHA/Fe ³⁺ [32].	19
Figura 17. Influenza della concentrazione di TBA ⁺ sul tempo di ritenzione dell'o,p-EDDHA/Fe ³⁺ a due differenti valori di pH, 5 e 7.75 [32].....	20
Figura 18. Cromatogramma e spettro UV-vis alla lunghezza d'onda di 480 nm per (A) un fertilizzante commerciale EDDHA/Fe ³⁺ , (B) uno standard o,o-EDDHA/Fe ³⁺ e (C) uno standard o,p-EDDHA/Fe ³⁺ [32].	21
Figura 19. Formula di struttura del fenolo.	24
Figura 20. Formula di struttura dell'etilendiammina.....	25
Figura 21. Formula di struttura dell'acido gliossilico.	25
Figura 22. Formula di struttura del toluene.	26
Figura 23. Formula di struttura dell'acetato di manganese tetraidrato.....	26
Figura 24. Formula di struttura dell'acetoneitrile.	27
Figura 25. Formula di struttura del tetrabuttilammonio idrossido.	27
Figura 26. Esempio di prodotto ottenuto dalla sintesi.	28
Figura 27. Impianto pilota utilizzato.....	29
Figura 28. Andamento della tensione rispetto al pH di soluzioni tampone usate per tarare la sonda di pH.....	30
Figura 29. Interfaccia grafica dei programmi di controllo.....	31
Figura 30. Apparecchiatura HPLC impiegata in laboratorio.	32
Figura 31. Campione di spessore l, concentrazione c e diffusività α [35].	33
Figura 32. Separazione fasi.....	35
Figura 33. Campioni prelevati (in alto) e prodotto di interesse (in basso) dopo l'essiccamento.	37
Figura 34. Traccianti cromatografici ottenuti dall'analisi dello standard chelato a diverse diluizioni (riferito alla taratura n°1).	39
Figura 35. Andamento dell'assorbanza A ₁ , relativa al primo picco, in funzione della concentrazione delle varie diluizioni di S ₀ (riferito alla taratura n°1).....	41
Figura 36. Andamento dell'assorbanza A ₂ , relativa al secondo picco, in funzione della concentrazione delle varie diluizioni di S ₀ (riferito alla taratura n°1).....	41
Figura 37. Taratura n°1.....	42
Figura 38. Traccianti cromatografici ottenuti dall'analisi dello standard chelato a diverse diluizioni (riferito alla taratura n°2).	43

Figura 39. Andamento dell'assorbanza A_1 , relativa al primo picco, in funzione della concentrazione delle varie diluizioni di S_0 (riferito alla taratura n°2).....	45
Figura 40. Andamento dell'assorbanza A_2 , relativa al secondo picco, in funzione della concentrazione delle varie diluizioni di S_0 (riferito alla taratura n°2).....	45
Figura 41. Taratura n°2.	46
Figura 42. Schema dell'impianto.	48
Figura 43. Reazione chimica relativa alla 1° sintesi.....	50
Figura 44. Cromatogramma del prodotto ottenuto relativo alla 1° sintesi.....	54
Figura 45. Andamento dell'assorbanza contro il tempo di eluizione al variare del tempo di reazione relativo alla 1° sintesi.....	55
Figura 46. Andamento dell'integrale in funzione del tempo di reazione relativo alla 1° sintesi.	56
Figura 47. Cromatogramma del prodotto ottenuto relativo alla 2° sintesi.....	61
Figura 48. Andamento dell'assorbanza contro il tempo di eluizione al variare del tempo di reazione relativo alla 2° sintesi.....	61
Figura 49. Andamento dell'integrale in funzione del tempo di reazione relativo alla 2° sintesi.	62
Figura 50. Cromatogramma del prodotto ottenuto relativo alla 3° sintesi.....	67
Figura 51. Andamento dell'assorbanza contro il tempo di eluizione al variare del tempo di reazione relativo alla 3° sintesi.....	67
Figura 52. Andamento dell'integrale in funzione del tempo di reazione relativo alla 3° sintesi.	68

