

**CONFORMACIÓN DE ESTRUCTURAS CORE-SHELL, CON BASE
EN ÓXIDO DE ZINC, PARA SER UTILIZADAS COMO FUNGICIDA.**



Cenayda López Obando

**Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación
Universidad del Cauca
Departamento de Química
Popayán - Cauca
2016**

**CONFORMACIÓN DE ESTRUCTURAS CORE-SHELL, CON BASE
EN ÓXIDO DE ZINC, PARA SER UTILIZADAS COMO FUNGICIDA.**

Cenayda López Obando

Trabajo de investigación para optar al título de Químico

Director

Jorge Enrique Rodríguez Páez, PhD.

Asesor (a)

Olga Lucia Hoyos Saavedra, PhD

**Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación
Universidad del Cauca
Departamento de Química
Popayán - Cauca
2016**

Nota de aceptación

Director _____
Jorge Enrique Rodríguez Páez Ph.D

Jurado _____
Jonny Vilard Gutiérrez Portilla Ph.D

Jurado _____
Mónica Andrea Vargas M.Sc

Fecha y lugar de sustentación: Popayán, 1 de Abril de 2.016

AGRADECIMIENTOS

Gracias doy en primer lugar a Dios, por guiarme en todo momento en este maravilloso camino, por darme la fuerza, fortaleza y levantarme en los momentos difíciles, gracias le doy, pues ha puesto en mi camino personas muy especiales y maravillosas que siempre estuvieron dispuestas a ayudar con mi formación como química, y todo el recorrido de este camino.

Doy especial gracias a mi querida madre MARIA OBANDO, mujer incansable que siempre creyó en mí aun cuando yo no lo hacía, que soñó conmigo y siempre y sin condiciones me apoyó.

A mis hermanos Alba Denis, Fernando y Diego por su apoyo y constancia.

Al profesor Jorge Enrique Rodríguez, que creyó en mí y en mi trabajo aun cuando no tenía referencia alguna, estuvo dispuesto a compartir su conocimiento, guiarme y decidió embarcarse en este camino que hoy a bien culmina.

A mis compañeros y amigos (as) de carrera y de aventuras, Caterine Daza, Norma Galíndez, Lina Trujillo; Diana Prado, Ingrith Fernández, Yulieth Cerón, Misael Córdoba, Miguel portilla, Sebastián Elvira, Caterine Alegría por su amistad, por compartir conmigo la experiencia en todo este proceso de aprendizaje, por los consejos y en general por todos aquellos buenos y malos momentos vividos a su lado.

Al grupo de investigación en ciencia y tecnología de materiales cerámicos CYTEMAC, por proveerme los implementos necesarios para llevar a cabo un proceso exitoso.

En general a mis compañeros y amigos de la universidad, con los cuales he compartido buenos momentos y han contribuido positivamente en mi formación personal y profesional.

A Paola Arciniegas, Melisa Patiño, Manuel Pasquel, Luis Alejandro, por su colaboración y aporte de conocimiento a mi trabajo.

LISTA DE ACRONIMOS

Acetato de cinc di-hidratado.....	AcZn.2H ₂ O
Ácido acético.....	Aa
Difracción de rayos X.....	DRX
Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier	FTIR
Etanol.....	EtOH
Etilenglicol.....	Eg
Micropartículas.....	MP
Microscopia electrónica de transmisión.....	MET
Nano-materiales.....	NM
Nanopartículas.....	NP
Nanotecnología.....	NT

TABLA DE CONTENIDO

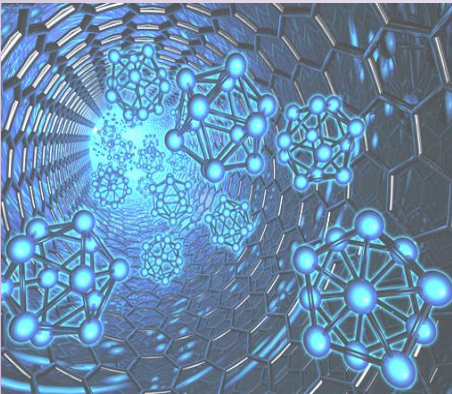
	Página
CAPITULO 1: GENERALIDADES.....	13
1.1. RESUMEN.....	13
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	14
1.3 PROBLEMA CIENTÍFICO.....	15
1.4 OBJETIVOS.....	16
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	16
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
1.5. BIBLIOGRAFIA.....	16
CAPITULO 2: SÍNTESIS DE ÓXIDO DE CINC.....	18
2.1. El óxido de cinc como material tecnológico.....	19
2.1.1 Características y propiedades fisicoquímicas del ZnO.....	19
2.1.2 Usos y aplicaciones del ZnO.....	20
2.2 MÉTODOS DE SÍNTESIS DEL ÓXIDO DE CINC.....	23
2.2.1. Métodos convencionales.....	23
2.2.2. Métodos por rutas químicas.....	25
2.3. Método de precipitación controlada.....	27
2.3.1. Aspectos generales.....	27
2.3.2. Descripción de las etapas intermedias que ocurren durante la formación de la fase sólida	28
2.3.3. Descripción del desarrollo experimental.....	30
2.3.3.1. Síntesis de óxido de cinc en ácido acético.....	30
2.3.3.1.1. Caracterización del óxido de cinc sintetizado.....	33
2.3.3.2. Síntesis de óxido de zinc en etanol.....	38

2.3.3.2.1. Caracterización de los polvos cerámicos sintetizados.....	40
2.3.3.3. Síntesis de óxido de cinc en etilenglicol.....	44
2.3.3.3.1. Caracterización del óxido de cinc obtenido.....	45
2.4. Conclusiones.....	50
2.5. Bibliografía.....	50
CAPITULO 3: SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS TIPO CORE-SHELL.....	54
3.1. Nanopartículas core-shell.....	55
3.1.1. Características y propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas.....	55
3.1.2. Características fisicoquímicas y propiedades de la plata.....	58
3.1.3. Configuración estructural de nanoestructuras core-shell.....	59
3.2. Métodos de síntesis de nanoestructuras core-shell.....	60
3.2.1. Irradiación con microondas.....	60
3.2.2. Método solvotermal.....	61
3.2.3. Método de óxido-reducción.....	62
3.3. SÍNTESIS DE NANOESTRUCTURAS CORE-SHELL ZNO-Ag.....	62
3.4. Caracterización de las nanoestructuras “core-shell” de ZnO-Ag.....	65
3.4.1. Espectrofotometría infrarroja. (IR-FTR).....	66
3.4.2. Difracción de rayos x (DRX).....	68
3.4.3. Espectroscopia ultravioleta visible de reflectancia difusa (DR UV-vis).....	69
3.4.4. Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).....	72
3.5. Conclusiones.....	74
3.6. BIBLIOGRAFIA.....	75
CAPITULO 4: EFECTO ANTIFÚNGICO DE LOS SISTEMAS CON BASE EN NANOPARTÍCULAS DE ZnO.....	77
4.1 Generalidades de los hongos.....	78
4.1.1 Estructura química de los hongos.....	79

4.2. Información general del hongo <i>Aspergillus niger</i>	80
4.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE NANOESTRUCTURAS CON BASE EN ZnO.....	82
4.3.1. Obtención y réplica de la cepa <i>Aspergillus niger</i>	82
4.4. Resultados de los ensayos del efecto antifúngico de las nanoestructuras.....	86
4.4.1. Evaluación efecto anti fúngico de ZnO-NP.....	86
4.4.2. Evaluación efecto anti fúngico de ZnO-Ag-NP.....	89
4.5. Conclusiones.....	97
4.5. BIBLIOGRAFIA.....	98

Capítulo 1

Generalidades



En este capítulo se presenta un resumen general del contenido del proyecto de grado, justificación, problema científico así, como los objetivos, general y específicos

CAPITULO 1: GENERALIDADES.

1.1. Resumen

En este Trabajo de Grado, modalidad investigación, se determinaron las propiedades antifúngicas de polvos cerámicos de óxido de zinc (ZnO) y nanoestructuras core-shell de óxido de zinc – plata (ZnO-Ag), sintetizados por el método de precipitación controlada, y oxido-reducción, respectivamente. Durante la obtención del ZnO se variaron parámetros del proceso, tales como: la naturaleza del solvente y los valores de pH de síntesis, así como el valor de la temperatura del tratamiento térmico requerido para la obtención del óxido.

Los polvos cerámicos sintetizados se caracterizaron para determinar el efecto de los cambios, en los parámetros de síntesis, sobre las propiedades del producto final. La caracterización de los polvos obtenidos se realizó mediante técnicas espectroscópicas: espectroscopia infrarroja (IR), para determinar los grupos funcionales presentes en los polvos sintetizados, y espectrofotometría ultravioleta-visible (Uv-vis), para conocer el espectro de absorción de las muestras en esta región y determinar el valor de su banda prohibida. Además se empleó difracción de rayos X (DRX), para identificar las fases cristalinas presentes en los sólidos, y microscopía electrónica de transmisión (MET) para determinar el tamaño y la morfología de los polvos cerámicos sintetizados. Los resultados de estos estudios indicaron que el mejor solvente de síntesis era el etilenglicol porque permitió obtener tamaños de partícula de orden nanométrico (10-50 nm) y esférico.

A los polvos cerámicos sintetizados, tanto a los de óxido de zinc (ZnO) como a los core-shell de ZnO-Ag, se les realizó los ensayos correspondientes para determinar su capacidad antifúngica sobre una cepa del hongo fitopatógeno *Aspergillus niger*. Los resultados del ensayo indicaron que tanto el ZnO como el core-shell presentaban capacidad antifúngica sobre este organismo.

1.2. JUSTIFICACION

Durante los últimos años, las nanoestructuras de óxido de zinc han recibido una considerable atención por parte de la comunidad científica e industrial debido a su potencial uso en óptica, optoelectrónica, electrónica, catálisis, fotocatalisis, células solares y sensores biológicos, entre otros campos. Con relación a su obtención, varias rutas de síntesis se han empleado, destacándose entre ellas las de naturaleza: química, física, deposición físico-química y electroquímica; los materiales obtenidos se han utilizado para explorar las propiedades de las nanoestructuras de ZnO, considerando, entre otras, las aplicaciones anteriormente mencionadas. Además, este óxido se utiliza como pigmento, en la producción de pinturas, presentando ventajas sobre el “plomo blanco” (carbonato básico de plomo) dada su baja toxicidad [1], así como en la fabricación de cosméticos, lociones o cremas para el tratamiento del acné o en infecciones de hongos como el pie de atleta (*Tinea pedis*) [2].

Sin embargo, la síntesis de nanopartículas de ZnO, en las dimensiones deseadas, tiene limitaciones debido a las dificultades que se presenta al controlar la agregación de las nanopartículas. Es por esto que los materiales porosos ordenados ofrecen una muy buena opción para conservar no sólo el tamaño de las nanopartículas, sino también para ordenar las partículas, considerando otras aplicaciones interesantes de este óxido [3].

El óxido de zinc de tamaño nanométrico se viene utilizando en la conservación de alimentos (verduras y frutas poscosecha), específicamente como agente anti fúngico, mostrando buenos resultados [3]. Considerando la actividad antibacteriana y anti fúngica de los polvos de ZnO, esta ha sido probada en la agricultura donde compuestos de zinc se utilizan con esta funcionalidad [4]. Concretamente, los óxidos metálicos nanométricos, de naturaleza semiconductor, se están estudiando debido a su potencial

uso, ampliamente comprobado a nivel de laboratorio, en remediación ambiental, especialmente en descontaminación de aguas residuales haciendo uso de su capacidad foto catalítica [2].

Por otro lado, desde la antigüedad se conoce que la plata y sus compuestos son agentes antimicrobianos eficaces. Dados los recientes avances en la investigación sobre nanopartículas metálicas, la plata con tamaño nanométrico ha recibido una atención especial como agente antimicrobiano, llevando a que la elaboración de partículas nanométricas uniformes de plata, con requisitos específicos de tamaño, forma y propiedades físicas, sea de gran interés en la formulación de nuevos productos farmacéuticos y agrícolas [5].

Con el objetivo de optimizar la funcionalidad de las nanopartículas, concretamente cuando se emplea el mecanismo de fotocatalisis para inactivar o degradar sistemas orgánicos (moléculas, bacterias y células, principalmente),[6] se propone la conformación de estructuras tipo core-shell⁵. Los resultados obtenidos han despertado especial interés, sobre este tipo de estructuras, debido a las propiedades fascinantes y únicas que ellas presentan, lo que ha llevado a considerar su potencial uso en aplicaciones médicas, cosméticas y ambientales, entre otras[7].

1.3. PROBLEMA CIENTÍFICO

En los últimos años, un paso significativo, después del notable éxito en el crecimiento de nanocristales y la síntesis de Nanopartículas de un solo componente, fue la obtención de nanoestructuras compuestas de diferentes materiales. El interés sobre estas nanoestructuras surge porque se podrían integrar múltiples funciones en un solo sistema permitiendo optimizar su comportamiento, considerando una aplicación específica, e incluso generar nuevas propiedades [1]. La problemática central de este tipo de nanoestructuras está relacionada con la estructuración y aplicación de metodologías confiables y reproducibles para su síntesis,

procesos que permitan garantizar las propiedades deseadas, considerando su aplicación. En el presente proyecto se determinaron las condiciones óptimas de síntesis para obtener estructuras core-shell de ZnO – Ag y su potencial uso como fungicida.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Obtener estructuras tipo core-shell de ZnO y plata, de manera reproducible y confiable, y determinar su potencial uso como material fungicida.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer las condiciones óptimas de síntesis que permita obtener estructuras core-shell ZnO-Ag de tamaño nanométrico, con alta pureza química, usando un proceso químico reproducible.
- Determinar las características fisicoquímicas de las estructuras core-shell ZnO-Ag sintetizadas.
- Determinar las condiciones óptimas para replicar la sepa del hongo *aspergillus niger*.
- Determinar la capacidad antifúngica de la estructura core-shell ZnO-Ag sobre el hongo *aspergillus niger*.

1.5. BIBLIOGRAFÍA

[¹] Samaele, N; Amornpitoksuk, P; Suwanboon, S. Effect of pH on the Morphology and Optical Properties of Modified ZnO Particles by SDS via a Precipitation Method. Power Technology, vol 203 (2010) pág 243–247

[²] Moezzi, A. M. McDonagh, M. B. Cortie, “Zinc oxide particles: synthesis, properties and applications”, Chemical Engineering Journal, vol 1 – 22; (2012); pág 185-186

[³] Lili He, Yang Liu, Azlin Mustapha, Mengshi Lin. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against Botrytis cinerea and Penicillium expansum. Rev Microbiological Research 166 (2011) 207–215

- [⁴] Liu, H. R. Shao, G. X. Zhao, J. F. Zhang, Z. X. Zhang, Y. Liang, J. Liu, X. G. Jia, H. S. and Xu. B. S. Phys. Chem, c Worm-Like Ag/ZnO Core–Shell Heterostructural Composites: Fabrication, Characterization, and Photocatalysis. vol, 116, (2012); pág 16182–16190.
- [⁵] Fei Li, Yuliang Yuan, Junyang Luo, Qinghua Qin, Jianfang Wu, Zhen Li,c, Xintang Huang. Synthesis and characterization of ZnO–Ag core–shell nanocomposites with uniform thin silver layers. Applied Surface Science 256 (2010) pág 6076–6082
- [6] Vaishnavi, T.S. Prathap Haridoss, Vijayan. C. Optical properties of zinc oxide nanocrystals embedded in mesoporous silica. Materials Letters 62 (2008) pág 1649–1651.
- [7] Kim, Keuk-Jun, Woo Sang Sung, Seok-Ki Moon, Jong-Soo Choi, Jong Guk Kim, and Dong Gun Lee. Antifungal Effect of Silver Nanoparticles on Dermatophytes. J. Microbiol. Biotechnol. (2008), 18(8), 1482–1484.

Capítulo 2

SÍNTESIS DE ÓXIDO DE ZINC

En este capítulo se describe el proceso de síntesis del óxido de zinc, las rutas más comunes para la obtención de este y los métodos de caracterización: IRFT, DRX, MET, Uv.



CAPÍTULO II: SÍNTESIS DE ÓXIDO DE CINC

2.1. El óxido de cinc (ZnO) como material tecnológico

2.1.1. Características y propiedades fisicoquímicas del ZnO

El cinc es un elemento químico de símbolo Zn, número atómico 30 y peso atómico 65.37. Es un metal maleable, dúctil y de color gris. Se conocen 15 isótopos, cinco de los cuales son estables y tienen masas atómicas de 64, 66, 67, 68 y 70. Cerca de la mitad del zinc común se encuentra como isótopo de masa atómica 64.

Los usos más importantes del zinc los constituyen las aleaciones y el recubrimiento protector de otros metales [1], tiene tanto una conductividad eléctrica a 20°C de 16,5m/Ohm.mm² como una resistividad eléctrica a 20°C de 5,916 ohm cm/cm [2]

El cinc (Zn) es un material de gran importancia debido a su amplia aplicación tecnológica. Específicamente, el cinc metálico se utiliza en la producción de aleaciones así como en el proceso de galvanización que confiere protección a las estructuras de acero; también está presente como un aditivo químico en caucho y pinturas.[3]

El óxido de cinc, por su parte, puede presentar tres tipos de estructuras cristalinas: wurtzita, blenda o esfalerita y cúbica sal de roca.⁴ Típicamente, los cristales de wurtzita son pirámides de seis caras donde, por su «hemimorfismo», los cristales muestran un aspecto distinto al verlos desde arriba que desde abajo; se puede observar fácilmente esta característica tal que la parte superior del cristal culmina en un punto mientras que la parte inferior es la base de la pirámide. Sin embargo, es común encontrar cristales laminados con contorno hexagonal donde el carácter hemimórfico no se puede percibir fácilmente.

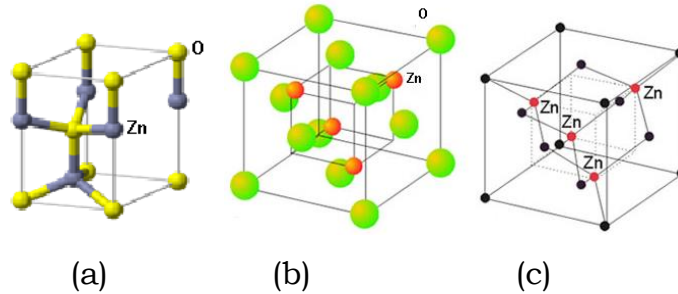


Figura 2.1. Estructuras cristalinas de ZnO (a) wurtzita, (b) blenda y (c) cúbica – sal de roca [1].

El ZnO es un material inorgánico de naturaleza semiconductora, tipo II-VI, que continuamente renueva su gran potencial tecnológico tal como se puede evidenciar en los últimos años [4],[5],[6],[7]. A través de cálculos teóricos se ha determinado que el valor de la banda prohibida de energía (“band gap”) es de 3.77 eV, que se correlaciona razonablemente con el valor experimental obtenido de 3.3 eV.[8]

2.1.2. Usos y aplicaciones del ZnO

La importancia científica y tecnológica del ZnO se debe, además de sus propiedades físicas únicas [6] y a la demostrada facilidad de síntesis de este material en forma nanoestructurada, a las propiedades de biocompatibilidad y no toxicidad que presenta este semiconductor que lo hacen un material amigable con el medio ambiente y de fácil integración a dispositivos biomédicos [9]. El óxido de cinc (ZnO) se utiliza actualmente en diversos productos comerciales, tales como filtros solares y cosméticos. Aunque la producción mundial de estos productos de protección solar ha sufrido cierta disminución en los últimos años, debido en parte a los costos de formulación y a problemas de salubridad pública en gran parte sin fundamento ya que existe evidencia, reciente, que sugiere que la penetración a través de la piel de los compuestos inorgánicos (TiO₂ y ZnO principalmente) es mínima, es una potencial gran industria considerando bloqueadores y protectores solares más contralados y seguros.

Debido a las propiedades optoelectrónicas, dado el ancho “gap” que presenta el ZnO y a la gran energía de enlace del exciton (par electrón – hueco que se puede formar al irradiar el ZnO) de 60 meV a temperatura ambiente, piezoeléctricas y de sensibilidad en ambientes químicos que presenta [10],[11], este óxido es utilizado en una amplia gama de dispositivos como los LEDs, celdas solares, varistores (protectores de sobretensiones), generadores y sensores de gas, entre otros[12].

Más recientemente, con el desarrollo de la nanociencia y nanotecnología, el ZnO ha tomado nuevamente importancia. Como se sabe, la nanociencia y la nanotecnología son campos muy interesantes de estudio [13],[14], con alto impacto en la sociedad, y de gran trascendencia en áreas de reciente desarrollo, principalmente a nivel de investigación en la actualidad, y que deberían ser introducidas en los diferentes niveles de enseñanza[15]. Los nanomateriales tienen propiedades fisicoquímicas específicas que no son evidentes en muestras a granel (mili y micrométricas). En comparación con los materiales de tamaño micro, la mayor parte de las propiedades únicas de las nanopartículas se han atribuido a su alta relación de superficie a volumen. Las nanopartículas presentan una gran superficie para la adsorción, propiciando una alta reactividad en muchos procesos [16].

El ZnO, en forma nanoestructurada, se ha obtenido en una amplia variedad de morfologías, utilizando diferentes métodos de crecimiento,³ con formas sencillas tales como: nanohilos (nanowires), nanocolumnas (nanorods), nanoagujas y nanocintas (nanobelts), o de estructuras con formas más complejas: “nanotipods”, “nanomultipods” y nanoflores (nanoflowers), entre otras. En cuanto a la aplicabilidad tecnológica, las estructuras unidimensionales (1D), nanohilos y nanocolumnas principalmente, son las que han mostrado mejores resultados funcionales debido a su mayor relación superficie/volumen; además, estas estructuras poseen una mayor facilidad para la integración a los dispositivos tecnológicos [17].

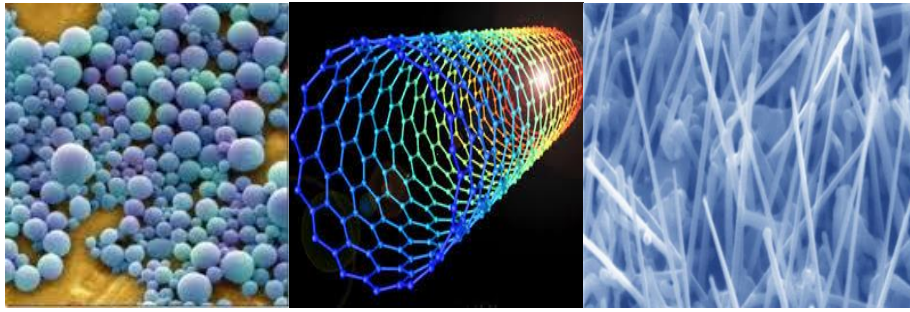


Figura 2.2. Nanoestructuras de óxido de zinc^{15,16}

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-NP) se han venido utilizando, cada vez, en la electrónica, la catálisis, la industria textil, pinturas, filtros solares y como componentes de diversos productos cosméticos, todo esto debido a su propiedad semiconductor, a su capacidad de absorción de radiación en un amplio espectro del UV, atenuando de manera efectiva la radiación UV tanto en el rango de los rayos UVA (320 – 400 nm) como en el de los UVB (290 – 320 nm)[18] y siendo, además, un material muy fotoestable, así como a su color blanco. Un interés actual del ZnO-NP se centra en su uso medicinal y en aplicaciones biológicas, incluso como biosensor [19]. Al ubicar metales de transición sobre la superficie del ZnO se propicia la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS), incrementando por lo tanto la funcionalidad del óxido como material antibacterial y antifúngico, por ejemplo [20]. El óxido de zinc se utiliza, comúnmente, en productos farmacéuticos para prevenir o tratar enfermedades tópicas o sistémicas debido a sus propiedades antimicrobianas [21].

Las nanopartículas con base en elementos metálicos se usan cada vez más en los cosméticos [22] y en otras aplicaciones técnicas. Específicamente, las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-NP) se están empleando ampliamente en la “spintronic”, en los dispositivos de paneles solares (orgánicos), pinturas, productos de cuidado personal (filtros solares) e incluso en el tratamiento de aguas residuales. Si bien la seguridad ante

uso de las nanopartículas es claramente de gran importancia, es decir conocer y controlar su nanotoxicidad [23], no se debería restringir el empleo de la bioactividad única que las ZnO-NP, así como muchas otras nanoestructuras, exhiben y que pueden ser explotadas para manipular directamente sobre sistemas celulares [24]. Ya que las nanopartículas pueden presentar diferentes propiedades físico-químicas, si se comparan con las micropartículas, su estado de agregación, y en consecuencia su asentamiento en los sedimentos, dependerá de sus propiedades superficiales, a factores abióticos y a la presencia de materia orgánica disuelta en el medio circundante [25].

2.2. Métodos de síntesis del óxido de cinc

El óxido de cinc se produce, principalmente, por tres procesos diferentes: oxidando directamente zinc metálico (método francés), o reduciendo un mineral de cinc metálico seguido de re-oxidación controlada, métodos denominados convencionales, y, en menor medida, precipitando el óxido o un carbonato de cinc de una solución acuosa, seguido por calcinación del precipitado [26]. Se han empleado, también, métodos diversos para sintetizar las nanopartículas de ZnO (ZnO-NP), tales como: Sol-gel, pirólisis por pulverización, técnicas de microemulsión, evaporación térmica, ablación por láser, deposición química en fase vapor, molienda mecánica, síntesis asistida con microondas y método hidrotermal [6],[27].

