

Proyecto Fin de Carrera

Nanorods de ZnO para la desinfección fotocatalítica de bacterias

Síntesis, caracterización y evaluación de su eficiencia
1/2

Autor

MAELA ADAM

Director

JUAN RODRIGUEZ RODRIGUEZ

DEPARTAMENTO FÍSICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
(UNI, LIMA - PERÚ)

Ponente

JOSÉ ÁNGEL PARDO GRACIA

DEPARTAMENTO CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES Y FLUIDOS

Centro Politécnico Superior (CPS)

Ingeniería industrial

2011-2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Dr. Juan RODRIGUEZ RODRIGUEZ, director del laboratorio de películas delgadas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI) de Lima, que me acogió al seno de sus equipos de investigación para estos meses de proyecto.

Me gustaría agradecer en especial a Luis Alberto SANCHEZ RODAS por su acertada dirección en la realización de este trabajo, por su gran ayuda y comprensión, por sus consejos, comentarios y amistad.

Gracias al profesor Clemente LUYO, quien me dio de su tiempo y muchos consejos para realizar las observaciones en el SEM del laboratorio.

A los investigadores en nanopartículas de la universidad Nuestra Señora de la Consolación de Lima, que me permitieron hacer las observaciones de mis muestras con su AFM, y me dieron muchas explicaciones y recomendaciones.

A mis colegas de trabajo Henry HUANCA LOZA, Violeta GARCÍA, Julieta GLADYS CABRERA y Tatiana LEÓN, que siempre me demostraron su buena disposición, ayuda y confianza y hicieron, por su buen humor y amistad, que mi estadía en la UNI se convirtiera en meses formidables.

A todo el personal y estudiantes que trabajan en la Facultad de Ciencias de la UNI y cuya simpatía fue muy preciosa.

Por fin, a mi familia que desde Francia, me proporcionó el apoyo moral y económico para llevar a cabo estos meses de PFC.

INDICE

1. Introducción general	6
1.1 Objeto y alcance	6
1.2 Trabajos de apoyo	7
1.3 Contexto.....	8
1.4 Organización del informe.....	11
2. Problemática	12
3. Objeto	14
3.1 Descripción del trabajo.....	14
3.2 Métodos y procedimientos utilizados	16
4. Estudio previo	17
4.1 Antecedentes y situación actual de la investigación	17
4.2 Marco teórico	18
<u>4.2.1 Nanorod de ZnO.....</u>	<u>18</u>
<u>4.2.2 Métodos de generación de capa semilla</u>	<u>19</u>
<u>4.2.3 Técnica del rociado.....</u>	<u>20</u>
<u>4.2.4 Método del montaje a reflujo.....</u>	<u>21</u>
<u>4.2.5 Fotocatálisis heterogénea.....</u>	<u>22</u>
<u>4.2.6 Bacteria ESCHERICHIA COLI (E-Coli)</u>	<u>23</u>
<u>4.2.7 Técnicas de caracterización.....</u>	<u>24</u>
5. Trabajo experimental.....	29
5.1 Síntesis de los nanorods de ZnO	29
<u>5.1.1 Generación de la capa semilla.....</u>	<u>30</u>
<u>5.1.2 Crecimiento de los nanorods de ZnO.....</u>	<u>33</u>
5.2 Ensayos de caracterización	37
<u>5.2.1 Caracterización de las semillas.....</u>	<u>37</u>
<u>5.2.2 Caracterización de los nanorods.....</u>	<u>40</u>
<u>5.3.1 Prueba posterior sin bacterias.....</u>	<u>42</u>
<u>5.3.2 Prueba con bacterias E-Coli.....</u>	<u>44</u>
6. Análisis de los resultados	49
6.1 Caracterización de las semillas.....	49
<u>6.1.1 Tamaño de partículas obtenido por dispersión dinámica de la luz (DLS) ..</u>	<u>49</u>
<u>6.1.2 Tamaño de partículas obtenido por espectroscopía UV-Visible</u>	<u>51</u>
<u>6.1.3 Tamaño de partículas obtenido por microscopía de fuerza atómica (AFM)</u>	<u>53</u>
<u>6.1.4 Tabla comparativa.....</u>	<u>55</u>
6.2 Caracterización de los nanorods de ZnO	56
<u>6.2.1 Observaciones previas</u>	<u>56</u>
<u>6.2.2 Influencia de los parámetros.....</u>	<u>60</u>
<u>6.2.3 Resumen.....</u>	<u>67</u>

6.3 Degradación fotocatalítica de las bacterias.....	68
<u>6.3.1 Prueba posterior sin bacterias (Rhodamina B).....</u>	<u>68</u>
<u>6.3.2 Prueba con bacterias E-Coli.....</u>	<u>69</u>
7. Conclusiones	71
8. Problemas encontrados	72
9. Recomendaciones para trabajos futuros	74
10. Bibliografía.....	75

1. Introducción general

¿Quién nunca ha escuchado hablar de la nanotecnología? Esta ciencia permite manipular y controlar la materia a una escala nanométrica introduciendo nuevos comportamientos eléctricos, mecánicos, ópticos o químicos en los sistemas. En tal sentido, puede ser utilizada para desarrollar y fabricar nuevos dispositivos o materiales con propiedades únicas.

Las nanoestructuras de Óxido de Zinc (ZnO) siempre han recibido un gran interés en el campo de la investigación por sus propiedades electrónicas, ópticas y fotónicas específicas. En los años 1960 empezó la síntesis de nanoestructuras de ZnO bajo la forma de películas delgadas, llamadas también 1-D, y varias técnicas se desarrollaron muy rápidamente por su gran número de aplicaciones industriales posibles, especialmente como transductores, sensores o catalizadores.

Grupos de investigación se dedicaron intensamente al estudio de estas nuevas nanoestructuras bajo distintas formas : *nanowires* (forma de hilos), *nanobelts* (forma de cinta), *nanosprings* (forma de muelle) o aún *nanocombs* (forma de peine), *nanorings* (forma de anillo) y *nanorods* (forma de tubos)...

1.1 Objeto y alcance

Este trabajo tiene por objeto la síntesis de nanorods de Óxido de Zinc (ZnO) a partir de un método *Sol-Gel*, su caracterización morfológica y estructural y posterior evaluación para la desinfección fotocatalítica del agua contaminada con bacterias.

Incluye la síntesis química de semillas de ZnO por el método *Sol-Gel*, sobre sustratos de vidrio conductor, su caracterización con dispersión dinámica de la luz (DLS : *Dynamic Light-Scattering*) y espectroscopia UV-Visible y la caracterización morfológica y estructural de las nanoestructuras resultantes con microscopio electrónico de barrido (SEM : *Scanning Electron Microscope*) y de fuerza atómica (AFM : *Atomic Force Microscope*). También incluye ensayos de desinfección fotocatalítica de agua contaminada con bacterias E-Coli.

1.2 Trabajos de apoyo

Este proyecto es la ampliación de dos trabajos previos:

El trabajo del Dr. Juan RODRIGUEZ RODRIGUEZ : "*Synthesis and characterization of ZnO nanorod films for photocatalytic disinfection of contaminated water*", publicado en septiembre 2010.

Este trabajo trata de la síntesis de películas delgadas de ZnO utilizando otra técnica : el *Spray-Pirolisis*, para obtener una capa semilla de ZnO a partir de la cual crecieron los nanorods. Se estudiaron diferentes parámetros que influyen en el crecimiento de los nanorods como el espesor de la capa semilla, la acidez de la "solución de crecimiento", ... Luego, el material resultante fue caracterizado morfológicamente por SEM (*Scanning Electron Microscopy*) y TEM (*Transmission Electron Microscopy*), estructuralmente por difracción de rayos X y su absorbancia por espectroscopia. Finalmente, se analizó la eficiencia de los nanorods en la desinfección fotocatalítica del agua contaminada con bacterias E-Coli.

Por lo tanto, difiere del trabajo que realice en que el método utilizado para obtener los nanorods es completamente distinto del mío. Pero pude apoyarme, entre otros, en la descripción de los procedimientos seguidos, equipos utilizados, parámetros de estudio elegidos y comparar los resultados obtenidos con los míos.

El segundo trabajo fue realizado por Luis SÁNCHEZ RODAS, estudiante de postgrado que efectúa actualmente su doctorado en la Facultad de Ciencias de la UNI sobre el tema de los nanorods de ZnO, y que fue mi asesor durante mi proyecto. Fue realizado durante el año 2011 pero no fue publicado.

En este trabajo, se utilizó el método *Sol-Gel* para obtener nanorods de ZnO y se buscó una "solución de crecimiento" óptima que permite obtener los mejores nanorods, según criterios determinados. Se ensayaron distintos sustratos (plásticos : PET y policarbonato, vidrio y metales : cobre y bronce) y se analizaron los resultados con un SEM cambiando parámetros como el espesor de la capa semilla, los componentes químicos y las proporciones de reactivos utilizados, y los procedimientos.

Este documento fue mi base de trabajo. Pude volver a utilizar los resultados sacados de este estudio para desarrollar mi proyecto y dedicarme al tema de la desinfección bacteriana.

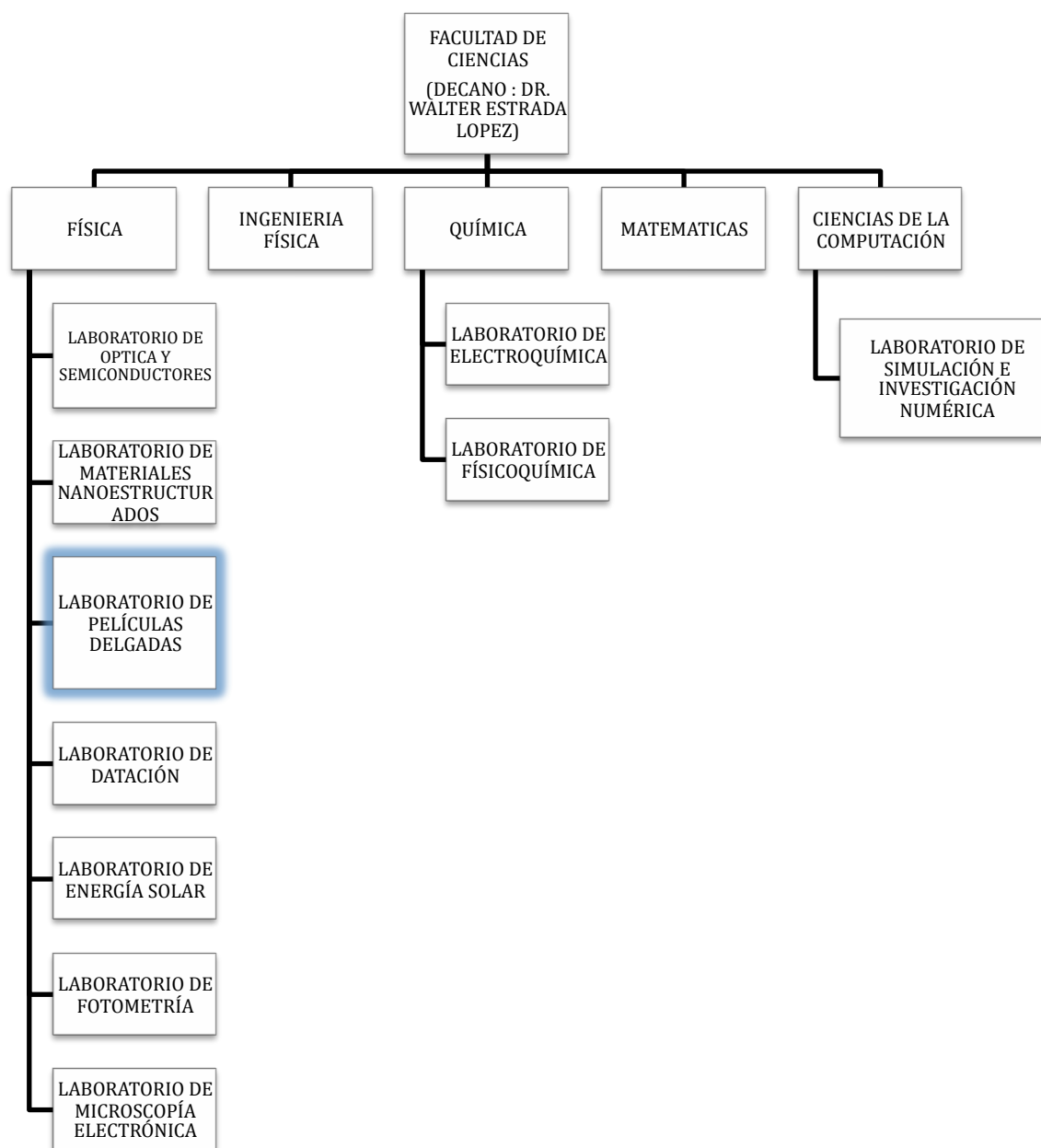
1.3 Contexto

Este proyecto fue realizado en el laboratorio de investigación de películas delgadas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI) de Lima (Perú).

La UNI es una escuela de ingenieros pública, de buena notoriedad en America del Sur. Es una comunidad de alumnos, profesores y graduados dedicada a los fines de una institución universitaria y de investigación.

Está organizada en 11 facultades que abarcan no menos de 28 especialidades en los campos del conocimiento de la arquitectura, ciencias y ingeniería.

La Facultad de Ciencias está estructurada de la siguiente manera :



Alberga los departamentos de Física, Ingeniería física, Química, Matemáticas y Ciencia de la computación, que poseen entre todos, 11 laboratorios de investigación dedicados a fines distintas.

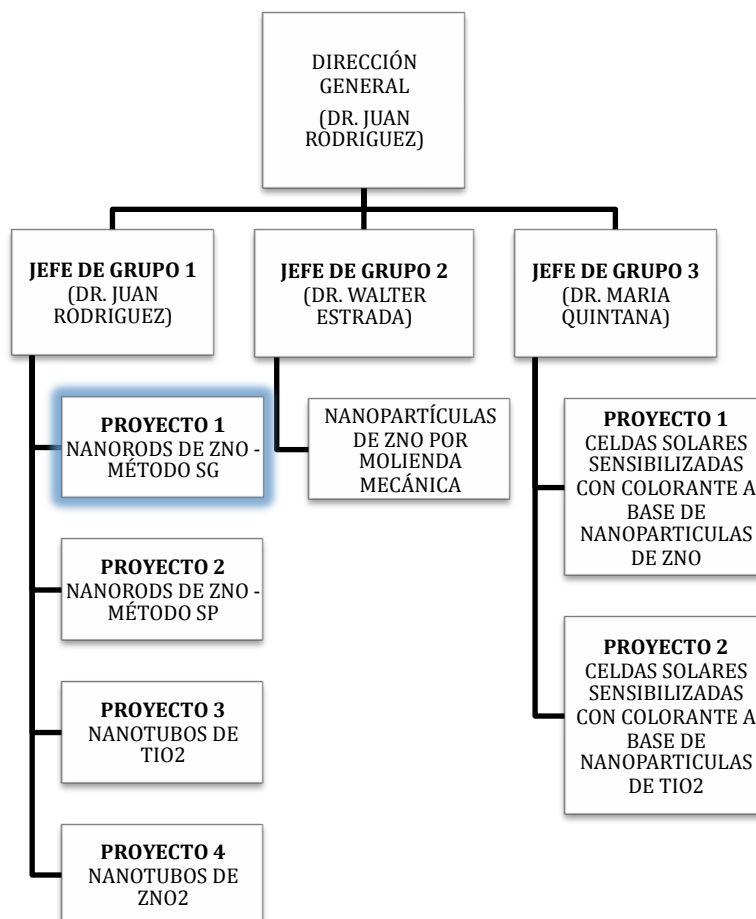
El laboratorio de investigación donde realicé mi proyecto es el *laboratorio de películas delgadas*.

Sus principales líneas de investigación son :

- Fabricación y caracterización de recubrimientos delgados para detección de gases.
- Síntesis y caracterización de materiales nanoestructurados de óxidos semiconductores.
- Desarrollo de celdas solares sensibilizadas con colorantes.
- Desarrollo de recubrimientos delgados por el método químico: *Sol-Gel*.
- Fabricación de polvos de óxidos metálicos en forma de microesferas.
- Fabricación y caracterización de recubrimientos cerámicos
- Estudio de propiedades ópticas de materiales electrocrómicos
- Sistemas de adquisición de datos y control por medio de PCs

Trabaja por su propia cuenta, y frecuentemente, los investigadores publican informes sobre el avance de su trabajo.

Respecto a la organización propia del laboratorio y los proyectos pendientes, se podría describir por el siguiente organigrama :



Los jefes de grupos son encargados de la supervisión y del seguimiento de los proyectos pendientes de su grupo de investigación respectivo.

Yo hacía parte del grupo de investigación del doctor Juan RODRIGUEZ RODRIGUEZ. Durante mi estadía, cuatro proyectos de investigación principales estaban llevados por estudiantes de postgrado, realizando una tesis para una maestría o un doctorado. Pude dedicar unos momentos a su observación :

- *Proyecto 1 :*

Sujeto : Síntesis de los nanorods de ZnO a partir del método *Sol-Gel* (SG), su caracterización y posterior evaluación para la desinfección fotocatalítica del agua contaminada.

Investigador : Yo.

- *Proyecto 2 :*

Sujeto : Síntesis de los nanorods de ZnO a partir del método *Spray-Pirolisis* (SP), su caracterización y posterior evaluación para la desinfección fotocatalítica del agua contaminada.

Investigador : Sra. Violeta García. Estaba presente al laboratorio una semana al mes.

Los dos sujetos difiriendo únicamente por el método utilizado, fuimos supervisadas al mismo tiempo por el estudiante de postgrado Luis Alberto SÁNCHEZ RODAS que conocía bien el tema de los nanorods de ZnO como explicado en el punto 1.2. Además, fuimos a menudo incitadas a trabajar en equipo para poner nuestras ideas en común y comparar nuestros resultados.

- *Proyecto 3 :*

Sujeto : Síntesis y caracterización de nanorods de Óxido de Titanio TiO₂.

Investigador : Sra. Julieta Gladys Cabrera. Estaba presente dos o tres días a la semana.

- *Proyecto 4:*

Sujeto : Síntesis y caracterización de nanorods de ZnO₂.

Investigador : Sr. Julio Alarcón.

1.4 Organización del informe

A continuación, el capítulo 2. tratará de justificar este proyecto de investigación, planteando la problemática que está a su origen. Se profundizará luego en parte 3. el objeto del trabajo detallando el sujeto y citando los métodos empleados para desarrollarlo. Después de una descripción de los antecedentes del tema en el área de la investigación, y una presentación de los conocimientos teóricos necesarios (4.), se abordará en el capítulo 5. la realización propiamente dicha del trabajo.

En ultimo lugar, se detallarán los resultados obtenidos (6.) así como las conclusiones sacadas (7.). Se acabará este informe con una rápida exposición de los problemas encontrados (8.) y recomendaciones para futuros trabajos (9.).

Respecto a los anexos, se reparten así :

Anexo 1 : Fotos del equipo de rociado de la UNI y de sus elementos.

Anexo 2 : Fotos del sistema de baño a ultrasonidos.

Anexo 3 : Síntesis de la *solución de crecimiento*, aparición de un precipitado blanco.

Anexo 4 : Ejemplo de informe informático obtenido con el método DLS.

Anexo 5 : Fotos de microscopio electrónico de barrido(SEM) y de las muestras.

Anexo 6 : Prueba de desinfección fotocatalítica con Rhodamina B. Fotos.

Anexo 7 : Fotos del cultivo de las bacterias E-Coli.

Anexo 8 : Vista del sistema experimental de desinfección fotocatalítica.

Anexo 9 : Procedimiento experimental en fotos.

Anexo 10 : Comparación muestra normal/muestra cristalizada.

Anexo 11 : Película de nanorods sobre soportes de plástico PET.

Anexo 12 : Estudio de los nanorods con espectroscopía UV-Visible.

2. Problemática

Las nanotecnologías, hoy en día, son una área de investigación muy desarrollada. El campo de las nanopartículas, su síntesis como sus aplicaciones, comienza a ser bien conocido, así que se empezó a investigar otro tipo de nanoestructuras : las nanoestructuras 1D, o lo que es las nanoestructuras en forma de películas delgadas.

ZnO es un material clave. Tiene importantes propiedades piezoeléctricas, piroeléctricas y fotónicas [1,2,3], lo que le hace perfectamente adecuado para una gran variedad de aplicaciones. Poder controlar la orientación de los nanocristales de ZnO y poder acoplarlos en arreglos tridimensionales en varios tipos de sustratos es fundamental para la creación de nuevos dispositivos y materiales funcionales tales como celdas solares [4], mecanismos fotónicos [5], etc.

Recientes estudios se han centrado en la creación de nanoestructuras de ZnO con arreglos de alta orientación cristalina [6,7,8]. Varias técnicas de deposiciones físicas, químicas y electroquímicas también ya han sido estudiadas para crear estos arreglos orientados de nanorods de ZnO [9,10].

Por otro lado, el agua subterránea es la mayor reserva de agua potable de fácil acceso para los seres humanos, por lo que su contaminación constituye un problema grave. No existen valores estándares aceptados a nivel mundial para definir el agua potable, ya que estos varían en los distintos países según sus características sociales, ambientales, culturales y económicas.

El mayor riesgo de enfermedades transmitidas por el agua se observa en niños, personas de edad, personas débiles o que viven en condiciones insalubres. Las enfermedades transmitidas por el agua pueden tener diferentes orígenes : de manera general, el principal riesgo viene de la ingestión de aguas superficiales o subterráneas contaminadas con bacterias provenientes de materia fecal humana o animal. Las enfermedades infecciosas, en su mayoría intestinales, van desde una banal gastroenteritis hasta diarreas severas (a veces mortales), hepatitis y fiebre tifoidea.

Como la variedad de microorganismos que pueden contaminar las aguas es muy amplia, para el análisis bacteriológico se usan organismos indicadores asociados al tracto intestinal de manera que su presencia en las aguas indique una contaminación fecal. El grupo de organismos más utilizado son los *Coliformes* : incluye una gran variedad de bacterias, en su mayoría habitantes comunes de los intestinos de animales de sangre caliente (mamíferos y aves). Este grupo comprende los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Edwardsiella*, entre los cuales encontramos la famosa especie *Escherichia coli* (E-Coli). También se pueden utilizar *Pseudomonas* como indicadores del deterioro de la calidad del agua o recontaminación, ya que presentan una relativa resistencia al cloro [11].

Las aguas destinadas al consumo humano deben recibir tratamientos previos, que se eligen según la calidad inicial de las aguas. La desinfección, que implica la muerte o inactivación de las bacterias [11], es indispensable cuando se detecta la presencia de estos microorganismos patógenos. Debe impedir el crecimiento bacteriano y su recuperación dentro del sistema de almacenamiento y distribución de aguas. Para esto, además del tradicional empleo de lavandina, se vuelve muy interesante el uso de la energía solar como base de procesos sostenibles en regiones de escaso desarrollo socio-económico. Entre estos procesos tenemos la desinfección solar SODIS (*Solar Water Disinfection*) y la Fotocatálisis Heterogénea. Ambas técnicas son eficientes, económicas y de fácil aplicabilidad, ya que no requieren equipos o elementos tecnológicos complejos o caros, y no implican costos energéticos. Para su aplicación sólo se necesita disponibilidad de luz solar, botellas de teraftalato de polietileno (PET) y, en el caso de la Fotocatálisis Heterogénea, un óxido semiconductor como fotocatalizador.

El método SODIS [12] propone exponer botellas de PET con agua contaminada durante varias horas a la radiación solar. Los rayos solares actúan en la desinfección por el efecto sinérgico de la radiación UV (315-400 nm) y la radiación infrarroja (IR). Esta última permite alcanzar temperaturas adecuadas para producir efectos térmicos que, sumados al ataque fotónico directo, causan la muerte celular [13].

La Fotocatálisis Heterogénea dirige en el ataque fotoquímico de la UV sobre los componentes esenciales de las células (proteínas, ácidos nucleicos), que conduce a su inactivación y posterior muerte [14]. La radiación UV es absorbida por un semiconductor de banda ancha como el TiO_2 o el ZnO , para generar radicales libres como el OH. Estos radicales no sólo atacan a componentes de las células bacterianas, sino también a contaminantes químicos, que en casos favorables son mineralizados totalmente. Se ha sugerido también que la Fotocatálisis Heterogénea, a diferencia de SODIS, provee un efecto de protección residual contra la recuperación de la población bacterianas. Es posible inmovilizar el fotocatalizador usando diversos soportes, evitando la necesidad de etapas posteriores de separación del mismo. Como el material es barato y no-tóxico, se vuelve posible aplicar esta técnica en áreas rurales para obtener agua apta para consumo humano.

En este trabajo se presenta un proceso de síntesis y crecimiento de nanopartículas agrupadas en forma de nanorods de ZnO de alta orientación cristalina en soluciones supersaturadas de nitrato de zinc, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, e hidróxido de sodio, NaOH , a bajas temperaturas. Las películas resultantes de nanorods son reproducibles y uniformes en grandes áreas, por lo que puede ser potencialmente empleado en el desarrollo de varios mecanismos funcionales. Se discuten los parámetros del crecimiento de los nanorods y el mecanismo de crecimiento, así como su eficiencia en la desinfección fotocatalítica del agua contaminada con bacterias *Escherichia Coli*.