Indice delle tabelle

Tabella 1. Classificazione del terreno in funzione del pH [5].	3
Tabella 2. Tensione in relazione al pH delle soluzioni tampone.	30
Tabella 3. Valori di assorbanze e concentrazioni degli standard chelati per le varie diluizioni (riferiti alla taratura n°1).....	40
Tabella 4. Valori di assorbanze e concentrazioni degli standard chelati per le varie diluizioni (riferiti alla taratura n°2).....	44
Tabella 5. Quantità di reagenti alimentati al reattore per la prima sintesi.	52
Tabella 6. Quantità di solventi alimentati al reattore per la prima sintesi.	52
Tabella 7. Quantità di chelanti alimentati al reattore per la prima sintesi.	53
Tabella 8. Dati ottenuti dall'analisi HPLC per la 1° sintesi.	57
Tabella 9. Quantità di reagenti alimentati al reattore per la seconda sintesi.....	59
Tabella 10. Quantità di solventi alimentati al reattore per la seconda sintesi.	59
Tabella 11. Quantità di chelanti alimentati al reattore per la seconda sintesi.	60
Tabella 12. Dati ottenuti dall'analisi HPLC per la 2° sintesi.	63
Tabella 13. Quantità di reagenti alimentati al reattore per la terza sintesi.....	65
Tabella 14. Quantità di solventi alimentati al reattore per la terza sintesi.	65
Tabella 15. Quantità di chelanti alimentati al reattore per la terza sintesi.	66
Tabella 16. Dati ottenuti dall'analisi HPLC per la 3° sintesi.	69
Tabella 17. Dati ottenuti dall'analisi HPLC per i campioni commerciali.	70

Abstract

This experimental thesis has aimed to produce, in a pilot plant, the EDDHA/Fe³⁺ to introduce process innovations useful for a scale-up to industrial level.

The research activity has been articulated through the realization of three synthesis. Starting from the informations provided by the literature I proceeded to process changes, focused to make it more cost effective and with less impact from the environmental point of view. The first synthesis, carried out according to the patent of Petree et al. [25], was performed employing reagents such as phenol, ethylenediamine, a strong base and glyoxylic acid but already at this early stage some innovation have been introduced. In fact, as solvents and as iron salt of synthesis process, contrary to what reported in the reference procedure, has been avoided the use of chlorinated substances, very toxic and with great environmental impact, instead suggesting the use of substances easier to use at an industrial level and that would lay less problems to the materials. Reproducing as reported were obtained very satisfactory results in terms of both reaction yield (86.54%), values higher than reported in literature (50-60%), and percentage of iron chelate in final product.

In the second stage of the work, always following the objective of optimizing the process, the amount of phenol has been reduced in favor of the addition of toluene to the reaction mixture. In this case the yield obtained was lower than that obtained previously (14%) but the percentage of chelated iron was comparable to that of commercial samples.

In the last synthesis a catalyst capable of promoting the chelation of EDDHA in ortho-ortho position was used. Due to some drawback noticed during the synthesis, the reaction yield was as low as 10%, but

even in this case the percentage of chelated iron was close to that of commercial products.

During the synthesis samples of the reagent mixture were withdrawn and assayed, in order to control and to define the reaction kinetics and, to drive the reaction towards the obtainment of the desired product, perform the control and adjustment of the operating parameters, such as pH and temperature .

The HPLC chromatographic method, used for the analysis of products, was a suitable method to validate the results obtained, and allows the comparison with those proposed in the literature.

By virtue of the results obtained, the future prospects for the development of the research are linked to increase in the reaction yield and in the percentage of chelated iron in the ortho-ortho position. To achieve this result, there are the needs for: the reduction of the amount of solvent used during the synthesis reaction and the recycling of the same; the exact determination of reaction kinetics to reduce the reaction time; and the design of a industrially valid method to dry the products. All must be focused on the aim to design a process that can be scaled to industrial level.