2.2.1. Métodos convencionales

- ***Método francés o en fase gaseosa.***

En el denominado proceso francés, de uso comercial, el cinc fundido se vaporiza instantáneamente y es oxidado por oxígeno, para formar así el ZnO. Aunque se puede producir ZnO de alta pureza se requieren altas temperaturas, es decir entre 1000 °C y 1400 °C), para asegurar la oxidación completa y evitar que quede Zn metálico residual en el producto. Además, en este proceso, frecuentemente, la morfología de las partículas

obtenidas es mixta como consecuencia de las condiciones no uniformes de cristalización [28]. En la figura 2.3 se indica un esquema del proceso francés para obtener, industrialmente, el ZnO.

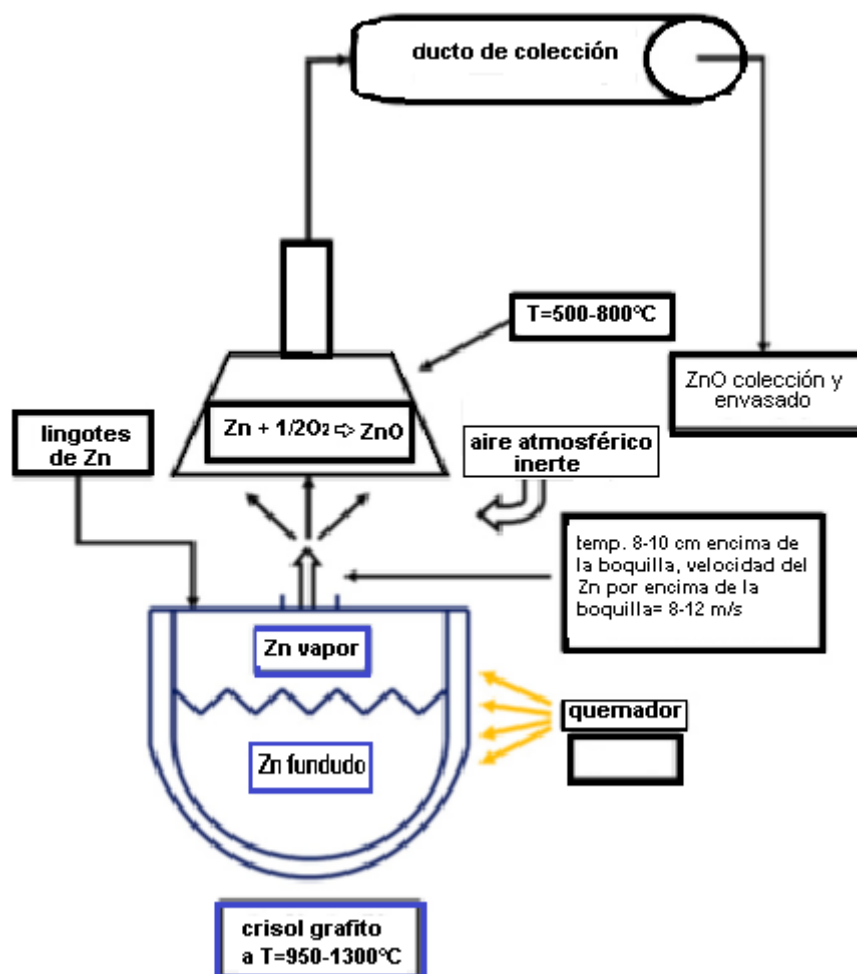


Figura 2.3. Esquema del denominado método francés para sintetizar ZnO.[29]

Varios precursores pueden ser utilizados para la síntesis en fase gaseosa del ZnO (método francés figura 2.3), estos incluyen al Zn metálico, dietil zinc y, más recientemente, los precursores organometálicos tales como el heterocubano, $([Zn_3(C_{11}H_{16}N_2O)_3(OH)](ClO_4)_2 \cdot 0.25H_2O)$ [29]. Debido a su bajo punto de fusión y bajo costo, se prefiere el precursor de zinc metálico, el cual también es ampliamente utilizado en la fabricación de películas

delgadas de óxido cinc. Sin embargo, no se han logrado, para esta síntesis a gran escala de polvos de ZnO, un control preciso del tamaño y la forma de las partículas [30].

- ***Método americano***

En el proceso americano, también conocido como método directo, el mineral que contiene el sulfuro de cinc concentrado se oxida quemándolo. Para ello se mezcla este mineral con carbón de antracita y “smelted” (sulfuro fundido) y se trata en un horno de lecho plano. El carbón y los productos de la combustión parcial, particularmente el monóxido de carbono, reducen el material a cinc metálico el cual, en forma de vapor y bajo condiciones controladas, es quemado utilizando los gases provenientes del carbón. El producto resultante es llevado a una cámara donde el óxido de cinc es almacenado [31].

2.2.2. Métodos por rutas químicas

- ***Sol-gel***

En el proceso sol-gel, figura 2.4, se utiliza un precursor de Zn que puede ser una sal tipo nitrato, sulfato, cloruro, oxalato o acetato, la cual se disuelve en un medio de naturaleza acuosa o no [32] Posteriormente, al adicionar una base o un ácido, se propicia la hidrólisis del ion Zn^{2+} para formar especies del tipo hidroxido Zn-OH ($[Zn(OH)_4]^{2-}$ principalmente), Zn-OR con R= alquilo, las cuales se pueden condensar formando especies polinucleares que favorecen la consolidación y el crecimiento de los núcleos, que finalmente conformarían un precipitado, la cinética de reacción, tamaño y forma de partícula pueden variar dependiendo del tipo de solvente que se emplee durante la síntesis del ZnO y la naturaleza de la sal precursora de Zn utilizada. A continuación, usando un método separativo (centrifugación, filtración o evaporación), el precipitado se

somete a una etapa de calcinación obteniéndose, finalmente, los cristales de ZnO [33].

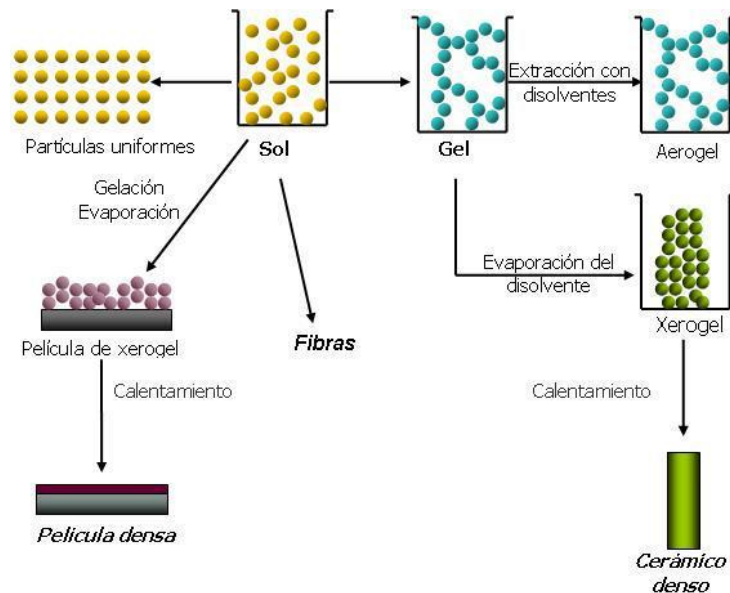


Figura 2.4. Esquema para la obtención de ZnO, método sol-gel. [34]

- **Método hidrotermal.**

El proceso hidrotermal es muy usado en la síntesis de polvos cerámicos ya que este permite controlar la morfología de las partículas, ajustando la concentración del solvente y la de los precursores utilizados. Además, se puede controlar la homogeneidad de las fases porque se pueden regular las especies involucradas en la formación de los núcleos, obviamente conociendo de manera precisa la reacción, o reacciones, que ocurren en el sistema. El método consiste en incorporar diferentes precipitantes, KOH ó NH₄OH, a una solución acuosa de la sal metálica que contiene el catión de interés. Esta solución se coloca en una autoclave que permite el control tanto de la temperatura como de la presión. Posteriormente el producto, precipitado, es secado a una temperatura cercana a los 100°C [13]. Este método ha sido utilizado para obtener nanopartículas de ZnO, obteniéndose buenos resultados [35].

Entre otros métodos utilizados para obtener las ZnO – NP se destacan: hidrotérmal asistido con microondas [36], mecanoquímica [37], y proceso poliol [38], entre otros.

2.3. Método de precipitación controlada.

2.3.1. Aspectos generales.

Este fue el método químico utilizado en el presente trabajo para obtener las nanopartículas de ZnO variando, principalmente, la naturaleza del solvente de síntesis. En este método se parte de la disolución de una sal en un medio líquido, normalmente acuoso acidulado o no, al que se le adiciona, de manera controlada un agente precipitante. Los cambios de pH, conductividad específica y temperatura, así como las modificaciones que visualmente se observan en el sistema, permiten conocer los cambios del mismo y por lo tanto controlar lo que en él ocurre.

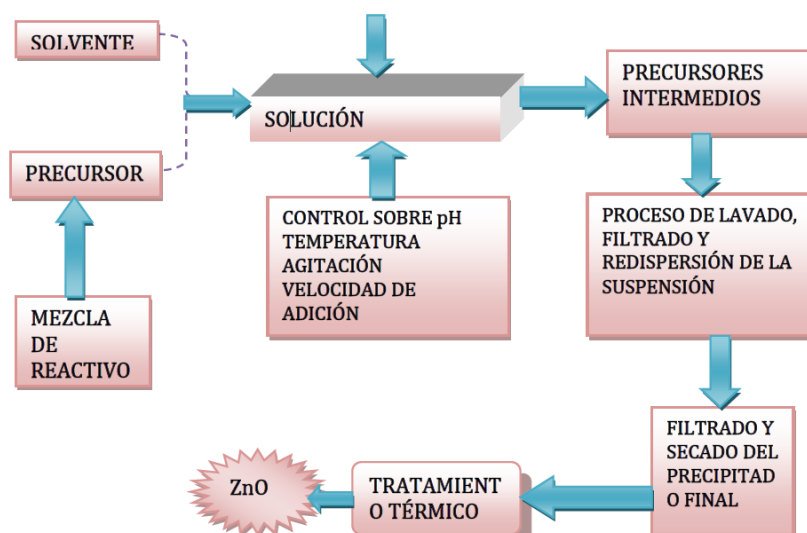


Figura 2.5. Esquema general del método de precipitación controlada.

El proceso se inicia disolviendo la sal en el líquido, para conformar una solución homogénea totalmente transparente. Posteriormente, se adiciona al sistema, de manera controlada, un agente precipitante, una base débil

como el hidróxido de amonio, manteniendo el sistema en continua agitación. Durante la adición del agente precipitante se registran los cambios de pH, temperatura, color y las modificaciones morfológicas que pueda presentar el sistema.

Tomando como referentes las curvas de valoración potenciométrica (pH en función del volumen de NH_4OH adicionado) y conductimétrica (conductividad específica en función del volumen de NH_4OH adicionado), se definen los valores de pH de interés, considerando las diferentes “regiones” o zonas que se puedan definir en estos gráficos, a los que se toma el precipitado para caracterizarlo y, además, para realizarle un proceso de lavado, filtrado y re-dispersión, con el objetivo de afectar favorablemente las características fisicoquímicas de las partículas coloidales presentes en la suspensión. El proceso de lavado se realiza utilizando un solvente determinado, por ejemplo agua o etanol, para afectar de manera controlada las características del producto final, tales como composición química, tamaño y morfología de las partículas principalmente. Al precipitado obtenido al final del procedimiento, se le realiza un tratamiento térmico adecuado con el objetivo de garantizar que el único compuesto presente en el sólido sea el óxido de interés.

2.3.2. Descripción de las etapas intermedias que ocurren durante la formación de la fase sólida

El proceso de precipitación controlada involucra una serie de etapas que no ocurren de manera secuencial si no que se solapan (figura 2.6); el tiempo requerido para que se desarrollen estas etapas del proceso puede variar desde unos pocos segundos hasta días, meses o años [39].

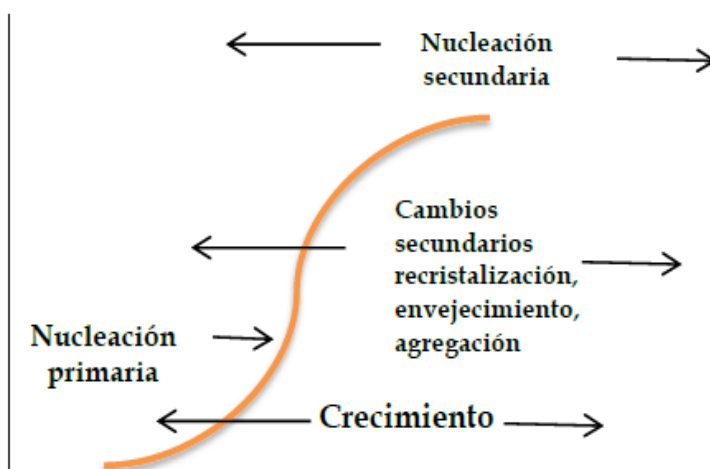


Figura 2.6. Procesos cinéticos involucrados en proceso de precipitación

El proceso de precipitación se inicia con la formación de especies químicas insolubles (moléculas, especies mononucleares, complejos acuo, hidroxu o oxo, o mezcla de ellas [40], que se asocian para dar origen a los embriones (asociación poco estable carente de una estructura interna) y que alcanzan un tamaño crítico dando origen a los núcleos de la fase sólida; a este proceso de formación de núcleos se denomina nucleación homogénea. Otro proceso de nucleación puede ocurrir sobre impurezas (o semillas) y se denomina nucleación heterogénea. Los núcleos crecen hasta formar las partículas primarias, conformada por cristalitos, que se pueden observar utilizando microscopía. La etapa de crecimiento de los núcleos puede estar acompañada por la formación de nuevos núcleos lo que ocasiona la conformación de partículas con diferente tamaño, comúnmente policristalinas. Al utilizar la formación de un sólido en un líquido es posible obtener una suspensión estable o un sedimento, con separación de fases sólido-líquido. Las propiedades del precipitado final estarán determinadas por la velocidad a la que ocurren las distintas etapas individuales del proceso y que dependen de las condiciones experimentales, tales como: concentración inicial de los reactivos, pH, intensidad o fuerza iónica, aditivos empleados, temperatura, naturaleza del solvente, etc [15].

2.3.3. Descripción del desarrollo experimental.

En este trabajo se utilizaron tres solventes para la síntesis de las nanopartículas de ZnO; ácido acético, etanol y etilenglicol. El interés central, al usar diferentes solventes para realizar la síntesis del ZnO, fue el de determinar el efecto que tenía la naturaleza de los mismos sobre las características del producto final: morfología y tamaño de partícula, fases presentes y naturaleza química de las partículas.

2.3.3.1. Síntesis de óxido de zinc en ácido acético

Para obtener el óxido de Zinc se empleó como precursor el acetato de zinc dihidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, grado analítico marca MERCK), que se disolvió en ácido acético (CH_3COOH , grado analítico marca Mallinckrodt), utilizando para ello una cantidad adecuada de solvente, 200 mL para obtener una solución con una concentración 0.3M. La mezcla se agitó hasta obtener una solución completamente traslúcida y luego se le adicionó, de manera controlada, hidróxido de amonio (NH_4OH -Mallinckrodt 28-30%), manteniendo la mezcla en continua agitación. Durante la adición del hidróxido de amonio se registró la variación del pH del sistema hasta obtener un valor de 9.5, utilizando para ello un pH-metro (Metrohm 775), figura 2.7(a). La suspensión se sometió a calentamiento a una temperatura de, aproximadamente, 110°C con el objetivo de evaporar el solvente y obtener así el material deseado; para ello se utilizó una plancha de calentamiento marca Corning.



Figura 2.7. Fotografías de algunos de los equipos utilizados en el proceso de síntesis de las ZnO-NP: (a) equipo de titulación methrom, (b) horno termolyne y (c) plancha de calentamiento Corning

El producto resultante se maceró en un mortero de ágata, hasta obtener un polvo fino, polvo que se sometió a tratamiento térmico a una temperatura de 400°C , durante 4 horas, usando un horno marca Termolyne (figura 2.7(b)). Después de realizado todo este proceso se obtuvo el óxido de zinc como se evidencio en los resultados de Difracción de Rayos X que más adelante se mostrarán.

Para analizar el posible mecanismo de formación de las partículas de óxido de cinc, al utilizar como solvente se síntesis el ácido acético, se deben considerar las siguientes reacciones, que se proponen, y que pueden ocurrir en el seno del sistema. Como se observa en la curva de valoración potenciométrica, figura 2.8, se pueden evidenciar tres regiones a medida que aumenta el valor de pH, regiones que se definen considerando el cambio de pendiente que en ella se presenta.

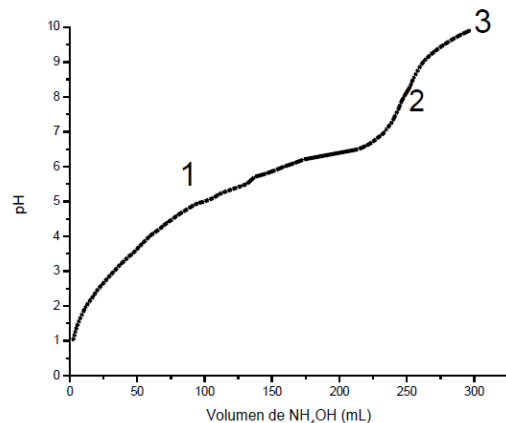
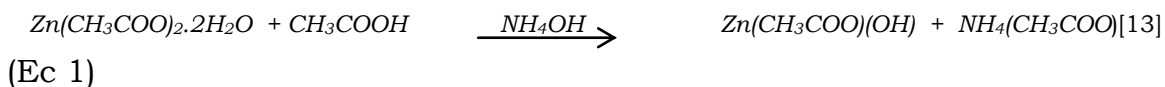


Figura 2.8. Curva de valoración potenciométrica de solución acuosa de acetato de cinc a una concentración 0.3M, utilizando como solvente ácido acético [31].

Se observa que la primera región es bastante extensa lo que indica que se necesita una gran cantidad de hidróxido de amonio para neutralizar el ácido acético. Esta situación se genera por el intercambio de ligandos CH_3COO^- por el OH^- , donde este último anión proviene del NH_4OH que se le adiciona a la solución que contiene el precursor de zinc. Al diluirse el acetato de cinc, en el CH_3COOH , se está garantizando una estabilidad química del precursor de zinc que es perturbada por la adición del NH_4OH al sistema. La principal reacción que puede ocurrir, durante la incorporación del hidróxido de amonio, es la formación de un acetato básico de cinc, que se puede expresar así:



dando como sub-producto acetato de amonio. Esta sal básica se forma de manera controlada, dada la naturaleza del sistema rico en CH_3COO^- , y es por esto que siempre la solución permaneció transparente y no se formó ningún precipitado, debido a que no se alcanzó la condición de sobresaturación; por lo tanto solo que conformarían complejos químicos que, a lo máximo, podrían dar origen a “embriones” que no alcanzarían su

tamaño crítico para consolidar los núcleos de la fase sólida. Esta condición favorece la formación de nanopartículas sólidas ya que al secar a 150°C la solución (durante 6 horas), los núcleos que se formarían, como resultado de este proceso, serían muy pequeños, del orden de decimas de nanómetro, condición que se evidencio en las micrografías de transmisión electrónica que se mostraran más adelante (Figura 2.11).

2.3.3.1.1. Caracterización del óxido de cinc sintetizado

El sólido obtenido, utilizando como solvente de síntesis ácido acético, se caracterizó utilizando Espectroscopía Infrarroja (IR), para determinar los grupos funcionales presentes en las muestras; Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), para observar el tamaño y morfología de las partículas; Difracción de Rayos X (DRX), para conocer las fases cristalinas presentes y el tamaño del cristalito, y Espectroscopía de Absorción en el ultravioleta - visible (UV-Vis), para determinar la longitud de onda de absorción del ZnO y con esta información se calculó el valor del ancho de la banda prohibida de energía (banda “gap”) del mismo .

Espectroscopía infrarroja (IR)

Después de llevar el sistema al respectivo valor de pH, de evaporar la totalidad del solvente y de calcinar el sólido obtenido a 400°C, el polvo resultante se caracterizó utilizando espectroscopía Infrarroja y el espectro obtenido se indica en la figura 2.9(a). En este espectro IR se evidencian claramente tres bandas ubicadas a: 3450, 1600 y ~450 cm^{-1} . La banda a 3450 cm^{-1} se asocia a los grupos funcionales hidroxilo, que es aportada por el agua que el material ha absorbido y que, además, presenta otro modo vibracional a ~1600 cm^{-1} . Por último, la banda que se encuentra a 450 cm^{-1} , no muy bien definida, es característica del enlace Zn-O,³¹ lo que brinda la primera evidencia de que el producto esperado si se ha formado. La deconvolución de esta última banda (figura 2.9(b)) pone en evidencia la

presencia de bandas “solapadas” dentro de esta banda espectral y que se pueden asociar al óxido de cinc existente en la muestra, principalmente.

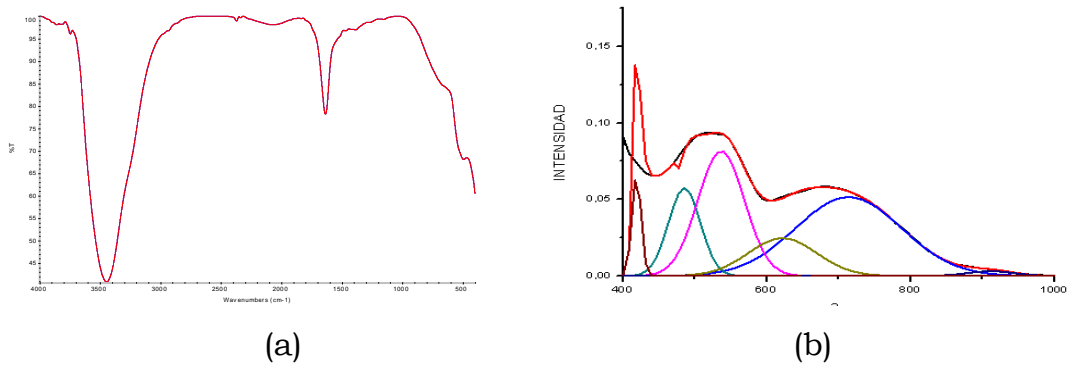


Figura 2.9. Espectro IR de la muestra de ZnO sintetizado usando ácido acético (a) y deconvolucion de la banda espectral entre 400 y 1000 cm^{-1} (b)

Difracción de rayos x (DRX).

La Difracción de Rayos X (DRX) es una herramienta básica y de gran utilidad para determinar la estructura cristalina de los sólidos [41]. El fundamento de esta técnica de difracción se basa en la interacción de la estructura cristalina de un sólido con los rayos X emitidos por una fuente. La estructura cristalina de los sólidos, tanto naturales como artificiales, consiste en la disposición regular y periódica en 3D de los átomos o moléculas que ellos contienen [16]. La técnica de difracción de rayos X considera la incidencia de un haz de rayos X, con un determinado ángulo θ , sobre una muestra plana, normalmente sólida, y el posterior estudio de la radiación dispersada generada por la disposición periódica de los átomos en el sólido. La intensidad de la radiación difractada, resultante de la interacción del haz con el sólido, es función de la naturaleza química de los átomos que conforman la base del material (elementos químicos que forman el “motivo químico” o unidad fórmula), la disposición de los átomos en la celda unitaria y el poder de dispersión de los mismos. Por otro lado

existe una relación, denominada ley de Bragg, entre la distancia interplanar de los planos que constituyen la estructura, la longitud de onda de la radiación y del ángulo de difracción θ (ubicación de los picos en el patrón de difracción). Esta técnica permite identificar las fases cristalinas presentes en el sólido y cómo éstas evolucionan con los tratamientos químicos y térmicos que se le realizan a la misma.

Para realizar este análisis de difracción de rayos X, de muestras en polvo, se empleó un difractómetro de rayos X Bruker D2- Phaser usando como fuente la radiación K_{α} del Cu (10mA, 30 kV, $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$); este equipo está adscrito al grupo de investigación en Nanoquímica de la Universidad Nacional Autónoma de México, México. Los patrones de difracción (PXRD) fueron registrados en el intervalo entre 10 y 90° , en 2θ , a una velocidad de barrido de $0.5^{\circ}/\text{min}$ y a condiciones ambiente.

Por medio de la difracción de rayos X fue posible corroborar la pureza del ZnO sintetizado, ya que no se encontró evidencia de la existencia de cinc metálico o de alguna otra fase que no fuera la estructura hexagonal tipo wurtzita (PDF 36-1451), tal como se observa en la figura 2.10.

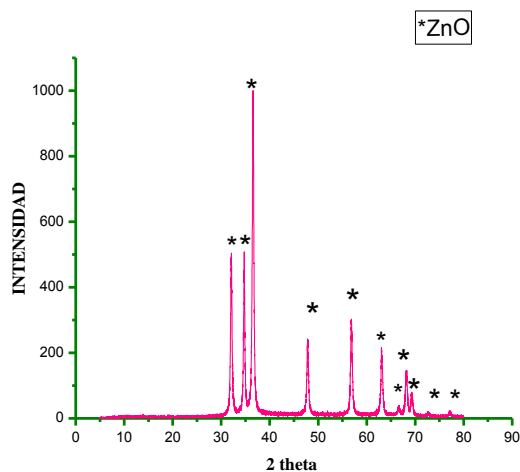


Figura 2.10: Difractograma de rayos x del ZnO sintetizado utilizando ácido acético.

El difractograma de la figura 2.10 presenta los picos característicos del ZnO, muy bien definidos y bastante agudos, lo que indica que la muestra está muy bien cristalizada y que el tamaño de cristalito es grande.