3. Objeto

3.1 Descripción del trabajo

Disponiendo de un tiempo limitado para lograr una meta determinada con los medios a disposición, mi trabajo de investigación tuvo que referirse a las herramientas de gestión de proyectos.

Por lo tanto, para tener una visión más clara de lo que se tiene que realizar y de los posibles obstáculos, se pudo describir este trabajo por los siguientes elementos :

Objetivos :

Este trabajo tiene dos objetivos principales que son, por una parte, evaluar la forma de obtener los **mejores nanorods de ZnO** haciendo variar parámetros experimentales de crecimiento que se detallarán más adelante y realizando una tabla comparativa y por otra parte, comprobar **la eficiencia de desinfección bacteriana**.

Riesgos :

El campo de la investigación cuenta con muchas incertidumbres respecto al cumplimiento del plazo fijado. Realicé un estudio de los principales hechos que podían obstaculizar el avance del trabajo, para poder tomar medidas preventivas :

- Que los nanorods no crezcan:

Probabilidad : alta

Causa : material o equipos sucios, reactivos o soluciones contaminadas, procedimiento mal seguido.

Solución preventiva : Siempre utilizar guantes, limpiar el material antes y después de su utilización, seguir el procedimiento al pie de la letra.

- Que los equipos para sintetizar o caracterizar los nanorods no funcionen:

Probabilidad : media

Causa : equipos defectuosos, limitados o que se malogran durante la utilización.

Solución preventiva : Efectuar regularmente una verificación de los equipos.

- Falta de material:

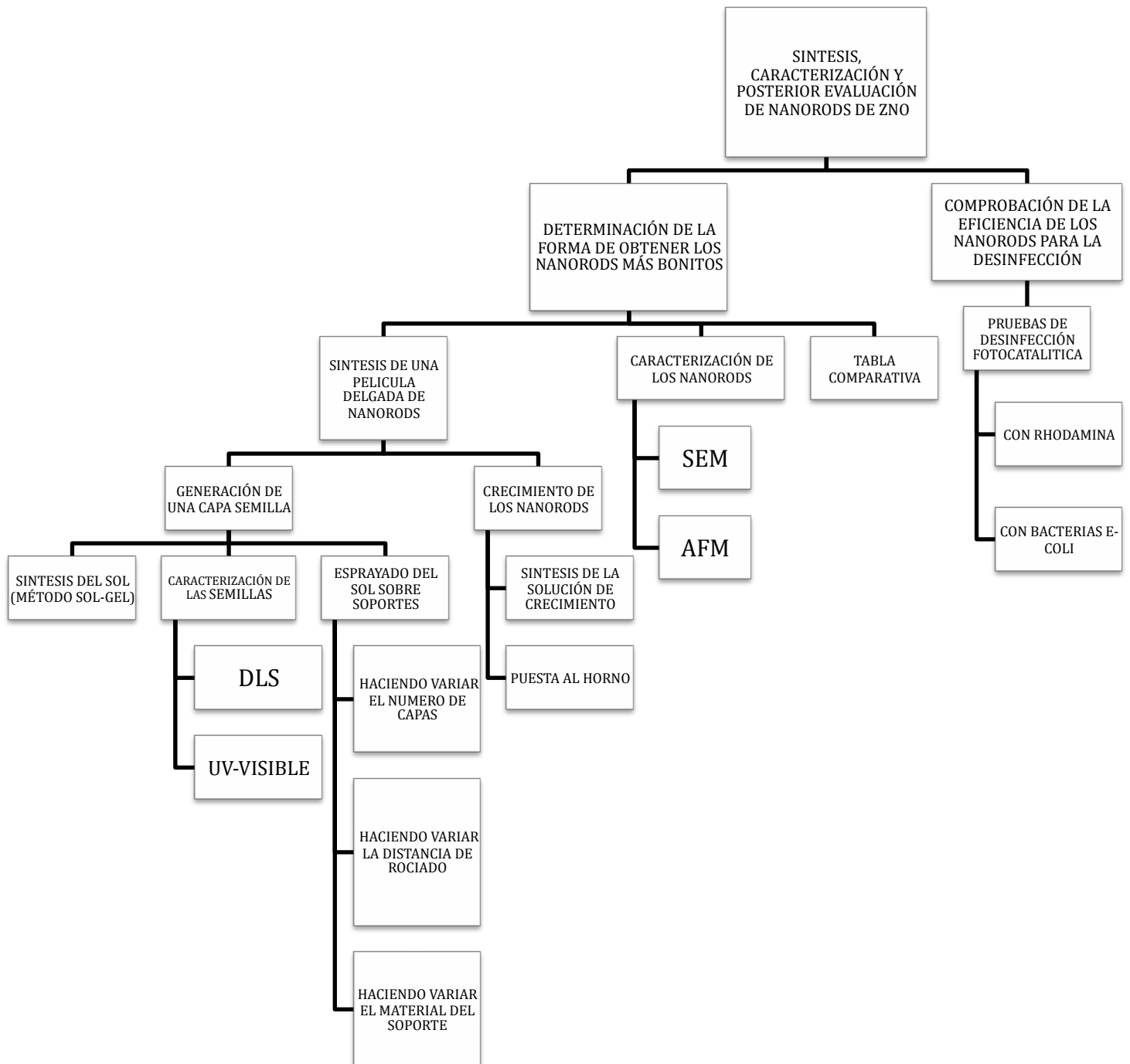
Probabilidad : media

Causa : presupuesto del laboratorio limitado, un gran numero de personas que utilizan los mismos componentes químicos y material.

Solución preventiva : Agrupar el material, cada vez que se necesita, en un lugar definido.

EDP:

Para tener una visión concreta de las diferentes etapas del proyecto, se puede presentar la siguiente Estructura de Descomposición del Proyecto :



3.2 Métodos y procedimientos utilizados

Para *sintetizar* los nanorods de ZnO, el procedimiento fue, en grandes líneas :

- Generar una capa semilla por el método *Sol-Gel* sobre soportes del material elegido (vidrio, plástico):
 - o Síntesis de una solución llamada Sol conteniendo semillas de ZnO.
 - o Rociado de esta solución sobre los soportes para formar una película delgada.
- Hacer crecer los nanorods de ZnO :
 - o Síntesis de otra solución llamada *solución de crecimiento*.
 - o Tratamiento térmico al horno durante 1h de los soportes llevando semillas en un baño de esta solución.

En la etapa *caracterización* de las nanoestructuras de ZnO, se intentó caracterizar los nanorods obtenidos pero también la solución de *Sol-gel* (o sol) realizada al principio y sus partículas de ZnO, que tienen un papel crucial ya que son al origen de los nanorods. Se utilizó :

- **DLS** (*Dynamic Light-Scattering*) para obtener el tamaño de las partículas (semillas) en la solución de *Sol-gel*;
- Espectroscopía **UV-VISIBLE** para obtener los espectros de absorbancia y a partir de estos, otra vez el tamaño de las partículas;
- Los equipos **SEM** (Scanning Electron Microscope) y **AFM** (Atomic Force Microscope) para observar la morfología, densidad, orientación y tamaño de los nanorods.

A partir de los diferentes datos obtenidos, se pudo caracterizar el sol por su tamaño de partículas, tiempo de estabilidad, repetibilidad,...

También se intentó determinar cuales condiciones experimentales eran mejores para obtener los nanorods de ZnO más bonitos posibles. Por eso, se estudiaron la influencia del espesor de la capa semilla, así como la influencia de la distancia de rociado.

Finalmente, para la ultima etapa de *evaluación de la eficiencia de los nanorods para la desinfección bacteriana*, se hicieron pruebas de desinfección fotocatalítica del agua de dos tipos:

- Primero, utilizando el test de la **Rhodamina B con lámpara UV** para comprobar la eficiencia de una muestra de nanorods.
- Luego, en colaboración con una estudiante de la sección biología de la Facultad de Ciencias, con verdaderas **bacterias E-coli**. Se realizaron ensayos debajo de una lámpara UV para comprobar y comparar la eficiencia de nanorods crecidos a partir del método *Sol-gel* y del método *Spray-pirolisis*.

4. Estudio previo

En este capítulo, se van a abordar el historial de este proyecto de investigación, es decir todo lo que es conocido a la hora actual sobre el asunto de los nanorods de ZnO, tal como el avance actual de la investigación en este tema. La segunda parte presentará los conocimientos teóricos básicos, necesarios para entender el desarrollo del proyecto.

4.1 Antecedentes y situación actual de la investigación

Hace 40 años que se están desarrollando numerosos estudios sobre el tema de las nanoestructuras. La investigación en el dominio de los nanorods (también llamados a veces nanocolumnas o nanotubos) de metales semiconductores (ZnO, TiO₂,...) es más recién pero se puede encontrar en el Internet varios artículos datando de los últimos años que tratan del tema de los nanorods de Óxido de Zinc publicados desde los países del mundo entero [15, 16, 17].

Se estudió mucho la síntesis de las nanoestructuras, por todos tipos de métodos, así que hoy en día, la creación y el crecimiento de nanorods de ZnO en películas delgadas ya no tiene secreto. Hoy, se sigue descubriendo nuevas morfologías obtenidas con Óxido de Zinc, conocidas como nanotetrápodos [18] y cuya eficiencia está actualmente investigada.

Varios métodos de deposiciones químicas, físicas y electroquímicas fueron estudiadas para sintetizar arreglos orientados de nanorods de ZnO con diámetros promedios típicos de 10 a 200 nm y de longitud desde unas micras hasta 10 μ m.

Podemos citar: templado contra membranas anódicas de alúmina [19], deposición por pulso láser [20], deposición química metal-orgánica [21], y recientemente, métodos de bajo costo como electrodeposición catódica [22] y descomposición térmica acuosa de complejos Zn²⁺ amino [23].

Éstos han sido métodos exitosos en el crecimiento de estructuras de alta orientación cristalina de nanorods de ZnO. El inconveniente de estos métodos es que son limitados a sustratos aislados y exigen una preparación en fase gaseosa de la capa semilla de ZnO. La técnica que más se encuentra utilizada en las publicaciones, es la síntesis de los nanorods por deposición por el método del rociado pirolítico [24].

Se observó que las propiedades intrínsecas de las nanopartículas metálicas están determinadas por su tamaño, forma, composición y cristalinidad. Se puede establecer, revisando los artículos, que se buscan generalmente nanoestructuras de alta orientación cristalina, de gran densidad, con nanorods de forma alargada y de pequeño diámetro, alineados verticalmente. Sin embargo, no se tienen estándares de calidad de los nanorods. Muy a menudo se busca el “mejor” tipo nanorods respecto a una aplicación determinada.

Se descubrieron varias aplicaciones de las nanoestructuras de ZnO, sobre todo en óptica y optoelectrónica, como dispositivos emisores de luz, diodos láser, sensores biológicos o químicos, dispositivos fotocatalíticos, materiales con alta capacidad de almacenamiento de datos o catalizadores [25-30]. Además, se descubrió que las películas delgadas de nanorods de ZnO, al poseer una gran superficie y específica disposición cristalina, son indicadas para ser utilizadas en celdas solares como también en fotocatalisis.

Además de esas propiedades, recientes publicaciones [31-33] propusieron otras aplicaciones, tales como dispositivos sensores de gases, dispositivos acústicos de onda superficial y de transparencia electrónica, etc.

Referente a los materiales fotocatalíticos, los que han sido más investigados hasta el momento, son los óxidos metálicos semiconductores y de banda prohibida (o energía de gap) amplia, y especialmente el TiO_2 que es muy utilizado para aplicaciones medioambientales.

Fueron *H.L. Liu* y *T.C.K. Yang* (Process Biochem (2003)) que primero reportaron la aplicación de los nanorods de ZnO como material fotocatalítico para vencer las bacterias *Escherichia-Coli*.

Se confirmó mediante varios estudios [34] que el ZnO tiene mejor eficiencia que el TiO_2 en la degradación de colorantes en agua, pero son pocos las publicaciones que informan sobre su grado de eficiencia en la desinfección de agua contaminada por bacterias.

4.2 Marco teórico

4.2.1 Nanorod de ZnO

El óxido de zinc, ZnO, es un material semiconductor tipo n, que posee una banda prohibida (también dicha energía de gap) de 3.37 eV y una elevada energía de ligadura del excitón de 60 meV , lo que explica sus interesantes propiedades eléctricas y fotónicas.

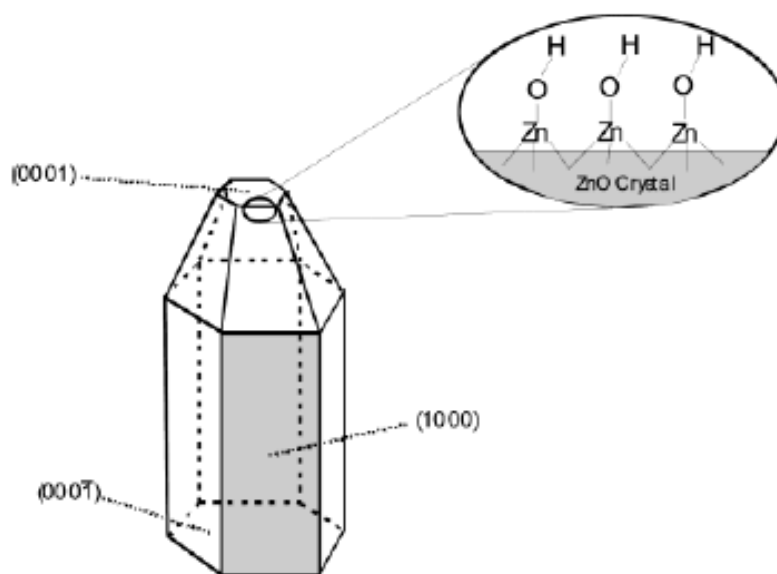


Figura 1 : Estructura cristalina típica de un nanorod de ZnO

La figura 1 nos enseña la estructura cristalina típica de un nanorod de óxido de Zinc. Se compone de una base polar ($000\bar{1}$), un plano no polar (1000), y una cara polar superior (0001) constituida de zinc Zn, oxígeno O y hidrógeno H. El plano no polar (1000) es el más estable, mientras que los dos planos no polares son meta estables, es decir que evolucionan fácilmente bajo la acción de perturbaciones externas.

Por tener una energía de superficie más alta, las superficies más pequeñas crecen primero. Las velocidades de crecimiento suelen seguir $V_{(0001)} < V_{(000\bar{1})} < V_{(1000)}$, así que la morfología más estable del nanorod de ZnO es hexagonal con una elongación del cristal según un eje vertical.

Dos procesos son necesarios para la cristalización de los nanorods de ZnO : la nucleación y el crecimiento cristalino.

La nucleación se genera a partir del cubrimiento de un soporte con una capa de semillas de ZnO bajo la forma de gotas de líquido, que actúan como centros de nucleación y de las cuales emergen los nanorods como una continuación del grano del soporte.

4.2.2 Métodos de generación de capa semilla

Los dos métodos presentados a continuación hacen parte de los más utilizados en el proceso de generación de capa semilla de ZnO por ser sencillos, reproducibles y de bajo costos. Además fueron las dos metodologías desarrolladas en el seno del laboratorio. Ambas consisten en la síntesis de una solución precursora y están seguidos de una fase de rociado.

4.2.2.1 Método Spray-Pirolisis (SP)

Spray-Pirolisis es un método en que una película delgada es depositada, rociando ("spray") sobre una superficie calentada, donde los constituyentes reaccionan para formar un componente químico por transformación térmica ("pirolisis").

La solución precursora se prepara a partir de **acetato de zinc deshidratado** ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) diluido en **etanol** y **agua destilada** en una proporción típica de 3:1. Se añaden algunas gotas de ácido acético para garantizar la disolución del acetato de zinc y ajustar el pH de la solución.

Luego, la solución precursora obtenida por SP es rociada sobre un sustrato calentado a **350°C**.

Con este método, el vapor de zinc Zn reacciona con los átomos de Oxígeno, formando las semillas sobre el sustrato **en el momento de rociar**.

4.2.2.2 Método Sol-Gel (SG)

Este nombre se utiliza para referirse a un proceso de obtención de material mediante primero, la preparación de una solución precursora de partículas en suspensión ("sol") y luego, la formación de un gel por agregación de estas partículas y evaporación o deshidratación del solvente. *Sol-Gel* sería la abreviación de disolución-gelificación.

Se sintetiza el *Sol* a partir de **acetato de zinc deshidratado** ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y **hidróxido de sodio** (NaOH) diluidos en **metanol**.

Con este método, las semillas se forman en suspensión **dentro de la solución precursora** bajo la forma de partículas, y son posteriormente rociadas sobre un sustrato calentado a **130°C**.

4.2.3 Técnica del rociado

El método del rociado (o rociado pirolítico) ha sido uno de los métodos más usados durante las tres últimas décadas para la fabricación de películas delgadas de materiales semiconductores.

En el proceso de depósito, la solución precursora es colocada en un nebulizador que es utilizado como atomizador para producir pequeñas gotas de tamaño uniforme, dirigidas por una tobera y con gas transportador hacia un sustrato caliente.

En la Figura 2 se puede observar el dispositivo de rociado construido y utilizado en el Laboratorio de Películas Delgadas de la Facultad de Ciencias de la UNI (Ver también Anexo 1).

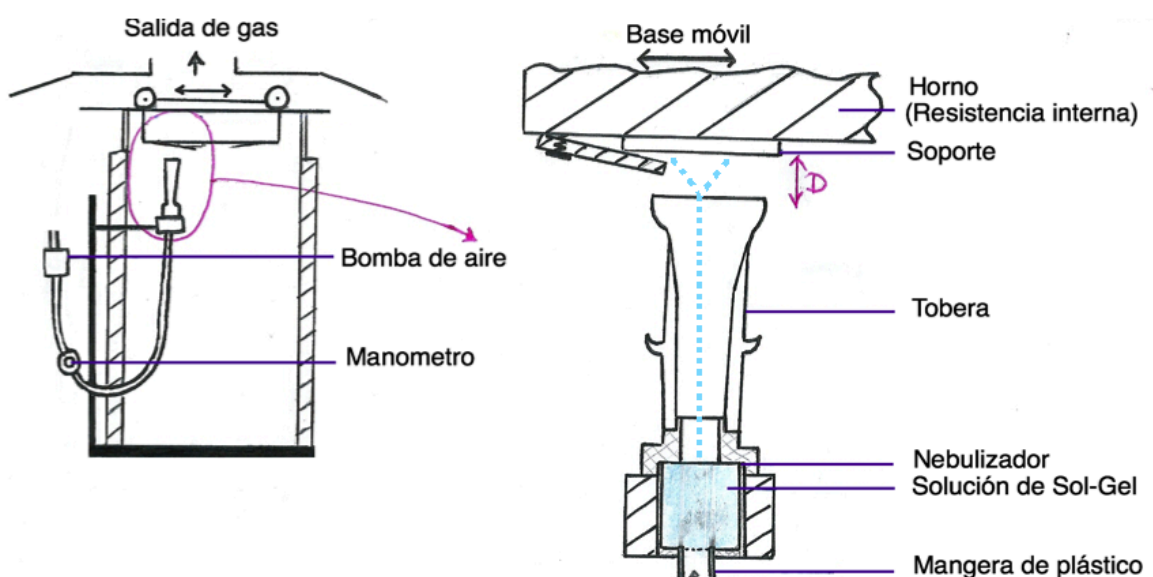


Figura 2 : Elementos del sistema de rociado para la generación de una capa semilla

Este sistema consiste en un nebulizador en que se coloca la solución de Sol-Gel precursora, un horno calentándose con una resistencia interna en una base móvil realizando movimientos alternativos y constando de un captador de temperatura que mantiene el soporte a una temperatura constante. Este movimiento alternativo es importante porque hace que el flujo de gotas llegue a la superficie del soporte de manera uniforme, lo que luego ayuda el crecimiento uniforme de los nanorods de ZnO.

El dispositivo cuenta también con una tobera en que transitan las gotas de solución hacia el soporte. Se puede controlar la presión y el flujo del gas transportador que llega por la manguera de plástico hasta el nebulizador con un sistema neumático.

Las propiedades de las películas delgadas fabricadas por rociado dependen de varios parámetros internos como la temperatura del soporte, el tamaño de las gotas, el ambiente de formación, el gas portador (en este trabajo el gas portador es aire) o la distancia tobera-soporte de rociado (ver D en la figura2) y externos como la concentración y la cantidad de la solución precursora.

4.2.4 Método del montaje a reflujo

El reflujo es una técnica que implica la condensación de vapores y su retorno en el sistema de donde viene. Se utiliza en laboratorios de destilación y de química para calentar soluciones que necesitan mantener su volumen constante.

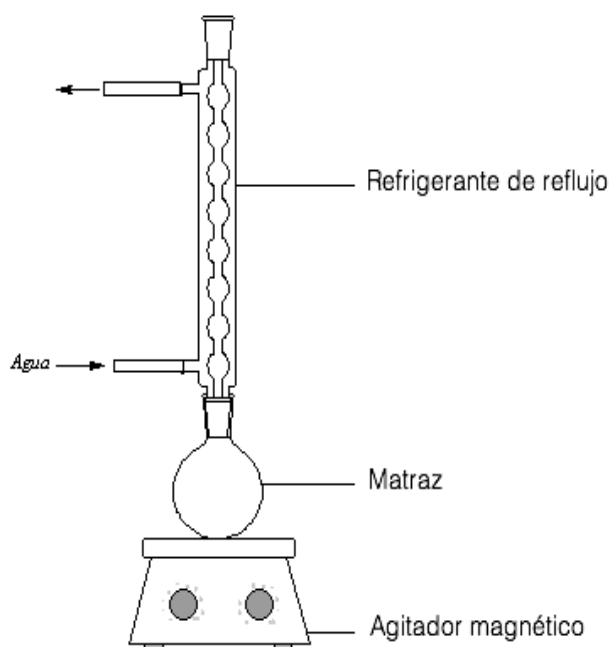


Figura 3 : esquema de un montaje a reflujo

Una solución líquida es colocada en un matraz acoplado a un refrigerante de reflujo.

Al calentar la solución, se produce la evaporación del solvente por el aumento de la temperatura.

El refrigerante consta de una camisa exterior por la cual circula agua fría, lo que permite que las vapores de solvente ascendiendo en su parte interior se condensen volviendo de nuevo en el matraz. Así se mantiene el volumen de solución a lo largo del tiempo de calefacción.

4.2.5 Fotocatálisis heterogénea

La fotocatálisis es un Proceso de Oxidación Avanzada (POA). Este tipo de proceso implica la formación de radicales hidroxilo $\bullet\text{OH}$ de potencial de oxidación muy alto. Estos radicales pueden oxidar componentes orgánicos, como las bacterias, mayormente por abstracción de hidrogeno H, originando una serie de reacciones de degradación oxidativa. Son tóxicos para los organismos ya que atacan las paredes de las células y algunos de sus componentes esenciales como las proteínas.

Porque fue probado que su eficiencia en la eliminación de bacterias y virus es superior a 99,9% y porque se ha comprobado que es posible usar luz del sol como única fuente de irradiación, la fotocatálisis constituye un recurso tecnológico con muchas ventajas para el tratamiento de aguas residuales.

Para llevar a cabo la fotocatálisis es necesaria la activación de un fotocatalizador mediante la absorción directa o indirecta de radiaciones ultravioletas a unas longitudes de onda λ apropiadas.

Así, por cada fotón de luz que incide sobre el material fotocatalítico, se traslada un electrón de su banda de valencia (BV) a su banda de conducción (BC), como se puede observar en la figura 4.

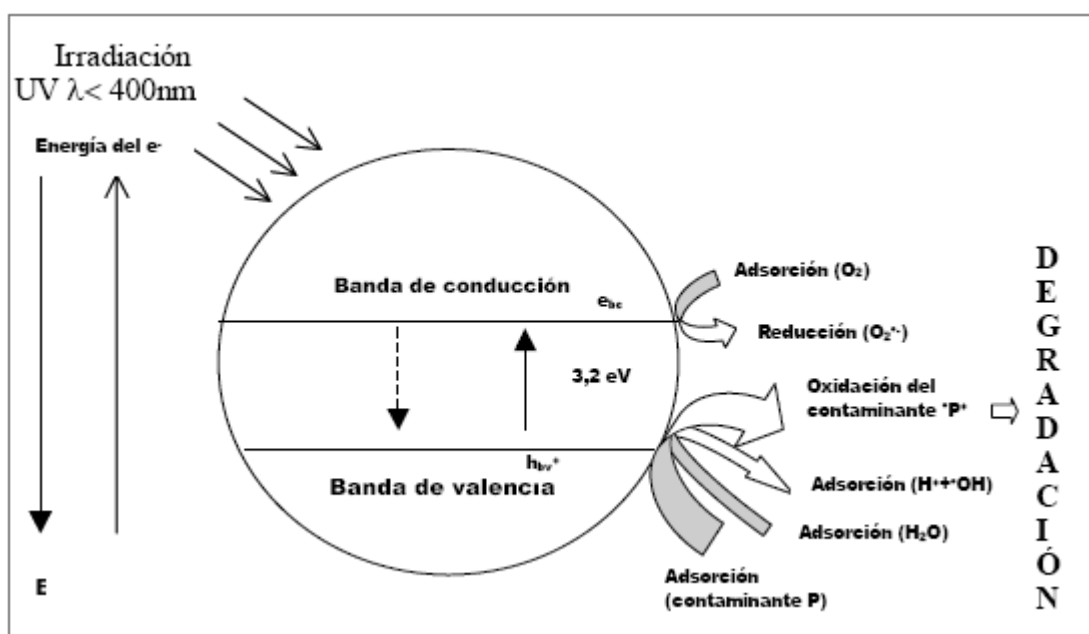


Figura 4 : Diagrama de la banda de energía de una partícula de TiO_2

Recordamos que, en un cristal, la BV corresponde a un grupo de estados de energía llenos y la BC a un grupo de estados de energía vacíos, los dos conformando el espectro de energía de los electrones del cristal. La zona presente entre estas bandas de energía se llama 'Band gap' o banda prohibida y su valor condiciona la naturaleza del material ($0 < E_{\text{semiconductores}} < 4\text{eV}$). En esta zona, no es posible que se quede un electrón por falta de estados de energía.