Bibliografia

1. H. V. Marsh, Jr., H. J. Evans, G. Matrone, Investigations of the Role of Iron in Chlorophyll Metabolism I. Effect of Iron Deficiency on Chlorophyll and Heme Content and on the Activities of Certain Enzymes in Leaves, *Plant Physiology*, 38(6): 632–638 (1963).
2. S. C. Aqarwala, C. P. Sharma, S. Farooq, Effect of Iron Supply on Growth, Chlorophyll, Tissue Iron and Activity of Certain Enzymes in Maize and Radish, *Plant Physiology*, 40(3): 493–499 (1965).
3. <http://www.giardinaggio.it/botanica/elnutrit/ferro/ferro.asp>
4. M. Ferrari, D. Galli, Che cosa è la clorosi ferrica, *Giardini* (dicembre 2004/gennaio 2005).
5. <http://www.abicisac.it/servizi/agronomico/analisi/analisi%20chimiche.pdf>
6. http://www.metrop.it/6b_it_info_crescita.html
7. <http://adob.com.pl/images/Files/ADOB%20chelates%20in%20general.pdf>
8. Riviero R. M. et al., Influence of temperature on biomass, iron metabolism and some related bioindicators in tomato and watermelon plants, *Journal of Plant Physiology*, 93 7-22 (1997).
9. <http://www.cifo.it/flex/FixedPages/Common/SchedaCuraDifesa.php/L/IT/ID/13/IDPBL/17>
10. Sanz M. et al., Diagnòsticovisual de la clorosisfèrrica, *InformaciòntècnicaEconòmicaAgrària*, 93 7-22 (1997).
11. Gris E., Nouvelles experiences sur l'action des composés ferrugineuxsolubles, appliques a la vegetation, et specialement au traitement de la chlorose et de la debilite des plantes, *ComptesRendus de l'AcadémiedesSciences Paris*, 19 1118-19 (1844).
12. Fernandez V. et al., Foliar Iron Fertilization: A Critical Review, *Journal of Plant Nutrition*, 28 2113-2124 (2005).
13. Lucena J.J., L.L. Barton et al., Synthetic iron chelates to correct iron deficiency in plants, in *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms*, Springer 103-128 (2007).

14. García-Marco S., Contribuciones científicas al marco legal de fertilizantes de quelatos férricos: análisis cromatográfico; eficacia agronómica de o,p-EDDHA/Fe³⁺, *Sección de Química Agrícola Facultad de Ciencias Universidad Autónoma de Madrid* (2005).
 15. Hernández-Apaolaza L. et al., Chromatographic determination of commercial Fe(III) chelates of ethylenediaminetetraacetic acid, ethylenediaminedi(o-hydroxyphenylacetic) acid and ethylenediaminedi(o-hydroxy-p-methylphenylacetic) acid, *Journal of Chromatography*, 789 453-460 (1997).
 16. Cremonini A. et al., Nuclear magnetic resonance analysis of the iron ligand ethylenediaminedi(o-hydroxyphenyl)acetic acid (EDDHA) employed in fertilizers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 3527-3532 (2001).
 17. Gómez-Gallego M. et al., Synthesis of o,p-EDDHA and its detection as the main impurity in o,o-EDDHA commercial iron chelates, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 6395-6399 (2002).
 18. Yunta F. et al., Chelating agents related to ethylenediaminebis(2-hydroxyphenyl)acetic acid (EDDHA): synthesis, characterization, and equilibrium studies of the free ligands and their Mg²⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, and Fe³⁺-chelates, *Inorganic Chemistry*, 42 5412-5421 (2003).
 19. Hernández-Apaolaza L. et al., Structure and fertilizer properties of byproducts formed in the synthesis of EDDHA, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 4355-4363 (2006).
 20. García-Marco S. et al., Effectiveness of ethylenediamine-N(o-hydroxyphenylacetic)-N(p-hydroxyphenylacetic) acid (o,p-EDDHA) to supply iron to plants, *Plant & Soil*, 279 31-40 (2006).
 21. Regolamento UE n. 137/2011 della commissione del 16 febbraio 2011, *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*, L 43/1 (17.2.2011).
 22. Kroll H. et al., A phenolic analogue of ethylenediaminetetraacetic acid, *Journal of the American Chemical Society*, 79 2024-2025 (1957).
 23. Strecker A., Uebereineneuenaus Aldehyd- Ammoniak und Blausäure entstehenden Körper (p), *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 91 (3) 349-351 (1854).
 24. Dexter M., Preparation of phenolic ethylenediamine polycarboxylic acids, *U.S. Patent 2,824,128* (1958).
 25. Petree H.E. et al., Preparation of phenolic ethylenediamine polycarboxylic acids, *U.S. Patent 4,130,582* (1978).
 26. Kornblum et al., Solvation as a Factor in the Alkylation of Ambident Anions: The Importance of the Hydrogen Bonding Capacity of the Solvent, *Journal of the American Chemical Society*, 85 (8) 1141-1147 (1963).
-