Microscopia de transmisión electrónica

Para determinar el tamaño y la morfología de las partículas, y el efecto de las diferentes variables consideradas en el método de síntesis, sobre estas características, se utilizó Microscopia Electrónica de Transmisión (MET) y de Barrido (MEB).

En la figura 2.11 se observan las fotografías, (magnificación 100x y 25000x), tomadas a una muestra sintetizada a pH 9.5 donde se observan partículas que presentan morfología tipo aguja, algunas de las cuales se aglomeran.

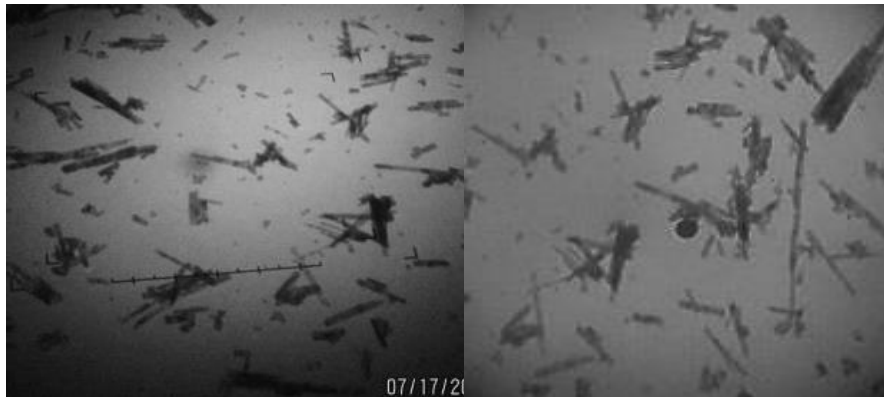


Figura 2.11 fotografía de ZnO en Aa tomada de microscopio electrónico

Espectroscopia ultravioleta visible de reflectancia difusa (DR UV-vis)

La espectrometría de absorción ultravioleta utiliza la radiación del espectro electromagnético cuya longitud de onda está comprendida entre los 100 y los 800 nm, tal que el efecto de esta radiación es producir transiciones

electrónicas, entre los orbitales atómicos y/o moleculares, en la sustancia que se evalúa.

Para obtener los espectros en el rango UV-Visible, de los sólidos sintetizados, se usó la espectroscopia de reflectancia difusa, técnica que recibe este nombre porque la radiación, en el rango UV-Visible y que interactúa con una o más partículas, es reflejada en todas las direcciones, generando “reflectancia difusa”[42]

Los espectros de reflectancia difusa, de las muestras sintetizadas en este trabajo, se obtuvieron empleando el espectrofotómetro Cary-5E Varian UV-vis equipado con un accesorio, denominado esfera de integración, que permitió la detección de la radiación difusa reflejada. Los espectros UV-Vis se registraron en el rango de 250 a 800 nm.

La muestra problema presenta una banda en el espectro de absorción UV-vis a 270nm (figura 2.12(a)), banda característica del ZnO [43], lo que reitera la presencia de ZnO en el sólido analizado. En la figura 2.12(b) se muestra la deconvolución de dicho espectro, donde se ilustran las bandas fundamentales solapadas, haciéndose más evidente la banda característica del ZnO a 270 nm y otra banda ubicada a 350 aprox nm. Haciendo uso de los datos de espectroscopia UV-Vis, y de la relación de Tauc (método muy utilizado para determinar la brecha de energía o band gap de un material) considerando que la transición en el ZnO es directa [44], se obtuvo que el valor del “gap” (banda de energía prohibida) para el ZnO sintetizado era de 3.3 eV (figura 2.12(c)), muy cercano al de 3.37 eV reportado en la literatura [45]; por el valor obtenido se considera que el ZnO sintetizado es un semiconductor de “gap” ancho. Este valor es muy importante, como referente, cuando se consideran algunas aplicaciones del ZnO, entre ellas la de fotodegradación y absorción de la luz o energía en el ultravioleta [46],[47].

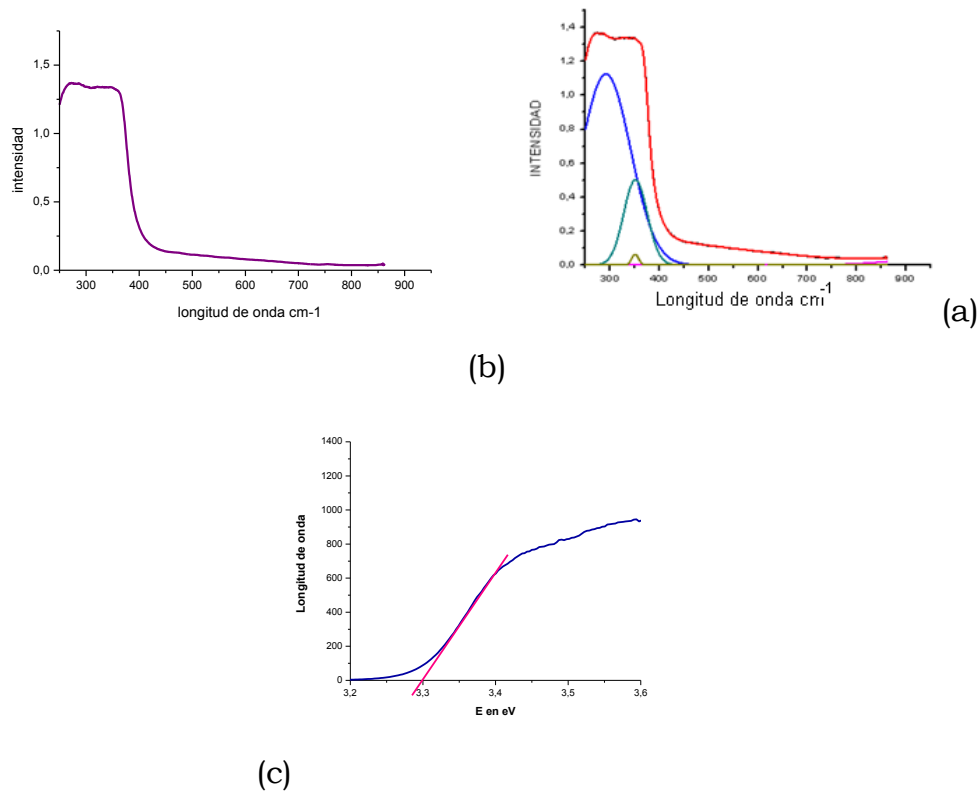
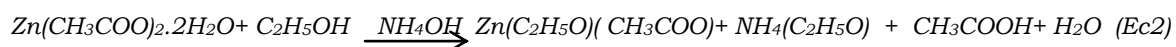


Figura 2.12(a) Espectro ultravioleta visible de reflectancia difusa (DR UV-vis) correspondiente al ZnO sintetizado en ácido acético; (b) deconvolución del espectro y (c) gráfica para determinar el valor del “gap” de energía por el método de Tauc.

2.3.3.2. Síntesis de óxido de zinc en etanol

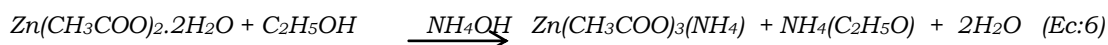
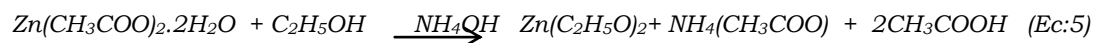
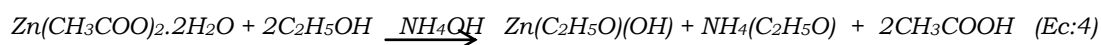
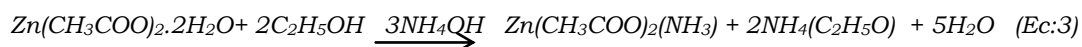
Para obtener el óxido de Zinc se empleó, también, un procedimiento similar al indicado anteriormente pero usando etanol, como solvente de síntesis, en lugar de ácido acético. Para ello se disolvió una cantidad conocida de acetato de zinc en etanol (grado analítico marca Mallinckrodt) y se incrementó el pH del sistema de forma gradual hasta llegar a 9.5. Al alcanzar este valor de pH, la solución se mantuvo en agitación constante a una temperatura de $\sim 70^{\circ}\text{C}$ hasta que se evaporó completamente el solvente. A continuación, el sólido seco obtenido se maceró en un mortero ágata para posteriormente calcinarlo a 400°C y luego caracterizarlo; la

reacción que se indica a continuación ilustra una posible ruta para la obtención de un compuesto intermedio de cinc que podría jugar un papel importante durante la síntesis del ZnO:



La primera posibilidad de interacción que se puede presentar entre el cinc y el solvente, puede ser la descrita en la ecuación 2, donde inicialmente reaccionaría el etanol con el acetato de cinc, perdiendo uno de sus hidrógenos favoreciendo la formación del ion etóxido. Este ion, a su vez, podría reaccionar con el cinc, proveniente del acetato de cinc, para formar el etóxido de cinc. Esta reacción se vería favorecida por la capacidad que tiene el alcohol para reaccionar con los metales para formar alcóxidos, es decir la facilidad que tiene para perder el hidrogeno del grupo oxidrilo tal como se ilustra en el siguiente esquema [48].

Otras posibles reacciones al interior del sistema podrían llevar a la formación de algunos intermediarios como los que se indican a continuación:



Estos compuestos intermediarios de cinc podrían participar en la formación de los “embriones” o “unidades” que, por su carencia de estabilidad, se conformarían y se disolverían con el tiempo ya que su estructura no habría alcanzado el tamaño crítico que garantizara la formación de núcleos de la fase sólida. Los procesos de “embrionación” y

de nucleación son muy dinámicos y pueden involucrar, además de otros fenómenos, la interacción de una gran cantidad de complejos o compuestos intermediarios de cinc, como los generados al desarrollarse las reacciones indicadas desde la Ec. 2 hasta Ec. 6.

2.3.3.2.1. Caracterización de los polvos cerámicos sintetizados.

Los sólidos sintetizados, haciendo uso de etanol como solvente de síntesis, se caracterizaron empleando las mismas técnicas que para el caso anterior. En la figura 2.13 se muestra el espectro infrarrojo correspondiente al óxido de zinc sintetizado en etanol que fue tratado, posteriormente, a 400°C. En el espectro IR se aprecian claramente tres bandas: una a $\sim 3450\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a los hidroxilos intermoleculares y/o superficiales, entre ellos los relacionados con el agua absorbida del medio por el óxido de cinc; la segunda, ubicada a $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$, y que se puede asociar a otro de los modos vibracionales del agua, y una tercera banda alrededor de $\sim 500\text{ cm}^{-1}$, bastante ancha, asociada principalmente a los enlaces que forma el cinc, por ejemplo Zn-O y Zn-OH [31]

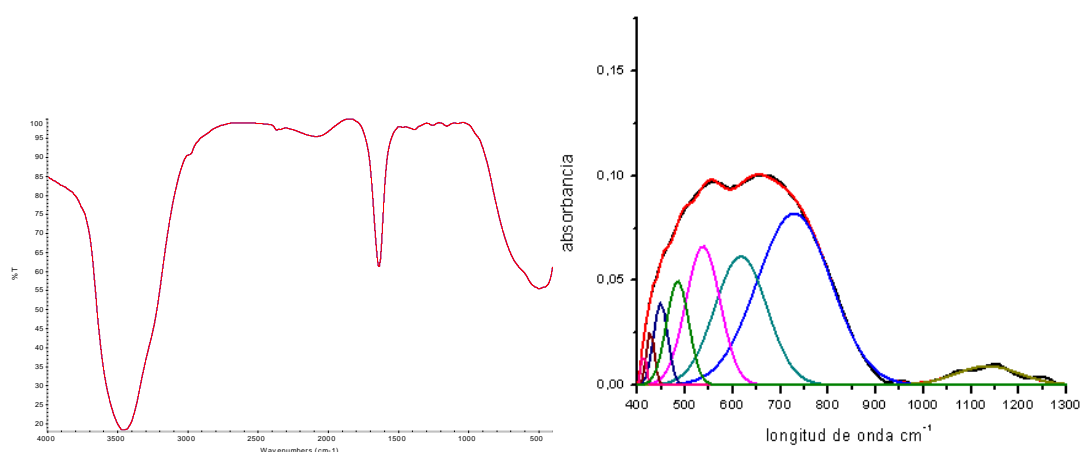


Figura 2.13. Espectro IR de la muestra de ZnO sintetizado usando etanol (a) y deconvolución de la banda espectral entre 400 y 1000 cm^{-1} (b)

Para tener más información sobre los enlaces del cinc, los cuales estarían asociados a bandas entre 400 y 1000 cm^{-1} principalmente, se deconvolucionó esta región del espectro 2.13(a), tal como se indica en la figura 2.13(b). Garantizando que las muestras analizadas eran de ZnO, como lo indica la figura 9 y se mostrara más adelante con los resultados de DRX para la muestra sintetizada en etanol, y comparando los espectros IR de las figuras 2.9(b) y 2.13(b), se puede concluir que aunque las muestras tienen la misma composición química, ZnO, las bandas asociadas a los modos vibracionales de los enlaces del cinc no son iguales y dependen del solvente de síntesis empleado.

Difracción de rayos x.

DRX es una herramienta básica y de gran alcance para la caracterización de las estructuras cristalinas de sólidos [49]. El fundamento de las técnicas de difracción se basa en la interacción de la estructura cristalina de un sólido con una fuente de rayos X, esta estructura cristalina está presente en muchos sólidos tanto naturales como artificiales y consiste en la repetición periódica de los átomos o moléculas que forman este sólido en las tres direcciones del espacio.

Para realizar este análisis de difracción de rayos X, de muestras en polvo, se empleó un difractómetro de rayos X Bruker D2- Phaser usando una fuente de Cu K α (10mA, 30 kV, $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$); este equipo está adscrito al grupo de investigación en Nanoquímica de la Universidad Nacional Autónoma de México, México. Los patrones de difracción (PXRD) fueron registrados en el intervalo entre 10 y 90°, en 2θ , a una velocidad de barrido de 0.5°/min y a condiciones ambiente, para conocer las fases cristalinas presentes en los sólidos obtenidos.

En el patrón de difracción (figura 2.14), correspondiente al ZnO sintetizado en etanol, se puede apreciar que la fase cristalina principal en ella es la hexagonal tipo wurtzita (PDF 36-1451), reiterando los resultados de espectroscopia IR (figura 2.13).

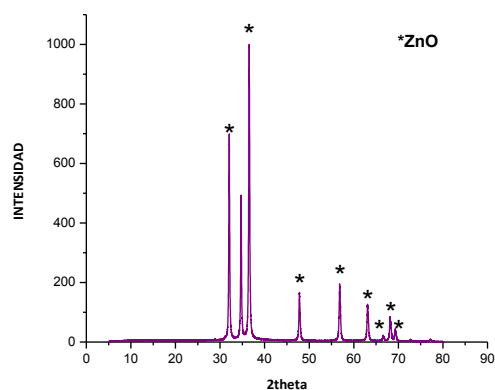


Figura 2.14. *Difractograma de rayos x del ZnO sintetizado utilizando etanol.*

Micrografía de transmisión electrónica y de barrido.

En la figura 2.15 se observan las fotografías tomadas a una muestra de ZnO sintetizada a pH 9.5, usando como solvente de síntesis etanol y tratada térmicamente a 400°C, donde se observan pequeñas columnas o cintas dispuestas arbitrariamente con diferente tamaño, el cual se encuentra entre los 10 y 50 nanómetros considerando el ancho de las cintas.

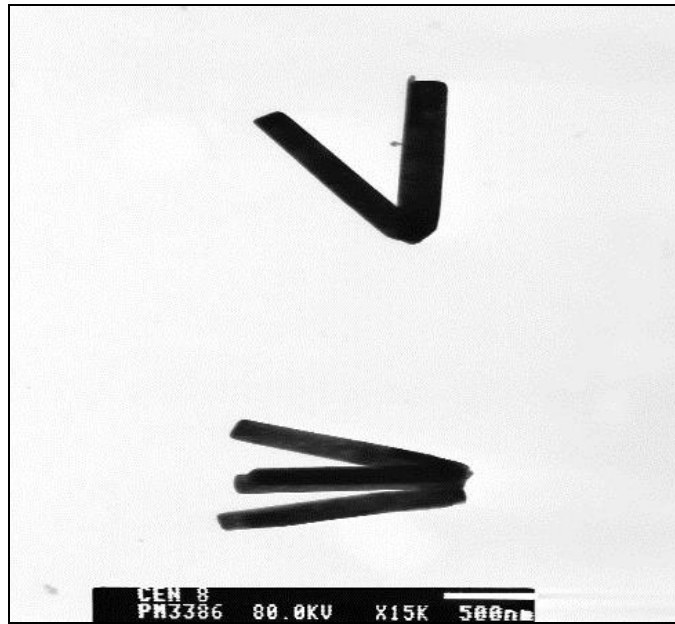


Figura 2.15. Micrografía de transmisión electrónica (MET) correspondiente al ZnO sintetizado en etanol.

Ultravioleta

La figura 2.16 se muestra el espectro de absorción UV-Vis de la muestra de ZnO sintetizada en etanol. En este espectro se destaca una banda ancha alrededor de 270nm, banda de absorción característica de este compuesto [50]. En la figura 2.16(b) se muestra la deconvolución de dicho espectro donde se hacen evidentes las bandas fundamentales que se solapan: una a 270 nm, característica del ZnO, y otra a 350nm. Comparando el espectro de la figura 2.10(b), muestra sintetizada en ácido cítrico, y el de la figura 2.16(b), obtenida en etanol, éstas son muy similares ya que las diferencias son muy sutiles. Para determinar el valor de la energía del “gap” (banda prohibida) correspondiente al ZnO sintetizado en etanol, se utilizó el método y relación de Tauc [51]. En la figura 2.16(c) se muestra la gráfica energía (eV) en función de la absorbancia nm que se utilizó para determinar el valor del “gap”,

encontrándose que este era de 3.3 eV, valor similar al obtenido para el ZnO sintetizado en ácido acético.

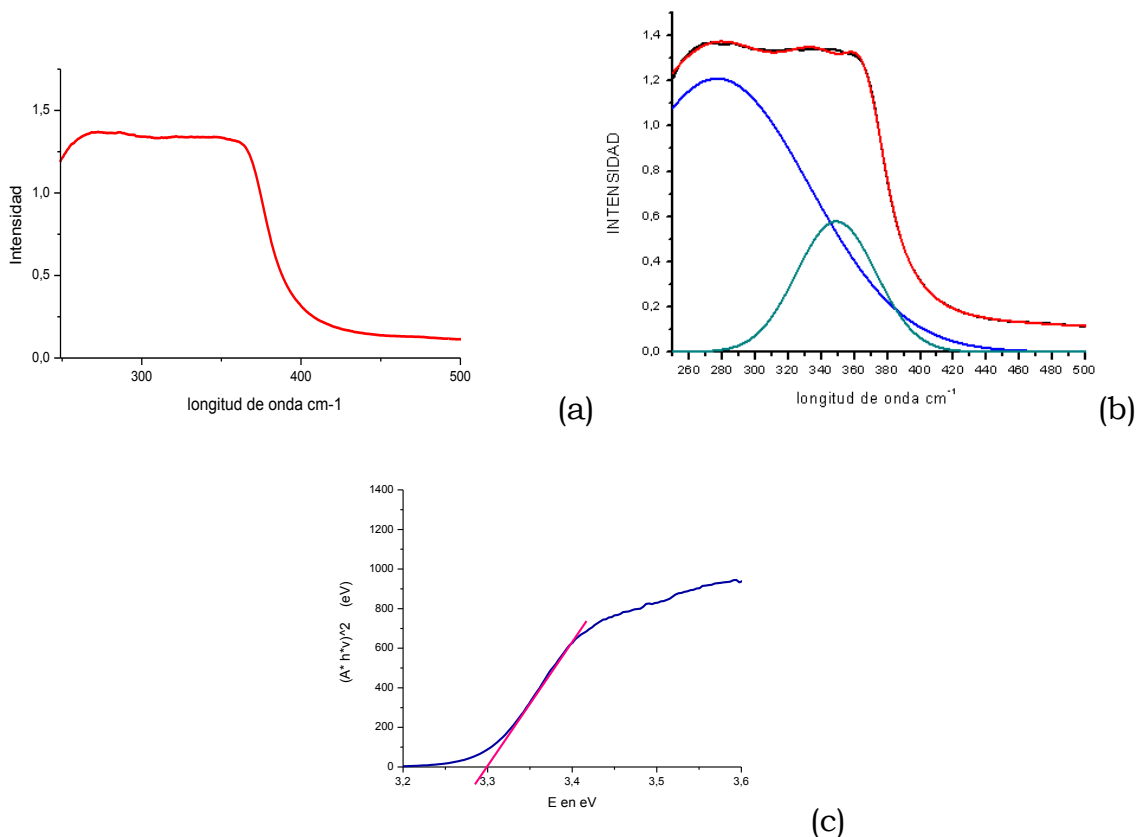


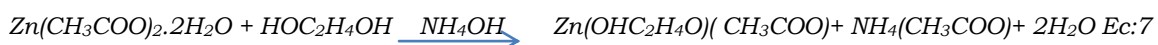
Figura 2.16. (a) Espectro Uv-vis del ZnO sintetizado usando etanol, (b) deconvolucion del espectro y (c) curva energía Vs $(A * h * \nu)^2$ (eV), utilizada para determinar el valor del “gap” (banda prohibida).

2.3.3.3. Síntesis de óxido de cinc en etilenglicol

Para obtener el óxido de cinc también se empleó el etilenglicol (un diol) como solvente de síntesis y se realizó un procedimiento similar al descrito para los casos anteriores. Se disolvió una cantidad conocida de acetato de zinc en etilenglicol (grado analítico marca Mallinckrodt) y se incrementó el valor de pH del sistema, de forma gradual, hasta llegar a 9.5, En esta condición la solución se dejó en agitación constante, bajo calentamiento a

~200 °C, hasta evaporación completa del solvente. A continuación, el sólido seco, se maceró en un mortero ágata y posteriormente se calcino a una temperatura de 600 °C para proceder a su caracterización.

Considerando la naturaleza del solvente, se plantea como posible reacción entre el etilenglicol y el acetato de cinc, la expresión que se indica en la Ec. 7. Esta reacción plantea una la posible ruta de síntesis que permitió la obtención del óxido de zinc, expresión que se asemeja a las reacciones propuestas para la síntesis de óxido de cinc en etanol (Ec. 2 a Ec. 6, debido a que el etilenglicol o etanodiol también es un alcohol, solo que el segundo es clasificado como un Diol [52].



El empleo del etilenglicol (un poliol), como solvente, permite, además, que él actúe como agente estabilizante para controlar el crecimiento de las partículas y reducir la aglomeración de las mismas.

2.3.3.3.1 Caracterización del óxido de cinc obtenido

En la figura 2.17 se muestra el espectro infrarrojo correspondiente al óxido de cinc sintetizado en etilenglicol, donde se aprecian tres bandas: una a ~3450 cm⁻¹, que se puede asociar a los OH intermoleculares y entre ellos al agua absorbida del medio por el óxido de cinc, la segunda a ~1600 cm⁻¹, correspondiente a otro modo vibracional del agua, y la tercera ubicada a ~500 cm⁻¹, banda ancha que da información de los modos vibracionales de los enlaces de cinc: Zn-O y/o Zn - OH, principalmente.

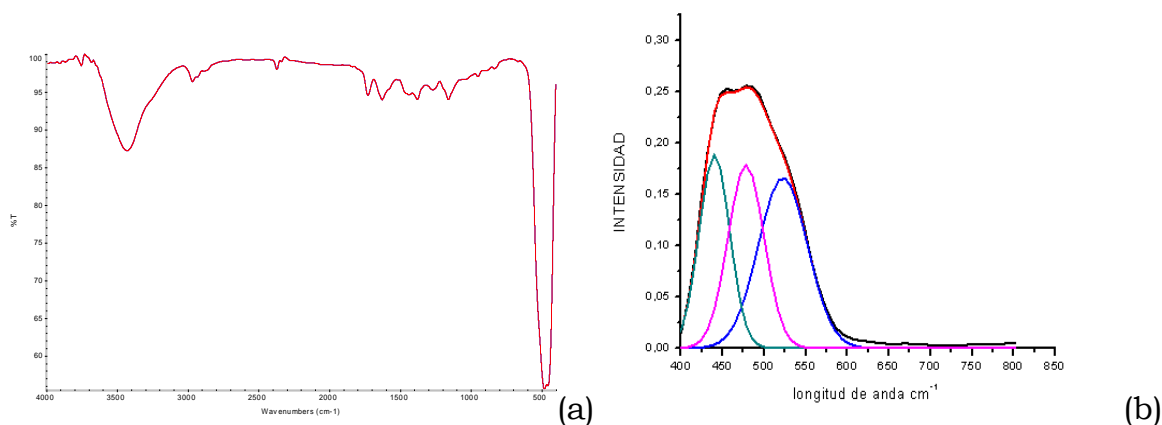


Figura 2.17. Espectro IR de la muestra de ZnO sintetizado usando etilenglicol (a) y deconvolución de la banda espectral entre 400 y 950 cm^{-1} (b)

Para tener más información sobre los enlaces del cinc, los cuales estarían asociados a bandas entre 400 y 1000 cm^{-1} principalmente, se deconvolucionó esta región del espectro 2.17(a), tal como se indica en la figura 2.17(b). Observando el espectro IR de la figura 2.17(a) se puede concluir que la presencia del ZnO en la muestra sólida, evidenciada por la banda ubicada a bajos números de onda (figura 2.17(a)), es muy importante, resultado que será reiterada por los resultados de DRX que se indicaran más adelante. Comparando el espectro IR del ZnO sintetizado en etilenglicol, con los sintetizados en ácido acético (figura 2.9(b) y etanol (figura 2.14(b)), se puede concluir que aunque las muestras tienen la misma composición química, ZnO, las bandas asociadas a los modos vibracionales de los enlaces del cinc no son iguales y dependen del solvente de síntesis empleado; la deconvolución del espectro IR de la muestra sintetizada en etilenglicol (figura 2.17(b)) es más simple que la correspondiente a las otras muestras (figuras 2.9(b) y 2.14(b)). Estas diferencias en los espectros IR se pueden justificar con base en la morfología que presentan las partículas de ZnO (figuras 2.10 y 2.13) y las

diferencias locales que se presentan en la estructura cristalina propiciadas, principalmente, por los defectos presentes en las muestras analizadas [53].