A partir de este mecanismo de promoción de electrones, se generan los radicales hidroxilo $\bullet\text{OH}$ que reaccionan, a la interfase entre el material y el agua, con los componentes orgánicos degradándolos a CO_2 , H_2O y otras sales.

4.2.6 Bacteria *ESCHERICHIA COLI* (E-Coli)

Descubierta en 1885, es posible que la E-Coli sea uno de los organismos procariotas más estudiados por el hombre.

Se trata de una bacteria que se encuentra comúnmente en los intestinos animales (incluido el humano, del cual compone un 80% de la flora intestinal) y por ende en las aguas residuales. Hace parte de las bacterias cuya presencia es necesaria para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. En efecto, produce vitaminas B y K, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y ayuda a la absorción de nutrientes. Además, se trata de un anaerobio facultativo (no utiliza O_2 en su metabolismo) que se mueve por los flagelos que rodean su cuerpo, no forma esporas, y su prueba de IMVIC (test microbiológico Indol(I) - Rojo de Metilo (M)–Voges-Proskauer(VI) – Citrato(C)) es ++--.

Es un bacilo muy utilizado en microbiología que reacciona negativamente a una tinción llamada la tinción de Gram, tiñéndose de rosa.



Figura 5 : Micrografía de E-Coli x200

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gamma Proteobacteria

Orden: Enterobacterales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: Escherichia

Especie: E-Coli

Aunque la mayoría de las cepas de E-Coli son inofensivas y viven en los intestinos de los seres humanos y animales saludables, algunas producen una toxina que puede engendrar graves enfermedades. Pueden por ejemplo, causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas, tales como infecciones del aparato excretor, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa.

4.2.7 Técnicas de caracterización

En este acápite se describen las técnicas de medición de tamaño y absorbancia (DLS, espectroscopia UV-Visible) y de caracterización estructural y morfológica (SEM, AFM) que se utilizaron en este proyecto.

4.2.7.1 Dispersión dinámica de la luz (Dynamic Light-Scattering)

La dispersión dinámica de la luz (DLS) es una técnica de análisis espectroscópica no destructiva, que permite obtener el tamaño de partículas de 1 a 500 nm aproximadamente, en suspensión en un líquido .

El equipo se compone de un láser, un emplazamiento para colocar una cubeta de plástico con paredes transparentes conteniendo el líquido a analizar y una computadora en que se visualizan los resultados.

Como se puede observar en la figura 6 cuando el haz del láser alcanza pequeñas partículas del líquido en la cubeta, la luz se difunde en todas las direcciones (debido a la Dispersión de Rayleigh), mientras el tamaño de las partículas queda inferior a la longitud de onda.

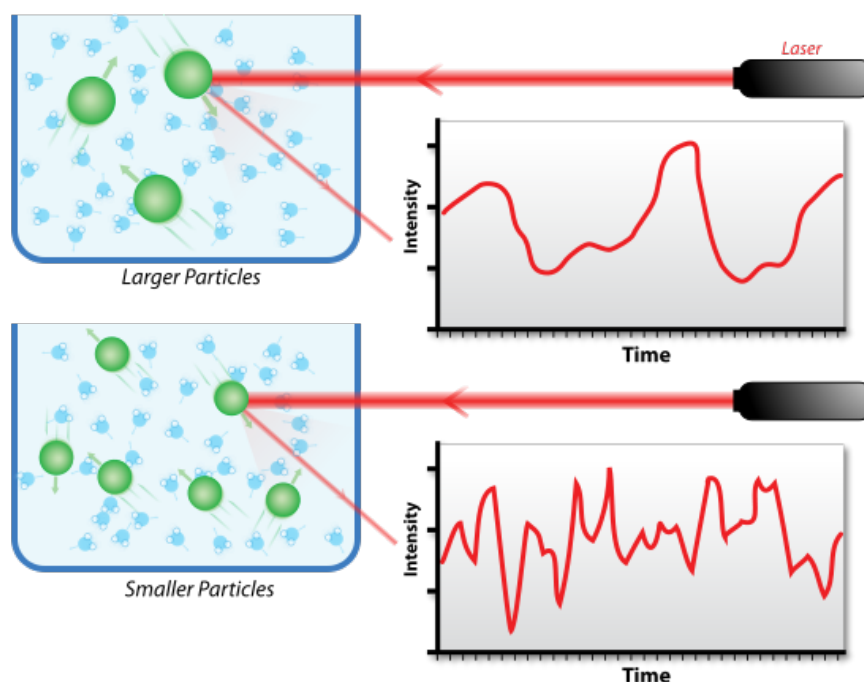


Figura 6 : La intensidad difundida por partículas grandes (menos móviles) varía menos rápido que para pequeñas partículas

Luego, se puede medir y visualizar la variación de intensidad de luz difundida a un ángulo típico de 90° en función del tiempo, las partículas estando moviendo sin parar bajo la agitación térmica.

Por un tratamiento matemático, se puede obtener el diámetro hidrodinámico teórico de las partículas.

Este método no proporciona resultados muy rigurosos. Existe una dispersión de los tamaños de partículas y la presencia de impurezas o agregados en el líquido puede falsear los resultados. Los diámetros obtenidos solo dan una indicación sobre el aspecto de la distribución del tamaño de las partículas en número, volumen o intensidad.

4.2.7.2 Espectroscopía ultravioleta y visible (UV-Visible)

La espectroscopía UV-Visible es un método analítico común para el análisis cuantitativo y cualitativo de las muestras sólidas, líquidas y gaseosas y la identificación de algunos grupos funcionales de moléculas.

El principio de este método está destacado en la absorción de radiación ultravioleta-visible ($200\text{ nm} < \text{longitud de onda} < 800\text{ nm}$) por un determinado material, promoviendo un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía bajo la forma de calor. Este fenómeno se traduce por la atenuación de la intensidad incidente I_0 de la luz a una intensidad atenuada I , al atravesar la muestra. Con lo cual se puede expresar la transmitancia $T = I/I_0$, fracción de radiación que no ha logrado traspasar, y la absorbancia $A = -\text{Log}(T)$.

La ley de Beer-Lambert nos indica que la absorbancia A , a una determinada longitud de onda es proporcional a la concentración C .

$$A = \epsilon b C$$

Donde :

A : absorbancia

ϵ : absorptividad molar ($\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

b : longitud de la cubeta (cm)

C : concentración (mol.L^{-1})

El conocimiento de la cantidad de luz absorbida por una muestra (sólida o líquida) nos permite entonces determinar la concentración de la especie absorbente con precisión y repetibilidad.

Los datos espectrales de absorción se presentan como gráficas de absorción en función de la longitud de onda ($A=f(\lambda)$).

En la Figura 7 se puede observar el diagrama de un espectrofotómetro UV- Visible. La fuente de luz es una lámpara halógena de 20 W de deuterio para el rango UV y de tungsteno para el rango Visible.

Esta luz es orientada por una lente de cuarzo hasta la ranura de entrada de un monocromador de barrido digital.

El monocromador, constituido por dos ranuras, espejos y una red de difracción sirve para aislar la longitud de onda deseada : la luz incidente es reflejada por un espejo hacia un espejo esférico donde es colimada y enviada a la red de difracción,

obteniéndose la dispersión radial, la cual regresa al espejo esférico y de ahí a la ranura de salida del monocromador. La luz que sale es entonces monocromática.

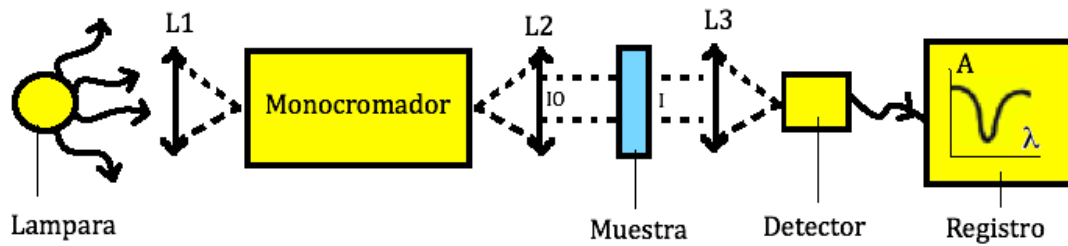


Figura 7 : Diagrama esquemático de un espectrofotómetro UV-Visible

Esta radiación monocromática pasa luego al compartimiento que contiene la muestra sólida o líquida (en cubeta) y es dirigida hacia su centro por una segunda lente de cuarzo.

Al final, una tercer lente de cuarzo enfoca el haz de luz sobre el detector que proporciona los datos necesarios para obtener espectros de absorción o transmisión en un registro.

4.2.7.3 Microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscope)

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es una técnica que permite obtener imágenes morfológicas de alta resolución de la superficie de una muestra. Respecto a un microscopio electrónico tradicional, el uso del SEM proporciona mayor resolución y profundidad de campo e imágenes de apariencia 3-D más fáciles de interpretar.

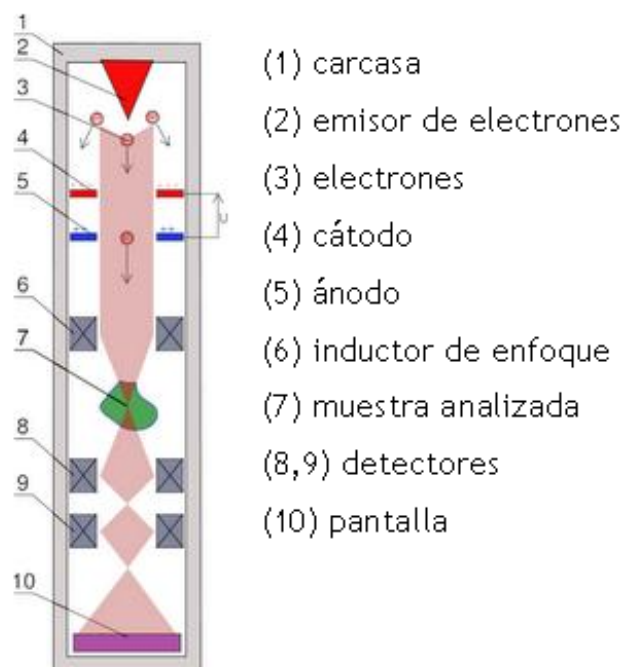


Figura 8 : Esquema de un SEM

El esquema de un microscopio electrónico de barrido se muestra en la Figura 8.

Consiste en un haz de electrones de pequeña sección transversal y de alta energía barreando la superficie de la muestra a examinar que, en respuesta, reemite unas partículas las cuales son analizadas por diferentes detectores, lo que permite reconstruir una imagen 3-D punto a punto en una pantalla de rayos catódicos.

La manera en que se forman las imágenes consiste en enfocar el haz sobre un área muy reducida de la muestra y moviéndolo, rastrear la superficie de ésta. En cada punto o localización temporal del haz se detecta una intensidad promedio que alimenta el filamento del tubo de rayos catódicos, lo cual da una imagen de la muestra en la pantalla. Este proceso da el nombre de microscopía electrónica de barrido.

La calidad de las imágenes obtenidas depende mucho de la calidad de la muestra a analizar. Idealmente, ésta debe ser absolutamente limpia, plana y conducir la electricidad para poder evacuar los electrones. También debe tener dimensiones pequeñas (1 a 2cm). Por eso, la preparación de la muestra es muy importante. Además, las muestras aislantes deben ser cubiertas por una capa de metal.

4.2.7.4 Microscopio de fuerza atómica (Atomic Force microscope)

El microscopio de fuerza atómica (AFM) es un tipo de microscopio a sonda local que permite visualizar la topografía de la superficie de una muestra. Fue un instrumento esencial en el desarrollo de la nanotecnología, para la visualización y caracterización de muestras de tamaño nanométrico.

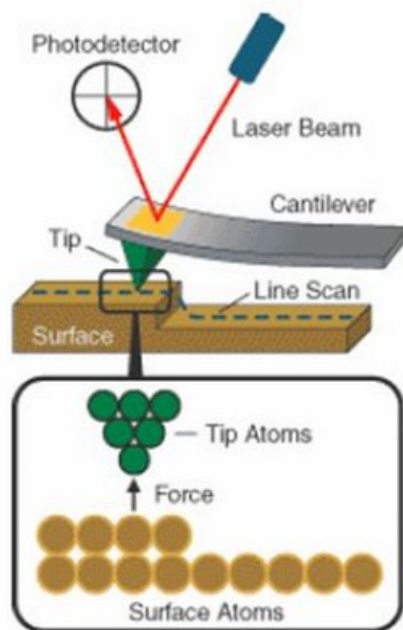


Figura 9 : esquema de los elementos del microscopio de fuerza atómica

Consiste en un análisis punto por punto de una muestra mediante un barrido vía una sonda local, parecida a una punta afilada. Este modo de observación permite realizar la cartografía local de sus propiedades características (fuerza, capacidad, corriente, intensidad de radiación, ...) pero también de trabajar en ambientes particulares como medios bajo vacío, líquidos...

El principio explota los fenómenos de atracción – repulsión entre los átomos de la sonda y los átomos de la superficie de la muestra.

Como se puede observar en la figura 9, un AFM se compone de una punta afilada de forma piramidal o cónica, la sonda, acoplada a una palanca reflectante microscópica. Un haz láser se refleja sobre la palanca y es dirigido hacia un cuadrante de fotodiodos. Cuando la punta oscila por un cambio de topografía de la superficie, se mueve la palanca y por consiguiente, la desviación del láser reflejado indica la desviación de la punta.

5. Trabajo experimental

En este capítulo se detalla el procedimiento seguido para obtener los nanorods de ZnO y para caracterizar las semillas de ZnO y la solución de *Sol-Gel* así como los nanorods. Últimamente, se exponen las experiencias de desinfección fotocatalítica : el desarrollo de la prueba con Rhodamina B seguido del proceso de cultivo y mantenimiento de las bacterias *E-Coli*, la preparación del agua contaminada y el dispositivo experimental de irradiación con lámpara UV-Visible.

5.1 Síntesis de los nanorods de ZnO

Así como se lo mencionó rápidamente en el punto 4.2.1, la síntesis de la estructura de nanorods de Óxido de Zinc consta de dos etapas : la generación de una capa semilla sobre un soporte estableciendo sitios de nucleación bajo la forma de granos cristalinos y luego el crecimiento de estos granos.

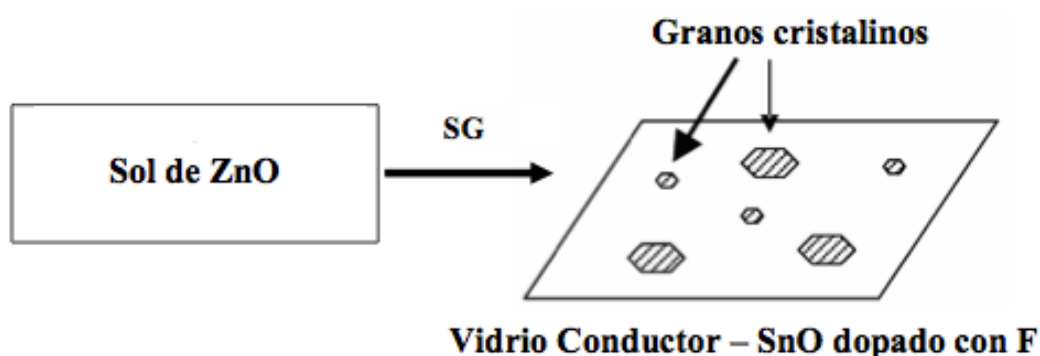


Figura 10 : Generación de una capa semilla por SG

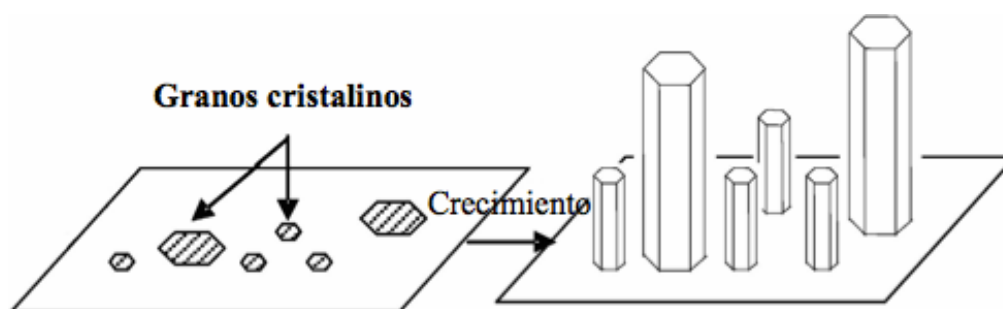


Figura 11 : Crecimiento de los nanorods

5.1.1 Generación de la capa semilla

En primer lugar, se debe preparar la solución de Sol-Gel (también llamada Sol).

Esta solución, hecha a partir de hidróxido de sodio NaOH y de acetato de zinc $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, contiene las partículas de ZnO, en suspensión, que darán origen a los nanorods.

Material necesario :

- 2 vasos de precipitado de 250mL
- 1 vaso de precipitado de 800mL
- 1 matraz
- Sistema de reflujo
- Agitadores magnéticos
- Balanza electrónica
- Hidróxido de sodio NaOH 0,03M (sólido) 98% PA, de EKA
- Acetato de zinc dihidratado $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,02M (sólido) 100% de FERMONT
- Metanol CH_3OH

Se eligieron los reactivos NaOH y $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y la forma de proceder según el estudio de los resultados del trabajo de apoyo citado en 1.2. Los nanorods fabricados de esta manera parecen tener las características más interesantes.

En todo lo que sigue y cada vez que se utilizó material de laboratorio, fue limpiado con mucho cuidado, primero con detergente y agua, luego una solución de ácido nítrico y enjuagado con agua destilada, para eliminar todo riesgo de contaminación de las soluciones preparadas.

Procedimiento :

Se preparó una solución (1) de **0,12g** de hidróxido de sodio **NaOH** 0,03M ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) diluido en **100mL de metanol**.

Por otra parte, se preparó una solución (2) de **0,439g** de Acetato de zinc **$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$** 0,02M diluido en **100mL de metanol**.

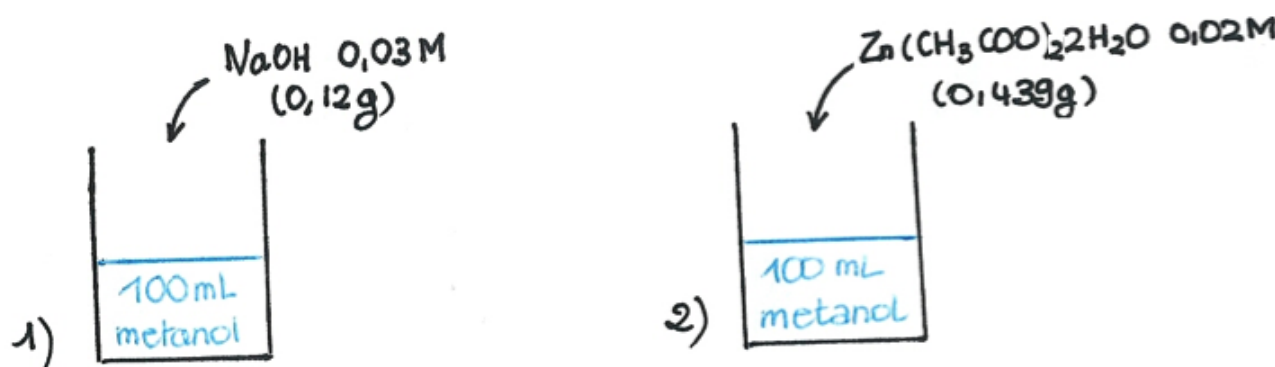


Figura 12 : Reactivos necesarios para la preparación del sol

El metanol, también llamado *methyl alcohol*, actúa como solvente. Se eligen soluciones alcohólicas debido a que, en la siguiente etapa de rociado, su baja viscosidad y tensión superficial facilitan la formación de pequeñas gotas de rociado mientras que su bajo punto de ebullición permite una evaporación rápida del solvente.

Las masas de reactivo necesarias se calcularon de esta manera :

$$m = M * C * V \quad (a)$$

Donde

M : peso molecular de los reactivos ($M_{\text{NaOH}} = 40\text{g/mol}$, $M_{\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}} = 219,5\text{g/mol}$)

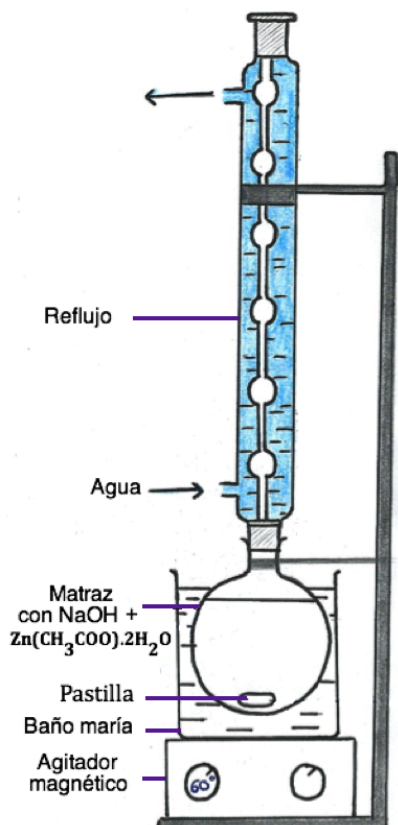
C : concentración de los reactivos ($C_{\text{NaOH}} = 0,03\text{M}$, $C_{\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}} = 0,02\text{M}$)

V : volumen de solución de Sol-Gel que se desea preparar ($V_{\text{NaOH}} = V_{\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}} = 100\text{mL}$)

Por una parte, se calentó al baño maría, a 60°C , la solución (2) en un matraz.

Por otra parte, se agitó y se calentó a 60°C la solución (1) con un agitador magnético. Eso permite la disolución completa de los cristales sólidos de NaOH y de llevar las dos soluciones a la misma temperatura para evitar la formación de partículas no deseadas por un cambio súbito de temperatura durante la mezcla.

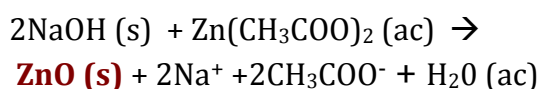
Se echó muy despacio, por un sistema de goteo, la solución (1) a la solución (2). Si la mezcla de las soluciones se hace demasiado rápidamente, se observa la formación de un precipitado blanco indeseado que contamina la solución.



Se calentó y agitó la mezcla durante **2** horas a 60°C , con un sistema de reflujo como se puede observar en la figura 13.

Al final, se dejó enfriar la solución y se puso a la nevera para su conservación.

La reacción siguiente ocurre al momento de mezclar las dos soluciones reactivas :



Se nota que en esta momento se forman las semillas de Óxido de Zinc ZnO. No se pueden con los ojos ya que son de nanotamaño.

Figura 13 : Síntesis del sol con el método del montaje a reflujo

En segundo lugar, se debe rociar a alta temperatura el sol sobre soportes sólidos para crear una película delgada de semillas.

Material necesario :

Para la limpieza de los soportes :

- Baño a ultrasonidos
- Vaso de precipitación
- Agua destilada, detergente y etanol
- Horno

Para el rociado :

- Equipo de rociado pirolítico
- Multímetro
- Cronómetro
- Pinza
- Soportes de vidrio conductor FTO (Libbey Owens Ford glass) rectangulares de dimensión 35*20mm.

El vidrio FTO (Fluorine doped wit Tin Oxyde : $\text{SnO}_2:\text{F}$) es un vidrio recubierto, en una de sus caras, con una capa de Óxido de estaño dopado con flúor, que es un material transparente de la familia de los TCO (Transparent Conductive Oxydes)

Procedimiento :

Primero, se debió proceder a una limpieza cuidadosa de los soportes.

Todos los sustratos se lavaron primero con detergente a mano; luego se llevaron a ultrasonidos, primero en agua destilada (10 minutos) y luego en etanol (20 minutos), para finalmente llevarlos al horno para el secado (100°C).