27. Julien J.A.L. et al., Nouveau procede de preparation de lácideetylenediamine N,N'-bis(o-hydroxyphénylacétique) et de derives de celuici, *European Patent 0,331,556 A2* (1989).
 28. Sierra M.A. et al., Nuevoprocimiento para la preparación de ácidosbis(2-hidroxiaril)aminoacéticosutilizandoagentes de transferencia de cianuro, *Patent WO0200604 A1* (2002).
 29. McKenzie et al., Plant Nutrient Based on O, P-Ethylene (Bis) HydroxyphenylGlycines, *US 10/599,409* (2005)
 30. Determination of chelating agents in fertilizers by chromatography Part 2: Determination of Fe chelated by o,o-EDDHA and o,o-EDDHMA by ion pair, *UNI EN 13368-2* (2007).
 31. Sonia Garcia-Marco et al., Gradient ion-pair chromatographic method for the determination of ironN,N-ethylenediamine-di-(2-hydroxy-5-sulfophenylacetate) by high performance liquid chromatography-atmospheric pressure ionization electrospray mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1064 67-74 (2004).
 32. García-Marco S. et al., Chromatographic determination of Fe chelated by ethylenediamine-N-(o-hydroxyphenylacetic)-N'-(p-hydroxyphenylacetic) acid in commercial EDDHA/Fe³⁺ fertilizers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 1380-1386 (2006).
 33. Lourdes Hernandez-Apaolaza et al., Structure and Fertilizer Properties of Byproducts Formed in the Synthesis of EDDHA, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4355-4363 (2006).
 34. <http://www.unipa.it/~dctfpal/camardaanalisiIII/HPLC.doc>
 35. <http://www.chimica-online.it/download/legge-di-lambert-beer.htm>
 36. Anna Garamella, Progettazione e realizzazione di un impianto su scala di laboratorio per la produzione di chelati per l'agricoltura, *Tesi di laurea in ingegneria chimica*, Università degli studi di Salerno (2011/2012).
 37. Marco Gigantino, Studio ed ottimizzazione di un processo di produzione di chelati per l'agricoltura, *Tesi di laurea in ingegneria chimica*, Università degli studi di Salerno (2011/2012).
-

Ringrazio il Prof. Gaetano Lamberti per essere stato sempre presente durante questa esperienza di ricerca, consentendomi con la sua professionalità e immensa disponibilità di condurre al meglio il percorso di tesi.

Ringrazio l'Ing. Pietro Apicella per avermi affiancato e guidato nel corso dell'attività sperimentale cercando sempre di dirimere i miei dubbi.

Grazie Mamy&Papy per essermi stati sempre accanto in questo percorso, per avermi aiutata a superare ogni ostacolo, per il vostro sostegno morale, per aver atteso con me l'arrivo di questo giorno supportandomi e sopportandomi ... senza di voi non sarei diventata ciò che sono. Grazie.

Grazie sorellina per esserci sempre stata (anche a mezzanotte!), per avermi sempre sostenuta, grazie perché con il tuo ottimismo e i tuoi sorrisi mi hai aiutata ad avere più fiducia in me stessa e a guardare tutto in maniera positiva! Ma Grazie soprattutto per i consigli sinceri!

Grazie a te, Cuore, che da sempre mi sei accanto ... grazie per essermi stato sempre vicino nel corso di questa esperienza universitaria condividendo tutto insieme a me, grazie per aver sempre creduto in me, per avermi sopportata, consolata, ascoltata e per aver saputo capire, più di tutti, i miei stati d'animo ... e ancora Grazie per l'aiuto (da Ingegnere!). Il raggiungimento di questo traguardo sarà per noi l'inizio di un'altra grande avventura insieme ...