Difracción de rayos x

En el patrón de difracción de la figura 2.18 se puede apreciar que en el óxido de cinc sintetizado en etilenglicol la fase cristalina más importante es la hexagonal tipo wurtzita (PDF 75-576).

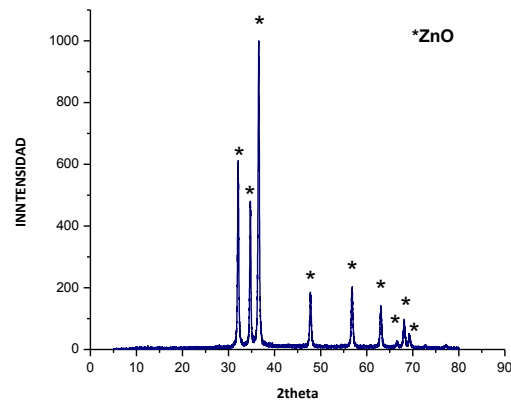


figura 2.18. *Difractograma de rayos x del ZnO sintetizado utilizando etilenglicol*

Microscopia de transmisión electrónica

En la figura 2.19 se observan fotografías tomadas a muestras de ZnO sintetizado en etilenglicol, a pH 9.5, donde se observan pequeñas esferas dispuestas arbitrariamente, algunas de ellas aglomerados, cuyo tamaño está entre 10 y 50 nanómetros.

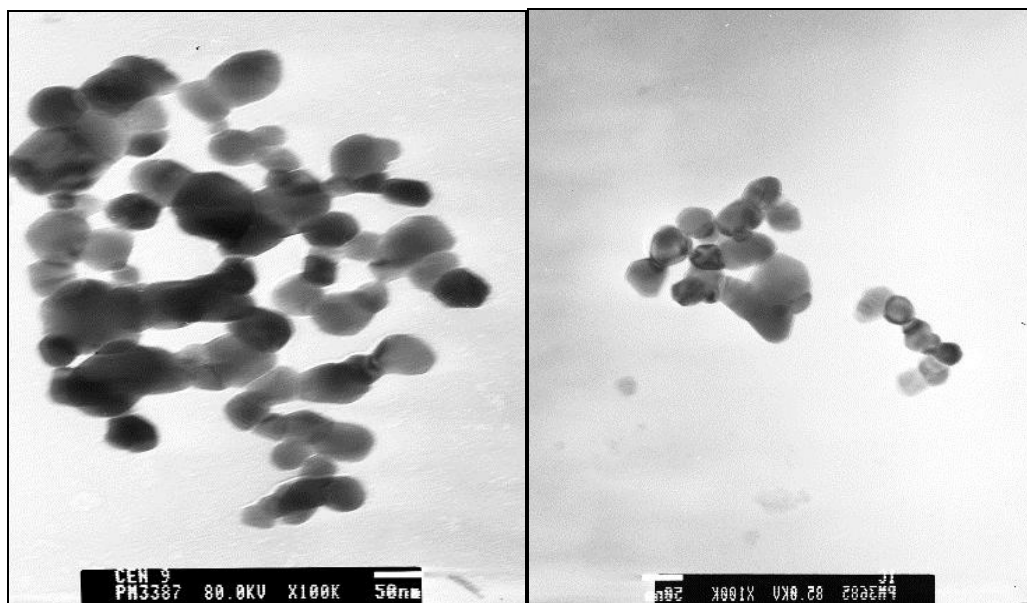


Figura 2.19. Micrografía de transmisión electrónica de ZnO sintetizado en etilenglicol.

Espectroscopia ultravioleta – visible de reflectancia difusa

En la figura 2.20(a) se muestra el espectro UV-vis correspondiente a la muestra sintetizada en etilenglicol. Al igual que las muestras sintetizadas en ácido acético (figura) y en etanol (figura), se observa una banda de absorción ancha alrededor de 270 nm característica del ZnO. Al realizar la deconvolución de dicho espectro (figura 2.18(b)) se hacen evidentes las bandas fundamentales que estaban solapadas y que se ubican a 270 nm, 350 nm y 375nm. En la figura 2.18c se muestra la curva que se utilizó para determinar, por el método de Tauc, el valor del ancho de la banda prohibida que fue de 3.28 eV., valor evidentemente menor al obtenido para las muestras sintetizadas en ácido acético, 3.3 eV, y etanol, también de 3.3 eV.

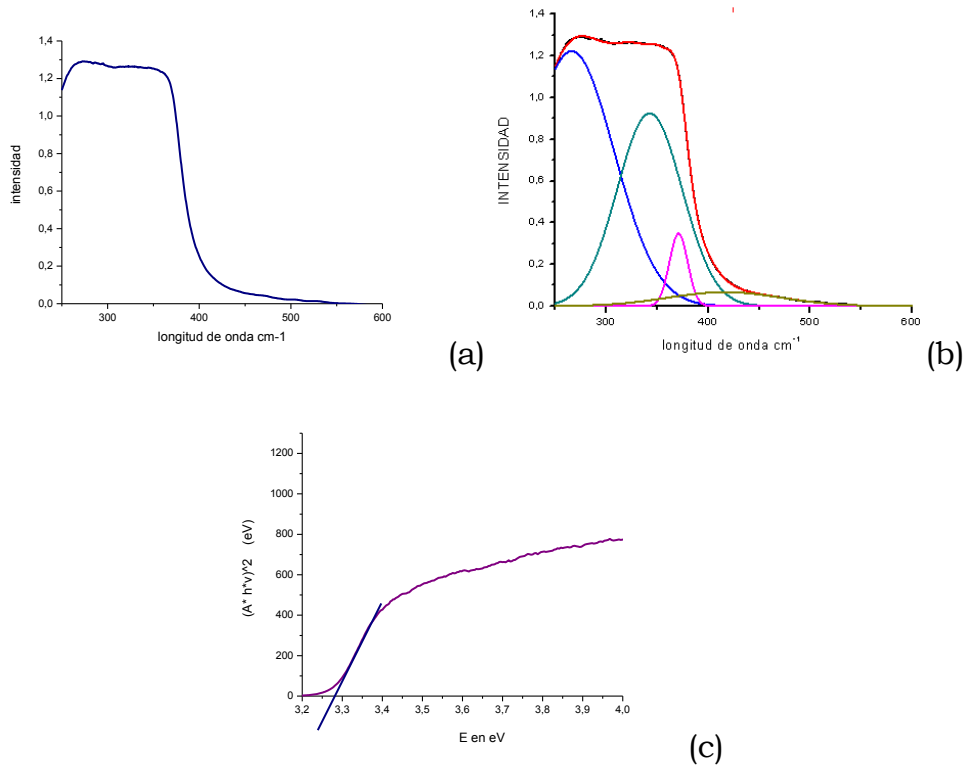


Figura 2.20. (a) espectro UV-vis del ZnO sintetizado en etilenglicol, (b) deconvolución del espectro y (c) curva utilizada para determinar el valor del ancho de la banda prohibida del ZnO utilizando el método de Tauc.

<i>Solvente de síntesis</i>	<i>Morfología de ZnO</i>	<i>Fase cristalina predominante de ZnO</i>	<i>Energía gap</i>	<i>Absorción en el ultravioleta</i>
<i>Ácido acético</i>	<i>Acicular</i>	<i>wurtzita</i>	<i>3.3 eV</i>	<i>270 nm</i>
<i>etanol</i>	<i>cintas</i>	<i>wurtzita</i>	<i>3.3 eV</i>	<i>270 nm</i>
<i>etilenglicol</i>	<i>esferas</i>	<i>wurtzita</i>	<i>3.28 eV</i>	<i>270 nm</i>

Tabla 1: tabla comparativa de los parámetros obtenidos en la síntesis del óxido de cinc con os diferentes solventes.

2.4. Conclusiones

Utilizando el método de precipitación controlada, empleando diferentes solventes, se pudieron obtener nanopartículas de ZnO, entre 10 y 50 nm, con diferentes morfologías: agujas, usando ácido acético, trozos de cintas o tabletas, en etanol, y partículas esféricas, en etilenglicol. Esto pone en evidencia que la naturaleza del solvente de síntesis afecta la morfología de las partículas, acción que era de esperar porque la formación de los núcleos de fase sólida, y por lo tanto su crecimiento, estaría determinada por la “estructura interna” del solvente, parecido a lo que sucede cuando se utiliza un surfactante, para “crear” una cierta estructura en el solvente (a través de las micelas inversa o normal”), con el fin de obtener partículas con diferentes morfologías y tamaños, hasta de naturaleza mesoporosa.

Los resultados de la caracterización de las nanopartículas sintetizadas, usando los diferentes solventes, mostraron que la fase cristalina predominante era el ZnO tipo wurtzita. En los espectros IR se observaron diferencias evidentes, especialmente en la banda a bajos números de onda, que se pueden relacionar con la diferente morfología de las nanopartículas y, posiblemente, a diferencias en concentración y naturaleza de defectos, cambios propiciados por el uso de solventes de diferente naturaleza durante la síntesis. No se observó un cambio apreciable en el valor de la banda prohibida de energía: se obtuvieron valores entre 3.27 y 3.3 eV muy cercanos al de 3.3 eV reportado en la literatura.

2.5. BIBLIOGRAFIA

- [1] <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/zn.htm#ixzz3wqO4Y3Ce>. 10/01/2016
- [2] http://www.xtec.cat/~gjimene2/licencia/students/bscw.gmd.de_bscw_bscw.cgi_d403248902_pagina_propiedades.html. 10/01/2016
- [3] Ejtemaei, M; Baghi, M. G; Irannajad, M; A review of zinc oxide mineral beneficiation using flotation method. *Advances in Colloid and Interface Science* 206 (2014) pág 68–78.
- [4] Brown H. E; “Zinc oxide: properties and applications”, International Lead Zinc Research Organization, New York, 1976.
- [5] Ozgur, U; Ya, I. A; Liu, C; Teke, A; Reshchikov, M. A; Dogan, S; Avrutin, V; Cho, S. J; Morkov, H. “A comprehensive review of ZnO materials and devices”, *J. Appl. Phys.*, 041301, (2005);

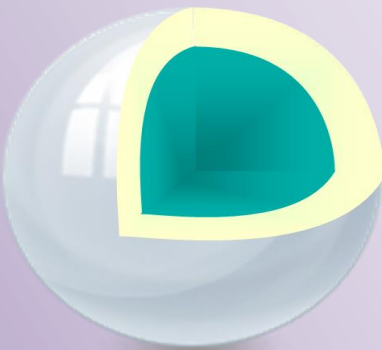
- [6] Kilingshim, C; "ZnO: from basics towards applications" *Phys. Status Solid B* 244, (2007); pág 3027 – 3037,
- [7] Kilingshim, C. "ZnO material, physics and applications", *Chem. Phys. Chem* 8, (2007); pág 782 – 803,
- [8] Moezzi, A. M. McDonagh, M. B. Cortie, "Zinc oxide particles: synthesis, properties and applications", *Chemical Engineering Journal*, 1 – 22; (2012); pág 185 – 186, ,
- [9] Patnaik, P; "Handbook of inorganic chemicals", McGraw Hill, New York, 2003.
- [10] Jagadish, Ch; Pearton, S. J; (Eds), "Zinc oxide bulk, thin films and nanostructures: processing, properties and applications", Elsevier Ltd. Amsterdam, The Netherlands, 2006.
- [11] Morkoc, Ü. Özgür, "Zinc oxide: fundamentals, materials and device technology", WILEY - VCH Verlag & Co. kGaA, Weinheim, 2009.
- [12] Klingshirn, C. F. B. K. Meyer, A. Waag, A. Hoffmann, J. Geurts, "Zinc oxide: from fundamental properties towards novel applications", Springer series in materials science; 120.
- [13] Bréchnignac, C. Ph. Houdy, Lahmani, M; (Eds.), *Nanomaterials and nanotechnology*, Springer – Verlag, Berlin Heidelberg, 2007; K. J. Klabunde, R. M. Richards (Eds.); "Nanoscale materials in chemistry", John Wiley & Sons Inc., New Jersey, 2009.
- [14] Cao G; Wang, Y. "Nanostructures and nanomaterials: synthesis, properties and applications", 2nd edition, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Hackensack, 2011.
- [15] Wanda J. Guedens, Monique; Reynders; Heidi Van den Rul, Ken Elen, An Hardy, and Marlies K. Van Bael. J. ZnO-Based Sunscreen: The Perfect Example To Introduce Nanoparticles in an Undergraduate or High School Chemistry Lab *Chem. Educ.* 2014, 91, 259–263
- [16] Ling Chuo Ann, Shahrom Mahmuda, Azman Seeni, SitiKhadijah, Mohd, Bakhori, AmnaSirel, khatim, DasmawatiMohamad, HabsahHasan. Structural morphology and in vitro toxicity studies of nano- and micro-sized zinc oxide structures; *Journal of Environmental Chemical Engineering* 3 (2015) 436–444.
- [17] Diana Nathalie Montenegro Martínez. Crecimiento Cristalino de nano y microestructuras de ZnO mediante PVD y MOCVD. Tesis doctoral. Departamento de Física Aplicada y Electromagnetismo. Universidad de Valencia 2013
- [18] Mitchnick, M. A; Fairhurst, D; Pinnell, S. R. "Microfine zinc oxide (z-cote) as photostable UVA/UVB sunblock agent", *J. Am. Acad. Dermatol.*, 40; (1999); pág 85 – 90,
- [19] José Manuel Gutiérrez Hernández; Aplicaciones médicas y efectos tóxicos de nanopartículas de ZnO, TiO₂, y nanotubos de carbono; Universidad Autónoma de San Luis Potosí; (2013); pág 7-8
- [20] Kyeong-Nam Yu, Tae-Jong Yoon, ArashMinai-Tehrani, Ji-Eun Kim, Soo Jin Park, Min SookJeong, Shin-Woo Ha, Jin-Kyu Lee, Jun Sung Kim, Myung-HaingCho. Zinc oxide nanoparticle induced autophagic cell death and mitochondrial damage via reactive oxygen species generation. *Toxicology in Vitro*. Volumen 27, Número 4; (2013), pag 1187 a 1195.
- [21] Pasquet, J; Chevalier, Y; Couval, E; Bouvier, D; GaëlleNoizet, C; Morlière; Bolzinger M; Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties. *International Journal of Pharmaceutics*; 460 (2014); pág 92–100.
- [22] Nohynek G. J; Lademann, J; Ribaud, C; Roberts, M. S. "Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety" *Crit. Rev. Toxicol.* 37, 251 – 277, (2007)
- [23] Oberdörster, E. Oberdörster, J; *Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles*, *Environmental Health Perspectives*, 113 (7), 823 – 839, (2005).
- [24] Feltis, B.N; Elbazc, A; Wright, P.F.A; Mackay, G.A; Turney, T.W; Lopata, A. L; Characterizing the inhibitory action of zinc oxide nanoparticles on allergic-type mast cell activation *Molecular Immunology* 66; (2015); pág 139–146.

- [25] Nadja R. B; Lenz, M; Wehrli, B; Fent, K; Comparative effects of zinc oxide nanoparticles and dissolved zinc on zebrafish embryos and eleuthero-embryos: Importance of zinc ions Science of the Total Environment 476–477 (2014); pág 657–666.
- [26] Amir Moezzi, Andrew M. Mc-Donagh, Michael B. Cortie. Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications Chemical; Engineering Journal 185– 186; (2012); pág 1– 22.
- [27] Varsha Srivastava, Deepak Gusain, Yogesh Chandra Sharma; Synthesis, characterization and application of zinc oxide nanoparticles (n-ZnO). Ceramics International 39; (2013); pág 9803–9808
- [28] Busarakam, C; Tawatchai, C; Akawat, S; Varong, P. Controlled synthesis of defects-containing ZnO by the French process modified with pulsed injection and its luminescence properties. Ceramics International 37 (2011) 2021–2024
- [29] Casas, J.S; El cinc en los seres vivos; Química Bioinorgánica, Ed. Síntesis, España, 2002. p 61
- [30] Bacsa, Revathi; Kihn, Y; Verelst, M; Dexpert, J; Bacsa W; Serp, P. Large scale synthesis of zinc oxide nanorods by homogeneous chemical vapour deposition and their characterization. Surface&CoatingsTechnology 201 (2007) 9200–9204.
- [31] Montero Muñoz, M; Anaconda Ordoñez, G. Determinación Del Efecto Fotodegradante De Los Sistemas ZnO y ZnO/SnOx UNIVERSIDAD DEL CAUCA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION DEPARTAMENTO DE FÍSICA POPAYÁN 2010
- [32] Alwan, R. M; Kadhim, Q. A; Sahan, K. M; Ali, R. A; Mahdi, R. J; Kassim, N. A; Jassim, A. N. “Synthesis of zinc oxide nanoparticles via sol-gel route and their characterization”, Nanoscience and Nanotechnology 5(1), (2015); pág 1 – 6,
- [33] MEDINA CHICUÉ, J; síntesis de nano-partículas de ZnO utilizando el método sol-gel: comparación en la bioacumulación de ZnO en *mus musculus* administrarle una dieta de nano o micro partículas de ZnO UNIVERSIDAD DEL CAUCA; FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION. DEPARTAMENTO DE QUIMICA.POPAYÁN COLOMBIA. 2014. Pag 14
- [34] Brinker, C. F; Schere, G. W. “Sol – gel science: the physics and chemistry of sol – gel processing”, Academic Press Inc., San Diego, 1990.
- [35] Yang, L; Wang, J; Xiang, L; “Hydrothermal synthesis of ZnO whiskers from ϵ - Zn(OH)₂ in NaOH/Na₂SO₄ solution”, Particuology 19; (2015); pág 113 – 117,
- [36] Ocakoglu, K; Mansour, Sh. A; Yildirimcan, S; Al-Ghamdi, A. A. El-Tantawy, F; Yakuphanoglu, F. “Microwave – assisted hydrothermal synthesis and characterization of ZnO nanorods”, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 148, (2015); pág 362 – 368
- [37] Anand K, S. Varghese, T. Kurian, “Synthesis of ZnO nanorods through mecano-chemical route: a solvent free approach”, International Journal of Theoretical & Applied Sciences 6(1), 87 – 93, (2014).
- [38] Dakhlaoui, A; Jendoubi, M; Smiri, L. S; Kanaev, A; Jouini, N. “Synthesis, characterization and optical properties of ZnO nanoparticles with controlled size and morphology”, Journal of Crystal Growth 311, 3989 – 3996, (2009))
- [39] Daza Gómez Lucy Caterine; Síntesis y caracterización de materiales mesoporosos dopados y sin dopar y su efecto fotodegradante. Universidad del Cauca (2013).
- [40] Jolivet, J. P; “ Metal Oxide Chemistry and Synthesis: From Solution to Solid State”, 1st Edition, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 2000.
- [41] X-ray Diffraction and X-ray Absorption Spectroscopic Analyses for Intercalative. Nanohybrids with Low Crystallinity, Dae-Hwan Park, Jae-Hun Yang, Ajayan Vinu, Ahmed Elzatahry, Jin-Ho Choy. Arabian Journal of Chemistry (2015).
- [42] Khoshhesa, Z. M; Reflectance IR Spectroscopy. Materials Science Engineering and Technology, 13 cap 11 (2012) pág. 233-244.

- [43] Alvarado, R; Solera, F; José Vega–Baudrit; síntesis sonoquímica de nanopartículas de óxido de cinc y de plata estabilizadas con quitosano. evaluación de su actividad antimicrobiana; *Revista Iberoamericana de Polímeros; Volumen 15(3), Mayo de 2014. Pág 134-148*
- [44] Tauc, J; Grigorovici, R. Vancu, A. *Phys. Stat. Sol.* 15, (1966); pág 627
- [45] Morkoc, H; Özgür, Ü; “Zinc oxide: fundamentals, materials and device technology”, WILEY - VCH Verlag & Co. kGaA, Weinheim, 2009.
- [46] Jagadish, Ch; Pearton, S. J. (Eds.), “Zinc oxide bulk, thin films and nanostructures: processing, properties and applications”, Elsevier Ltd. Amsterdam, The Netherlands, 2006;
- [47] Klingshirn, C. F; Meyer, B. K. Waag, A. Hoffmann, A. Geurtts, J. “Zinc oxide: from fundamental properties towards novel applications”, Springer series in materials science 120, Springer – Verlag Berlin Heidelberg, 2010.
- [48] Juan Carlos Autino Gustavo Romanelli Diego Manuel Ruiz; *Introducción a la Química Orgánica; Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata; 2013; pag, 181-182.*
- [49] Dae-Hwan Park, Jae-Hun Yang, Ajayan Vinu, Ahmed Elzatahry, Jin-Ho Choy ; *X-ray Diffraction and X-ray Absorption Spectroscopic Analyses for Intercalative Nanohybrids with Low Crystallinity, Arabian Journal of Chemistry (2015).*
- [50] Yuanhui Zheng, Lirong Zheng, Yingying Zhan, Xingyi Lin, Qi Zheng, and Kemei Wei; *Ag/ZnO Heterostructure Nanocrystals: Synthesis, Characterization, and Photocatalysis; Inorg. Chem., vol 46, (2007), pág 6980-6986*
- [51] Tauc, . J. Grigorovici, R.. Vancu. A; *Phys. Stat. Sol.* 15, (1966) 627
- [52] Morrison, R. T; Boyd, R. N; *Química organica; pearson Educación; quinta edicion, México; pág 626.*
- [53] Farmer, V. C. (Ed.), “Infrared Spectra of Minerals”, Mineralogical Society of Great Britain & Ireland, London (1977)

Capítulo 3

Síntesis de nanopartículas tipo “core-shell”



En este capítulo se describe la síntesis y caracterización de nanopartículas con estructura core-shell de óxido de cinc-plata

CAPITULO III: Síntesis de nanopartículas tipo “core-shell”

3.1. Nanopartículas core-shell

3.1.1. Características y propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas

El obtener información sobre la interacción entre las nanopartículas y la radiación electromagnético es muy importante debido a la capacidad que presentan algunas de ellas tanto de capturar como, en algunos casos, de irradiar energía en ciertas regiones del espectro, UV - visible e infrarrojo por ejemplo, más si se considera las potenciales aplicaciones de estos fenómenos [1]. Estas nanopartículas se pueden usar en procesos, por ejemplo, de desinfección de agua, así como para aplicaciones biomédicas,[1],[2]

Con el objetivo de favorecer este proceso se han venido realizando investigaciones sobre nanoestructuras híbridas, principalmente metal-semiconductor, por sus potenciales aplicaciones tecnológicas así como fenomenológicamente desde el punto de vista fundamental. Estos nanomateriales exhiben características funcionales novedosas que los hace adecuados para aplicaciones en diversas áreas, como: la catálisis, la conversión de energía solar, optoelectrónica y bioetiquetado [3], así como en los campos del magnetismo, la bioquímica y la biomedicina, entre otros. En la figura 3.1 se indican algunas de las potenciales aplicaciones de estas estructuras core – Shell. Estas nanoestructuras están constituidas por un centro, núcleo o “core” de naturaleza metálico, óxido metálico o polimérico que se recubre superficialmente con otro tipo de material (metal, cerámico, polímero o aleación), disposición que potencia las propiedades de alguno de los materiales constituyentes básicos o que genera otras nuevas y diferentes propiedades [3], dando como resultado estructuras más versátiles y útiles.



Figura 3.1. Esquema que ilustra algunas aplicaciones de las nanopartículas core-shell.[3]

En la actualidad, una parte significativa de la investigación en heteroestructuras metal-semiconductor considera nanopartículas de tipo core-shell, tomando como núcleo, frecuentemente, un metal noble, recubriéndolo con una capa o cáscara semiconductor [4]. Los resultados de estos trabajos han mostrado que las nanoestructuras de dos o más componentes distintos, con distintas geometrías core-shell (por ejemplo Ag-CdS [5], Cd-Se, Au-ZnO, Ag-ZnO [4], pueden exhibir propiedades adicionales debido a la distribución anisotrópica de los grupos funcionales superficiales y/o a las particularidades de los estados energéticos en la interfase y en la superficie de la estructura. Estas propiedades se pueden ajustar, adicionalmente, controlando la naturaleza química, el tamaño y la forma de los componentes individuales que conforman la nanoestructura particular. Uno de los semiconductores más usados en este tipo de estructuras es el óxido de zinc, semiconductor tipo n de banda ancha, que presenta un valor de “gap” (banda prohibida) de 3.37 eV. Por otro lado, un buen candidato para conformar nanoestructuras híbridas es aquel material que presente una morfología bien definida [6]. Para el caso

concreto del ZnO, hasta ahora, éste se ha sintetizado con diversas morfologías, entre ellas varillas, tubos, conos y discos [7].

En general, cuando se considera la síntesis de NP, se tienen bien establecidas dos estrategias: “top-down” y “bottom-up”. En la primera, se parte del material en “bulk” y se reduce el tamaño hasta alcanzar el rango nanométrico, siendo la molienda de alta energía el procedimiento más empleado con este fin. En la segunda estrategia átomos o moléculas se ensamblan hasta conformar estructuras moleculares de tamaño nano. La estrategia “bottom-up” es la más popular e involucra a la síntesis química (método coloidal, sol-gel, síntesis solvotermal, oxidorreducción, etc.) y a la biológica (uso de microorganismos)[8],[9].