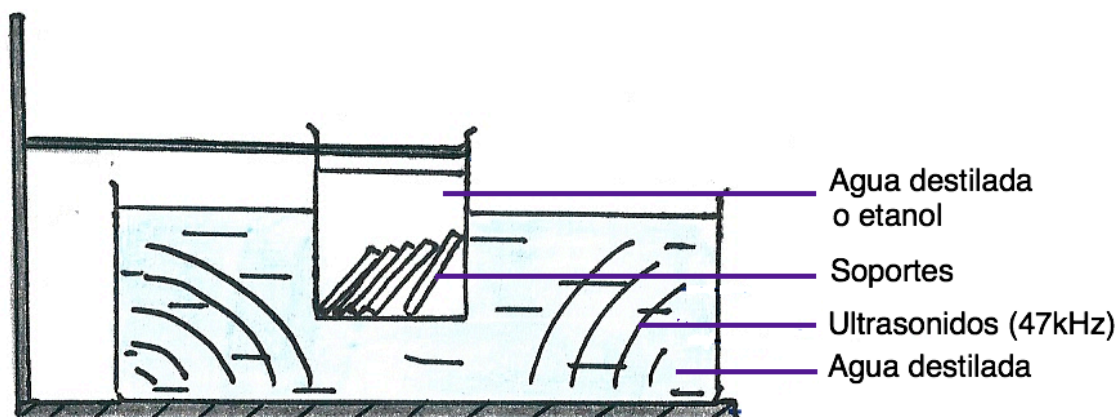


Figura 14 : Baño a ultrasonidos

El baño a ultrasonidos (Ver Anexo 2) funciona según el hecho de que la energía de los ultrasonidos transmitida por el líquido engendra en todos los puntos de la superficie del vidrio una cavitación que genera millones de burbujas microscópicas que arrancan la suciedad, alcanzando hasta las zonas casi inaccesibles.

Luego, se colocó el soporte lavado en el equipo de rociado.

La solución de *Sol-Gel* fue colocada en el nebulizador que se activó mediante una bomba de aire. Se usó aire comprimido como gas transportador de la solución con los siguientes parámetros : flujo : **10 L/min** y presión : **20 psi**. El soporte de vidrio se mantuvo a una temperatura constante de **T = 130°C (± 5°C)**.

Se utilizó esta temperatura alta para evaporar el metanol contenido en el Sol, para conservar únicamente las semillas y asegurar su adherencia con el soporte.

Se verificó con un multímetro la localización de la capa conductora para ponerla abajo hacia la boquilla de la tobera, y se puso en marcha el sistema de desplazamiento lateral. Seguidamente, se pudo poner en marcha la bomba de aire para rociar.

Es importante colocar el sustrato de vidrio con una pinza, porque cualquier huella de grasa dejada por los dedos puede impedir la adherencia de las semillas y por consiguiente, el crecimiento de los nanorods.

Finalmente, se midió el tiempo de rociado necesario para realizar el espesor de capa semilla deseado, y luego se dejó secar el vidrio 5 minutos antes de sacarlo y reemplazarlo por otro, una vez comprobado que la temperatura era estable.

Para analizar la influencia del espesor de la capa semilla en el crecimiento de los nanorods de ZnO, el parámetro que se cambió fue el número de capas rociadas, o sea el número de desplazamientos laterales cuando el horno se traslada desde una extremidad a la otra. Se rociaron muestras de 10, 30 y 50 capas.

Para estudiar la influencia de la distancia de rociado, o sea la distancia entre la parte arriba de la tobera y la superficie del soporte, se rociaron muestras con distancias de 5mm, 10mm y 20mm.

Se conservaron todas las muestras rociadas en una caja con tapón para preservarlas de la humedad del aire.

5.1.2 Crecimiento de los nanorods de ZnO

La segunda fase es el crecimiento de las nanoestructuras de Óxido de Zinc. El proceso es sencillo y se descompone en dos etapas.

En primer lugar, se debe sintetizar una solución química llamada *Solución de Crecimiento*.

Esta solución sirve para bañar los soportes llevando semillas y reaccionar con éstas para que los nanorods crezcan.

Material necesario :

- Un vaso de precipitado de 50mL
- Un vaso de precipitado de 250mL
- Un vaso de precipitado de 800mL
- Hidróxido de sodio NaOH 0,03M (sólido) 98% PA, de EKA
- Nitrato de Zinc $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 0,15M (sólido) 100% de FERMONT
- Agua ultrapura
- Agitadores magnéticos
- Equipo de filtración en vacío

Procedimiento :

Se preparó una solución (3) de **16,8g** de **NaOH** 2,1M ($M_{\text{NaOH}} = 40\text{g/mol}$) diluidos en **200mL** de **H₂O ultrapura** y una solución (4) de **7,84g** de **Zn(NO₃)₂** 0,15M ($M_{\text{Zn}(\text{NO}_3)_2} = 261,44\text{ g/mol}$) diluido en **200mL** de **H₂O ultrapura**.

El agua ultrapura es un agua extremadamente pura que contiene una concentración muy baja de sales, componentes orgánicos, oxígeno, sólidos suspendidos y bacterias. Se obtiene por una filtración avanzada.

Aquí se utilizó el agua ultrapura en vez del metanol porque no es necesario que el solvente se evapore en lo que sigue.

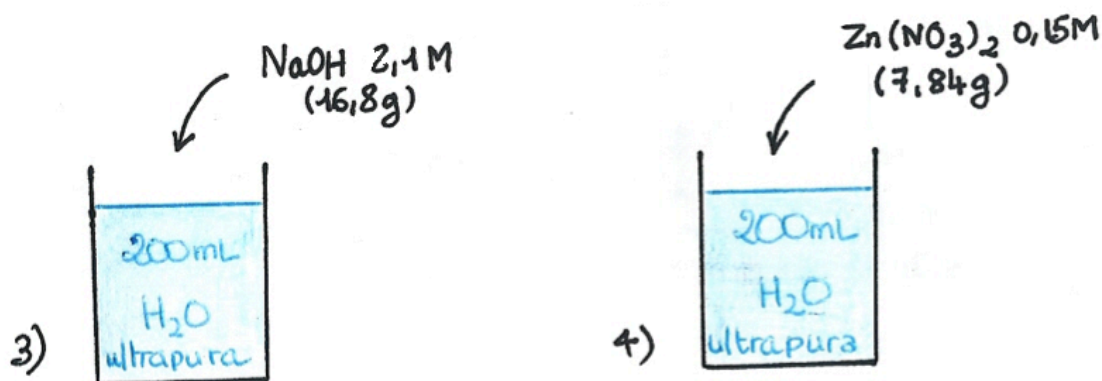


Figura 15 : Reactivos necesarios para la preparación de la solución de crecimiento

Las masas de reactivo necesarias se calcularon con la fórmula (a) empleada en el acápite 5.1.1.

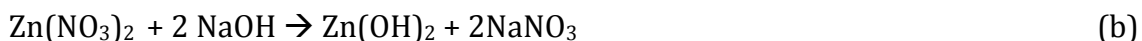
Se prepararon (3) y (4) y se dejó agitarlas sin calentar sobre agitadores magnéticos, tapando los vasos con un film plástico.

Después de 10min, se echó (4) a (3) y se dejó agitar **14 horas**.

Este tiempo de agitación fue sacado de los resultados del trabajo de apoyo, porque parecía proporcionar los nanorods más bonitos pero durante los meses de proyecto, me di cuenta, probando otros tiempos de agitación que se podía obtener mejores resultados con **6 horas**.

Después de este tiempo se pudo observar posos blancos en la mezcla : Está solución siendo supersaturada, se formaron sólidos que precipitaron. (Anexo 3)

La ecuación de la reacción es :



$\text{Zn}(\text{OH})_2$ es el producto que forma el precipitado, que se suele llamar sal residual.

La *solución de crecimiento* se obtiene por filtración en vacío de la solución anterior, cuyo objetivo es separar el líquido y las partículas blancas de precipitado.

Ésta se introduce en un embudo plano con un papel de filtro (ref : DP 150125) colocado al fondo. Se aplica el vacío debajo del embudo con una bomba, lo que succiona la solución, dejando las partículas atrapadas entre los poros del filtro. El resto de la solución, la *Solución de crecimiento*, atraviesa el filtro y se queda en el fondo del matraz. Al final del proceso, ésta debe quedar completamente transparente.

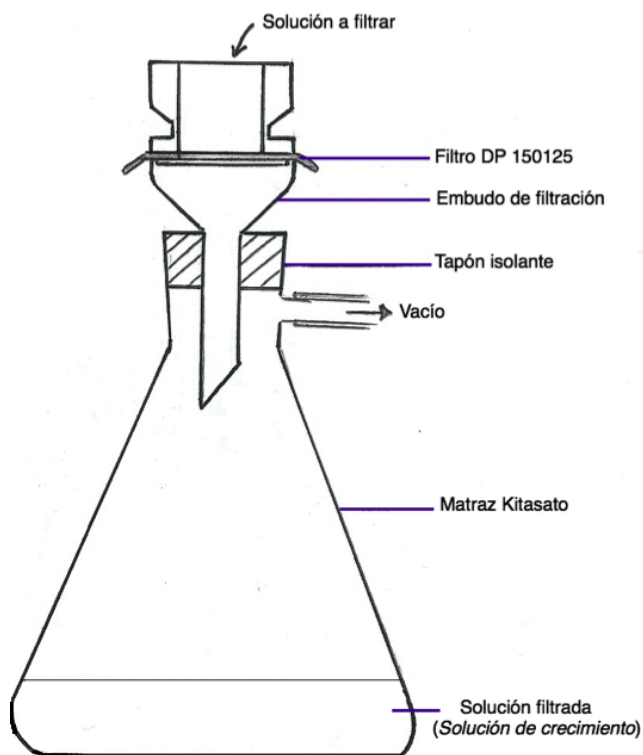


Figura 16 : Dispositivo de filtración en vacío para la obtención de la solución de crecimiento

En segundo lugar, viene el baño de los sustratos con semillas con la *solución de crecimiento*.

Las películas obtenidas por rociado se colocaron en un baño de *solución de crecimiento* en un frasco pirex, en un horno a 90°C, durante ± 1 hora (Figura 17).

La manipulación de esta solución se hizo con mucho cuidado ya que tiene un pH muy alto (pH = 12.5).

Las semillas para volverse nanorods de ZnO y éstos para ganar en materia, utilizan el $\text{Zn}(\text{OH})_2$ presente en la solución de crecimiento.

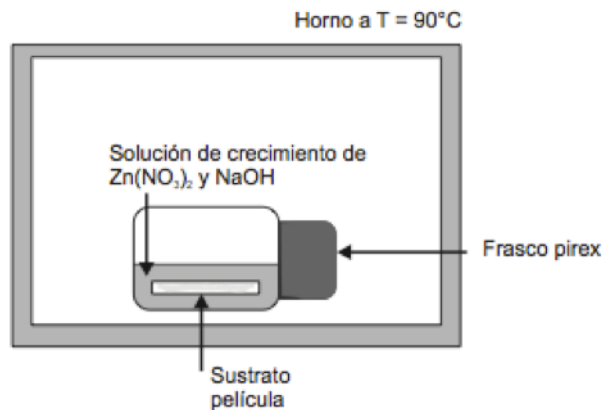


Figura 17 : Tratamiento térmico en el horno

Una vez acabado el tratamiento en la solución, se enjuagaron las muestras con agua destilada y etanol para retirar los sales residuales de la solución y se pusieron unos minutos al horno para su secado.

Al salir del horno, se suele comprobar el buen crecimiento de los nanorods por la presencia de una fina película blanca opaca en la cara donde se encontraba la capa de semillas.

El procedimiento general para la obtención de la *solución de crecimiento* se ve resumido en la Figura 18.

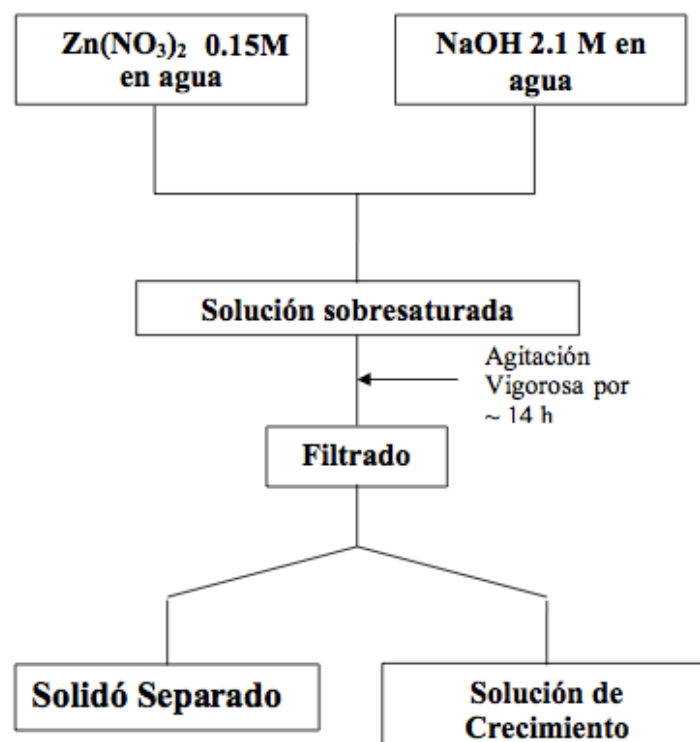


Figura 18 : Procedimiento de obtención de la solución de crecimiento

5.2 Ensayos de caracterización

A lo largo del proyecto, se realizaron dos tipos de caracterización. Por una parte, se caracterizaron las semillas de ZnO, o sea las partículas en suspensión en la solución de *Sol-Gel*. Por otra parte, se caracterizaron los nanorods de ZnO obtenidos.

5.2.1 Caracterización de las semillas

Las semillas de ZnO son entidades que evolucionan con el tiempo. Su nucleación y crecimiento iniciales son procesos muy rápidos, y con más tiempo, el tamaño promedio de las partículas, especialmente cuando están en el sol, sigue aumentando por el efecto dicho de dispersión limitada.

Este acrecimiento de tamaño depende de muchos parámetros como el tipo de solvente, la temperatura de conservación del sol o el tiempo. Sin embargo, para simplificar las cosas, en este trabajo solo importó la evolución natural del diámetro con el tiempo conservando la solución de *Sol-Gel* entre 5°C et 10°C en una nevera.

Durante los meses de proyecto, se hicieron siete soluciones de *Sol-Gel* distintas. Entre éstas, cuatro fueron sometidas a los ensayos de dispersión dinámica de la luz (**DLS**) y espectroscopía **UV-VISIBLE**, a una frecuencia de 1 o 2 veces a la semana, para estudiar la distribución del tamaño de las semillas a lo largo del tiempo.

Se pudo, al final, caracterizar el sol en sí mismo, para determinar su potencial de repetibilidad y cuanto tiempo quedaba estable y se podía utilizar sin riesgos de perjudicar el crecimiento de los nanorods.

También fue medido, por **AFM**, el tamaño promedio de las semillas fijadas sobre el soporte de vidrio después de ser depositadas por rociado.

5.2.1.1 Dispersión dinámica de la luz (Dynamic Light-Scattering)

El equipo de Dispersión dinámica de la luz (DLS) utilizado fue un 90PLUS/BIMAS, MULTI ANGLE PARTICLE SIZING OPTION.

Se estudió el tamaño de las partículas para 4 soluciones de *Sol-Gel* distintas :

- *Sol* (a) hecho el 09/04/2012
- *Sol* (b) hecho el 16/04/2012
- *Sol* (c) hecho el 24/04/2012
- *Sol* (d) hecho el 03/05/2012

El estudio duró un máximo de **35 días** para el *Sol* (a) ((b) : 28días, (c) : 20días y (d): 11días) y con intervalos de tiempo de 2 a 7 días.

Se colocó una cubeta de 1mL de la solución en el equipo de DLS y el programa entregó varias medidas del diámetro de las partículas en suspensión en el líquido a partir de las cuales se calcularon los diámetros promedios (Ejemplo de reporte en Anexo 4).

5.2.1.2 Espectroscopía UV-Visible

El espectrofotómetro que posee el laboratorio tiene las siguientes referencias :
PERKIN ELMER – LAMBDA 25 UV/VISIBLE SPECTROFOTOMETER.

El estudio del tamaño de las partículas fue realizado debajo de las mismas condiciones que con la DLS (4 soles distintos, máximo de **35 días** para el sol (a), intervalos de tiempo de 2 a 7 días), tomando como referencia una cubeta de metanol y eligiendo el rango espectral 250-400nm.

Lo que cambia respecto al método anterior es que para encontrar el tamaño de las partículas, se utilizaron los espectros de absorbancia ($A=f(\lambda)$) proporcionados por el espectrofotómetro *UV-Visible* después de introducir la cubeta de solución.

Se utilizó el **Modelo de masa efectiva** (*effective mass model*) también llamado **Ecuaciones de Brus**, para sacar el radio promedio de las partículas en suspensión en la solución de *Sol-Gel*.

Este modelo de masa efectiva se utiliza, de manera general, para describir la emisión de energía de una partícula cuántica de nanocrystal semiconductor. El radio de la partícula afecta la luz emitida a causa del confinamiento cuántico, por lo que esta ecuación describe los efectos del cambio de radio sobre la longitud de onda emitida.

Se utilizaron las fórmulas:

$$E_g^{nano} = E_g^{bulk} + \frac{h^2}{8m_0r^2} \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1.8e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0r}$$

O sea :

$$r = \frac{-\left(\frac{1.8e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0}\right) + \sqrt{\left(\frac{1.8e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0}\right)^2 + \left(E_g^{nano} - E_g^{bulk}\right) \frac{h^2}{2m_0} \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*}\right)}}{2\left(E_g^{nano} - E_g^{bulk}\right)}$$

Donde

E_g^{nano} : energía de banda prohibida del ZnO

E_g^{bulk} : energía de banda prohibida del bulk (3,2 eV)

e : carga del electrón ($-1,6E^{-19}$ C)

ϵ : constante dieléctrica relativa de ZnO (8,5)

ϵ_0 : constante dieléctrica en el vacío ($8,85 \times 10^{-12}$ C/mV)

h : constante de Plank ($6,6 \times 10^{-34}$ J.s)

m_e^* : masa efectiva del electrón

m_h^* : masa efectiva de los huecos

Se expresa la energía de banda prohibida de ZnO con la fórmula:

$E_g \text{ (eV)} = 1240 / \lambda \text{ (nm)}$ (A. Kastler)

Reemplazando las expresiones por sus valores o expresiones, el radio promedio se pudo calcular con el programa MATLAB con la siguiente fórmula :

$$r \text{ (nm)} = \frac{-0.3049 + \sqrt{-26.23012 + \frac{10240.72}{\lambda_p \text{ (nm)}}}}{-6.3829 + \frac{2483.2}{\lambda_p \text{ (nm)}}} \quad |$$

Todos los datos fueron sacados de los espectros de absorbancia y tratados con la ayuda del programa *Origins*.

5.2.1.3 Microscopio de fuerza atómica (Atomic Force Microscope)

Con la ayuda del laboratorio de nanopartículas de la universidad Nuestra Señora de la Consolación de Lima y su microscopio AFM, se realizaron observaciones de soportes constando de una capa semilla.

Se sacaron fotos a partir de las cuales se pudo realizar directamente mediciones de dimensiones con el programa *ImageJ*. Se hicieron varias medidas con las cuales se calculó el tamaño promedio de las semillas.

5.2.2 Caracterización de los nanorods

Hay varias maneras de caracterizar nanoestructuras. Lo que se hizo en este trabajo es observar, por SEM y AFM, la morfología, densidad, orientación y tamaño de los nanorods de ZnO.

5.2.2.1 Microscopio de barrido electrónico (Scanning Electron Microscope)

Las observaciones fueron realizadas con la ayuda del profesor Clemente LUYO, con el SEM del laboratorio de microscopía electrónica de la Facultad de Ciencias de la UNI. Tiene las referencias : FEG-SEM ZEISS SUPRA. 40. (Anexo 5)

Después de una primera observación que fue la superficie de un soporte de vidrio yermo (sin semillas ni nanorods) con el fin de poder comparar los resultados del estudio con una imagen de referencia, se estudiaron muestras llevando nanorods de ZnO crecidos a partir de indiferenciadas soluciones de *Sol-Gel*.

Se analizó la influencia del espesor de la capa semilla y de la distancia de rociado a partir de dos situaciones:

Por una parte, se mantuvo la distancia de rociado fija ($D=5\text{mm}$), y se varió el número de capas rociadas :

- $n = 10$ capas
- $n = 30$ capas
- $n = 50$ capas

y por otra parte, se mantuvo el número de capas fijo ($n=30\text{capas}$), y se varió la distancia de rociado tobera-sustrato :

- $D = 5\text{mm}$
- $D = 10\text{mm}$
- $D = 20\text{mm}$

Procedimiento :

Las muestras se pegaron con celo sobre una base de metal de forma circular y de altura 3cm, con una marca para recordar la orientación y diferenciar el tipo de muestra.



Figura 19 : Preparación de las muestras para la observación con el SEM

Luego, se recubrieron las muestras con una tira de cobre y una capa de oro integral ("Sputter Coating"). En efecto, hace falta que toda la superficie de la muestra sea eléctricamente conductora y vinculada al suelo para evitar una acumulación de cargas electroestáticas en la superficie, que impediría una buena observación (La superficie sería turbada). Por eso, el cobre se utiliza para hacer el contacto entre la muestra y la base, porque puede que la capa de oro no llegue hasta los costados de la muestra. El oro se emplea porque posee partículas de tamaño menor que la resolución del equipo, así que no molesta la observación.

Además, y para completar las observaciones, un conjunto de muestras fue enviado a un laboratorio socio de Buenos Aires - Argentina que disponía de un SEM con mejores prestaciones y que me mandó las fotos de los resultados.

Todas las imágenes fueron luego examinadas con el programa *Image J*.

5.2.2.2 AFM

Las observaciones fueron realizadas en el seno del laboratorio de nanopartículas de la universidad Nuestra Señora de la Consolación de Lima, con la ayuda de especialistas del AFM.

Infortunadamente, solo pude ir una única vez durante toda mi estadía. Esta vez era para los dos laboratorios, la primera y en cierto modo una prueba. Fue muy concluyente pero no tuve otras oportunidades de ir por algunas razones administrativas y económicas del laboratorio de películas delgadas de la UNI.

Así que se estudió solo una muestra de vidrio constando de nanorods crecidos a partir de una capa semilla de 30 pasadas.

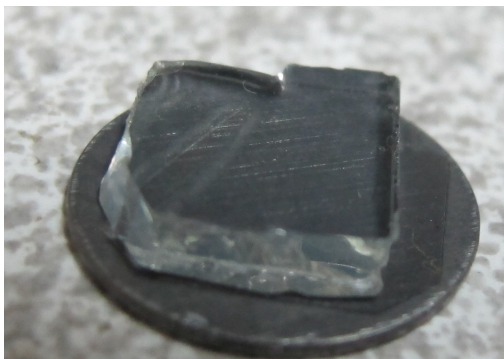
El AFM que se utilizó fue un NANOSCOPE IIA (IIIA) VEECO INC constando de un scanner TIPO E con puntas de silicio PPP-NCH.

Procedimiento :

Un AFM cuenta con sus propios soportes para observar las muestras. Son bases de metal coronadas de una placa delgada de mica de silica (Ref : PELCO MICA CAT # 52 2*3).

La muestra tiene que respetar dimensiones estrictas para ser colocada en el espacio de observación : superficie < 1cm² y espesor < 2mm.

Se tuvo que cortar la muestra de vidrio con medios caseros : corte con tijeras en agua.



La adquisición de las imágenes fue realizada con el modo *Tapping* de 2µm de lado a una resolución de 512 pixeles.

Las imágenes fueron luego analizadas con el programa informática *Image J*.

Figura 20 : Porta-muestra para el AFM

5.3 Pruebas de desinfección fotocatalítica

Para evaluar la eficiencia de los nanorods de ZnO para la desinfección fotocatalítica del agua contaminada, se realizaron dos tipos de pruebas de desinfección fotocatalítica :

En primer lugar, se hizo una prueba “teórica” con **Rhodamina B** y en segundo lugar, con la ayuda de una investigadora de la sección biología de la Facultad de Ciencias, varios ensayos de desinfección con verdaderas **bacterias E-coli**.

5.3.1 Prueba posterior sin bacterias

Antes de empezar directamente las pruebas con bacterias E-Coli, se probó la eficiencia de las muestras de nanorods para la desinfección con un ensayo de escasa complejidad necesitando material de partida sencillo y de bajo costo. Por eso, se utilizó el test de la Rhodamina.

Material necesario:

- Vaso de precipitado de 1L
- Matraz de 1L
- Lámpara UV-Visible ULTRA VITALUX (OSRAM) 300W-230V
- Colorante rosa : Rhodamina B
- Soporte de vidrio con nanorods
- Agitador magnético
- Agua destilada

Procedimiento :

La solución que sirvió de agua contaminada se preparó añadiendo unos **10g** de **Rhodamina B** en polvo a **1L** de **agua destilada**. (Anexo 6)

La Rhodamina B es un compuesto colorante orgánico, es decir constituido de muchos átomos de Carbono C y Hidrogeno H. Su formula es $C_{28}H_{31}N_2O_3 \cdot Cl$. Se encuentra vendido bajo la forma de polvo marrón - rosado.

En un lugar oscuro, y debajo de una lámpara UV-Visible de intensidad **1,2mW/cm²** reproduciendo las radiaciones naturales del sol, se colocó un vaso conteniendo 500mL de la solución colorada preparada y una muestra de nanorods de ZnO. Se dejó agitar unos minutos para uniformizar la acción fotocatalítica del Óxido de zinc.

Se suele concluir que el test es positivo si la solución pasa del color rosa al color transparente.

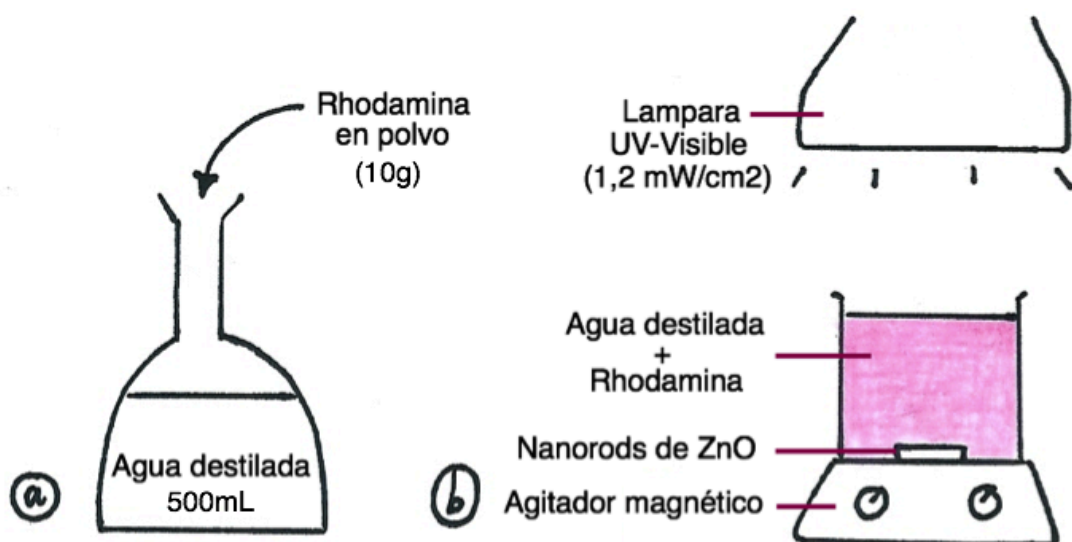
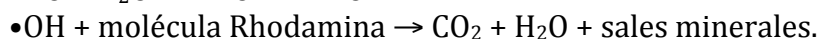
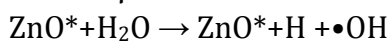
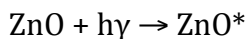


Figura 21 : Realización del test de la Rhodamina B

Como fue explicado en el acápite 4.2.5, la absorción de la luz por los nanorods produce radicales hidroxilos $\bullet\text{OH}$, que reaccionan con las moléculas orgánicas de Rhodamina para formar dióxido de carbono CO_2 , agua H_2O y sales minerales, lo que explica el cambio de color.

La degradación fotocatalítica, en el caso de los nanorods de ZnO , da lugar a una serie de reacciones en cadena:



Se hubiera podido elegir también una prueba con otro colorante orgánico : el metil de naranja, que es muy utilizado en este tipo de prueba.

5.3.2 Prueba con bacterias E-Coli

Se realizaron varias pruebas de desinfección fotocatalítica del agua contaminada con verdaderas cepas de bacterias E-Coli, cultivadas y conservadas en el Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias.

La etapa de cultivo de las bacterias no se hizo específicamente para este proyecto, así que no pude participar personalmente en las operaciones, pero todo lo que sigue, de la preparación del agua contaminada hasta la realización de las pruebas de desinfección fue desarrollado en colaboración con una investigadora de este laboratorio.

5.3.2.1 Cultivo y conservación de las bacterias E-Coli

La preparación de los medios de cultivo se hace cada 2 semanas en anticipación. La cepa de bacterias E-Coli se renueva aproximadamente cada 20 días.

Procedimiento :

El procedimiento siempre es lo mismo : las bacterias, del tipo deseado, se compran en placa. No son numerosas así que necesitan crecer y multiplicarse.

Se raspan las bacterias fuera de las placas con un asa de siembra (aguja recta o redonda) y se depositan sobre placas de Petri esterilizadas, con un medio cultivo : el caldo Lauril Sulfato.

Se dejan crecer las bacterias. Crecen muy bien a temperatura ambiente, pero para más rapidez, se colocan en un autoclave durante 15min a 121°C y 15psi de presión, y se las deja enfriar.



Figura 22 : Cultivo de bacterias E-Coli (laboratorio de biología de la UNI)

Se colectan las bacterias : Primero, se raspa el cultivo, luego se ponen las bacterias en tubos con jalea bajo agitación y calentamiento. En este momento, se multiplican las bacterias : Las E-Coli son las que se dividen más rápidamente, a razón de una división cada 15min.

Los tubos se colocan en una centrifugadora para separar la jalea de las bacterias.

Se recupera la cepa de bacterias E-Coli bajo la forma de polvo (Figura 23), y se conserva en la nevera para usar cada vez que se necesite. (Más fotos en Anexo 7).

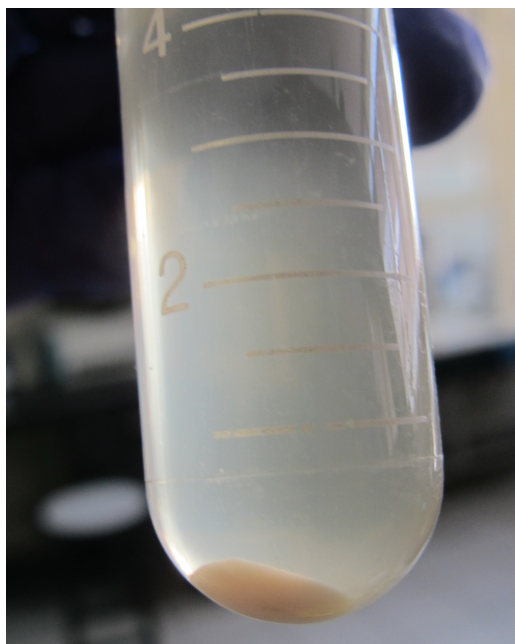


Figura 23 : Después de la centrifugación, se notan las bacterias en polvo en el fondo del tubo

5.3.2.2 Preparación del agua contaminada

Un día antes de cada prueba, se colectó 1,5L de agua del grifo, y se dejó reposar 24h al aire libre para que el cloro se evapore.

La investigadora del laboratorio de biología trajo un concentrado de bacterias en tubo (ver Figura 24), preparado de antemano, de concentración **$1,5 \cdot 10^8$ bacterias/mL**.



Se hicieron 5 pruebas de desinfección distintas, cambiando la cantidad inicial de bacterias. (**$1 \cdot 10^6$ bac./mL**, **$1 \cdot 10^5$ bac./mL**, **$1 \cdot 10^3$ bac./mL**)

Para cada una, se preparó la contaminación artificial del agua con E-Coli partiendo del concentrado que fue diluido tantas veces como necesarias para llegar aproximadamente a la concentración deseada de bacterias. Para eso, se cogieron unos **$100 \mu\text{L}$** de esta solución que fueron mezclados con diferentes volúmenes de agua destilada. Finalmente, y después de bien agitar, se añadió a los 1,5L de agua.

Hace falta mezclar bien la solución final con una varilla de vidrio, durante unos 5 minutos, para obtener una distribución de bacterias uniforme en el agua.

Figura 24 : Concentrado de bacterias de **$1,5 \cdot 10^8$ bacterias/mL**

Los laboratorios no poseyendo ningún medio para medir correctamente la cantidad de bacterias inicial, éste era aproximada. Pero se pudo comprobar después de las pruebas.

5.3.2.3 Sistema experimental para la prueba

En esta prueba de desinfección fotocatalítica del agua, se deseó comprobar el poder fotocatalizador de los nanorods de ZnO, pero también, a la vez, estudiar la influencia del método de desarrollo de las semillas, es decir observar si los nanorods proviniendo de semillas preparadas por *Sol-Gel* eran más eficientes que los nanorods proviniendo de semillas preparadas por *Spray-Pirolisis*.

Por eso, lo pedí a la Sra. Violeta GARCÍA ("*Síntesis de los nanorods de ZnO a partir del método Spray-Pirolisis (SP), su caracterización y posterior evaluación para la desinfección fotocatalítica del agua contaminada*". Ver 1.3) una de sus muestras de SP.

Hay que notar que entre todas las muestras de nanorods utilizadas en estas pruebas, solo varió el parámetro "método de síntesis de las semillas", manteniéndose fijos el espesor de semillas ($n=30$ capas), y la distancia de rociado ($d=5\text{mm}$).

Material necesario :

- 3 vasos de precipitado de 1L
- Agua contaminada
- 1 muestra de nanorods de ZnO preparada por *Sol-Gel* ($n=30$ capas, $d=5\text{mm}$)
- 1 muestra de nanorods de ZnO preparada por *Spray-Pirolisis* ($n=30$ capas, $d=5\text{mm}$)
- Lámpara UV-Visible ULTRA VITALUX (OSRAM) 300W-230V
- Radiómetro
- Equipo de filtración en vacío
- Caldo Lauril Sulfato
- Medios cultivos en cajas
- Micropipeta

Procedimiento :

En tres vasos de precipitado distintos, se echaron 500mL de agua contaminada con bacterias E-Coli preparada según el procedimiento enunciado en 5.3.2.2, sumergiendo, en los dos primeros, las muestras de nanorods de SG y SP, respectivamente, con el lado de la película hacía arriba. El tercer vaso de precipitado sirvió de "control" o testigo y no contenía nada excepto el agua contaminada.

Dentro de un espacio oscuro y cerrado, los vasos fueron colocados debajo de la lámpara UV-Visible (idéntica a la utilizada para el test de la Rhodamina) de tal manera que todos estuvieran irradiados con la misma intensidad de luz. Para comprobar la irradiación, se utilizó un radiómetro (Anexo 8).

Se puede observar el dispositivo en el siguiente esquema :

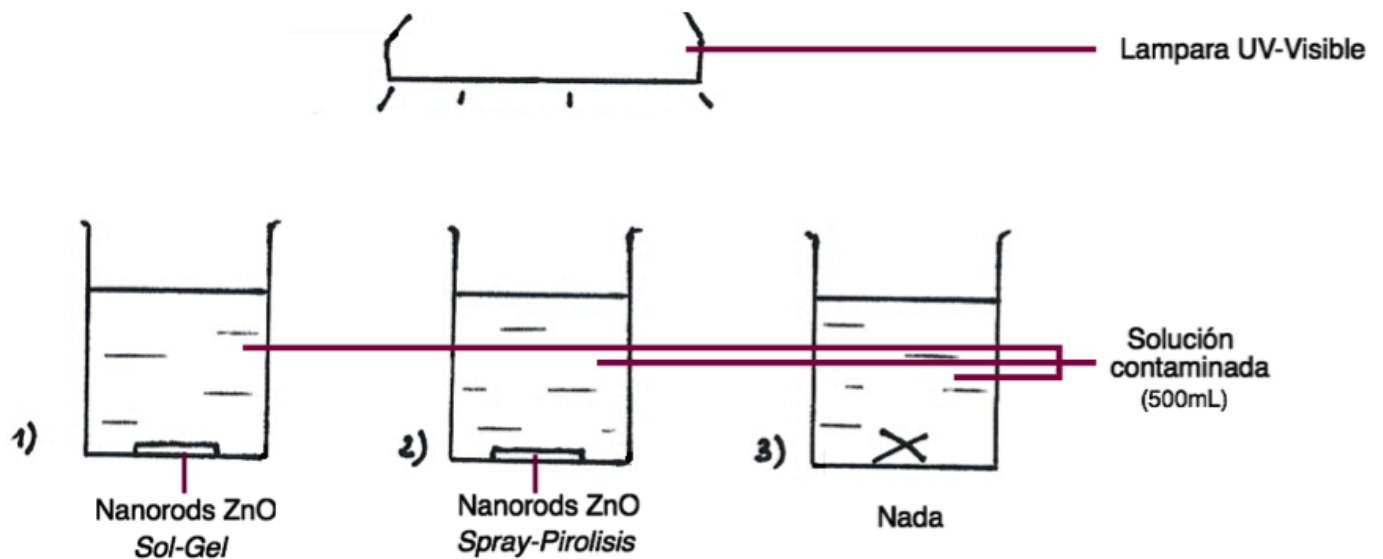


Figura 25 : Dispositivo experimental de desinfección fotocatalítica

Mientras que se irradiaban los nanorods de ZnO, se preparó el material para el posterior conteo de las bacterias.

En 11 cajas de vidrio, se colocó una almohadilla (papel absorbente) con la ayuda de un dispensador y se agregaron 2,5mL de caldo Lauril Sulfato (medio cultivo de color rojo). En estas cajas se depositaron más adelante las bacterias sacadas de los vasos (Ver Figura 25).

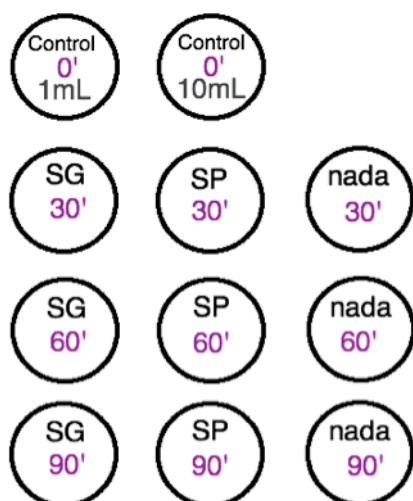


Figura 26: Cajas de deposición de las E-Coli filtradas, para su posterior conteo.

Se tomaron 3 muestras durante la irradiación : una después de 30 minutos, la siguiente después de 45 minutos y la última después de 90 minutos. Para cada vaso, se agitó la solución para uniformizar la repartición de la población de bacterias, y con la ayuda de una micropipeta, se echaron **10mL** del agua en el embudo del equipo de filtración en vacío. En el momento de hacer el vacío, las bacterias presentes en el agua quedan atrapadas en el filtro mientras que el resto de la solución pasa a través, y se queda en el fondo del matraz.

Cada filtro fue depositado en la cajita de cultivo apropiada, según el esquema presentado en la Figura 26. (Ver el procedimiento en fotos en Anexo 9)

Las dos cajas de control sirvieron para contar el número de bacterias presentes al principio de la prueba (sin que ninguna acción de desinfección haya tenido lugar). Se filtraron dos volúmenes distintos (1mL y 10mL) por vacío según el método descrito arriba, porque no se sabía de antemano cuál sería más adaptado para distinguir y contar todas las bacterias.

Las cajas fueron trasladadas al laboratorio con cuidado para ser incubadas a 37°C durante 18 horas.

Al cabo de este tiempo, se realizó con una lupa el conteo de las unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml), lo que expresa el número de colonias por la dilución a la que se trabajó.

En esta prueba de desinfección, se utilizaron verdaderas bacterias, así que fue necesario tener especial cuidado con la limpieza del material y del ambiente de trabajo. Por eso, cuando se acabó, se realizó una esterilización del equipo de filtración y de los vasos de precipitado usando lejía y metanol.

6. Análisis de los resultados

En este apartado, se exponen y explican los resultados facilitados por los distintos estudios llevados, tanto del punto de vista de la medida del tamaño de las semillas y de los nanorods de ZnO, como de su caracterización estructural y morfológica así como el análisis de la influencia de los distintos parámetros estudiados y las conclusiones sacadas al fin de las pruebas de desinfección.

6.1 Caracterización de las semillas

Recordamos que en esta parte, se intentó caracterizar el diámetro promedio de las semillas por varias técnicas, con el fin de conocer su evolución con el tiempo, y poder al final caracterizar la solución de *Sol-Gel* que es al origen de los nanorods.

6.1.1 Tamaño de partículas obtenido por dispersión dinámica de la luz (DLS)

Parámetros :

- 4 soles distintos
- t = 35 días máx. para el sol (a), intervalos de tiempo de 2 a 7 días.

En la siguiente tabla aparecen los resultados del estudio : los **diámetros promedios** en **nanómetros** de las semillas, o sea las partículas en suspensión en el Sol líquido.

	11-Abr	13-Abr	16-Abr	19-Abr	23-Abr	26-Abr	04-May	09-May	14-May
días Sol (a) (09/04)	2	4	7	10	14	17	25	30	35
	3.86	6.9	5.2	5.68	6.89	5.47	12.1	16.24	35.4
días Sol (b) (16/04)			0	3	7	10	18	23	28
			3.16	3.58	2.45	2.86	6.55	10.97	13.6
días Sol (c) (24/04)						2	10	15	20
						5.79	14.1	131.4	3.9
días Sol (d) (03/05)							1	6	11
							2.78	2.99	4.02

Tabla 1 : Diámetros promedios de las semillas de ZnO para 4 soles distintos a lo largo del tiempo - DLS

Las fechas que aparecen en la primera columna debajo de los diferentes soles son las fechas respectivas de realización de las soluciones.

La línea *días* indica el número de días de existencia de la solución de *Sol-Gel* a partir de su fecha de síntesis.

Es posible realizar el gráfico del **diámetro de las partículas en función del tiempo de existencia del sol** para cada uno de los soles estudiados:

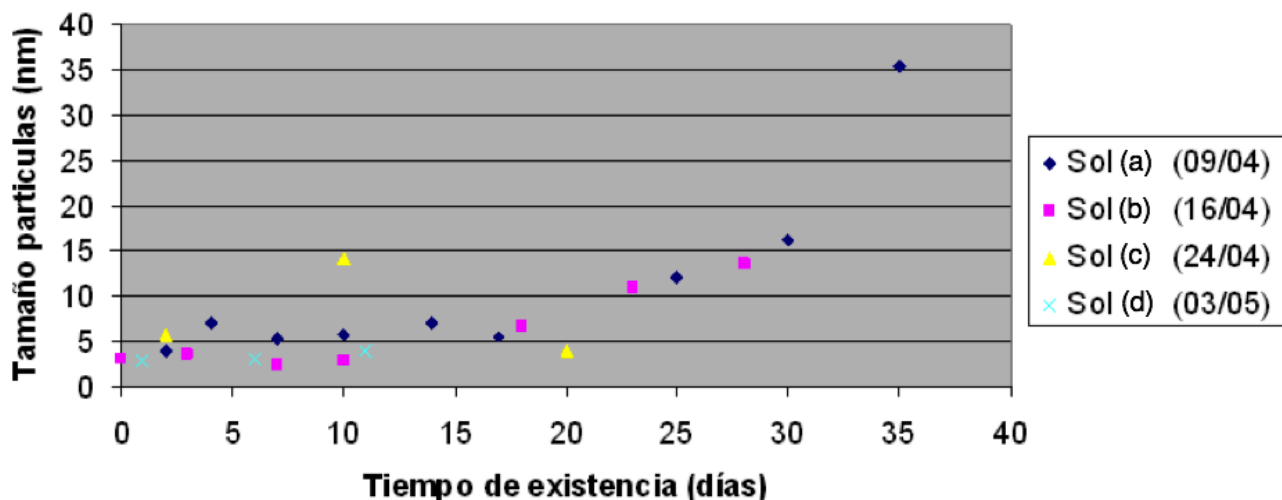


Figura 27 : Gráfico de la evolución del diámetro promedio de las partículas de ZnO en función del tiempo de existencia del sol

Observaciones :

Hay que mencionar que los valores muy grandes que se puede observar (ej : 131,4 nm para el sol (c)) pueden provenir de la medición del tamaño de un conjunto de partículas agrupadas así como de polvo o de la presencia de huellas de grasa sobre las paredes la cubeta de plástico. No se tendrán en cuenta.

Excepto para el sol (c), se ve claramente que todos los datos siguen la misma tendencia: las partículas de ZnO se vuelven **más gruesas** con el tiempo.

Se nota también que, comparando dos soluciones de *sol-gel* distintas con un tiempo de existencia idéntico, se nota poca diferencia de tamaño (< 4nm). Con lo cual se puede afirmar que el sol que se preparó a partir de los componentes químicos y cantidades elegidos, es **repetible**.

Se puede decir que el sol es más o menos **estable durante los 20 primeros días**. Es decir que durante este tiempo, hay poca variación del tamaño de las partículas dentro del sol en el mismo y entre dos soles distintos (preparados en fechas distintas). Durante este periodo, el tamaño de las partículas está comprendido entre **3nm y 10nm**.

Después de 20 días, las partículas crecen mucho; además, se observó que después de este tiempo, el sol tomó una coloración blanquita como si un precipitado se hubiera formado.

6.1.2 Tamaño de partículas obtenido por espectroscopía UV-Visible

Parámetros :

- 4 soles distintos
- $t = 35$ días máx. para el sol (a), intervalos de tiempo de 2 a 7 días.

Se obtuvieron por espectroscopía los espectros de absorbancia $A=f(\lambda)$ de los distintos soles. A partir de los pendientes de las curvas, como mostrado en Figura 29, se sacaron las longitudes de onda λ correspondientes a las bandas prohibidas E_g ($\lambda = 1240/E_g$).

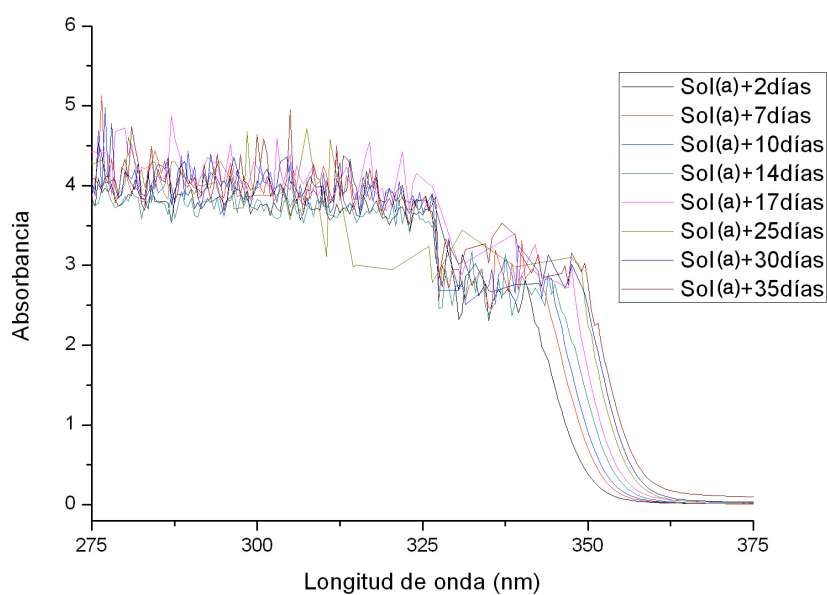


Figura 28 : Espectro de absorbancia $A=f(\lambda)$ del sol (a) a lo largo de su tiempo de existencia

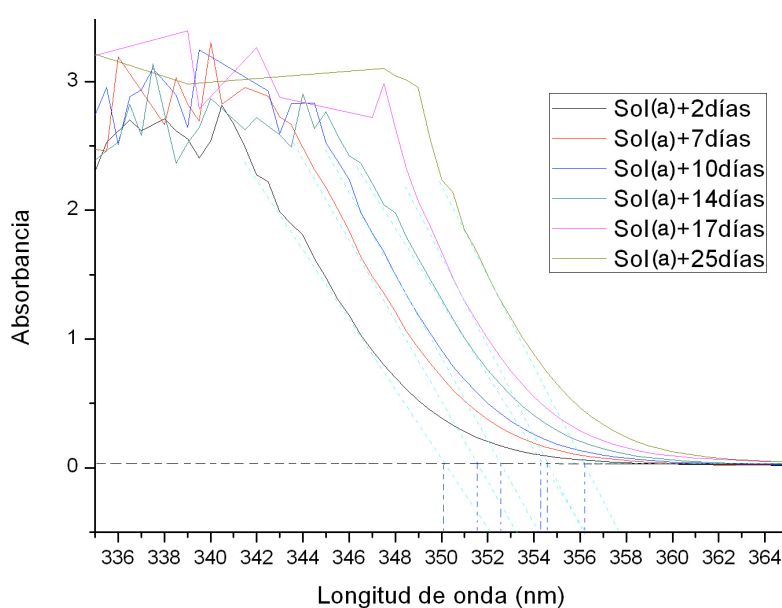


Figura 29 : Procedimiento para encontrar los valores de λ y E_g

A partir de estos datos, se pudo calcular con MATLAB los **diámetros promedios** de las partículas en **nanómetros**, como explicado en el acápite 5.2.1.2 :

	11-Abr	16-Abr	19-Abr	23-Abr	26-Abr	04-May	09-May	14-Mayo
Sol (a) (09/04)	2	7	10	14	17	25	30	35
λ (nm)	350.2	351.6	352.7	354.6	355	356.2	356.6	356.9
Eg (eV)	3.54	3.53	3.52	3.50	3.49	3.48	3.48	3.47
Diámetro partículas	4.04	4.11	4.17	4.27	4.29	4.36	4.38	4.40
Sol (b) (16/04)		0	3	7	10	18	23	28
λ (nm)		345.6	347.3	350.5	352.2	357.5	359.2	360.1
Eg (eV)		3.59	3.57	3.54	3.52	3.47	3.45	3.44
Diámetro partículas		3.84	3.91	4.06	4.14	4.44	4.54	4.61
Sol (c) (24/04)					2	10	15	20
λ (nm)					346.8	350	351.9	353.3
Eg (eV)					3.58	3.54	3.52	3.51
Diámetro partículas					3.89	4.03	4.12	4.20
Sol (d) (03/05)						1	6	11
λ (nm)						347	349.4	351.2
Eg (eV)						3.57	3.55	3.53
Diámetro partículas						3.89	4.00	4.09

Tabla 2 : Diámetros promedios de las semillas de ZnO para 4 soles distintos a lo largo del tiempo – UV/Vis

Es también posible realizar un gráfico del **tamaño de las partículas en función del tiempo de existencia del sol** para cada uno de los soles estudiados:

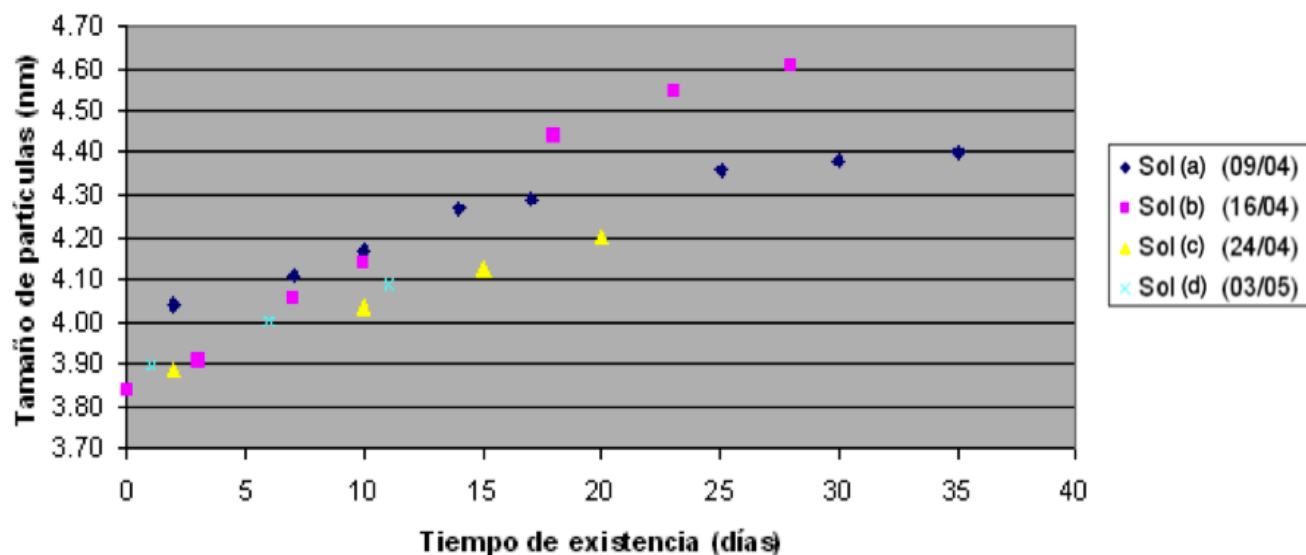


Figura 30 : Gráfico de la evolución del diámetro promedio de las partículas de ZnO en función del tiempo de existencia del sol

Observaciones:

Se calcularon los valores experimentales de la energía de banda prohibida E_g de las partículas de ZnO para comparar con el valor teórico del óxido de zinc : $E_g = 3.37$ eV. Se puede ver que los valores obtenidos son más altos pero que disminuyen con el tiempo.