En cuanto a los métodos utilizados para sintetizar nanopartículas con estructura core-shell se pueden mencionar: los métodos que involucran interacciones electrostáticas entre las nanopartículas que conformarían el núcleo y las nanopartículas que constituirían la capa o cáscara, el método sol-gel, deposición-precipitación, microemulsión, método sonoquímico, reducción por extracción de solventes, procesos con poliglicoles y técnicas basadas en coordinación química [10]. De éstos procesos es el método sol-gel es el que más se destaca por ser versátil y porque permite la obtención de nanomateriales con alta pureza y homogeneidad [11].

Estos materiales híbridos nanoestructuras, constituidos de un semiconductor y un metal noble, proporcionan la posibilidad de abordar fenómenos ópticos que consideran la interacción radiación – nanopartícula y que incluye los fenómenos de absorción, emisión, y concentración de radiación electromagnética. Estos fenómenos propician en las nanoestructuras efectos antibacterianos, de mayor superficie de dispersión Raman y capacidad sensora de gases, entre otros [12]. Estos efectos generan potenciales aplicaciones tecnológicas, muy interesantes, para estas nanoestructuras (figura 3.1), entre ellas en el desarrollo de

dispositivos optoelectrónicos, de sistemas de detección y en optimización de sistemas fotovoltaicos y fotocatalíticos [8]; entre los materiales semiconductores más utilizados, para conformar nanoestructuras híbridas, está el ZnO [13].

Actualmente, en la literatura científica, se encuentran muchos reportes sobre la preparación de nanocompuestos del tipo ZnO/Ag [14]. de interés para este trabajo, o donde el ZnO se recubrió con un metal o con otro semiconductor [15]. En particular, el recubrir un semiconductor con un metal parece ser una manera eficaz para mejorar las propiedades de estos materiales, esto es debido al acoplamiento que se presenta entre los dos materiales al interactuar, tal como se ha demostrado con el mejoramiento de las propiedades del ZnO [9].

3.1.2. Características fisicoquímicas y propiedades de la plata

Un metal que se ha utilizado bastante para recubrir las nanopartículas de óxidos ha sido la plata, la cual es un elemento químico, símbolo Ag, que presenta un número atómico 47 y una masa atómica de 107.87g/mol. Es un metal de color grisáceo y se considera un metal pesado; desde el punto de vista comercial, se considera un metal precioso [16]. En la mayor parte de sus aplicaciones, la plata se alea con uno o más metales para mejorar sus propiedades, aunque este elemento es uno de los metales que poseen mayor conductividad térmica y eléctrica. Y, por esto último, se utiliza en puntos de contacto eléctrico y/o electrónico. Pero, quizás, su mayor aplicación está en la joyería donde con él se conforman diversos objetos con muy buen valor económico.

La plata ha sido utilizada ampliamente por miles de años en la historia de la humanidad, en aplicaciones como: la joyería, utensilios para el hogar, fotografía, etc [17]. Incluso, civilizaciones antiguas como los griegos, utilizaron la plata para cocinar y controlar la calidad y seguridad del agua;

sus propiedades antimicrobianas ya se explotaban antiguamente, en la medicina tradicional [18]. En los últimos años, se ha renovado el interés por la plata debido a su buena conductividad, estabilidad química y actividad antibacteriana, entre otras propiedades [19]. Las nanopartículas de plata (Ag NPs) se están convirtiendo en uno de los productos de mayor crecimiento en la industria de la nanotecnología dada su fuerte actividad antimicrobiana, propiedad que ha propiciado y motivado el desarrollo de productos usando Ag – NPs tal que, actualmente, una amplia gama de este tipo de productos se encuentran disponibles en el mercado [20].

3.1.3. Configuración estructural de nanoestructuras core-shell

Dentro de las diferentes configuraciones estructurales de las nanopartículas, con estructura core-shell, se encuentran las que se indican en la figura 3.2.

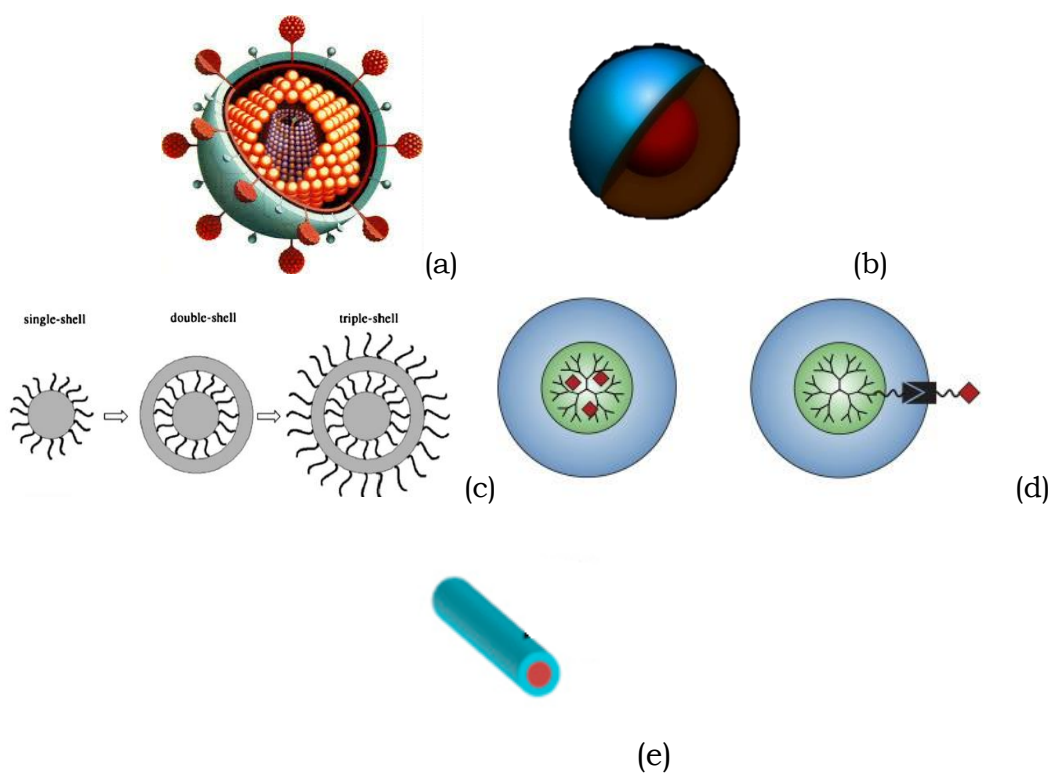


Figura 3.2. Configuración estructural de nanopartículas con estructura core-shell 19,20,21.

Como se puede apreciar en la figura 3.2, existen varias configuraciones estructurales para las nanopartículas tipo core-shell [21], configuraciones que dependen directamente del tipo de material con que se esté trabajando y de las características fisicoquímicas del mismo, entre ellas de su cristalinidad. Como se observa en la figura 3.2, se han obtenido nanotubos donde una capa de un material determinado hace las veces de centro y la de otro material, de los mencionados con anterioridad, hace las veces de cascara; la configuración más común, figura 3.2, es la esférica, aunque también se pueden encontrar nanovarillas [22], las cuales se han recubierto con agujas o esferas [23].

Dentro de estos materiales, también se pueden encontrar configuraciones con varias cubiertas o capas, dependiendo de la propiedad que se requiere.

3.2. Métodos de síntesis de nanoestructuras core-shell

3.2.1. Irradiación con microondas.

La técnica de irradiación con microondas permite obtener nanopartículas con una muy baja dispersión de tamaño. Las microondas, con sus campos eléctricos de alta frecuencia, son capaces de calentar cualquier material que contenga cargas eléctricas, como las moléculas polares en un disolvente o los iones conductores en un sólido. Los solventes polares se calientan y sus componentes moleculares se ven obligados a girar con el campo, perdiendo energía durante las colisiones que ellas experimentan. Las muestras sólidas, conductoras y semiconductoras, se calientan cuando los iones y los electrones, contenidos en ellas, forman una corriente eléctrica y la energía se pierde debido a la resistencia eléctrica que presenta el material [24]. En los últimos años, el proceso de calentamiento asistido por microondas se ha utilizado como una alternativa atractiva para la síntesis de materiales a escala nanométrica, dado que es un método rápido, uniforme y efectivo, que permite

incrementar las cinéticas de reacción en uno o dos órdenes de magnitud [25]. Nanopartículas coloidales de Pt, Ru, Ag y Pd, estabilizados por polímeros, han sido preparadas por calentamiento con microondas, a partir de las sales precursoras del metal disueltas en soluciones de etilenglicol. Por otra parte, el calentamiento por microondas de las muestras líquidas permite la disminución de las fluctuaciones de temperatura en el medio de reacción proporcionando, así, un entorno más homogéneo para la nucleación y el crecimiento de las partículas metálicas [26]. En este método, el agente que hace las veces de núcleo o core, denominada semilla, se introduce en el medio de reacción llevando a que se produzcan superficies irregulares en el medio, sitios que sirven de nucleación heterogénea para la posterior deposición de las partículas que servirán de corteza, capa o “Shell” [27].

3.2.2. Método solvotermal.

Con el nombre general de síntesis solvotermal se agrupan una serie de técnicas en las que un precursor metálico disuelto en un líquido, en un recipiente cerrado, es calentado por encima del punto de ebullición del solvente, lo que genera al interior del sistema una presión superior a la atmosférica (normalmente moderada). En este tipo de técnicas, frecuentemente, los tiempos de reacción son largos si se comparan con otros métodos químicos. El objetivo de esta técnica es obtener una mejor disolución de los componentes de un sistema, lográndose disolver y/o favoreciendo la reacción de especies muy poco solubles en condiciones habituales, por ejemplo de sílice, aluminosilicatos, titanatos, y sulfuros entre otros. Por otra parte, pueden añadirse especies conocidas como “mineralizadores”, tanto básicos (carbonatos, hidróxidos, etc.) como ácidos (nitríco, clorhídrico, sales amónicas entre otros), oxidantes o reductores, complejantes, etc, que potencien la capacidad de disolución del agua, en una u otra dirección. Además, el agua en estas condiciones suele actuar como agente reductor (liberando oxígeno) por lo que cabe esperar, también,

variaciones en el estado de oxidación de los elementos implicados en la síntesis.

No menos importante es la adición de especies que se utilizan como “plantilla” para favorecer la nucleación del producto en su entorno y generar así cavidades o porosidad “a la medida”. Para ello se utilizan cationes orgánicos con geometría definidas, como el terametilamonio (TMA) entre otros, lo que ha permitido, con gran éxito, sintetizar nuevas especies nanométricas [17],[28].

3.2.3. Método de oxido-reducción.

El método de oxido-reducción consiste en suspender las partículas, que van a servir como núcleo o “core” de la estructura, en un solvente que tenga carácter reductor. A continuación, se adiciona un agente reductor en una cantidad estequiométrica adecuada, compuesto que, además de ser reductor, debe servir como agente de nucleación heterogénea inicial, es decir debe preparar la superficie del material que va a servir como “semilla o sustrato” para la posterior reacción. A continuación, se adiciona el agente oxidante o la especie que va a reducir al sistema y este se mantiene en continua agitación hasta que el proceso de oxido-reducción acurra; estos procesos, generalmente, son evidentes por el cambio de color que experimenta el medio de reacción y el precipitado final [29].

Por otro lado, el método de foto oxido- reducción se lleva a cabo aplicando radiaciones con diversas longitudes de onda, tales como: rayos gamma γ , usando lasers de Ar o de Nd, o luz visible y luz ultravioleta donde, con la ayuda de la radiación, se consigue la reducción de las partículas metálicas a partir de sales inorgánicas [9].

3.3. Síntesis de nanoestructuras core-shell ZnO-Ag

En el presente trabajo las nanopartículas tipo “core – Shell” de ZnO – Ag se sintetizaron utilizando como precursores el óxido de cinc con morfología esférica obtenido previamente en el laboratorio CYTEMAC, bajo las

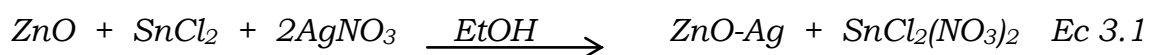
condiciones de síntesis mencionadas en el capítulo 2 del presente trabajo, nitrato de plata (grado analítico marca Merck) y cloruro de estaño (grado analítico marca Merck); como solvente de síntesis se utilizó etanol grado analítico (Merck). Se prepararon tres muestras variando la cantidad de precursor de plata, esto con el objetivo de determinar la concentración más adecuada de nitrato de plata a utilizar para sintetizar las nanoestructuras tipo “core-shell” de ZnO-Ag requeridas para el desarrollo del presente trabajo.

Para ello se tomaron 1.71 g de óxido de cinc y se dispersaron en 180 mL de etanol, la suspensión se dejó en agitación vigorosa sometiéndola a calentamiento a 60°C, durante media hora. Posteriormente, se adiciono gota a gota 5 mL de una solución de etanol que contenía 0.15 g de cloruro de estaño a la suspensión que contenía el ZnO obteniéndose la **muestra 1**; para obtener la **muestra 2** se realizó el mismo proceso pero con un contenido de SnCl₂ de 0.33 g y para la **muestra 3** con 0.60 g del compuesto de estaño. Cada sistema, por separado, se sometió a un proceso de agitación y calentamiento por una hora, al término de este tiempo se enfrió y se centrifugo. El sedimento obtenido se suspendió en 50 mL de etanol y la suspensión resultante se mantuvo en agitación vigorosa y constante Esta se se volvió a calentar a 60°C e inmediatamente se le adicionó 40 mL de una solución que contenía una relación 1:4 agua:etanol y una cantidad adecuada de nitrato de plata considerando las cantidades utilizadas previamente del SnCl₂, así: a la muestra 1 se le adiciono 0.30 g (referencia ZnO-Ag03), a la muestra 2 0.5897 g (ZnO-Ag06) y 1.2 g de nitrato de plata a la muestra 3 (ZnO-Ag12). Las suspensiones obtenidas se sometieron a una constante y fuerte agitación por 2 horas para, posteriormente, adicionarles 50 mL de la solución de nitrato de plata; las suspensiones resultantes se mantuvieron en constante agitación y calentamiento a 60 °C, por media hora. Al finalizar este proceso se obtuvieron precipitados color café y las suspensiones de sometieron a un tratamiento en ultrasonido por 10 minutos, tal que cumplido este período

de tiempo la suspensión se centrifugo con el objetivo de eliminar el solvente y otros productos de la reacción. A continuación se realizó un rápido lavado del sedimento, con etanol, y se sónico nuevamente para garantizar el retiro de cualquier traza de otros productos diferentes al deseado. Por último, el sólido que se secó a 75°C por dos horas.

Durante el proceso ocurre una reacción de oxidación-reducción, entre el estaño y la plata, propiciada por las propiedades fisicoquímicas de oxidación-reducción, particularmente potencial redox, que tienen estos dos elementos; esta propiedad periódica le confiere gran facilidad de reducción a la plata, bajo condiciones de síntesis adecuadas, mientras que el estaño, por el contrario, se puede oxidar también con gran facilidad en un medio controlado.

La reacción que se propone como posible ruta de obtención de las nanoestructuras tipo “core-shell” de ZnO-Ag es la siguiente.



que se esquematiza en la figura 3.3 y que se describe como se indica a continuación.



Figura 3.3. Esquema representativo de la reacción de oxidación-reducción que permitiría obtener las nanoestructuras “core-shell” de ZnO-Ag.

En primer lugar, la adición del cloruro de estaño en su forma reducida a la suspensión de ZnO favorecería la conformación de una superficie de nucleación específica sobre el óxido, propiciando las condiciones más adecuadas en su superficie para permitir la reducción de la plata y que esta se deposite, de forma efectiva, sobre él. Cuando se adiciono el nitrato de plata a la anterior suspensión, $\text{ZnO} + \text{SnCl}_2$, se debió de desarrollar, principalmente, una reacción de oxido-reducción tal que la plata (Ag), que inicialmente se encontraba como (Ag^+), pasaría a plata metálica la cual se depositaría sobre la superficie “acondicionada” del óxido de zinc. Por otro lado, el estaño, que en un comienzo se encontraba como (Sn^{2+}), pasaría a estaño en su forma oxidada (Sn^{4+}), conformando como producto de la reacción el compuesto ($\text{SnCl}_2(\text{NO}_3)_2$), en solución, y como fase sólida las estructuras ZnO-Ag. El primer indicativo que mostro que, efectivamente, en la suspensión ocurrió un cambio químico se observo al final del proceso porque el precipitado resultante era de color marrón, tal como se muestra en la figura 3.4.



Figura 3.4. Fotografías que muestran la reacción de síntesis para obtener las nanopartículas tipo “core-shell” ZnO-Ag

3.4. Caracterización de las nano estructuras “core-shell” de ZnO-Ag

Las partículas obtenidas se caracterizaron utilizando espectrofotometría infrarroja (FTIR), difracción de rayos x (DRX), espectrofotometría

ultravioleta-visible (Uv-Vis) y Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)

3.4.1. Espectrofotometría infrarroja. (IR-FTR)

La espectrofotometría infrarroja se empleó para determinar los grupos funcionales presentes en los sólidos sintetizados. Los espectros fueron obtenidos utilizando un espectrofotómetro infrarrojo Nicolet IR-200 provisto del software EZOMINIC 32; el número de barridos fue de 32 a una resolución de $16 \text{ cm}^{-1}/\text{s}$.

El espectro IR que se observa en la figura 5(a) corresponde a las partículas sintetizadas usando la menor concentración de nitrato de plata (ZnO-Ag03). En él se aprecia una banda a 500 cm^{-1} , característica del enlace Zn-O del óxido de cinc, dos bandas ubicadas a 1362 y 1488 cm^{-1} tal que la primera, bastante pronunciada, se puede asociar a un modo vibracional del enlace N-O perteneciente al nitrato, grupo funcional que se mantuvo en la muestra después de su síntesis, aún posteriormente al secado. La segunda banda puede corresponder al enlace C-H, procedente del solvente utilizado en la síntesis (etanol), grupo funcional que también se mantuvo en el sólido debido a que las muestras sintetizadas no fueron calcinadas para evitar la oxidación de la plata.

En la figura 3.5(b) se muestra el espectro infrarrojo de la muestra ZnO-Ag06 donde se aprecian dos bandas a bajo número de onda: una a 478 y otra a 495 cm^{-1} , bandas características del enlace Zn-O en el óxido de cinc. A 1400 cm^{-1} aparece en el espectro una banda de mediana intensidad característica del enlace N-O proveniente del nitrato de plata empleado en la síntesis; nuevamente aparece la banda correspondiente al enlace C-H del solvente ubicada a 1362 cm^{-1} .

Por último, en la figura 3.5(c), se observa el espectro infrarrojo de la muestra ZnO-Ag12 donde se observa una banda, menos intensa que en los casos anteriores, a 500 cm^{-1} y que es característica al óxido de cinc. Aparece, nuevamente, la banda a $\sim 1400 \text{ cm}^{-1}$, bastante intensa y bien

definida lo que indica que la concentración de nitrato es mucho más alta que en los casos anteriores. Los resultados de espectroscopia IR son coherentes con lo realizado durante la síntesis: para la obtención de la muestra ZnO-Ag12 se utilizó la mayor cantidad de plata presente y, muy probablemente, no todo el nitrato de plata usado reaccionó, quedando residuo del mismo sobre la superficie de las nanopartículas. Aunque las nanopartículas deben contener Ag metálica sobre su superficie, su presencia no se evidencia en los espectros IR ya que este metal debe absorber, aproximadamente, a los 270 nm, y se debería emplear espectroscopia Raman para verificar su presencia en las nanoestructuras de óxido de cinc sintetizadas.

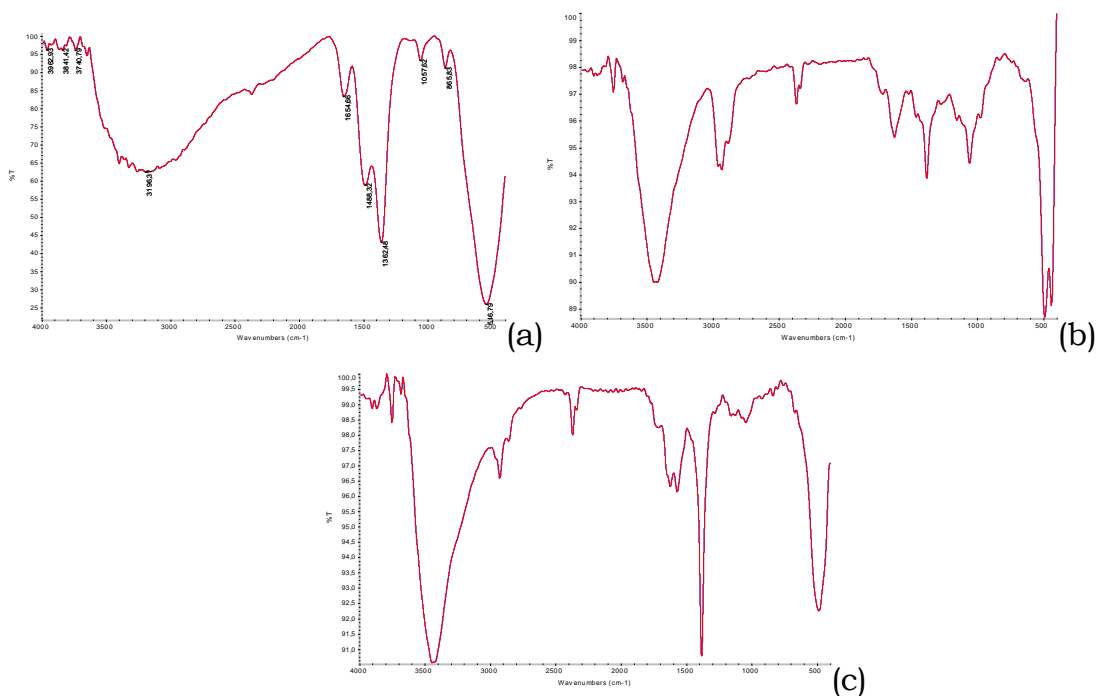


Figura 3.5. Espectros IR correspondientes a muestras de las estructuras ZnO-Ag sintetizadas en este trabajo: (a) ZnO-Ag03, (b): ZnO-Ag06 y (c): ZnO-Ag12

3.4.2. Difracción de rayos x (DRX)

Para determinar las fases cristalinas presentes en las muestras de los sólidos obtenidos, se utilizó difracción de rayos X. Para realizar este análisis, de las muestras en polvo sintetizadas, se empleó un difractómetro de rayos X Bruker D2- Phaser, usando como radiación la K_{α} del Cu ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), con valores de corriente y voltaje de trabajo de 10mA y 30kV, respectivamente. Este equipo está adscrito al grupo de investigación en Nanoquímica de la Universidad Nacional Autónoma de México, México. Los patrones de difracción fueron registrados en el intervalo entre 10 y 90° en 2θ , a una velocidad de barrido de $0.5^{\circ}/\text{min}$, y a condiciones ambientales.

En la figura 3.6 se pueden observar los tres difractogramas obtenidos de las muestras de interés. El primero, figura 6(a), corresponde a la muestra ZnO-Ag03, el difractograma de la figura 3.6(b) a la muestra ZnO-Ag06 y el de la figura 3.6(c) a la muestra ZnO-Ag12. En los tres casos se observan picos estrechos, muy bien definidos, y característicos tanto del óxido de cinc, con estructura cristalina hexagonal tipo wurtzita (PDF 75-576), como de la plata en estado de oxidación cero, con estructura cristalina cubica (PDF 87-718). Para la muestra ZnO-Ag03 se observa, además, que el “fondo” (background), o línea base del difractograma, está muy ajustado a cero, lo que indica que las nanopartículas presentan muy buena cristalinidad. Sin embargo, en los difractogramas figura 3.6(b) y 3.6(c), se puede apreciar que el “fondo” (background) presenta mucho ruido, comportamiento que hace presagiar la existencia, en la muestra, de una fase no muy bien cristalizada. Además, estas muestras presentaron picos que indicaban la presencia de una fase oxidada de plata, el Ag_2O , y un pico entre 25 y 30° , muy agudo, que incremento su intensidad al aumentar el contenido de Ag en la muestra y que no pudo ser identificado.