Concerniendo el tamaño de las partículas, se puede observar otra vez que todos los soles presentan un **crecimiento de las partículas** con el tiempo aunque menos marcado aquí que con el método anterior.

El tamaño promedio de las semillas de ZnO, obtenido con este método es bastante estable y varía entre **3.8 nm y 4.5 nm**.

Sin embargo, aquí no se puede observar el tiempo de estabilidad del sol con estos datos.

6.1.3 Tamaño de partículas obtenido por microscopía de fuerza atómica (AFM)

Mientras que las dos técnicas presentadas en 6.1.1 y 6.1.2 proporcionaron el tamaño de las **partículas en suspensión** en la solución de *Sol-Gel*, la presente técnica del AFM permitió obtener fotos de una muestra, de las cuales se sacaron los diámetros promedios de las **semillas rociadas** sobre el soporte.

Con el programa *ImageJ*, se hicieron varias mediciones del tamaño promedio de las partículas, como se puede ver en la Figura 31.

La observación solo se pudo realizar para un tipo de muestra ($n=50$ capas, $d=5$ mm)

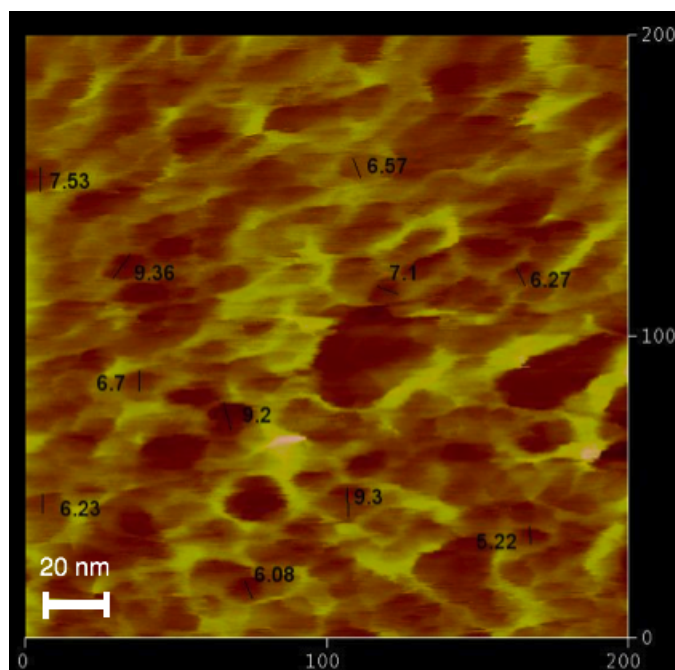


Figura 31 : Medición del diámetro de las semillas de ZnO con ImageJ.
Muestra N=50capas, d=5mm

Los datos medidos aparecen en la tabla siguiente, así como la media, la desviación estándar (DE) y los valores mínimo y máximo:

	Diámetro promedio de las partículas	Media	8.54 nm
1	7.76	DE	1.8
2	12.53	Min.	4.92 nm
3	10.44	Max	12.53 nm
4	10.97		
5	7.98		
6	10.46		
7	10.47		
8	8.42		
9	10.29		
10	6.89		
11	8.77		
12	9.57		
13	7.95		
14	10.25		
15	9.41		
16	6.80		
17	9.12		
18	6.86		
19	8.37		
20	5.83		
21	7.47		
22	4.92		
23	6.78		
24	7.25		
25	7.85		

Tabla 3 : Diámetros promedios de semillas de ZnO rociadas sobre un soporte de vidrio (30capas, 5mm)
- AFM

Observaciones:

De esta forma, se obtuvo un diámetro promedio de las semillas rociadas de **8.54 nm** para la muestra considerada. La medición de las semillas rociadas facilita lógicamente un valor de diámetro más alto que las semillas en suspensión en los soles, ya que se ven agrupadas y superpuestas por lo que es más difícil diferenciarlas.

Sin embargo, esta medida permitió averiguar que el orden de tamaño de las partículas corresponde a los resultados anteriores.

6.1.4 Tabla comparativa

A modo de conclusión viene la siguiente tabla resumiendo todos los resultados presentados más arriba:

	11-Abr	13-Abr	16-Abr	19-Abr	23-Abr	26-Abr	04-May	09-May	14-May	Media (20días)
Sol (a) (09/04)	2	4	7	10	14	17	25	30	35	
DLS	3.8	6.9	5.2	5.6	6.8	5.5	12.1	16.2	35.4	6.59
UV-Vis	4.04	/	4.11	4.17	4.27	4.29	4.36	4.38	4.4	4.21
Sol (b) (16/04)			0	3	7	10	18	23	28	
DLS			3.2	3.6	2.4	2.8	6.5	10.9	13.6	4.93
UV-Vis			3.84	3.91	4.06	4.14	4.44	4.54	4.61	4.15
Sol (c) (24/04)						2	10	15	20	
DLS						5.8	14.1	131.4	3.9	7.93
UV-Vis						3.89	4.03	4.12	4.2	4.02
Sol (d) (03/05)							1	6	11	
DLS							2.8	2.9	4.02	3.26
UV-Vis							3.89	4.00	4.09	3.95
AFM (semillas rociadas)									Media	8.54

Tabla 4 : Resumen de los diámetros promedios de semillas obtenidos con las diferentes técnicas empleadas

Las medias para los métodos **DLS** y **UV-Visible** fueron calculadas para el tiempo estable del sol, es decir 20 días.

Los diámetros de las partículas en suspensión en el sol obtenidos con los 2 primeros métodos son muy parecidos al principio pero se alejan con el tiempo. En efecto, el modelo elegido para calcular el tamaño con MATLAB no toma en cuenta la formación de un precipitado en el sol a partir de una veintena de días y sigue una ley lineal.

Sin embargo, durante el tiempo estable, y apartando los datos del sol (c) que parecen erróneos, los resultados concuerdan (variación máxima de 2,38 nm).

Conclusión: las partículas de los soles realizados durante el trabajo miden entre **4nm y 8nm** y el sol es aproximadamente **estable durante 20 días**.

Se puede concluir que la solución de *Sol-Gel* se puede utilizar para sintetizar nanorods de ZnO tantas veces como deseadas a lo largo de este tiempo estable, sin que eso afecte mucho a los resultados visibles una vez crecidos.

Esta propiedad fue muy útil de conocer para el trabajo desarrollado, porque permitió saber que las partículas de ZnO de partida eran más o menos idénticas, cual que fuera la solución de *Sol-Gel* empleada, y que por consiguiente, las diferencias constatadas entre los nanorods no provenían de las semillas.

6.2 Caracterización de los nanorods de ZnO

En esta segunda parte, se trató de caracterizar los nanorods de ZnO generados en películas delgadas por SEM y AFM, con el objetivo de conocer su morfología y estructura (diámetro, longitud, forma, densidad...) y observar la influencia de algunos parámetros como el espesor de la capa semilla o la distancia de rociado sobre los resultados visibles.

6.2.1 Observaciones previas

A continuación, en la figura 32, tres observaciones distintas : un soporte de vidrio FTO yermo, el mismo soporte de vidrio con una capa semilla de 50 pasadas rociada y en última columna, el soporte de vidrio con los nanorods de ZnO crecidos.

Todas las imágenes son vistas de arriba. Fueron sacadas con el SEM del laboratorio de la Facultad de Ciencias de la UNI, a una magnificación de x2 000.

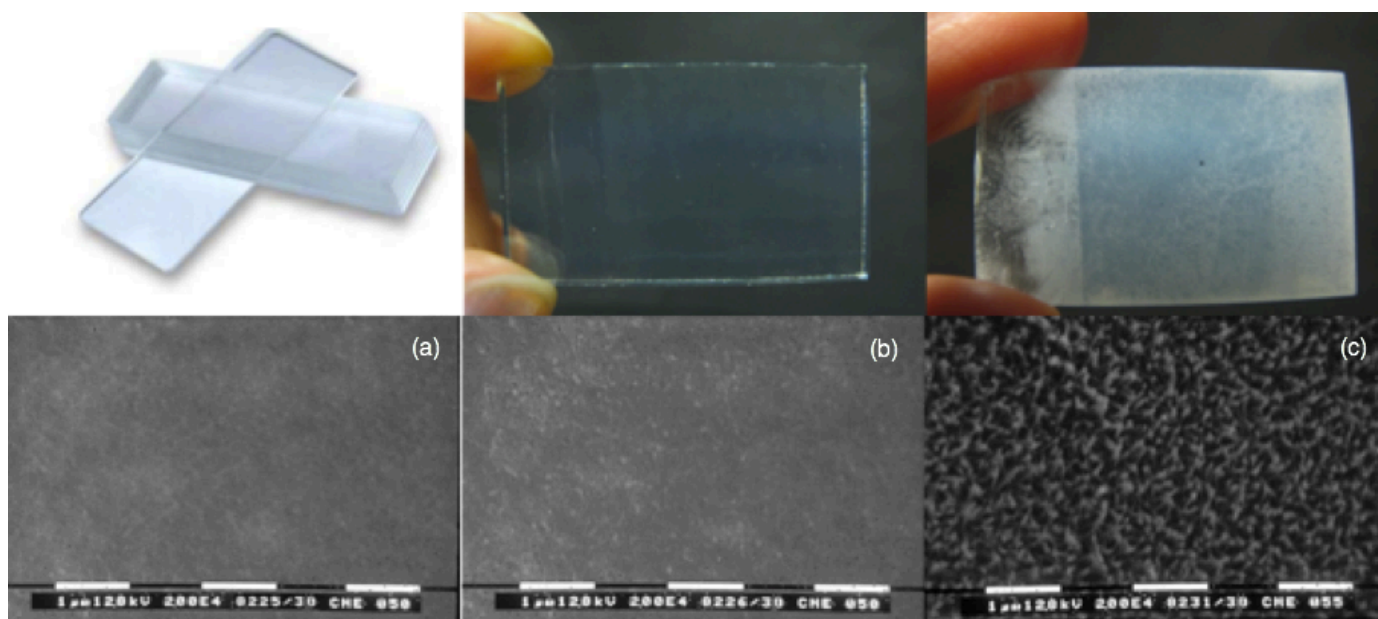


Figura 32 : imágenes SEM de un soporte de vidrio FTO en las diferentes etapas de crecimiento de nanorods de ZnO.
(a) vista del vidrio yermo, (b) vista del vidrio con semillas, (c) vista del vidrio con nanorods

Se observa que la micrografía del vidrio yermo no revela nada especial, mientras que en la segunda micrografía, aparecen puntitos blancos : las semillas. En la última, se ven claramente los nanorods que crecieron verticalmente.

Las figuras 33 (a) y (d) muestran imágenes SEM de semillas de ZnO formadas después de que fueron rociadas 10 y 50 capas de solución de *Sol-gel* sobre un soporte de vidrio FTO, respectivamente.

Las figuras 33 (b, c) y (e, f) muestran imágenes SEM de nanorods de ZnO crecidos a partir de las semillas.

Estas fotos fueron sacadas con el SEM del laboratorio de Argentina, con magnificación x1 000 (a, b, d, e) y x5 000 (c, f)

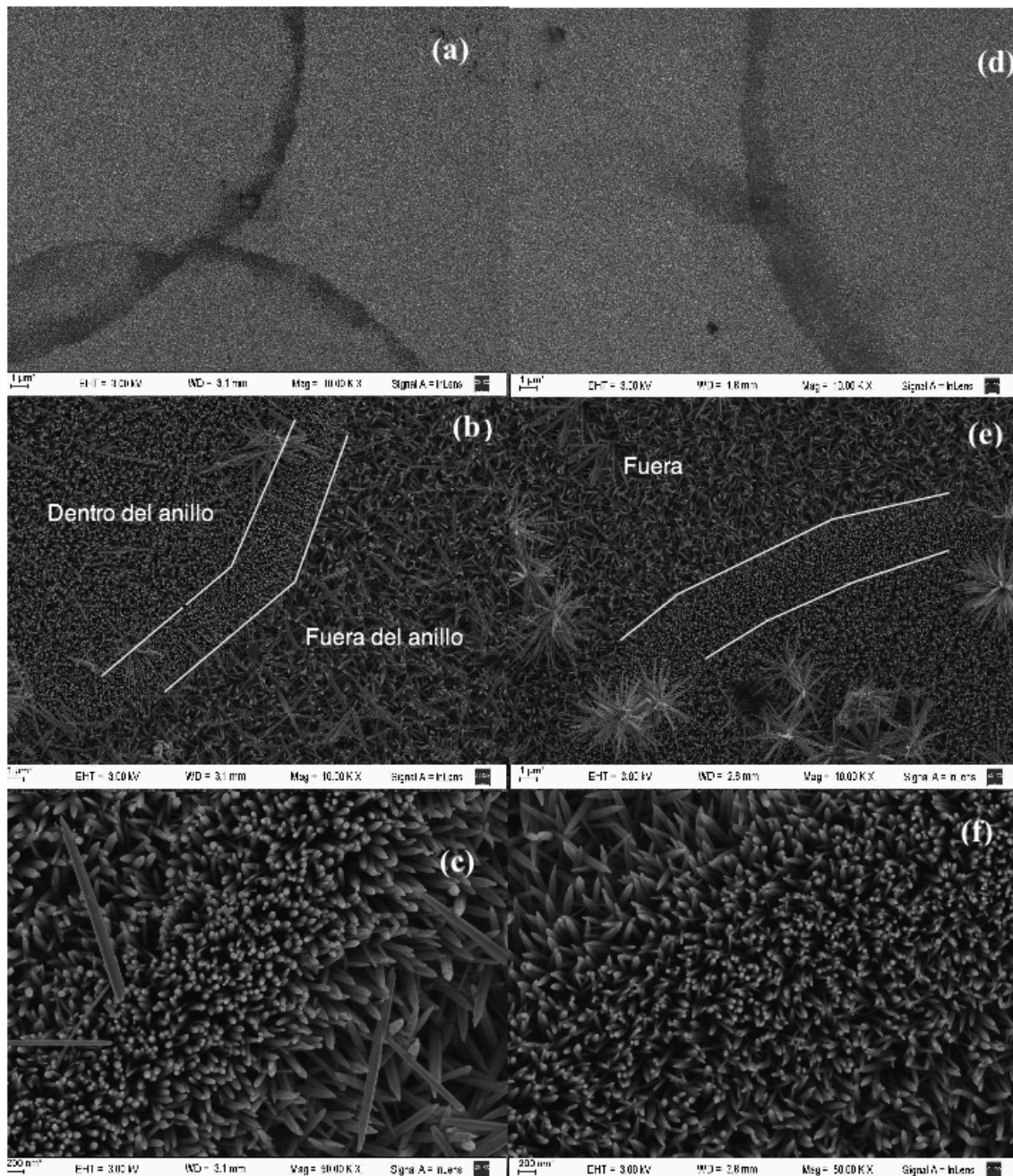


Figura 33 : Imágenes SEM de muestras de 10 capas (a), (b), (c) y 50 capas (d), (e), (f) con 2 magnificaciones diferentes.

En las micrografías de semillas (a, d) se notan claramente anillos de $40\mu\text{m}$ de diámetro y $2\mu\text{m}$ de espesor en la superficie de la muestra. Este fenómeno tiene una explicación sencilla : las gotas del sol rociado que alcanzan la superficie del vidrio siguen el modelo de la “gota de café” : cuando la gota impacta sobre el soporte de vidrio calentado a 130°C , sus fronteras son fijadas en la superficie. La evaporación del solvente en la gota produce un movimiento de convección desde

su centro hasta sus bordes produciendo una acumulación de ZnO sólido en sus fronteras.

Las micrografías de los nanorods revelan que estos crecieron también según este patrón de anillos, como le muestran las líneas blancas.

Dentro de los anillos, se observa una densidad elevada de nanorods con mejor orientación y más delgados. Pierden su orientación vertical fuera de los anillos, probablemente porque son más espaciados y pueden crecer en varias direcciones.

Otra singularidad se puede notar en las figuras 34 (a, b) :

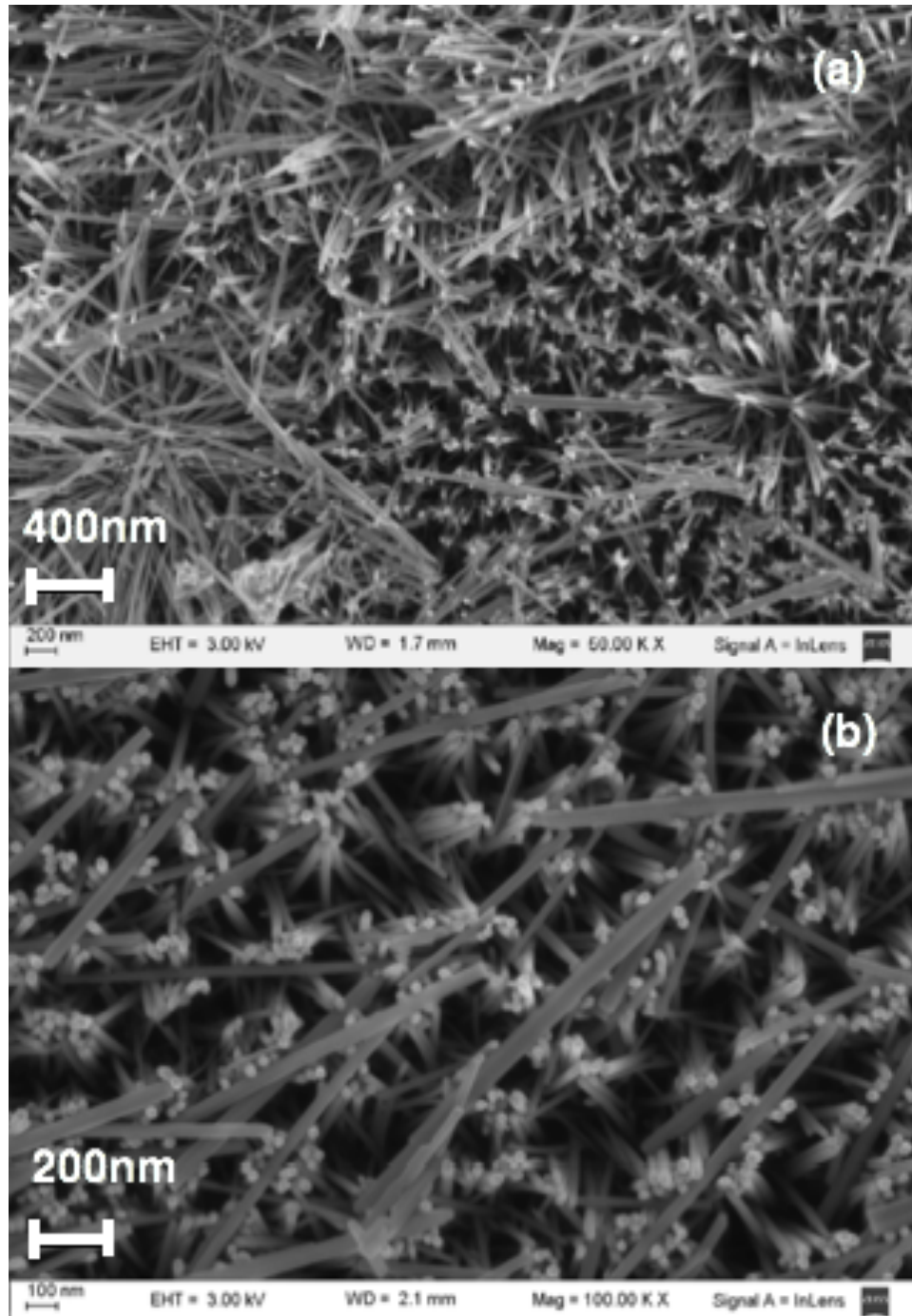


Figura 34 : Imágenes SEM de “estrellas” sobre una muestra de 50 capas con magnificación x5 000 (a) y x10 000 (b)

Se observa que pudieron emerger nanorods de ZnO en superficie sin necesidad de semillas, que por consiguiente no son unidos al soporte de vidrio y que crecieron con direcciones azarasas por encima de los nanorods verticales o formando agregados en forma de “estrellas”.

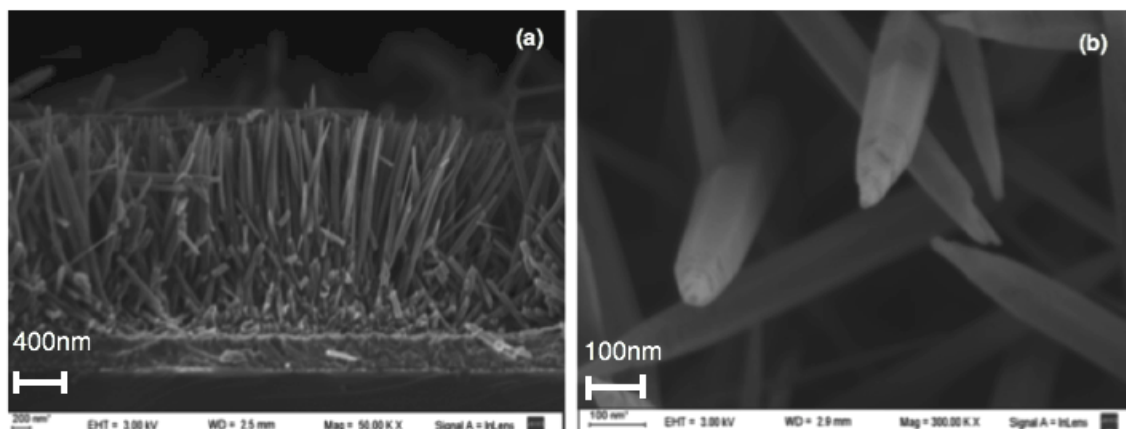
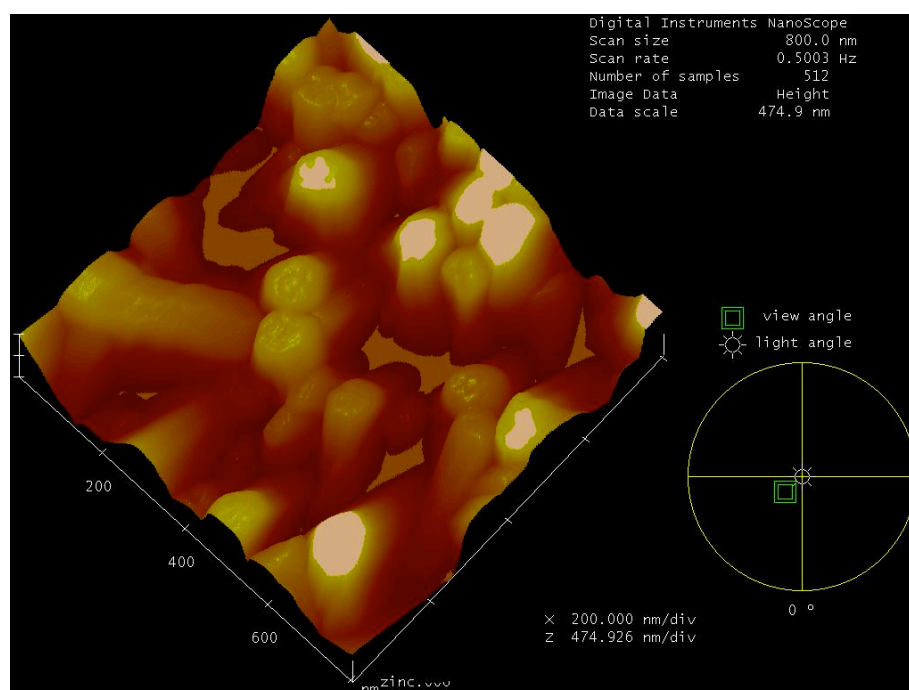


Figura 35 : Imágenes SEM del corte transversal de una muestra (a) y vista a alta magnificación de la extremidad de los nanorods

La Figura 35 (a) muestra la sección transversal de una película de nanorods (30 capas, 5 mm). En el centro de la micrografía se puede notar que la densidad de nanorods es más alta que en las fronteras. Se puede también percibir una importante acumulación de material en la base de los nanorods, que puede ser relacionada con la acumulación de las semillas dentro de los anillos formados durante el rociado. En esta zona, los nanorods crecieron más alineados verticalmente que en los costados. En efecto, esta zona corresponde con el ancho de los anillos y vimos que fuera de los anillos la estructura no es bien homogénea. Las Figuras 35 (a, b) nos enseñan que los nanorods tienen una forma alargada con una terminación en punta hexagonal.

Respecto a las observaciones realizadas en el AFM, mostraron los siguientes resultados :



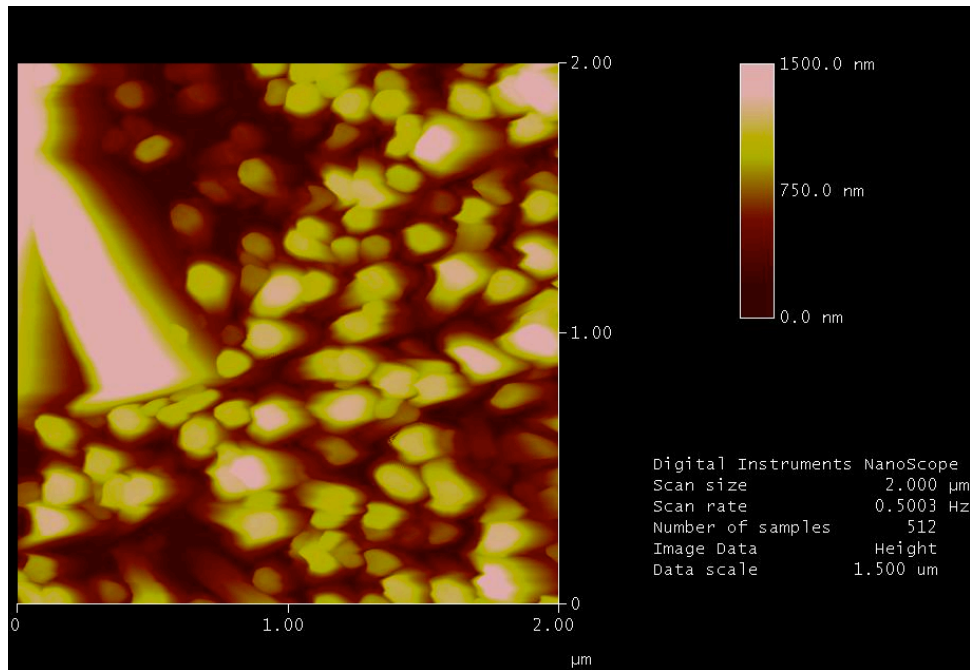


Figura 36 : Imágenes AFM de nanorods de una muestra de 30 capas (5mm) en vista 3D y desde arriba

Al estudiar la Figura 36 con el programa *ImageJ*, se encontró un diámetro promedio de **100nm** y una densidad de **50 nanorods/μm²**, lo que absolutamente no corresponde a los datos encontrados con el SEM. Hay que tomar en cuenta que las muestras analizadas en Argentina, y la muestra analizada en el AFM de Lima fueron realizadas a 2 meses de intervalo con diferentes condiciones de ambiente, lo que puede explicar estas diferencias.

6.2.2 Influencia de los parámetros

El crecimiento de los nanorods de ZnO puede variar mucho con las condiciones de síntesis elegidas. Los componentes químicos de partida, el pH de la solución de *Sol-Gel*, los parámetros de rociado, el tiempo de crecimiento al horno... etc, pueden permitir desarrollar distintos escenarios de crecimiento, con resultados diferentes.

En este trabajo, solo se estudió la influencia de algunas condiciones de rociado de mayor importancia : el número de capas de sol rociadas y la distancia de rociado tobera-soporte.

El objetivo fue encontrar la manera de lograr el crecimiento más perfecto posible : se buscaron nanorods alineados verticalmente, homogéneos, numerosos y lo más delgados posibles.

6.2.1.1 Parámetros no analizados

Se sacaron de publicaciones previas los resultados encontrados después de estudios de parámetros como la influencia del pH de la solución de *Sol-Gel*, temperatura del soporte de vidrio o el tiempo de crecimiento. Se dan estos datos a título de información.

Tiempo de crecimiento

En un reporte anterior, se observó que cuando la película delgada de semillas de ZnO se trata a 90°C (horno) por **una hora** en la solución de crecimiento, se nota una población de nanorods de aproximadamente **30 nm de diámetro**. Después de **9 horas de tratamiento**, los nanorods de ZnO se vuelven más anchos, de aproximadamente **100 nm de diámetro**.

El tiempo de crecimiento óptimo sería de tan solo 1h a 90°C en la solución de crecimiento.

PH de la solución de Sol-Gel

En este mismo reporte, se apreció que a pH = 3.5, los nanorods de ZnO se ven irregulares y más anchos comparados con los nanorods fabricados a pH = 4.8, en los cuales se observa estructuras compactas y delgadas . Además, se observó una transmitancia mayor en muestras hechas con pH = 4.8 que con pH = 3.5, por lo que cuando los nanorods no son bien alineados la luz no logra mucho atravesar la muestra.

Se preferirá la síntesis de una solución de Sol-Gel con un pH más alto de 4,8 o 5, por proporcionar nanorods de mejor orientación y más densidad.

Temperatura del soporte

En otra publicación, se reportó que si $T < 130^{\circ}\text{C}$, el crecimiento y el alineamiento de los nanorods es malo respecto a una temperatura fija de 130°C . Con $T > 130^{\circ}\text{C}$, los resultados serían un poco mejores pero, aproximándose de la técnica *Spray-Pirolisis* (300°C) se perdería el beneficio del método *Sol-Gel*, que es mucho más rápido y económico en energía.

6.2.1.2 Influencia del espesor de la película de semillas

Se fabricaron los nanorods de ZnO a partir de unas semillas depositadas sobre un soporte de vidrio por rociado. Para estudiar la influencia del espesor de la películas de semillas, se prepararon muestras con una distancia de rociado fija (5mm) y con :

- 10 capas depositadas, o sea 10 pasadas con la tobera de rociado.
- 30 capas depositadas
- 50 capas depositadas

A continuación, la figura 37 muestra micrografías SEM de muestras de nanorods para los diferentes casos (10 capas (a-b), 30 capas (c-d), 50 capas (e-f)) con dos magnificaciones distintas (x5 000 y x20 000).

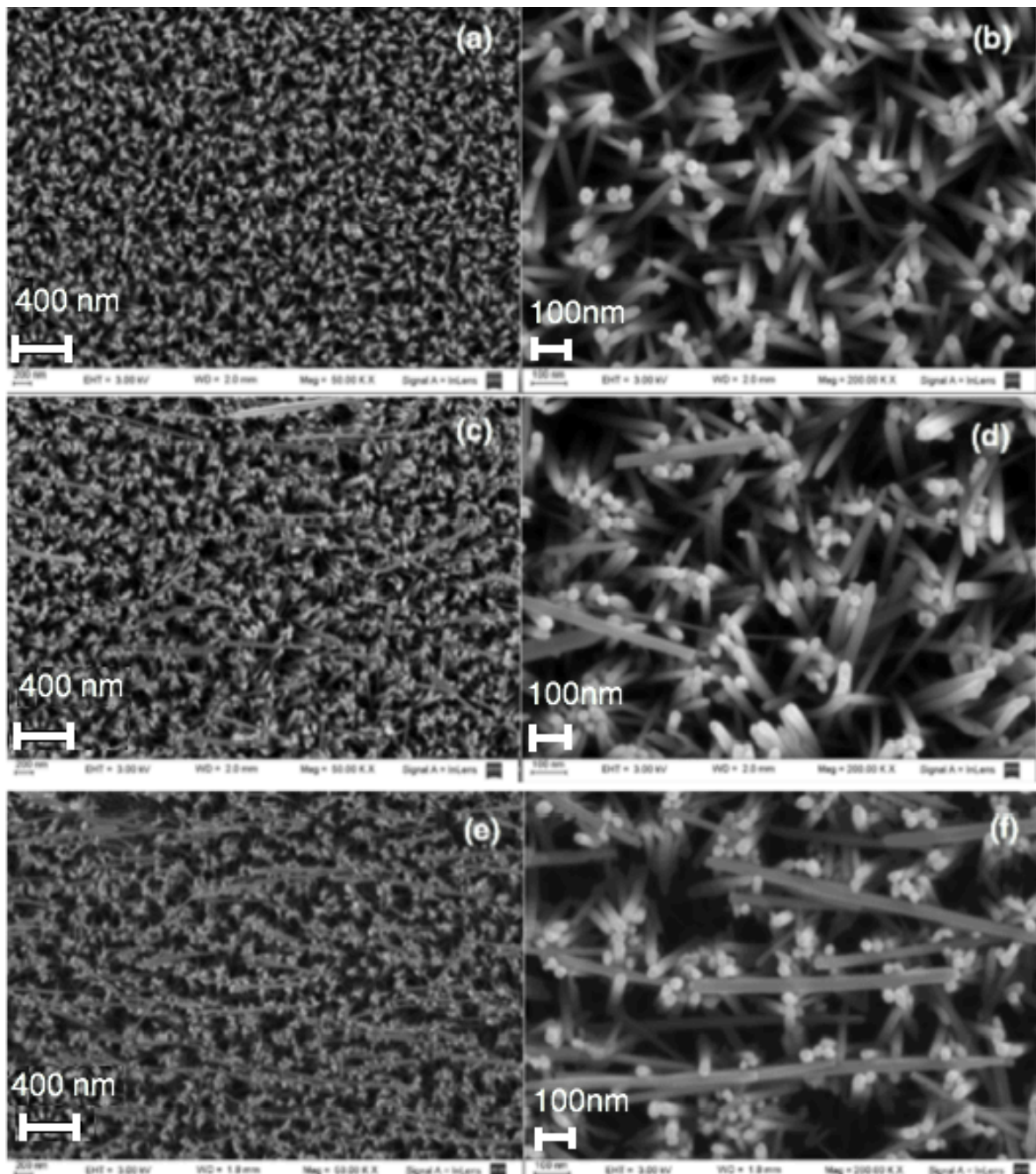


Figura 37 : Imágenes SEM de una muestra de 10 capas (a-b), 30 capas (c-d) y 50 capas (e-f) con una distancia de rociado fija D=5mm

Examinando las fotos, se observa que el número de capas de ZnO depositadas como semillas en el sustrato influye en la homogeneidad del crecimiento. Los nanorods tienen un diámetro nanométrico y parecen crecer más alineadamente y con menos “estrellas” encima cuando se usan 10 capas que cuando se usan 30 o 50 capas. La homogeneidad de los nanorods pues disminuye en estos casos.

Sin embargo, para ver cuantitativamente la influencia del espesor de la capa semilla, se utilizó el programa *ImageJ* con lo cual se pudo medir el diámetro promedio de los nanorods así como la densidad media por micrómetro. Se distinguieron dos casos : los nanorods en los costados del soporte de vidrio y los nanorods en el centro de la muestra.

Además, a partir de las imágenes SEM de corte transversal de muestras de 10, 30 y 50 capas, se pudo calcular las longitudes promedio de los nanorods.

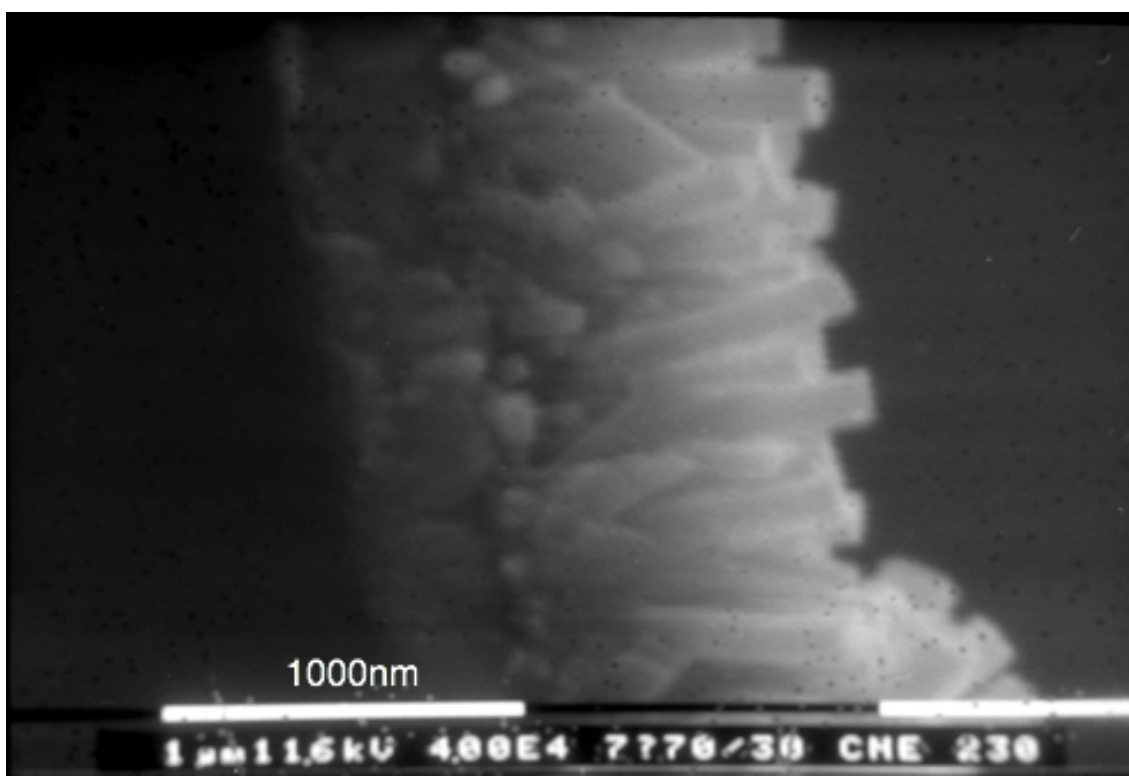


Figura 38 : Imagen SEM del corte transversal de una muestra de 30 capas de nanorods (d=5mm)

Los resultados aparecen en la siguiente tabla:

	10capas (D=5mm)		30capas (D=5mm)		50capas (D=5mm)	
	Borde	Centro	Borde	Centro	Borde	Centro
Diámetro (nm)	34,5	31,6	33,3	32,6	29,7	26,8
Densidad/μm^2	135	146	153	161	158	187
Longitud (nm)		1653		1834		1866

Tabla 5 : Resultados del estudio de los nanorods en función del número de capas rociadas (d fija = 5mm)

El diámetro promedio de los nanorods está comprendido entre **26,8nm** y **34,5nm**, lo que corrobora los datos encontrados en las publicaciones previas (“entre 10nm y 100nm”). Las nanoestructuras miden más de **1,6 μm** de longitud y tienen una densidad por micrómetro cuadrado comprendida entre **135 y 187 nanorods por μm^2** .

Se percibe que, conformemente a las imágenes de sección transversal presentadas arriba, la densidad es mayor y el diámetro de los nanorods menor al centro de las muestras.

Asimismo, la evolución de la densidad y del diámetro promedio de los nanorods de ZnO en función del espesor de capa semilla se comprueba en la Figura 39:

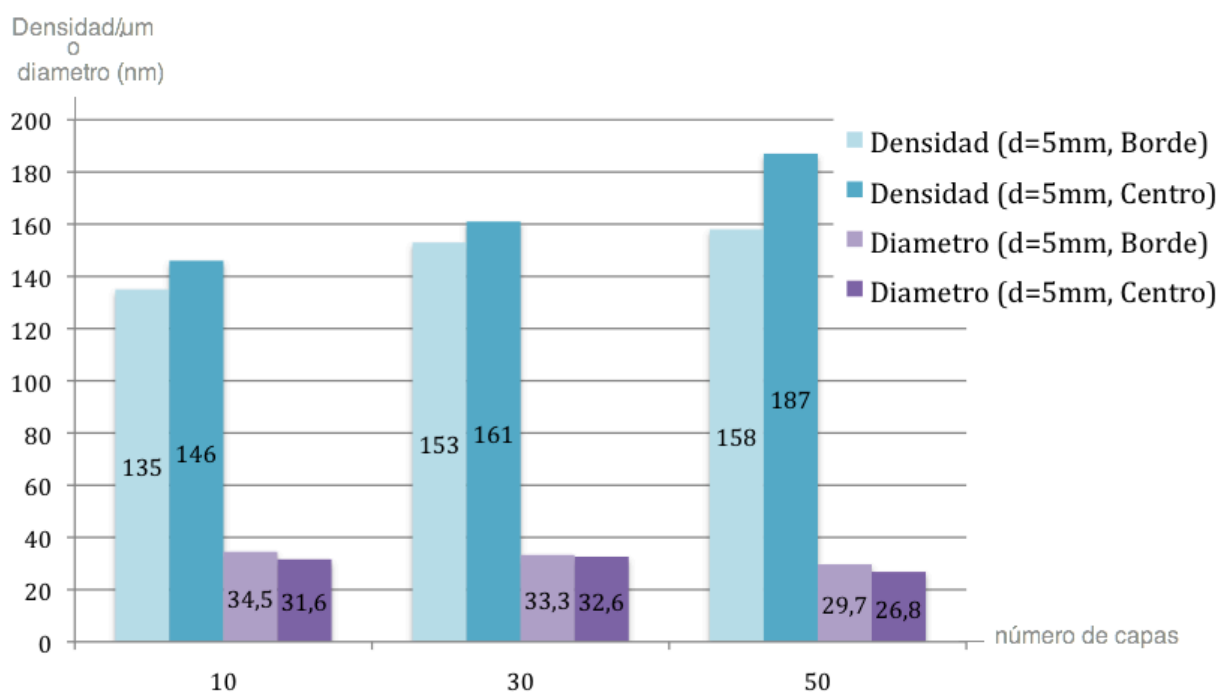


Figura 39 : Evolución de la densidad y del diámetro de los nanorods en función del número de capas

Se nota claramente que la densidad de los nanorods aumenta con el aumento del número de capas de semillas de ZnO depositadas. Concerniente el tamaño promedio, la variación del diámetro no es muy marcada aunque se nota una ligera disminución de éste y la longitud se vuelve más grande. Este resultado puede tener una explicación sencilla : como el número de semillas y su compacidad aumentan con las capas, la cantidad de material formador disponible para cada semilla es menor y por consiguiente los nanorods crecen más delgados, y más compactos.

Además, las nanoestructuras para ganar en materia, utilizan el $\text{Zn}(\text{OH})_2$ de la solución de crecimiento. Cuando la densidad de los nanorods es alta, la solución rodeando los crecientes nanorods está fuertemente empobrecida de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ obstaculizando un crecimiento del diámetro. La fuente más rica de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ se encuentra entonces sobre los nanorods, así que éstos crecen en longitud pero no en ancho.

Se requiere una película con alta orientación cristalina y densidad, y con nanorods delgados y alargados. En este estudio, el número de capas influye poco en el diámetro de los nanorods, pero mucho más en su orientación y su densidad. Sin embargo, la variación de densidad es menor que la variación de orientación.

Se concluye entonces que un número razonable de capas que garanticen su alta orientación cristalina y una densidad de nanorods aceptable es de **10**.

6.2.1.3 Influencia de la distancia de rociado

Al trabajar con el equipo de rociado, se puede variar la distancia de rociado que es la distancia tobera-superficie del soporte de vidrio. Este factor se estudió preparando muestras con un número de capa fijo (30capas) y con una distancia :

- D = 5 mm
- D = 10 mm
- D = 20 mm

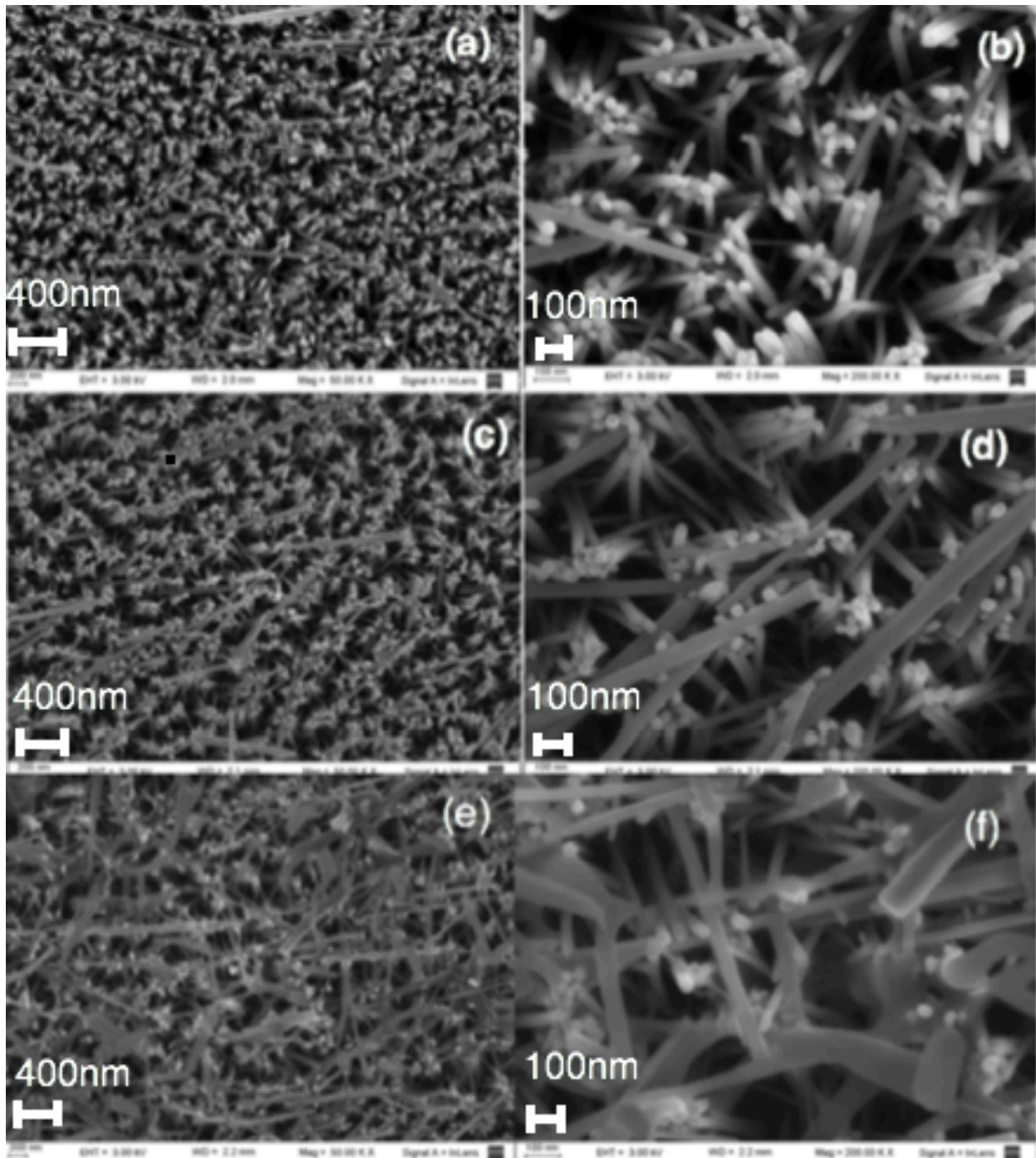


Figura 40 : Imágenes SEM de muestras rociadas con D=5mm (a-b), 10mm (c-d) y 20mm (e-f) con un número de capas fijo n=30capas

Las figuras 40 (a, b, c, d, e, f) muestran micrografías de la parte central de soportes de vidrio con nanorods obtenidos en las distintas situaciones a dos magnificaciones diferentes (x5 000 y x20 000).

Como para el número de capas, la distancia de deposición de las semillas parece influir en el crecimiento y la estructura de la película de nanorods de ZnO. Comparando entre las distintas situaciones, se nota que cuando más distancia hay, más crecen los nanorods de manera desordenada. También hay más nanoestructuras “estrellas” por encima y se ven menos alineados verticalmente. En la Figura 40 (e, f) los nanorods parecen casi unidos entre ellos. Eso puede ser un fenómeno debido a la humedad que llevó algunas muestras a cristalizar después del rociado (Anexo 10).