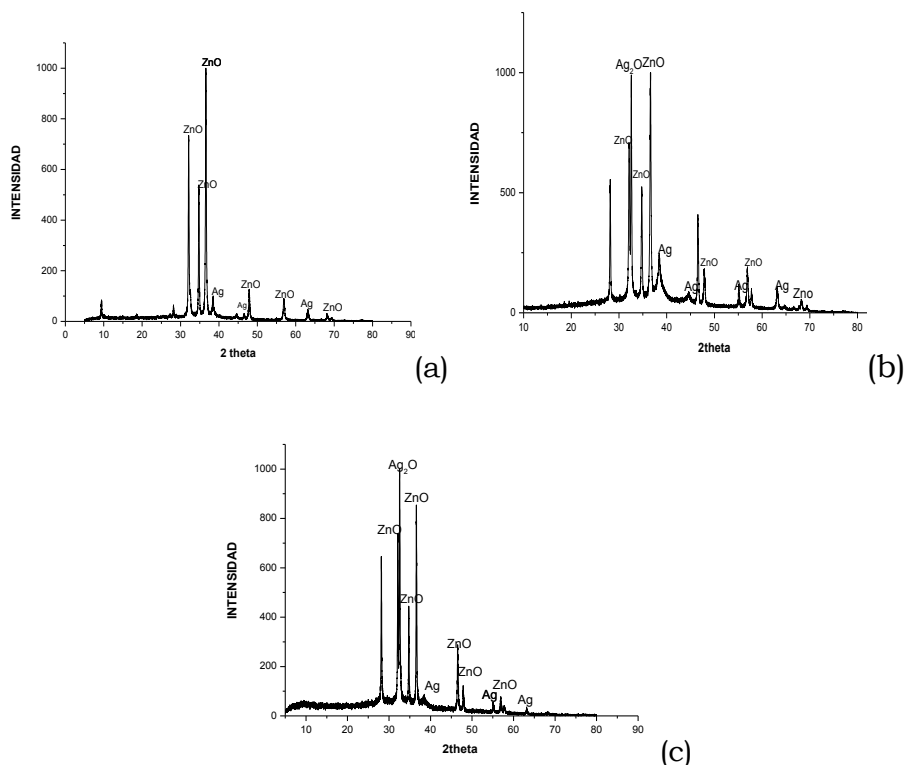


Figura 3.6. Difractogramas de rayos X correspondientes a muestras de las estructuras de ZnO-Ag sintetizadas: (a) ZnO-Ag03, (b) ZnO-Ag06 y (c): ZnO-Ag12.

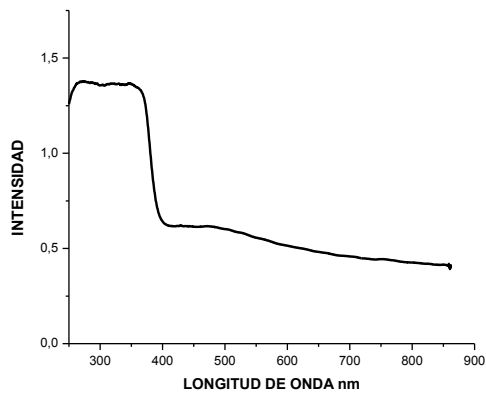
3.4.3. Espectroscopia ultravioleta visible de reflectancia difusa (DR UV-vis)

Para obtener los espectros en el rango UV-Visible, de los sólidos sintetizados, se hizo uso de la reflectancia difusa, técnica que recibe este nombre porque la radiación, en el rango UV-Visible, que interactúa con una o más partículas es reflejada en todas las direcciones y sus componentes ocasionan una “reflectancia difusa” [30].

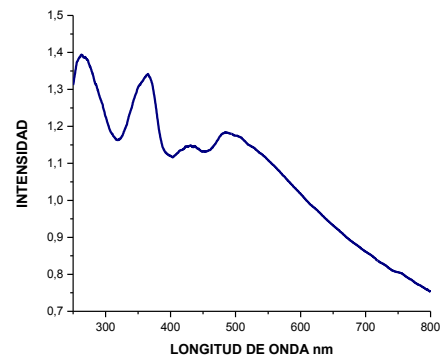
Los espectros de reflectancia difusa, en el ultravioleta-visible, de las muestras de interés se obtuvieron empleando el espectrofotómetro Cary-5E Varian UV-vis equipado con accesorio, esfera de integración, que permitió la detección de la radiación difusa reflejada. Los espectros UV-Vis se registraron en el rango de 250-800 cm^{-1} y se indican en la figura 3.7.

En el espectro de la figura 3.7(a), correspondiente a la muestra ZnO-Ag03, se observa solo una banda ancha alrededor de los 270 cm^{-1} , banda que es característica del óxido de cinc y que era de esperar porque fue este óxido el que se utilizó para obtener las nanoestructuras core-shell. Observando los otros espectros de la figura 3.7, en ellos aparece esta misma banda, sin embargo, la presencia en el sistema de la plata no es tan evidente ya que no hay bandas a 300 y $600 \text{ nm}^{[31]}$ que son características de este metal.

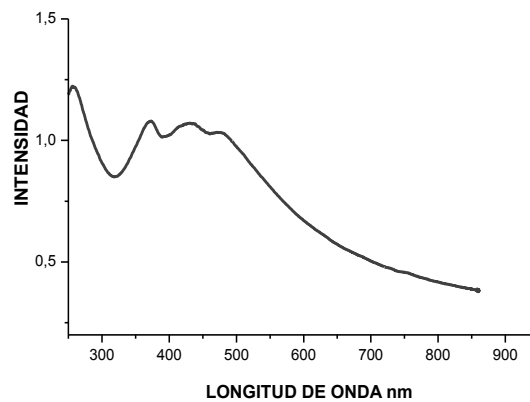
Comparando los espectros correspondientes a las nanoestructuras ZnO-Ag sintetizadas, figura 3.7, en ellos hay diferencias evidentes en el rango entre los 300 y 600 cm^{-1} , modificaciones que se pueden asociar a la presencia de la plata en las nanoestructuras. Estos resultados indican que hay una interacción entre el sustrato utilizado, las nanopartículas de ZnO, y la plata depositada sobre ellas que hace que no aparezcan, como bandas separadas, las características de la Ag. La presencia de la plata, en las nanoestructuras, ocasiono un corrimiento evidente del borde de absorción hacia el visible tal como se observa en los espectros de las figuras 3.7(b) y 3.7(c).



(a)



(b)



(c)

Figura 3.7. Espectros de absorción ultravioleta de las nanoestructuras ZnO-Ag correspondientes a las muestras: (a) ZnO-Ag03, (b) ZnO-Ag06 y (c) ZnO-Ag12

Con los resultados obtenidos de absorción UV-Vis, correspondientes a las muestras de interés, y con el fin de conocer detalles de las características del “gap” de las nanoestructuras, se calculó el ancho de la banda prohibida (“gap” de energía) para algunas de ellas, utilizando el modelo de Tauc. Las gráficas que se utilizaron para realizar este cálculo se indican en la figura 3.8.

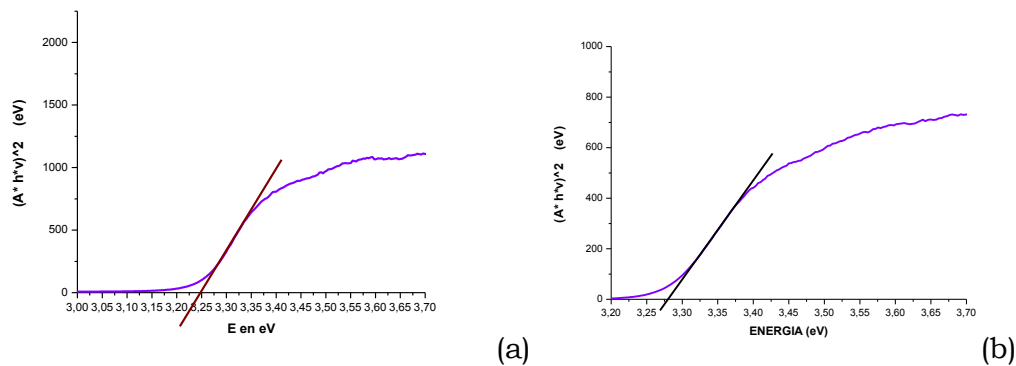


Figura 3.8. Figuras que corresponden a las nanoestructuras ZnO – Ag y que fueron obtenidas de los datos de espectroscopia de reflectancia difusa UV-Vis de las muestras: (a) ZnO – Ag03 y (b) ZnO – Ag06, para calcular el valor de la banda prohibida, banda “gap”, utilizando el método de Tauc.

En la figura 3.8 se puede apreciar que para la muestra ZnO-Ag03 se obtuvo una banda gap de 3.25 eV que al compararlo con el valor obtenido para el ZnO sintetizado en este trabajo, figura 2.18(c), se observa un pequeño cambio ya que para el óxido de cinc que se obtuvo un valor de 3.28 eV para su banda gap, lo que evidenciaría la influencia de las partículas de plata. Algo similar ocurrió con la muestra ZnO-Ag06 para la que el valor de la banda gap fue de 3.27 eV.

3.4.4. Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).

Para determinar el tamaño y morfología de las nanoestructuras de ZnO-Ag se utilizó el microscopio electrónico JEOL JEM-1200EX (UME), perteneciente a la Unidad de Microscopia de la universidad del Cauca. La muestra a analizar se suspendió en 1 mL de etanol, suspensión que se colocó en un baño ultrasónico, por 10 minutos, para propiciar una buena dispersión de la muestra. Posteriormente, con una micropipeta, se tomó una pequeña cantidad de la suspensión y se depositó sobre una de las rejillas metálicas comúnmente empleadas en los estudios de microscopia

electrónica de transmisión, que se recubren con película formvar; finalmente se colocó la rejilla, que contenía la muestra, en el portamuestra del microscopio. La figura 3.9, muestra las características de las nanoestructuras de ZnO-Ag, en donde se observa que las partículas tenían un tamaño entre los 10-50 nm, menor para la muestra ZnO-Ag03 pero donde se presentó más aglomeración, y su morfología es, principalmente, esferoidal. Como se puede ver en la figura 3.9, no es evidente la separación de fases, es decir, que aparezcan partículas de Ag o de Ag₂O acompañando a las nanoestructuras esferoidales de ZnO-Ag. Si fuera así, la muestra sería muy heterogénea, tanto en tamaño como en morfología, con tonalidades claramente diferenciadas. Una condición sobre la que no se pudo tener control, en este trabajo, fue en la cantidad de Ag depositada sobre el ZnO y es por ello que algunas de las nanopartículas, en la figura 3.9, aparecen un poco más “oscuras” que las otras, indicando mayor cantidad de Ag depositada sobre la nanopartícula de ZnO. Para realizar un estudio más cuidadoso de las muestras se requeriría del uso de un microscopio de alta resolución, con micro-sonda EDS, para observar una de las Nanopartículas y poder, así, determinar de manera precisa la existencia de la estructura “core – shell” y sus características.

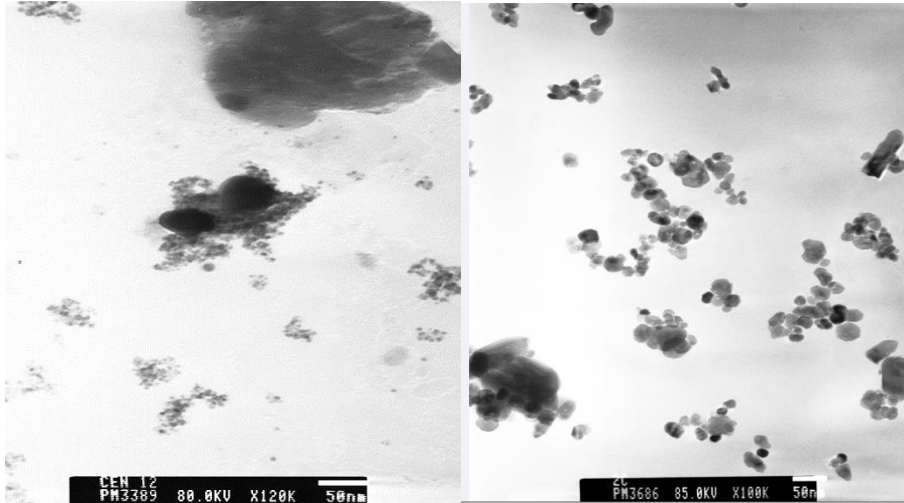


Figura 3.9. Micrografías obtenidas con MET de las nanoestructuras de ZnO-Ag sintetizadas en este trabajo y que corresponden a las muestras: (a) ZnO-Ag03 y (b) ZnO-Ag06.

3.5. Conclusiones

El desarrollo de este trabajo permitió obtener nanoestructuras de ZnO-Ag usando el método de óxido-reducción, que por la secuencia y el modo de proceder, considerando que el ZnO cumpliría el papel de sustrato y que la plata o el compuesto de plata se debería depositar sobre las mismas (nucleación heterogénea), se espera esa estructura sea del tipo “core-shell”. La caracterización de estas nanoestructuras indicaron que hay una coexistencia íntima del ZnO con la Ag, sin formación de compuestos intermedios ni separación evidente de fases, disposición que se evidenció a través de los resultados de los estudios de DRX, espectroscopia UV-Vis y MET. El tamaño de las nanoestructuras de ZnO-Ag estaba entre 10 y 50 nm, en las que predominó la morfología esférica. Los resultados de espectroscopia UV-Vis indicaron que la presencia de la plata, en las nanoestructuras ZnO-Ag, permitió el desplazamiento del borde de absorción hacia el visible lo que favorecería los procesos de foto-excitación

con luz solar y por lo tanto los procesos de fotodegradación de tintas, hongos y bacterias usando la radiación natural del sol.

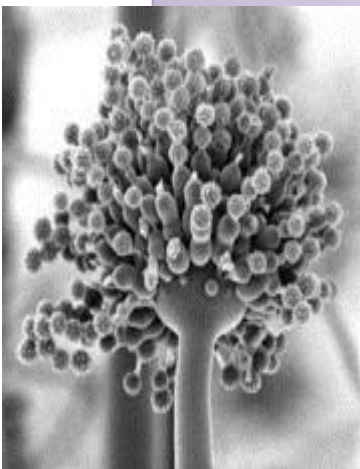
3.6. Bibliografía

- [1] Krishnendu Chatterjee, Sreerupa Sarkar, K. Jagajjanani Rao, Santanu Paria; Core/shell nanoparticles in biomedical applications; *Advances in Colloid and Interface Science* 209 (2014);pág8–39
- [2] Ibarra Salas Emmanuel, Garay Barragán Mariana Isabel, Méndez Rojas Miguel Angel, Sánchez Salas José Luis. Síntesis de nanopartículas core-shell de Fe_3O_4/Au y Au/Fe_3O_4 para aplicaciones en terapia hipertérmica. Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Escuela de Ciencias. Universidad de las Américas Puebla. 2015.
- [3] Huiling Duan, Yimin Xuan; Synthesis and optical absorption of Ag/CdS core/shell plasmonic nanostructure; *Solar Energy Materials & Solar Cells* 121 (2014); pág8–13
- [4] Xiao-HuaGuo, Jian-QiMaa, Hong-GuangGe; Preparation, characterization, and photocatalytic performance of pear-shaped ZnO/Ag core-shell submicrospheres; *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 74 (2013); pág 784–788.
- [5] Yuechang Wei, Jinqing Jiao, Zhen Zhao, Jian Liu, Jianmei Li, Guiyuan Jiang, Yajun Wang, AijunDuan; Fabrication of inverse opal TiO₂-supported Au@CdS core-shell nanoparticles for efficient photocatalytic CO₂ conversion; *Applied Catalysis B: Environmental* 179 (2015) pág422–432.
- [6] Lidija V. Trandafilovic, Radenka Krsmanovic Whiffen, Suzana Dimitrijevic-Brankovic, Milovan Stoiljkovic, Adriaan S. Luyt c, Vladimir Djokovic. ZnO/Ag hybrid nanocubes in alginate biopolymer: Synthesis and properties. *Chemical Engineering Journal* 253 (2014); pág 341–349
- [7] Rakesh SinghMoirangthem, Pi-Ju Cheng, PaulChing-Hang Chien, BuuTrong, Huynh Ngo, Shu-Wei Chang, Chung-HaoTien, Yia-Chung Chang; Optical cavity modes of a single crystalline zinc oxide microsphere; *Optical Society of America*; 21, No. 3 (2013); pág 3010-3020
- [8] YongshengPeng, WenguangLengb, Bin Dong, Rile Ge, HongdongDuan, Yan'anGao; Bottom-up preparation of gold nanoparticle-mesoporous silica composite nanotubes as a catalyst for the reduction of 4-nitrophenol; *Chinese Journal of Catalysis* 36 (2015); pág 1117–1123.
- [9] Izaguirre lopez M, G; Obtencion de nanopartículas de Ag mediante dos diferentes métodos químicos; (2010); pág 1,2,6.
- [10] Lloret, P.E. Moina, C.A. Ybarra. G.O. Síntesis, funcionalización y caracterización de nanopartículas magnéticas con estructura núcleo-cáscara. Congreso SAM / CONAMET 2007, pág. 1421-1425
- [11] Vanegas M E,Vázquez V, Moscoso D,CruzatC. Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas del tipo Fe_3O_4/TiO_2 , efecto del pH en la dispersión y estabilización en soluciones acuosas. Centro de Estudios Ambientales, CEA, Universidad de Cuenca, Campus Quinta Balzay, Av. Víctor Manuel Albornoz, Cuenca, Ecuador. MASKANA, Vol. 5, No. 1, 2014.
- [12] Fei Li, YuliangYuana, JunyangLuoa, QinghuaQina, JianfangWua, Zhen Li a, XintangHuan; Synthesis and characterization of ZnO–Ag core–shell nanocompositeswithuniformthinsilverlayers; *AppliedSurfaceScience* 256 (2010) 6076–6082
- [13] Majid Khan, Chengsha Wei, Mingming Chen, Jiaojiao Tao, Ningdong Huang, Zeming Qi , Liangbin Li. CTAB-mediated synthesis and characterization of ZnO/Ag core-shell nanocomposites. *Journal of Alloys and Compounds* 612 (2014) 306–314.

- [14] Xiao-Hua Guo, Jian-Qi Maa, Hong-Guang Ge; Preparation, characterization, and photocatalytic performance of pear-shaped ZnO/Ag core-shell submicrospheres; *Journal of Physics and Chemistry of Solids*; vol 74; (2013); pág 784–788.
- [15] Worasak Sukkabot; Manipulation of structural and optical properties in charge-separating ZnTe/ZnSe chalcogenide core/shell semiconductor nanocrystals: Atomistic tight-binding theory; *Physica E* vol 74; (2015) pág 457–460
- [16] <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/ag.htm> 16/11/15.
- [17] Chen, X. Schluesener; H.J. Nanosilver: A nanoproduct in medical application; *Toxicology Letters* 176 (2008) pag1–12.
- [18] Ávalos, A, Haza, Al, Mateo, D y Morales; P; Silver nanoparticles: applications and toxic risks to human health and environment; *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 7(2); (2013); pág 1-23
- [19] Guerrero Paredes, D, J; Estudio del efecto antibacteriano de nanopartículas de plata sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; Universidad industrial de santander; (2011); pág 16-18
- [20] Leyva Gómez Gerardo; Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. Vol. 2, Núm. 1; (2013); pag 18-22.
- [21] Maike C. Lukowiak, Bala N.S. Thota, Rainer Haag; Dendritic core-shell systems as soft drug delivery nanocarriers; *Biotechnology Advances* 33 (2015); pág 1327–1341.
- [22] Jae-Hun Kim, Akash Katoch, Sang Sub Kim; Optimum shell thickness and underlying sensing mechanism in p-n CuO–ZnO core-shell nanowires; *Sensors and Actuators B* 222 (2016); pág 249–256
- [23] Quan Deng, Xiaowei Duan, Dickon H. L. Ng, Haibin Tang, Yong Yang, Mingguang Kong, Zhikun Wu, Weiping Cai, and Guozhong Wang; Ag Nanoparticle Decorated Nanoporous ZnO Microrods and Their Enhanced Photocatalytic Activities; *ACS Appl. Mater. Interfaces*; 4;(2012), pág 6030–6037.
- [24] Bensebaa, F; “Nanoparticle technologies: from lab to market”, Academic Press is an imprint of Elsevier, Oxford UK, pp 98 – 102, 2013
- [25] Prado-Gonjal, Jesús; Morán Emilio; Síntesis asistida por microondas de sólidos inorgánicos; *An. Quím.*, vol 107(2), (2011); pág 129–136
- [26] Rodolfo Zanella; Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño; Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico, Universidad Nacional Autónoma de México; *Mundo Nano*; Vol. 5, No. 1, (2012); pág. 69-81.
- [27] Liu, H. R. Shao, G. X. Zhao, J. F. Zhang, Z. X. Zhang, Y. Liang, J. Liu, X. G. Jia, H. S. Xu; B. S. Worm-Like Ag/ZnO Core-Shell Heterostructural Composites: Fabrication, Characterization, and Photocatalysis; *J. Phys. Chem. C*, 116, (2012), pág. 16182–16190
- [28] Lijuan Wana, Shicheng Yana, Jianyong Fenga, Zaisan Yanga, Xiaoxing Fanc, Zhaosheng Li, Zhigang Zoua; Solvothermal synthesis of core-shell ZnO hollow microhemispheres; *Physicochem. Eng. Aspects* 396 (2012); pág 46– 50
- [29] Fei Li, Jianfang Wu, Qinghua Qin, Zhen Li a, Xintang Huang; A facile method to prepare monodispersed ZnO_Ag core-shell microspheres; *Superlattices and Microstructures* 47 (2010); pág 232-240
- [30] Khoshhesab, Z. M. Reflectance IR Spectroscopy. *Materials Science Engineering and Technology*, 13 cap 11 (2012) pág. 233-244.
- [31] Cabrera J, López A, Santiago J; Síntesis de nanopartículas de plata en matrices poliméricas mediante radiación gamma; *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* Vol. 11 N.º 1, (2008). Pág. 16-20.

Capítulo 4

Efecto antifúngico de los sistemas con base en nanopartículas de ZnO



En este capítulo se presenta la evaluación del efecto antifúngico de las nanopartículas de ZnO y del sistema core-shell de ZnO-Ag, así como una comparación de la actividad antifúngica entre los dos sistemas

Capítulo IV: Efecto antifúngico de los sistemas con base en nanopartículas de ZnO.

4.1 Generalidades de los hongos.

Los hongos son organismos con núcleo, eucariotas, que se reproducen por esporas, carecen de clorofila (por lo tanto no son fotosintéticos), se reproducen sexual o asexualmente y tienen estructuras somáticas filamentosas y ramificadas, rodeadas por una pared celular hecha de celulosa, quitina y/o quitosano [1] Existen más de 50.000 especies de hongos y tradicionalmente se les ha incluido dentro del reino vegetal, considerándolos como plantas sin clorofila denominándolos, también, Micófitos y Eumicetes. Sin embargo, los hongos no son ni plantas ni animales, sino otro reino distinto: el Reino Fungi [2].

Los hongos representan un conjunto heterogéneo de organismos eucariotas y son considerados como un grupo particularmente versátil en cuanto a sus aplicaciones biotecnológicas en las áreas de la medicina, la producción de alimentos, el control de la contaminación, y la agricultura [3], entre otras. Por otro lado, estos organismos pueden ser perjudiciales para las plantas, los seres humanos y los animales, debido a su capacidad de causar enfermedades y producir metabolitos tóxicos en muchos productos agroalimentarios [4]. La mayoría de los hongos son pluricelulares y están compuestos de largos filamentos, denominados hifas. Algunas hifas, conocidas como *hifas septadas*, poseen unas paredes internas llamadas septos que las dividen en células. Generalmente, los septos tienen un poro central suficientemente grande, del orden de los nanómetros, como para permitir a los orgánulos pequeños y, en ocasiones, incluso a los núcleos, desplazarse entre las células [5].

Los hongos son agrupados de acuerdo a diversos criterios que convergen a la taxonomía o sea al arte de ordenar a los seres según sus interrelaciones fisiológicas, morfológicas y/o moleculares. A continuación se indican algunas características de los reinos del dominio eucarionte que contienen

a los diversos hongos. Los mixomicetos y mastigomicetos han sido reubicados en los reinos Protozoa y Chromista que incluyen a los protozoos y las algas, respectivamente [6],[7]

4.1.1 Estructura química de los hongos.

La pared celular de los hongos es una estructura con gran plasticidad que da la forma a la célula, controla la permeabilidad celular y protege a la célula de los cambios osmóticos. Además de estas importantes funciones, constituye el lugar de interacción con el medio externo, localizándose en ella un gran número de receptores que tras su activación desencadenan una compleja cascada de señales en el interior de la célula [8]. Dada su localización, en el exterior de la célula, la pared es el primer lugar de interacción con el exterior, jugando un papel muy importante en el desarrollo de la acción patógena fúngica [9]

La pared celular es la estructura más distintiva de los hongos y está constituida en un 80% a 90% por polisacáridos, tales como: quitina, celulosa y quitosano. La pared celular confiere la morfología al hongo, le brinda protección, nutrición (por su permeabilidad) y le confiere las propiedades antigénicas a través de las mananoproteínas y los glucomananos [10].

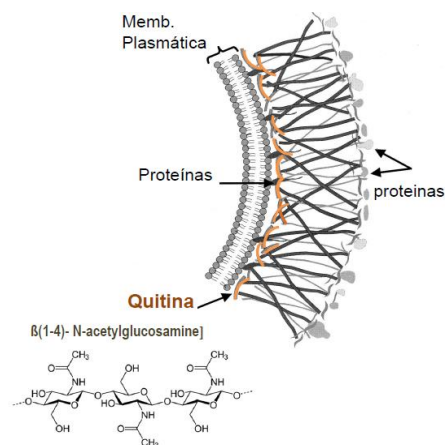


Figura 4.1. Estructura química de la pared celular de los hongos[7]

En la figura 4.1 se indica la estructura química de la pared celular de un hongo. Tanto la quitina como el quitosano están formados por cadenas lineales de monómeros de glucopiranososa unidos por enlaces β -(1-4). La diferencia entre la estructura química del quitosano, poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranososa], y la de la quitina, poli[β -(1-4)-2-cetamida-2-desoxi-D-glucopiranososa], está en el carbono número 2 donde la quitina posee un grupo acetamida mientras que en el quitosano el grupo es desacetilado, resultando en un grupo amino. La estructura de ambos polímeros es muy parecida a la celulosa, lo que hace que ellos tengan propiedades parecidas a esta última. La configuración β -(1-4), del enlace, da origen a la estructura rígida y sin ramificaciones de estas moléculas [11].

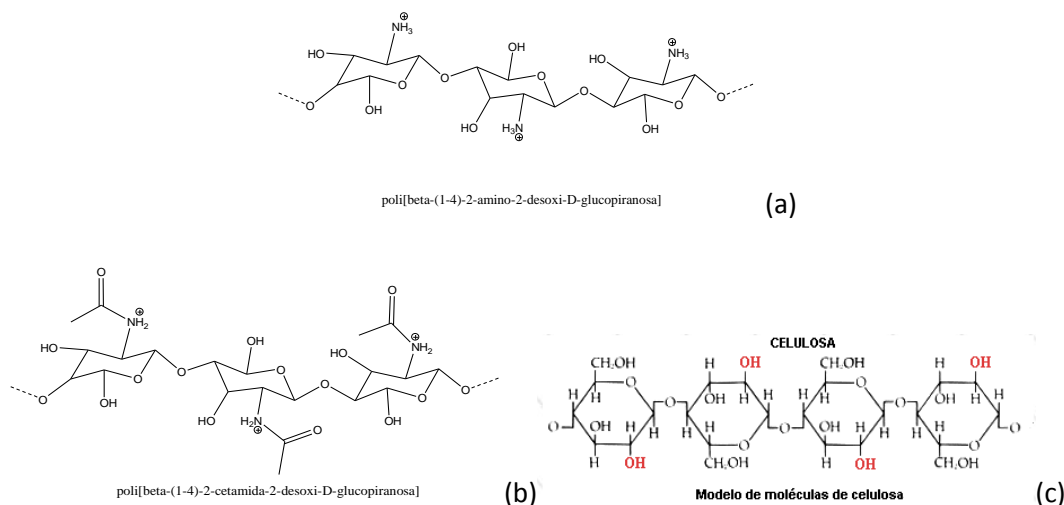


Figura 4.2. Estructura química; (a) quitosano, (b) quitina, (c) celulosa

4.2 Información general del hongo *Aspergillus niger*

El *Aspergillus*, hongo de interés para este trabajo, es un género mitospórico (grupo de hongos del que no se conoce su ciclo de reproducción sexual y solo se reconoce la reproducción asexual), que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas

conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios. Como características macroscópicas, a destacar, se encuentran que son colonias de color negro o marrón muy oscuro, con un reverso incoloro a amarillo, densa y desde granular a flocosa [12].

Como una de las especies de hongos con más amplio espectro, el *Aspergillus niger* (*A.niger*) es ubicuo (está presente en muchos lugares) y se puede aislar fácilmente de ambientes de suelo, asociado a las plantas y frutos (figura 4.3), aunque, también, se encuentra en otros nichos ecológicos, tales como: sedimentos de aguas profundas, alimentos fermentados y en el tracto gastrointestinal humano [13].

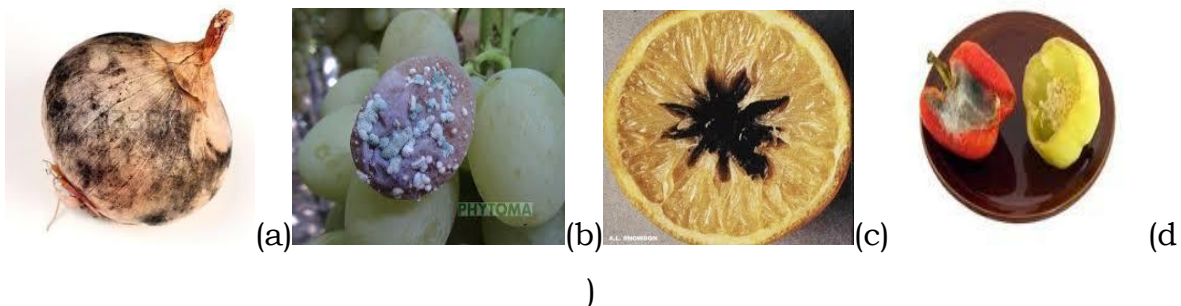


Figura 4.3; El *Aspergillus niger* puede estar presente en alimentos como: a) cebolla cabezona, b) uvas, c) naranja y c) pimentón [14].

El *Aspergillus* es uno de los principales hongos productores de micotoxinas. Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como un mecanismo de defensa frente a otros microorganismos [15].

Entre los aspectos a considerar de este hongo se tienen:

- 1.- Viabilidad, propagación y transmisión.

Reservorio Suelo, vegetales (en descomposición). Hospedadores Humanos, bovinos, equinos, aves, cetáceos. La dosis infectiva mínima (DIM) se desconoce en la actualidad.

2.- Supervivencia ambiental.

Crece en cualquier tipo de sustrato, especialmente en suelos y materiales en descomposición. Es un contaminante habitual de los conductos de climatización-ventilación. Es termotolerante, pudiendo vivir entre los 12°C y los 57°C, y entre una de sus formas de resistencia, las esporas pueden sobrevivir a 70°C.

3.- Mecanismo de propagación y transmisión.

La transmisión se produce, principalmente, por medio de las esporas o de los conidios que se encuentran presentes en el ambiente de trabajo (ver figura 4.4), en forma de bioaerosoles, pudiendo penetrar en el organismo por las vías respiratorias. También es posible la transmisión del hongo por contaminación de heridas, o mucosas, y la aparición de efectos tóxicos por ingestión de alimentos contaminados [16].

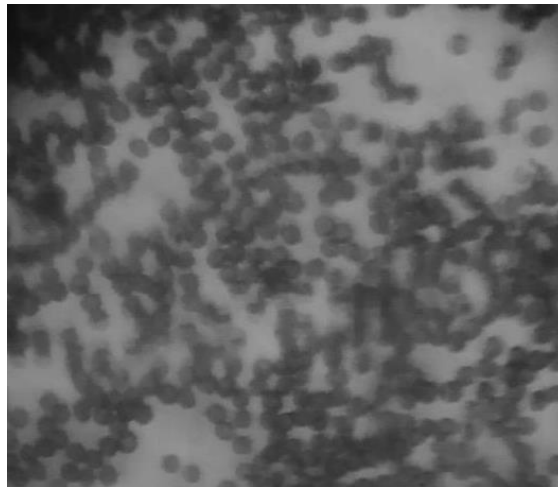


Figura 4.4 Fotografía de esporas o conidios del Aspergillus niger, tomada en la unidad de microscopia universidad del cauca.

4.3. Evaluación del efecto antifúngico de nanoestructuras con base en ZnO.

4.3.1. Obtención y réplica de la cepa *Aspergillus niger*

Las cepas del hongo patógeno *Aspergillus niger* fueron obtenidas, previamente, en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad del Cauca, a partir de muestras infectadas de zanahoria. La cepa se replicó y para ello se prepararon medios adecuados de cultivo, en una cantidad suficiente, para garantizar una buena cantidad de material biológico como fuente de inóculo para el desarrollo del estudio; el cultivo de la cepa se realizó con base en papa dextrosa agar (PDA). Este medio fue autoclavado a 121°C y posteriormente, bajo la cámara de flujo laminar, se sirvió en cajas de petri estériles, de 100 mm de diámetro x 18 mm de alto, utilizando 20 mL de medio de cultivo en cada caja; finalmente se incubaron por 3 días, a 25 °C, para garantizar su esterilidad tal como lo recomienda el protocolo para este tipo de ensayos [17]. Pasados los tres días de incubación, se realizó la siembra inoculando un disco de 1.5 cm de diámetro de micelio en el centro de cada caja de Petri (Figura 4.5) y, posteriormente, estas cepas se incubaron, por aproximadamente 15 días, hasta garantizar su crecimiento bajo condiciones de laboratorio (25°C).

Los hongos se mantuvieron por medio de la técnica de resiembra periódica, lo que permitió la supervivencia de los cultivos en cortos periodos de tiempo. Esta técnica consiste en transferir el cultivo del medio seco o viejo a uno fresco, proporcionándole al hongo condiciones para su crecimiento, nuevamente, proceso que condicionó el elevado riesgo de contaminación y variabilidad de las características de las cepas, constituyéndose en una de las principales desventajas de la técnica [18].

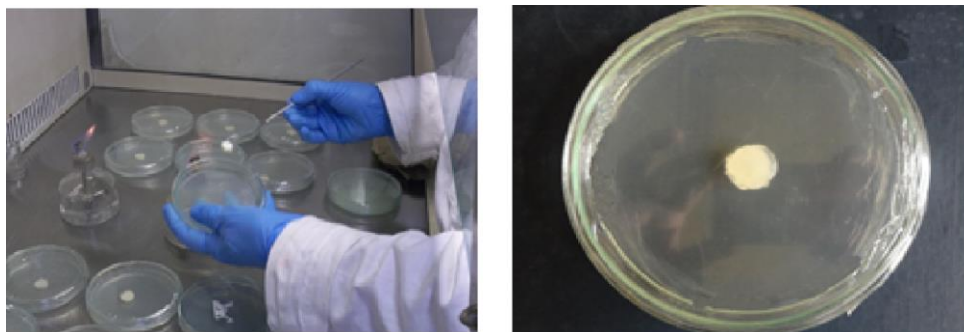


Figura 4.5. Inoculación del micelio en los medios de cultivo.²³

2.1.2. Evaluación del efecto antifúngico de las nanoestructuras de ZnO en el cultivo *IN-VITRO* del *Aspergillus niger*[23]

Preparación del inóculo fúngico y bioensayos en medio de cultivo + nanoestructuras de ZnO.

Para determinar la inhibición del crecimiento micelial del hongo en estudio, considerando el efecto de las ZnO-NP o las ZnO-Ag-NP, se prepararon medios de cultivo sólidos para cada sistema, haciendo uso de la metodología mencionada anteriormente. Los tratamientos, o concentraciones, evaluados de ZnO-NP fueron:

- 1) Medio de cultivo sin ningún tipo de tratamiento (Testigo);
 - 3) Medio de cultivo + ZnO-NP (12 mmol.L^{-1});
 - 4) Medio de cultivo + ZnO-NP (9 mmol.L^{-1});
 - 5) Medio de cultivo + ZnO-NP (6 mmol. L^{-1})
 - 6) Medio de cultivo + ZnO-NP (3 mmol. L^{-1}),
- éstas cantidades de NP se tomaron de la bibliografía [19].

Del mismo modo se prepararon las siguientes muestras con las nanoestructuras “core-shell”:

- 1) Medio de cultivo sin ningún tipo de tratamiento (Testigo);

- 3) Medio de cultivo + ZnO-AgNP (12 mmol.L⁻¹);
- 4) Medio de cultivo + ZnO-AgNP (9 mmol.L⁻¹);
- 5) Medio de cultivo + ZnO-AgNP (6 mmol. L⁻¹;
- 6) Medio de cultivo + ZnO-AgNP (3 mmol. L⁻¹).

Los tratamientos fueron incorporados al medio de cultivo pero, antes de servirse en las cajas de petri, se sometieron a un tratamiento en ultrasonido y a un calentamiento, en constante agitación, para garantizar una buena dispersión de los mismos en el medio de cultivo; posteriormente, estos se vaciaron en las cajas petri, dejando solidificar el medio, y finalmente se encubaron los sistemas por 3 días.

Para obtener homogeneidad y reproducibilidad en la siembra, se utilizó un hongo de 15 días de edad, del cual se obtuvieron las muestras empleando un sacabocados de 1.5 cm de diámetro, lo que garantizaba la existencia de estructuras de crecimiento. Posteriormente, se procedió a inocular el micelio en el centro de cada caja de Petri, que contenían los tratamientos, tal como se ilustra en las Figuras 4.6(b) y 4.6(c), realizándose el experimento por triplicado.

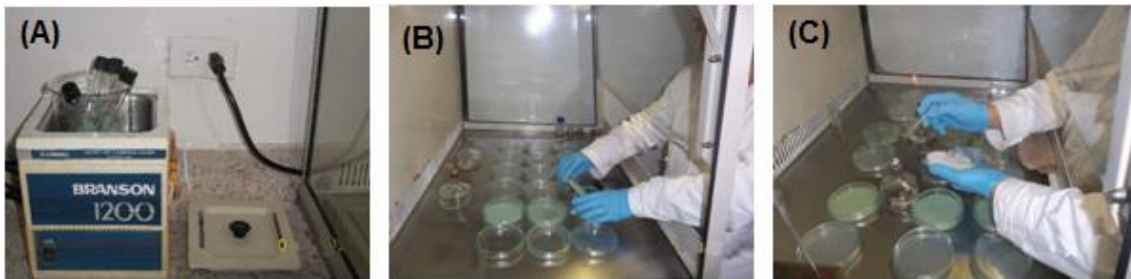


Figura 4.6. Ilustración de cómo se realizó la siembra del hongo A. niger para estudiar la capacidad antifúngica de las nanoestructuras: (A) dispersión de los tratamientos en los medios de cultivo, (B) Disposición de los medios de cultivo con los tratamientos en las cajas de petri y (C) inoculación del disco de micelio en los diferentes tratamientos [23].

Se dejaron pasar 2 días, después de la siembra, para garantizar el crecimiento adecuado de los hongos, para realizar un registro fotográfico respectivo periódicamente, cada dos días, de los cultivos. Esta actividad se realizó hasta completar un total de 14 días; el objetivo de la misma era registrar la acción de los tratamientos en el tiempo sobre el crecimiento de los hongos.

4.4. Resultados de los ensayos del efecto antifúngico de las nanoestructuras.

4.4.1. Evaluación efecto anti fúngico de ZnO-NP

Los registros fotográficos que ilustran los resultados de los experimentos que permitieron evaluar el efecto antifúngico de las nanopaticulas de ZnO sobre el *A. Niger*, se muestran en las figuras 4.7 a 4.10. En la figura 4.6 se observan las muestras dos días después del cultivo o sea que correspondería al “día cero” o de partida para la toma de registros fotográficos. Como se puede ver, independientemente de que el cultivo no estuviera, testigo o el blanco figura 4.7(a), o estuviera sometido a tratamiento, figuras 4.6(b) a 4.6(e), no se presentó crecimiento del *A Niger*.

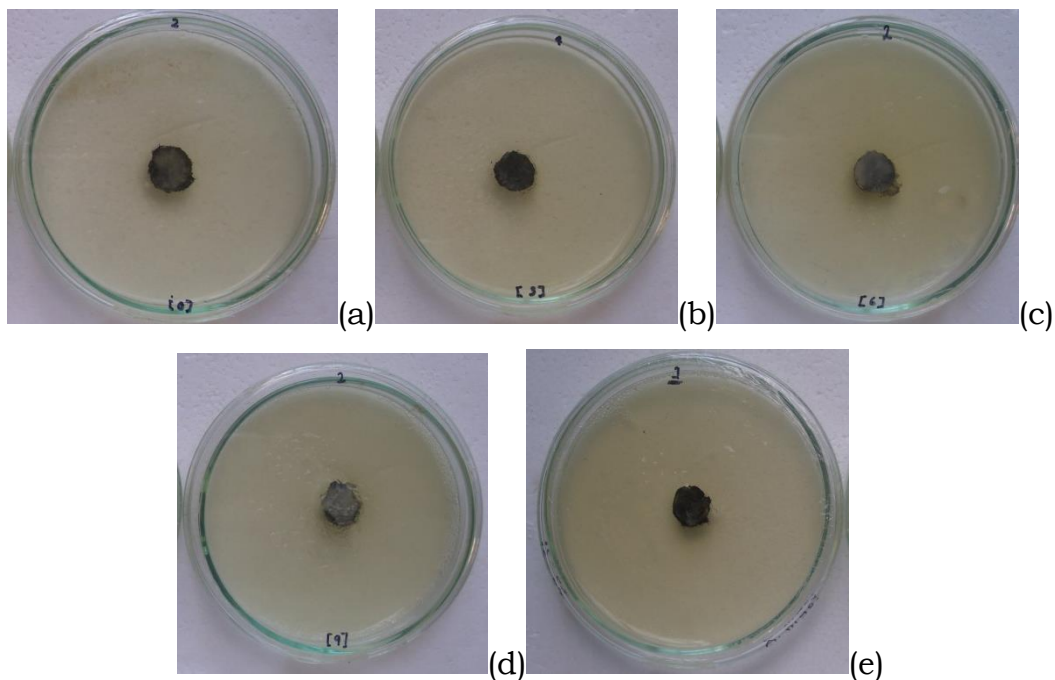


Figura 4.7. Fotografías tomadas a los cultivos, a los dos días de siembra (día cero), para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-NPs sobre el A. niger para las concentraciones: (a) 0 milimol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L

En la figura 4.8 se muestran las fotografías correspondientes a los cultivos al tercer día de evaluación, donde se puede apreciar que para el testigo, figura 4.8(a), y para el tratamiento 3 mmol/litro de ZnO-NP, figura 4.8(b), el hongo ya había empezado a crecer y a colonizar las cajas de petri; por otro lado, para las otras concentraciones de ZnO-NP, el hongo encontró resistencia que impidió su crecimiento. Estos resultados indican que para la concentración 3 mmol/L de ZnO, al tercer día de registro, este sistema ya no presento efecto antifungico apreciable.

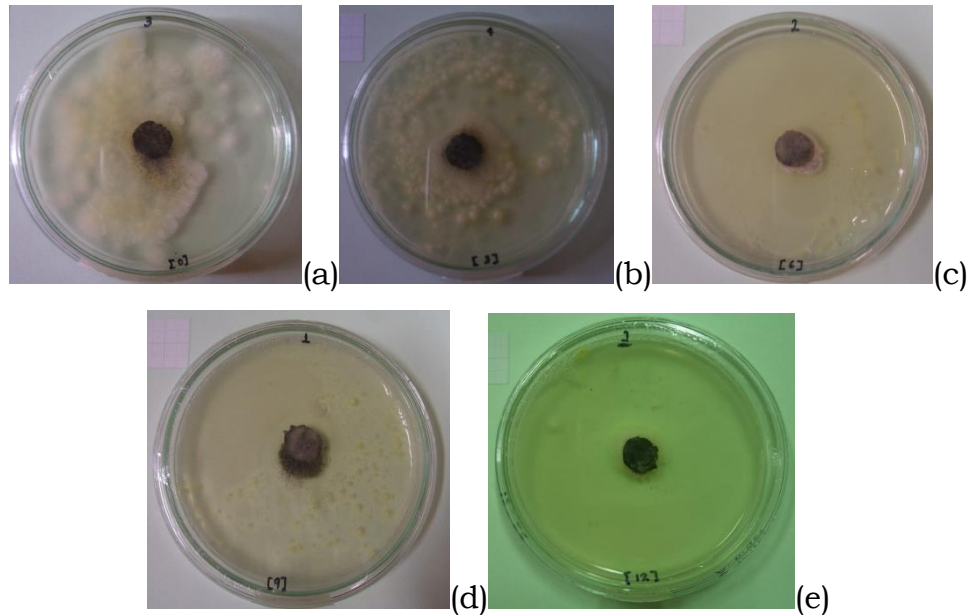


Figura 4.8. Fotografías tomadas a los cultivos, al tercer día de registro, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-NPs sobre el A. niger para las concentraciones: (a) 0 mmol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L

Para el día ocho de evaluación, figura 4.9, se observaron algunas diferencias, con respecto al crecimiento del hongo, al comparar los cultivos con diferentes concentraciones de ZnO-NP. En el testigo, figura 4.9(a), el agente biológico ya había iniciado su proceso de esporulación, es decir que ya había alcanzado su edad madura y, por lo tanto, su proceso reproductivo más intenso. Mientras que para el cultivo que contenía 3milimol/L de nanopartículas de ZnO (figura 4.9(b)), se nota un crecimiento bastante uniforme del hongo en toda la caja de petri, sin evidencia de esporas, lo cual indica que la presencia de las nanopartículas ha ocasionado un retraso en el proceso de maduración y esporulación del hongo. Para los demás cultivos, desde 6 milimol/L (figura 4.9(c)) hasta 12 milimol/L (figura 4.9(e)), se observó que había un proceso de inhibición bastante notable, tal como lo indicaron los registros fotográficos

respectivos, donde el crecimiento del hongo fue bastante precario, efecto más evidente en el cultivo que contenía la mayor cantidad de ZnO-NP

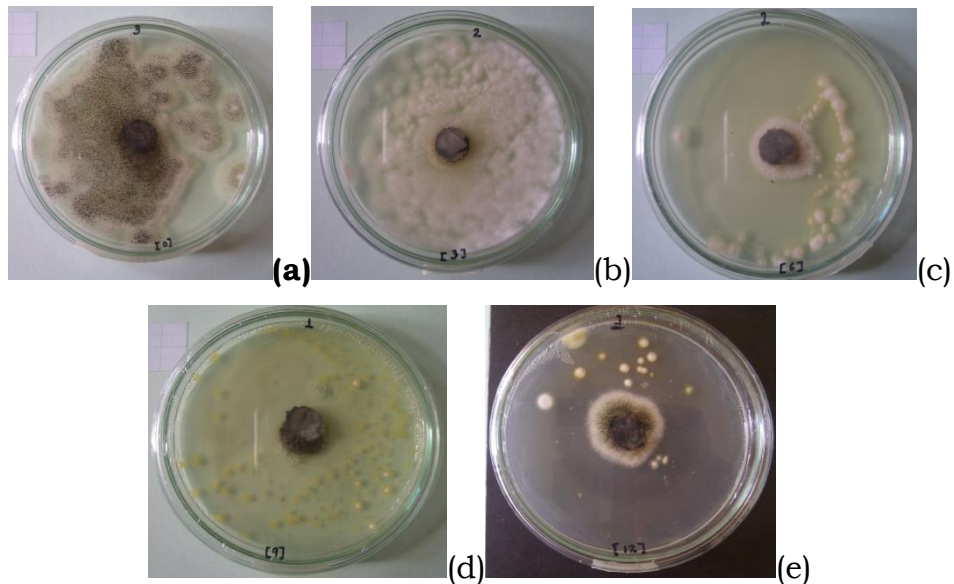


Figura 4.9. Fotografías tomadas a los cultivos, al octavo día de registro, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-NPs sobre el *A. niger* para las concentraciones: (a) 0 milimol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L.

Por último, se realizó la evaluación del efecto antifúngico de las ZnO-NPs sobre el *A. niger* al día catorce (figura 4.10) donde se observó que, para el testigo (figura 4.10(a)), el hongo había colonizado completamente el medio de cultivo. Algo parecido, pero no con la misma agresividad, ocurrió con el cultivo que contenía la cantidad más baja de ZnO-NP, 3 mmol/L (figura 4.10(b)), que, como se evidencio desde el inicio del proceso, no mostró un gran efecto antifúngico; en esta muestra, para este día, el hongo se había reproducido de forma notable y ya había esporulado. Por otro lado, para las demás concentraciones de ZnO-NP, figuras 4.10(c) a 4.10(e), se observó que la presencia de las nanopartículas dificultaron, de manera apreciable, el crecimiento del *A. niger* en los medios de cultivo.

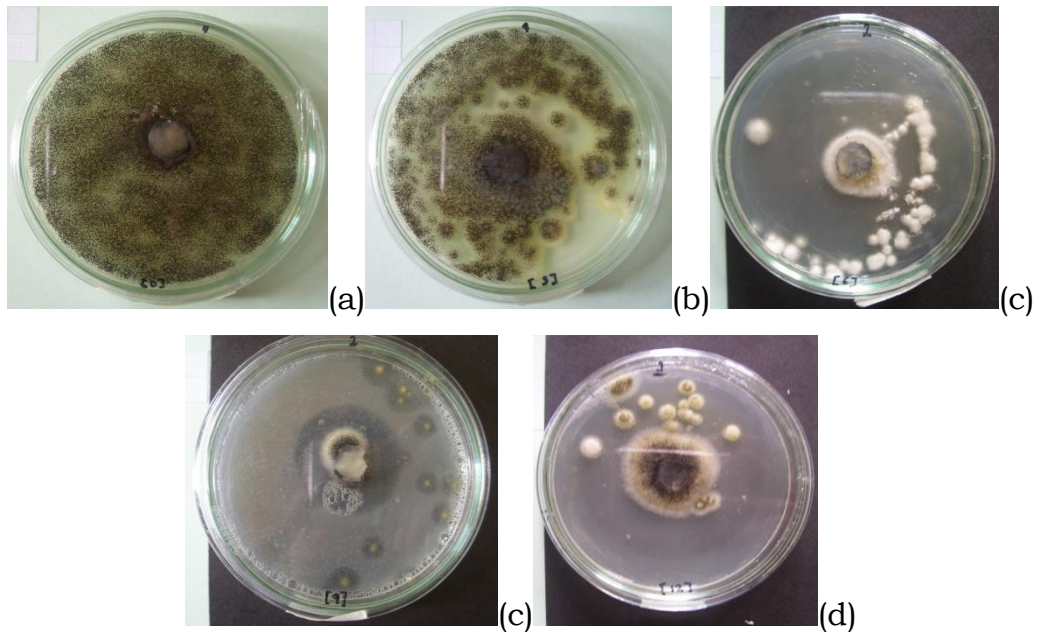


Figura 4.10. Fotografías tomadas a los cultivos, al catorceavo día de registro, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-NPs sobre el *A. niger* para las concentraciones: (a) 0 milimol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L.

4.4.2. Evaluación efecto anti fúngico de ZnO-Ag-NP

Un ensayo similar se realizó para determinar el efecto antifúngico, sobre el *A. Niger*, de las nanoestructuras “core-shell” de ZnO-Ag-NP sintetizadas y los resultados obtenidos se muestran en las figuras 4.11 a 4.14. En la figura 4.11 se observan los registros fotográficos correspondientes a los cultivos en el día de la siembra; como se puede apreciar, todas las muestras son homogéneas y el hongo, en ninguna de las cajas, creció.