Como en el estudio del primer parámetro, se realizó una tabla reuniendo el diámetro y la densidad por micrómetro promedios para tener una idea cuantitativa de la influencia de la distancia de rociado en la morfología de los nanorods. Igualmente, se estudiaron dos casos : las fronteras y el centro de la muestra.

	5mm (n=30capas)		10mm (n=30capas)		20mm (n=30capas)	
	Borde	Centro	Borde	Centro	Borde	Centro
Diámetro (nm)	33,3	32,6	30,1	34,6	34	29,5
Densidad/μm^2	153	161	109	120	80	100

Tabla 6 : Resultados del estudio de los nanorods en función de la distancia de rociado (n fijo = 30capas)

El diámetro promedio de los nanorods está comprendido entre **29,5nm y 34,6nm**, lo que confirma los resultados encontrados en el acápite 6.2.1.2. Tienen una densidad por micrómetro cuadrado comprendida entre **80 y 161 nanorods por μm^2** .

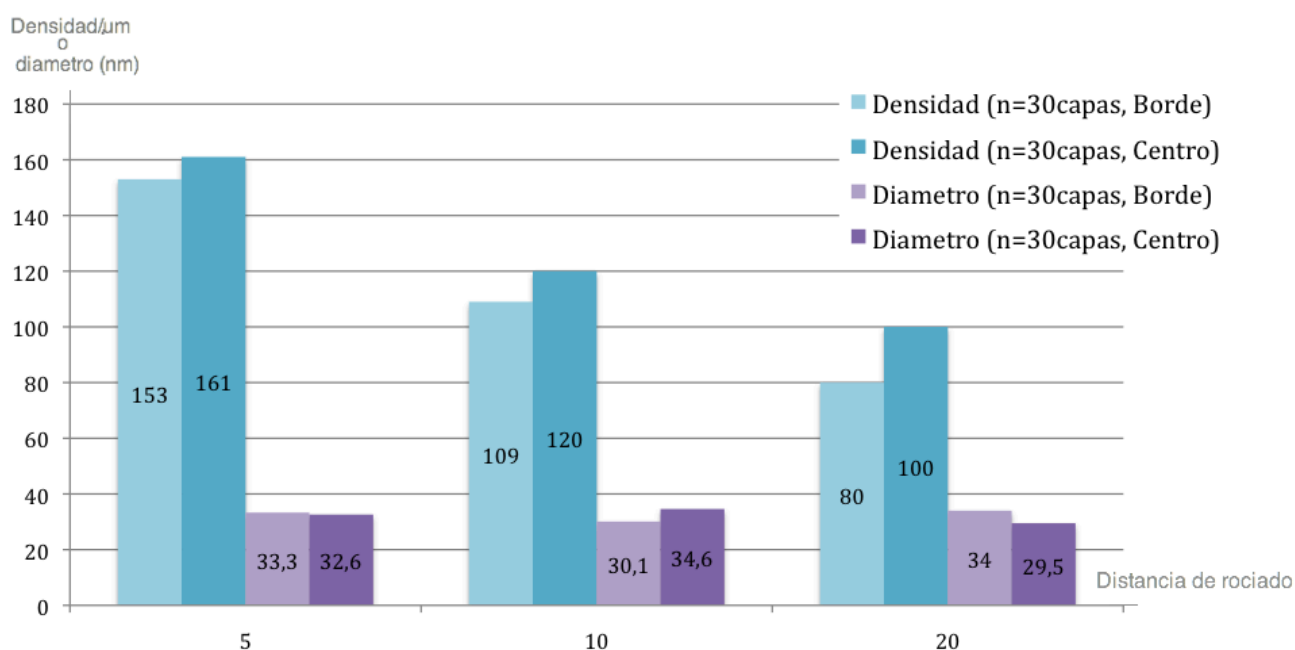


Figura 41 : Evolución de la densidad y del diámetro de los nanorods en función de la distancia de rociado

Se observa que la densidad de los nanorods disminuye con el aumento de la distancia de deposición de las semillas de ZnO. Sin embargo, el diámetro promedio se mantiene más o menos constante aunque se nota un ligero aumento.

Alejando la tobera del soporte (y por consiguiente aumentando la distancia de rociado), se hace sentir el efecto de la campana de extracción de aire del dispositivo de rociado, necesaria para remover el residuo de la deposición. En efecto, no llega tanto flujo de solución de *Sol-Gel* al salir de la tobera con una gran distancia como en el caso de una distancia corta. Resulta que el número de semillas sobre el sustrato de vidrio disminuye y éstas se quedan más espaciadas por lo que la cantidad de material formador disponible para los nanorods es mayor. En consecuencia, los nanorods crecen más anchos, menos delgados y con menos densidad.

Por los mismos criterios de orientación cristalina, densidad, y morfología como citados en el estudio del número de capas, se puede sacar la conclusión de que para conseguir una película de nanorods con buenas propiedades, se preferirá una distancia tobera-soporte pequeña, así como **5mm**.

6.2.3 Resumen

Se caracterizaron nanorods por **SEM** y **AFM** a partir de dos tipos de ensayos : manteniendo la distancia de rociado fija (5mm) y variando el número de capas y manteniendo el número de capas fijo (30capas) y variando la distancia de rociado.

De manera general, los nanorods de ZnO tienen una forma alargada que se termina en punta hexagonal y crecen según un modelo de anillos, formando una película sobre el sustrato de vidrio con mayor densidad (**≈ 150 nanorods/ μm^2**) y alineación vertical en su parte central. Tienen unas dimensiones nanométricas (**diámetro ≈ 30 nm y longitud ≈ 1700 nm**).

El estudio de la influencia de los parámetros enseñó que las propiedades “diámetro” y “densidad-longitud” de los nanorods tienen comportamientos opuestos. Cuando el número de capas (n) aumenta, el diámetro disminuye y la densidad y la longitud aumentan y cuando la distancia tobera-sustrato (D) aumenta, el contrario tiene lugar. Respecto a la orientación cristalina, es independiente : los nanorods se vuelven más desorganizados cuando los parámetros n y D aumentan.

Se encontró que los parámetros preferenciales para obtener una película con nanorods delgados (diámetro pequeño y gran longitud), de densidad razonable y de alta orientación cristalina, eran **n=10 capas y D=5mm**.

6.3 Degradación fotocatalítica de las bacterias

6.3.1 Prueba posterior sin bacterias (Rhodamina B)

El análisis de la degradación fotocatalítica de la Rhodamina B se hizo echando 500mL de agua “contaminada” con este componente orgánico de color rosa sobre una muestra de nanorods de ZnO, en un vaso de 1L bajo las radiaciones de una lámpara UV-Visible (300, 400nm).

Al principio, la solución tenía un color rosado pero bajo agitación, se aclaró hasta volverse completamente transparente después de menos de seis minutos.

Se tomaron muestras de 25 mL de la solución cada 2 minutos durante su evolución bajo agitación, así como se puede observar en la figura 42.

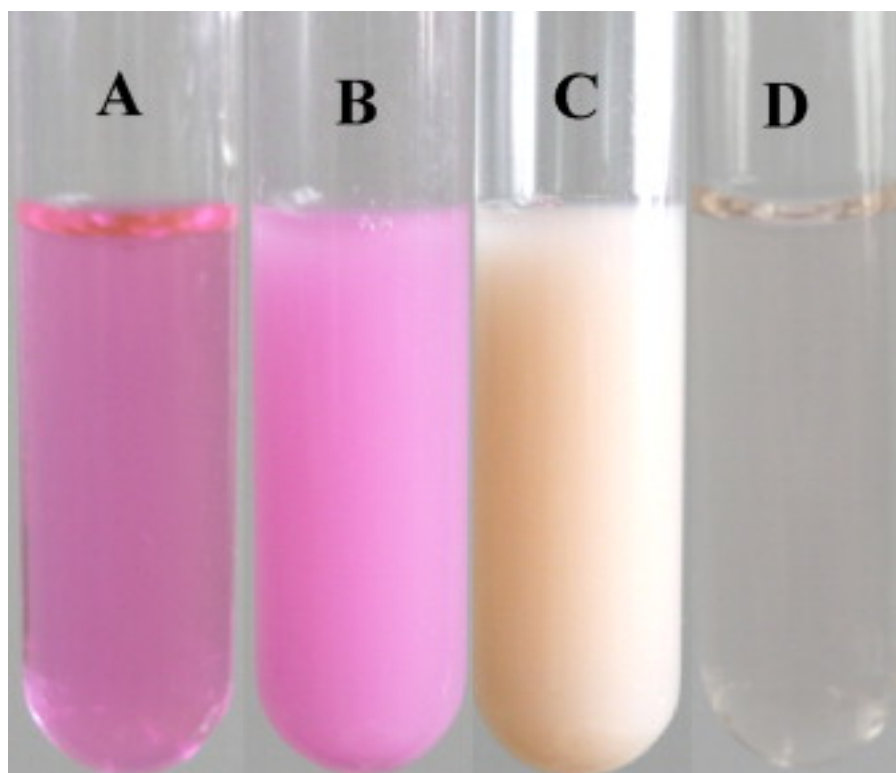


Figura 42 : Las distintas etapas de degradación fotocatalítica de la Rhodamina B

En el tubo A, se colocó el agua “contaminada” antes de echarla a los nanorods de ZnO. En los otros, se ve claramente el cambio de color.

El test de la Rhodamina fue entonces muy concluyente : los nanorods de ZnO fabricados en película delgada sobre soportes de vidrio conductor tienen eficiencia para degradar las moléculas orgánicas.

6.3.2 Prueba con bacterias E-Coli

Para esta prueba, los análisis de la degradación fotocatalítica de las E-Coli en agua se hicieron utilizando 500mL de agua contaminada en tres vasos de precipitado de 1L conteniendo muestras de nanorods hechos con el método *Sol-Gel*, de nanorods hechos con el método *Spray-Pirolisis*, y nada, respectivamente. Se colocaron debajo de una lámpara UV-Visible (230W) con una irradiación de 1,2 mW/cm².

Se hicieron 5 ensayos, entre los cuales se tuvo que ajustar la concentración inicial de bacterias.

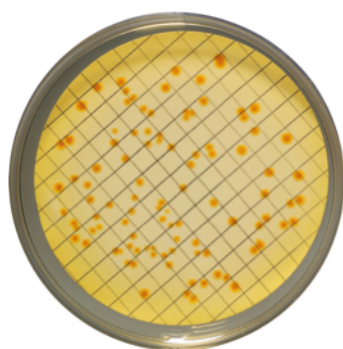


Figura 43: Conteo de las E-Coli restantes después de la prueba de desinfección fotocatalítica.

Los resultados fueron sacados de la observación de las cajas en que crecieron las bacterias E-Coli después de la filtración. Se contaron de vista o con una lupa (ver Figura 43).

El número inicial de E-Coli fue contado a partir de la caja "control" que contenía bacterias al instante 0. (sin someterlas a nanorods ni a radiaciones).

Los resultados son expresados en Unidades Formadoras de Colonia (UFC).

Aparecen a continuación en las diferentes tablas 7, 8 y 9 :

Primer ensayo : Concentración inicial de *Escherichia coli* : 1E⁶

Este ensayo dió resultados incontables. En efecto, la población inicial de bacterias era demasiado importante, con lo cual era imposible distinguir los diferentes miembros de la colonia, sea antes o después de la acción de desinfección.

Segundo ensayo : Concentración inicial de *Escherichia coli* : 0,5E⁶. Fue incontable.

Tercer ensayo :

INICIAL : 1E ⁵ <i>Escherichia coli</i>	TIEMPO (minutos)		
UFC/ML	30	60	90
NADA	4000	3200	3400
Spray-Pirolisis (SP)	1600	1200	FALLADO
Sol-Gel (SG)	900	700	550

UFC/ml: UNIDAD FORMADORA DE COLONIA/MILILITRO

Cuarto ensayo :

INICIAL : 9.2E3 <i>Escherichia coli</i>	TIEMPO (minutos)		
UFC/ML	30	60	90
NADA	7050	8200	No se hizo
Spray-Pirolisis (SP)	1840	1808	No se hizo
Sol-Gel (SG)	1010	974	No se hizo

UFC/ml: UNIDAD FORMADORA DE COLONIA/MILILITRO

Quinto ensayo :

INICIAL : 10.6 E3 <i>Escherichia coli</i>	TIEMPO (minutos)		
UFC/ML	30	60	90
NADA	9020	10 168	No se hizo
Spray-Pirolisis (SP)	1560	1364	No se hizo
Sol-Gel (SG)	1176	1188	No se hizo

UFC/ml: UNIDAD FORMADORA DE COLONIA/MILILITRO

Tablas 7, 8, 9: Resultados de los ensayos de desinfección fotocatalítica con diferentes concentraciones iniciales

Se observa, en todos los casos e independientemente de las concentraciones iniciales de bacterias, que la población de E-Coli decrece manifiestamente después de tan solo 30 minutos de exposición de las muestras a radiaciones. Después de 1 hora, las poblaciones de bacterias, en los casos de los nanorods por SP y SG, han disminuido más todavía.

En el caso del vaso que no contiene nada, se nota que el número de bacterias queda más o menos constante a lo largo del tiempo. La muerte de las bacterias durante los 30 primeras minutos se puede explicar por su exposición a los rayos UV y visible.

Sin embargo, se ve claramente que los nanorods de ZnO sintetizados a partir del método SG tienen más eficiencia que los hechos por SP. En efecto, la tabla 7 por ejemplo, nos enseña que la población de E-Coli bajó de 10 000 UFC a 550 UFC en 90 minutos. Este comportamiento se repite con los otros ensayos, excepto para el quinto, que muestra un resultado incoherente a 60 minutos. (Recordamos que las observaciones se hicieron de vista y que, teniendo en cuenta la densidad de bacterias presentes en el filtro, un error de conteo es muy probable).

Es posible que con más tiempo de irradiación, y/o con más intensidad de radiación ($>1,2 \text{ mW/cm}^2$) se hubiera logrado la desinfección total del agua, hasta una población de 0 UFC.

Al igual que con la Rhodamina B, se puede concluir que los nanorods de ZnO son eficientes para desinfectar agua contaminada con bacterias E-Coli, aunque queda por determinar cuales condiciones de irradiación serían mejores.

7. Conclusiones

Se fabricaron nanorods de ZnO con alta orientación cristalina depositados sobre soportes planos de vidrio conductor por la técnica del rociado a partir de una solución de *Sol-Gel* de acetato de zinc y NaOH, y sometidos a un baño térmico en una *solución de crecimiento* supersaturada de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y NaOH a 90°C.

Primero, se determinó un tiempo de viabilidad de la solución de *Sol-Gel* de un máximo de 20 días sin riesgo de perjudicar el crecimiento de los nanorods.

Posteriormente, después de caracterizar el modo de crecimiento de las nanoestructuras así como su tamaño y densidad promedios (diámetro \approx 30nm, longitud \approx 1700nm, densidad \approx 150 nanorods/ μm^2), se observó que los mejores nanorods, respecto a los criterios considerados, eran los nanorods de 10 capas con una distancia de rociado de 5mm.

Finalmente, las películas de nanorods obtenidas se emplearon exitosamente en la degradación fotocatalítica de un componente orgánico, la Rhodamina B y de las bacterias E-Coli en agua.

8. Problemas encontrados

Durante un proyecto, y todavía más en el área de la investigación, siempre surgen obstáculos, eventos aleatorios e imprevisibles que peligran el buen desarrollo del trabajo y el respeto del plan de planificación establecido.

Aún realizando, como descrito en el acápite 3.1, un estudio del trabajo a realizar, de los posibles estorbos y dificultades, y estableciendo un plan de soluciones preventivas a aplicar para evitarlos, me enfrenté con una gran variedad de problemas que no había previsto.

Surgieron, por el carácter antiguo y “casero” del laboratorio de la universidad, muchos problemas materiales, fuera de control :

- Ausencia de agua en el grifo : imposibilidad de limpiar el material y de realizar el montaje con reflujo para hacer la solución de *Sol-Gel*.
- Apagón en toda la Facultad durante 2 días.
- Fallo de la resistencia interna del equipo de rociado (5 veces): Hizo falta desmontar todo el equipo, reemplazar la resistencia con cuidado, y volver a montarlo (1h30 cada vez).

Unas dificultades fueron causadas por el material defectuoso puesto a disposición:

- En el equipo de rociado : la tobera que permitía rociar era rota, la manguera en que pasa el gas portador era taladra así que se perdía goteando una parte de la solución de *Sol-Gel*.

Cometí también unas errores que retrasaron el avance del proyecto :

- Falta de solución de *Sol-Gel* en el nebulizador para la operación de rociado, lo que impidió alcanzar el número de capas deseadas e invalidó la muestra pendiente.
- Mala limpieza de algunos de los equipos y materiales.

Para terminar, fue totalmente impredecible y lo que causó más contratiempos, durante casi 1 mes los nanorods de ZnO no crecieron. Se seguía el mismo procedimiento que siempre pero a la salida del horno, se obtenía una muestra con una fina película que se iba con el chorro de agua de limpieza.

Cuándo este tipo de obstáculo surge, el trabajo que se debe hacer es determinar de donde viene el fallo, y es un trabajo consecuente, ya que se tiene que establecer una lista de las posibles razones y luego desarrollar todo el procedimiento cambiando un parámetro por uno.

Las posibles razones de fallo que se identificaron fueron :

- Condiciones experimentales durante el rociado.
- Limpieza de los vidrios (Se observó en algunas de las muestras rociadas, la formación de ramificaciones parecidas a cristales, lo que podía implicar la presencia de una impureza sobre la superficie, o la acción de humedad del aire).
- Semillas mal pegadas sobre el soporte.
- Solución de *Sol-Gel* mal hecha.
- *Solución de crecimiento* mal hecha.

Se modificó la solución de crecimiento :

Se echó una solución de **12,6g** de **NaOH** 2,1M diluidos en **150mL** de **H₂O ultrapura** en una solución de **7,84g** de **Zn(NO₃)₂** 0,15M diluidos en **200mL** de **H₂O ultrapura**, y se añadió, al final, 50mL de **H₂O ultrapura** para forzar la creación de partículas blancas de precipitado. La solución se dejó bajo agitación durante **6horas**.

Después de muchos ensayos, se constató que no era por la *solución de crecimiento*, no era por el rociado, y no era por la limpieza de los vidrios, así que se concluyó que era por las semillas :

- Solución de *Sol-Gel* mal hecha

- Soluciones de Hidróxido de sodio NaOH y Acetato de zinc Zn(CH₃COO).2H₂O mezcladas demasiado rápidamente.
- Cantidades mal medidas.

-O cambio de clima

- Llegada de la temporada de invierno que trae la famosa “niebla limeña” que satura el aire de humedad.

Finalmente, me dí cuenta de que los componentes químicos disponibles y utilizados en el laboratorio eran vencidos desde Diciembre 2010 y probablemente contaminados. Así que, tuve que pedir otros que me llegaron unas semanas después, y así se solucionó el problema.

9. Recomendaciones para trabajos futuros

Infortunadamente, tuve que parar aquí mis investigaciones sobre el tema de los nanorods de ZnO aunque quedaban muchas cosas por hacer, especialmente con las bacterias. Muchos "tiempos improductivos" por culpa de material y de componentes químicos vencidos vinieron perturbar el buen desarrollo del trabajo.

Durante el estudio de los nanorods, se empezó a probar el crecimiento sobre otro tipo de material : Soportes de plástico de botella PET ("Polyethylene Terephthalate »). Se deseaba utilizarlos para evaluar la influencia del material del sustrato sobre el crecimiento de los nanorods pero no dio el tiempo. (Anexo 11). Igualmente, se comenzó a estudiar las muestras y la influencia de los parámetros n y d con espectroscopía UV-Visible (Anexo 12).

Además, se podría continuar este trabajo generando nanorods sobre sustratos de formas y de material distintos (soporte de acero circular por ejemplo, para modelizar una canalización) y utilizando el método del Dip-Coating para depositar las semillas.

Concerniente la desinfección fotocatalítica, los ensayos se hicieron únicamente con muestras de 30 capas. Se notó una eficiencia pero serían necesarias otras pruebas utilizando muestras con diferentes números de capas, diferentes distancias de rociado y/o diferentes temperaturas de crecimiento para establecer una correlación entre la morfología de los nanorods y la degradación de las bacterias y comprobar, además, si los nanorods más eficientes corresponden a los nanorods juzgados mejores en la caracterización (criterios de longitud, diámetros, densidad y orientación cristalina).

Se podría también realizar pruebas de desinfección con muestras contaminadas *in situ* en vez de hacerlo en laboratorio para más veracidad en las concentraciones de E-Coli.

10. Bibliografía

- [1] Gonzalez-Valls, M. Lira-Cantu, *Energy Environ. Sci.*, 2 (2009), 19–34.
- [2] Ozgur, U., Hofstetter, D., Morkoç, H., *Proceedings of the IEEE* 98 (7), art. no. 5462913, (2010) 1255-1268.
- [3] Willander, M., Zhao, Q.X., Hu, Q.-H., Klason, P., Kuzmin, V., Al-Hilli, S.M., Nur, O., Lozovik, Y.E., *Superlattices and Microstructures* 43 (4) (2008) 352-361
- [4] Kannan, K. Castelino, A. Majumdar, *Nano Lett.* 3 (2003) 1729
- [5] J. Y. Lee, Y. S. Choi, J. H. Kim, M. O. Park, S. Im, *Thin Solid Films* 404 (2002) 553
- [6] M. Law, L. E. Greene, J. Goldberger, J. C. Johnson, R. J. Saykally, P. Yang, *Nat. Mater.* 4 (2005) 455
- [7] L. E. Greene, M. Law, J. Goldberger, F. Kim, J. C. Johnson, Y. Zhang, R. J. Saykally, P. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 3031
- [8] R. B. Peterson, C. L. Fields, B. A. Gregg, *Langmuir* 20 (2004) 5114
- [9] B. Weintraub, Z. Zhou, Y. Li, Y. Deng, *Nanoscale*, 2 (2010) 1573–1587.
- [10] Sz-Chian Liou, Chi-Sheng Hsiao, San-Yuan Chen; *J. of Crystal Growth* 274 (2005) 438.
- [11] M. Blesa, J. Blanco, *Solar Safe Water: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua. Escuela de Posgrado UNSAM, San Martín* (2005)
- [12] R. Mereierehofer, M. Wegelin, *Solar Water Disinfection: a Guide for the Application of SODIS. SANDEC Report N° 06/02, Suiza.* 88 pp. (2002)
- [13] M. Litter, A. Jiménez, *Avances en Tecnologías económicas solares para desinfección, descontaminación y Remoción de Arsénico en Aguas de Comunidades Rurales de América Latina (Métodos FH y RAOS) Proyecto OEA AE 141* (2004).
- [14] SM. Blesa, B. Sanchez, *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea. CIEMAT, Madrid* (2004).
- [15] B. Marí; J. Cembrero; M. Mollar; M. Pascual; M. Perales, *Obtención de columnas de ZnO* (2006)

- [16] C. Ramos, J. Alarcóna, M. Quintana, J. Rodríguez, W. Estrada, Formación y caracterización de nanocolumnas de ZnO en soluciones acuosas (2008)
- [17] Z. Lin Wang, Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications (2004)
- [18] Nanotetrapods, Materials Letters 59, 560-563 (2005).
- [19] Y. Li, G. W. Meng, L. D. Zhang, F. Phillip, Appl. Phys. Lett. 76 (2000) 2011
- [20] J. H. Choi, H. Tabata, T. Kawai, J. Crystal Growth 226 (2001) 493
- [21] M. Huang, Y. Wu, H. Feick, N. Tran, E. Weber, P. Yang, Adv. Mater. 13 (2001) 113
- [22] R. Liu, A. A. Vertegel, E. W. Bohannon, T. A. Sorenson, J. A. Switzer, Chem. Mater. 13 (2201) 508
- [23] L. Vayssieres, Adv. Mater. 15 (2003) 464
- [24] S. Patil, Versatility of chemical spray pyrolysis technique, Materials Chemistry and Physics 59 (1999) 185-198
- [25] M.H. Huang, S. Mao, H. Feick, H. Yan, Y. Wu, H. Kind, E. Weber, R. Russo, P. Yang, Science 292 (2001) 1897.
- [26] Y. Cui, Q. Wei, H. Park, C.M. Lieber, Science 293 (2001) 1289
- [27] H.L. Liu, T.C.K. Yang, Process Biochem. 39 (2003) 475
- [28] Bao, J., et al., Nano Lett. (2006) 6, 1719
- [29] Harpeness R, Gedanken A. The microwave-assisted polyol synthesis of nanosized hard magnetic material, FePt. J. Mater. Chem. 2005; 15:698-702.
- [30] Grossiord N, Loos J, Koning C. Strategies for dispersing carbon nanotubes in highly viscous polymers. J. Mater. Chem. 2005; 15: 2349-52.
- [31] K.S. Weißenrieder, J. Müller, Thin Solid Films 300 (1997) 30.
- [32] C.Q. Ge, Z.K. Bai, M.L. Hu, D.W. Zeng, S.Z. Cai, C.S. Xie, Mater. Lett. 62 (2008) 2307.
- [33] J.H. Lee, K.H. Ko, B.O. Park, J. Cryst. Growth 247 (2003) 119
- [34] C. Cortés, J.M. Cadenas, A.P Lepe, A. Costa, J.G Santiago, Nanomateriales activos para la reducción de gases de combustión (2009)