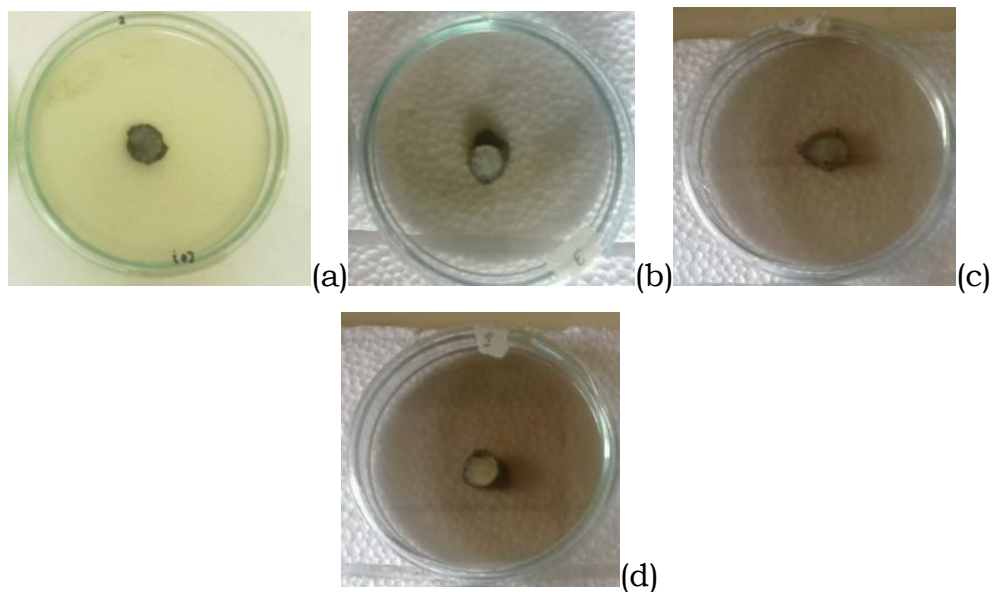


Figura 4.11. Fotografías tomadas a los cultivos, el día cero de registro, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-Ag-NPs sobre el *A. niger* para las concentraciones: (a) 0 milimol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L.

Tres días después de la siembra del hongo, figura 4.12, se observó que para el control (figura 4.12(a)) el hongo había comenzado a crecer mientras que en los otros cultivos, que contenían las nanoestructuras “core-shell”, no se observó crecimiento alguno; este resultado indicaba que cuando los cultivos contenían nanoestructuras “core-shell” de ZnO-Ag-NP, aún a baja concentración (3 mmol/L en el presente trabajo), era evidente su actividad antifúngica sobre el *A. niger*.

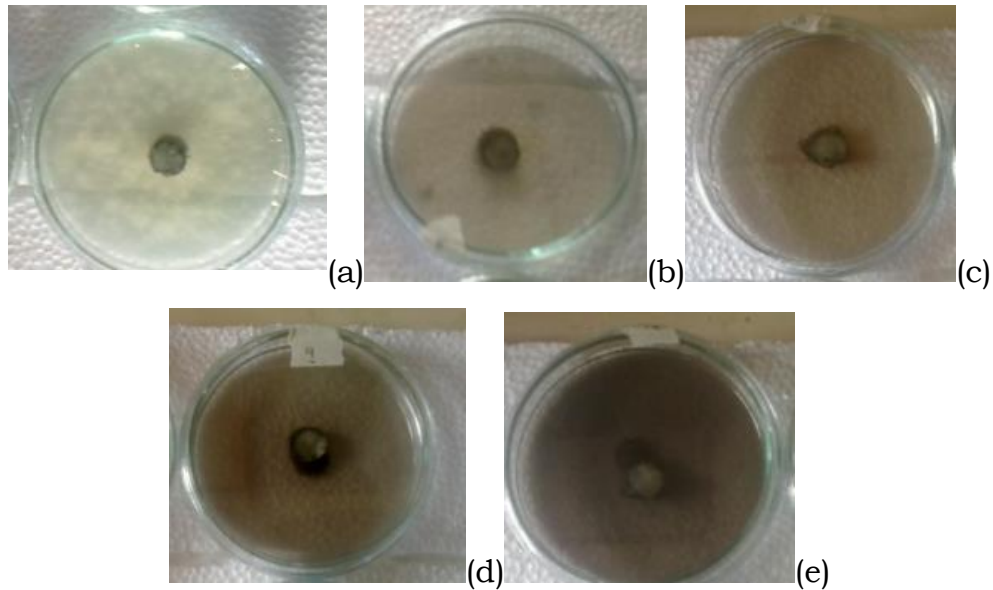


Figura 4.12. Fotografías tomadas a los cultivos, al tercer día de siembra, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-Ag-NPs sobre el A. niger para las concentraciones: (a) 0 milimol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L.

A los ocho días de seguimiento del crecimiento del hongo, se observó en los cultivos que en la muestra testigo (figura 4.13(a)) ya había comenzado su proceso de esporulación y que, por lo tanto, el hongo ya había adquirido su edad madura. Sin embargo, para las otras muestras (figuras 4.13(b) a 4.13(e)), se observó que el tratamiento con nanopartículas “core-shell”, de óxido de cinc-plata, resultó ser eficiente en cuanto a su actividad antifúngica. La presencia de las nanoestructuras de ZnO-Ag en el cultivo no permitió que el hongo creciera en ninguna de las muestras tratadas, aunque, para la muestra que contenía 3 mmol/L de nanoestructuras “core-shell” (figura 4.13(b)) el agente biológico estaba iniciando su proceso de colonización, de manera muy lenta si se compara con el crecimiento del hongo en el testigo (figura 4.13(a)).

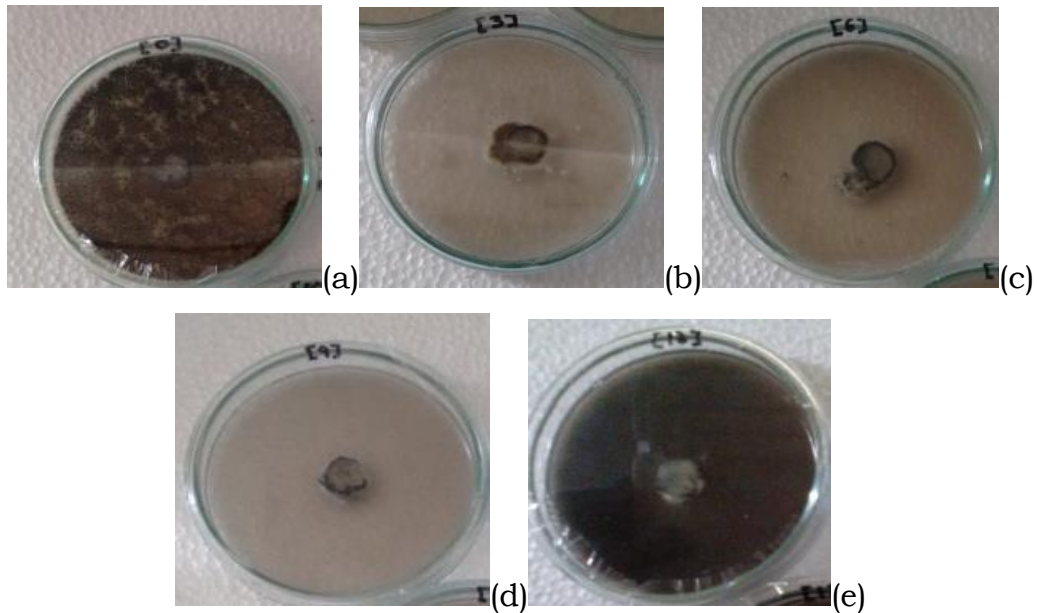


Figura 4.13. Fotografías tomadas a los cultivos, al octavo día de siembra, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-Ag-NPs sobre el A. niger para las concentraciones: (a) 0 mmol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L.

Por último, en la figura 4.14, se muestra la evolución de los cultivos en el día catorce de evaluación. En estos registros fotográficos se puede apreciar que el testigo no mostró cambios significativos con relación a la evaluación del día octavo, aunque en el tratamiento con nanoestructuras 3mmol/L (figura 4.14(b)) el hongo mostró algo de crecimiento, no comparable con el testigo. En las muestras restantes se observó que la presencia de las nanoestructuras ZnO-Ag era bastante eficiente si se considera su efecto antifúngico, ya que en sus respectivos cultivos no se presentó crecimiento del agente patógeno en evaluación.

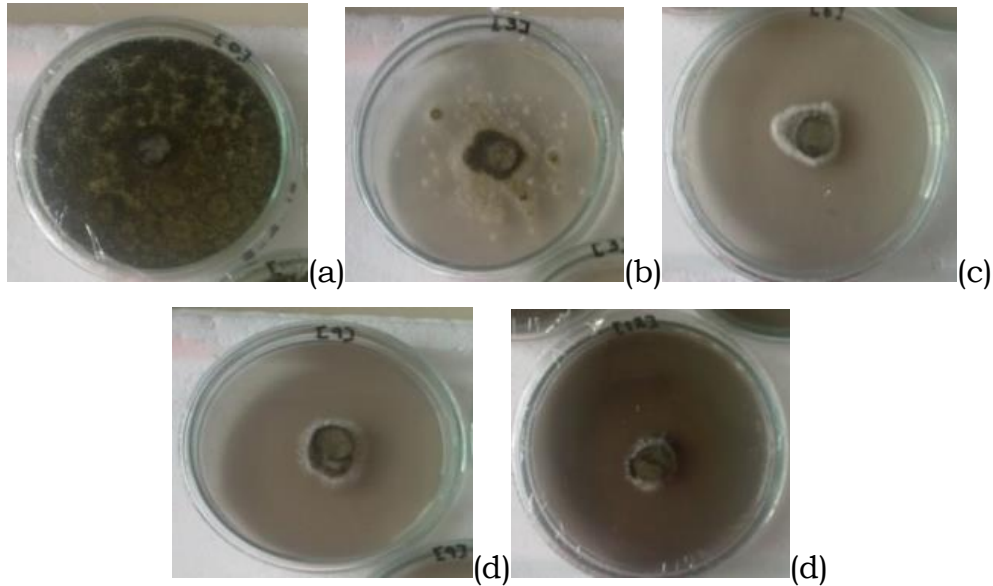


Figura 4.14. Fotografías tomadas a los cultivos, al catorceavo día de siembra, para evidenciar el efecto antifúngico de las ZnO-Ag-NPs sobre el *A. niger* para las concentraciones: (a) 0 milimol/L (testigo o blanco), (b) 3 milimol/L, (c) 6 milimol/L, (d) 9 milimol/L y (e) 12 milimol/L.

Con base en los resultados indicados y debido a que las nanopartículas, ya sean las ZnO o ZnO-Ag, estarían en contacto directo, en primer lugar, con la pared celular del hongo, conformándose una interface superficie NP – pared celular, el mecanismo que se proponga, para justificar la acción de las nanopartículas, sobre el hongo, debería tener en cuenta los procesos que podrían ocurrir en esta interface y que afectarían el crecimiento del patógeno, inhibiéndolo, llegando, incluso, hasta causar su muerte.

Algunos de los principales elementos, más generalizados, a considerar en el mecanismo que justificaría la inhibición del crecimiento del *A. Niger*, por parte de las nanoestructuras, estarían relacionadas con las especies reactivas de oxígeno (ROS por su sigla en inglés) propiciadas o generadas por estas últimas. Las principales especies reactivas de oxígeno son [19]: (a) las que se producen por la ruptura o la excitación del oxígeno (oxígeno atómico, ozono y el oxígeno singlete) y (b) las parcialmente reducidas (anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo).

En la figura 4.15 se ilustra la química de las especies reactivas de oxígeno. Las ROS actúan como señales regulando el establecimiento de la reacción de defensa, a nivel de la expresión génica, o fortaleciendo la pared celular vía entrecruzamiento de proteínas de la pared; también se ha postulado que las ROS participan en la inducción de la muerte celular, programada, en el sitio de infección [12].

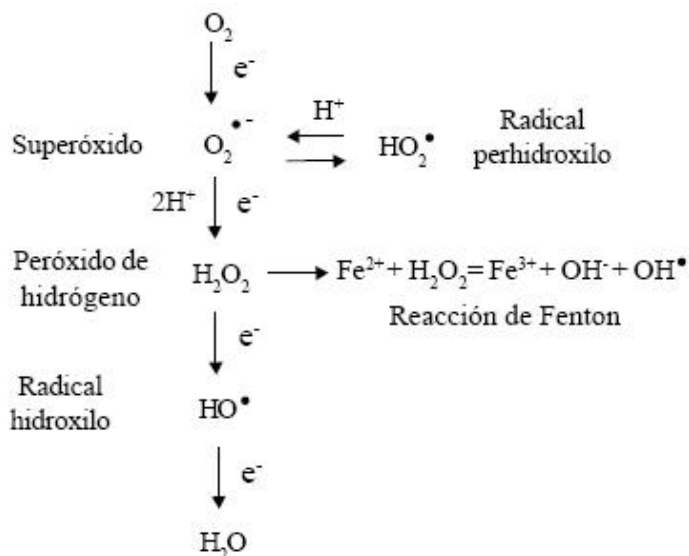


Figura 4.15 Química de las especies reactivas de oxígeno [20]

El quitosano y la quitina, componente importante de la pared fúngica, tienen un contenido de nitrógeno (N) mayor al 7% y poseen una distribución regular de los grupos aminos libres que pueden ser protonados, por ciertos ácidos, cargándose positivamente, confiriéndole un comportamiento de policación. Este comportamiento permite explicar algunas propiedades de la quitina, tal como su habilidad de enlazarse con sustancias cargadas negativamente: lípidos, proteínas, colorantes, entre otras [21]. Esta característica haría que el quitosano también fuera susceptible al ataque de ciertos agentes químicos como lo son los ROS, generados o propiciados por la presencia del óxido de cinc en el sistema por ejemplo, los cuales, como se indica en la figura 4.15, son ricos en electrones que pueden interactuar con las “zonas catiónicas” que presentan

las moléculas diana, que conformarían la pared celular, propiciando procesos de oxidación (figura 4.16); al adicionar oxígeno al sistema, la acción de los ROS, sobre los compuestos orgánicos que conformarían la pared (figura 4.16), impediría el enlace de la quitina o quitosano con las proteínas y lípidos, entre otros, lo que ocasionaría la no formación de una adecuada pared celular y, por tanto, o el hongo muere, al no poder regenerar su pared celular, o la pared celular no se forma y, por lo tanto, tampoco el agente patógeno.

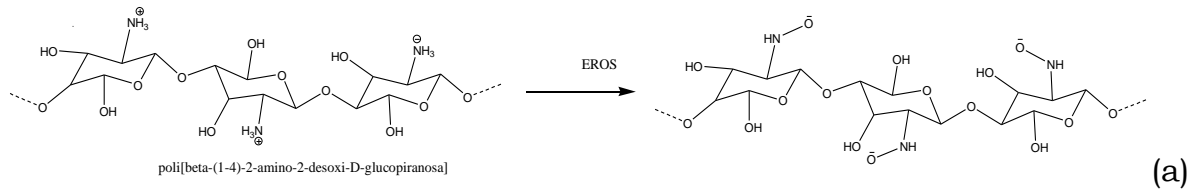
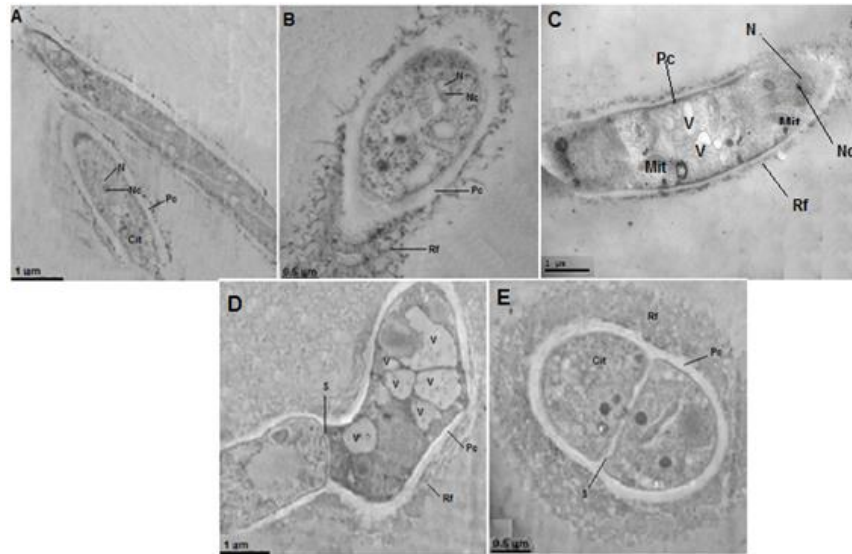


Figura 4.16. Mecanismo de acción de las nanopartículas de ZnO, considerando los ROS generados o propiciados por ellas, sobre la pared celular del patógeno, interacción de los ROS con la:(a) quitina [22].

Algunas investigaciones indican que cuando el hongo o agente patógeno se pone en contacto con las nanopartículas de óxido de cinc, la estructura de la pared celular se ve afectada, observándose un engrosamiento de la misma, figura 4.17 [23]. Este engrosamiento pudo ser ocasionado por la síntesis descontrolada de quitina y quitosano, de la célula, para sustituir aquellas zonas impedidas para formar enlaces con lípidos y proteínas, o porque las nanopartículas inducen estrés oxidativo [24] En este último caso, los efectos nocivos parecen ser ejercidos de manera directa sobre el tejido diana debido a la toxicidad de los derivados de las especies reactivas de oxígeno o indirectamente como el resultado del efecto de estos derivados sobre la producción de mediadores del sistema inflamatorio y de inmunización, principalmente citoquinas pro-inflamatorio. Este estrés oxidativo podría desactivar antiprotasas y al mismo tiempo activar metaloprotasas, favoreciéndose así la proteólisis y la destrucción no

controlada de células. Algunos autores [25] sugieren que la inflamación es una respuesta primaria y el estrés oxidativo una consecuencia de este. Por lo tanto, las nanopartículas serían reconocidas por el organismo como cuerpos extraños que deberían ser eliminados por medio de la reacción inflamatoria (por ejemplo aumento del tamaño de las vacuolas y de la pared celular, figura 4.17. La interacción entre las nanopartículas y las proteínas del sistema biológico jugaría un papel definitivo en la habilidad para ser reconocidas por las células del sistema inmune, responsable de su eliminación, y también por el tejido de la pared celular, blanco de las nanopartículas, que podría emitir señales pro-inflamatorio. La inflamación podría acelerar la producción de ROS y reducir la capacidad defensiva antioxidante, favoreciendo el estrés oxidativo y el daño asociado al tejido.



4.17; Micrografía electrónica de transmisión de *Phoma* sp. (A y B) Testigo, (C) tratado con el fungicida y (D y E) sometido al tratamiento con ZnO-NP 0.1/600 (12 mmol.L⁻¹), donde se observa un aumento en el tamaño y número de vacuolas y un incremento de la red fibrilar alrededor de la pared celular. [núcleo (N), nucléolo (Nu), pared celular (Pc), citoplasma (Cit), vacuolas (V) y mitocondrias (Mit) vacuolas (V), red fibrilar (Rf), pared celular (Pc)] [23]

Teniendo en cuenta que la quitina presenta una estructura muy parecida al quitosano, el mecanismo de acción de los ROS generados o propiciados en los sistemas con nanopartículas sería muy similar al descrito; en la quitina, también, se podría dar un ataque de las ROS al grupo amino protonado de su estructura impidiendo que moléculas con características específicas se unan a la quitina: (proteínas, lípidos, azúcares, colorantes, entre otros), propiciando así el no crecimiento de la célula o, aún más su, muerte, acción que se podría extender al organismo pluricelular.

Por otro lado, la mayor eficiencia antifúngica de las nanoestructuras “core-shell” de ZnO-Ag, frente a las ZnO-NP, podría justificarse considerando que la presencia de la plata, material que absorbe radiación en el visible, podría favorecer una más eficiente formación de ROS, que el ZnO-NP sin Ag, ya que, además, facilitaría la separación de las cargas fotogeneradas propiciando un sumidero para los electrones; al existir estas especies reactivas en mayor concentración, en el medio, van a ocasionar que hayan más moléculas de quitina impedidas para formar enlaces con las proteínas, lípidos etc.

4.5. Conclusiones

Con la realización de los ensayos, descritos en este capítulo, se encontró que tanto el sistema de nanopartículas de óxido de cinc como el sistema “core-shell” de óxido de cinc-plata, presentaron actividad antifúngica favorable para las concentraciones de 6 a 12 mmol/L, no así para la de 3 mmol/L la cual presentó una actividad antifúngica bastante baja, especialmente en el sistema de óxido de cinc nanoparticulado. En el cultivo que contenía nanoestructuras “core-shell” ZnO-Ag-NP, con esta menor concentración, se presentó una adecuada actividad antifúngica, aunque menos efectiva que para las cantidades más altas.

Por otro lado, se encontró que el sistema de nanopartículas “core-shell” ZnO-Ag presentaba, para todas las cantidades evaluadas, mejor efecto antifúngico que su equivalente tratamiento con óxido de cinc

nanoparticulado ya que, prácticamente, las nanoestructuras inhibieron el crecimiento del *A. niger* en todos los cultivos estudiados donde ellas estaban presentes.

4.6. Bibliografía

- [1] Ruiz Herrera, J; Hongos y taxonomía; Avance y Perspectiva vol. 20 (2001); pág; 275-281
- [2] FurciGiulianaMaría; NascimentoGeorge. Guía de campo de los hongos más vistosos de Chile.
- [3] Adya P. Singh, TriptiSingh; Biotechnological applications of wood-rotting fungi: A review; biomass and bioenergy vol 62; (2014); pág 198-206
- [4] A. Moretti , S. Sarrocco; Hongos; Enciclopedia de Alimentación y Salud; (2016), pág 162-168.
- [5] Mier, T; toriello,C; Ulloa, M; Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio; instituto de biología, Universidad Nacional de Mexico. (2002); pág 44-50
- [6] Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers JA. Ainsworth&Bisby's Dictionary of the Fungi.9° ed. CAB International, Wallingford, (2001).
- [7] Carrillo Leonor; Microbiología Agrícola; Capítulo 7; (2003); pag 1-4.
- [8] Pontón José; La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina; Revl beroam Micol vol 25; (2008); pag 78-82.
- [9] Nimrichter L, Rodrigues ML, Rodrigues EG, Travassos LR. The multitude of targets for the immune system and drug therapy in the fungal cell wall. Microbes Infect (2005); vol 7: pág 789-798.
- [10] <http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/APUNTE%20Micologia%20general.pdf>; 03/12/2015 6:48 pm.
- [11]<http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/19407/Capitulo2.pdf>. 03/12/2015 7:07.
- [12]Abarca M^a Lourdes; Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial; RevlberoamMicol;vol17; (2000); pag 79-84
- [13] Qing Qua, Lei Wang, Lei Li, YueHea, Min Yang, ZhongtaoDinga; Effect of the fungus, *Aspergillusniger*, on the corrosion behavior of AZ31B magnesiumalloy in artificial seawater; Corrosion Science 98 (2015) pág249–259.
- [14] Yanzhen Wang, XiaobinZeng, Zhengkun Zhou, Ke Xing, AkalateTessema, Hong Zeng, Jun Tian; Inhibitory effect of nerol against *Aspergillusniger* on grapes through a membrane lesion mechanism; Food Control; vol 55; (2015); pág 54-61
- [15]. Brochard G; Le Bacle C; Mycotoxines en milieu de travail; documentspour le du travail N° 19 tercer trimestre (2009); pag 299-323.
- [16]<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Ficha%20Aspergillus%20spp.pdf>. 07/12/2015. 07:19.
- [17] Lane, C.R. ; Beales, B.A. and Hughes, K. Fungal Plant Pathogens:principles and protocols; (2012);pag 307.
- [18] Alemán, Z.W. ; Días, E.R. ; Molina, I. Conservación de microorganismos. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. N° 43 vol3: (2005); pag 1-4.
- [19] Ch. S. Foot, J. S. Valentine, A. Greenberg, J. F. Liebman, "Active oxygen in chemistry", Chapman & Hall, Blackie Academic & Professional, New York, 1995: D. D. Sawyer, "Oxygen chemistry", Oxford University Press Inc., New York, 1991):
- [20] Benezzer. B Micaela, Castro. M Elda, García P. Ernesto; La Producción de Especies Reactivas de Oxígeno Durante la Expresión de la Resistencia a Enfermedades en Plantas. Rev. mex. fitopatol vol.26 No.1 . (2008); pág. 56-61.
- [21] Rodríguez-Pedroso, A. T.; Ramírez-Arrebató, M. A.; Rivero-González, D.; Bosquez-Molina, E.
- [22] Barrera-Necha, L. L.; Bautista-Baños, S. propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos; revista chapingo serie horticultura,

- vol. 15, núm. 3, (2009), pag. 307-317
- [23] Arciniegas Grijalba Paola Andrea; Patiño Portela Melissa Carolina, " Evaluación in-vitro de la capacidad antifúngica de nanopartículas de ZnO sobre cepas de *Phoma* sp. y *Erythricium salmonicolor*, agentes causales de enfermedades en el café (*Coffea arabica* L.); Trabajo de Grado programa de Biología, Universidad del Cauca, 2015; pág.69-73.
- [24] (Xia, T; Kovoichich, M; Liang, M; Madler, L. Gilbert, B; Shi, H; Yeh, J. I; Zink, J. I; Nel, A. E; "Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties, *ACS Nano* 2 (10), (2008) pág 2121–2134
- [25] B. L´Azou, F. Marano, "Nanoparticle toxicity mechanisms: oxidative stress and inflammation" Chapter 4 in "Nanoethics and nanotoxicology", Ph. Houdy, M. Lahmani, F. Marano (Eds.). Springer- Verlag Berlin Heidelberg, 87 – 109 (2011)