



**Universidad
Europea**

UNIVERSIDAD EUROPEA DE MADRID

ESCUELA DE ARQUITECTURA, INGENIERÍA Y DISEÑO

GRADO EN FÍSICA

TRABAJO FIN DE GRADO

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOPARTÍCULAS PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS.**

SILVIA PÉREZ PÉREZ

Dirigido por

Dra. ARISBEL CERPA NARANJO

Dra. MARÍA FUENCISLA GISLANZ MUÑOZ

CURSO 2024-2025

TÍTULO: Síntesis y caracterización de nanopartículas con aplicaciones biomédicas

AUTOR: Silvia Pérez Pérez

TITULACIÓN: GRADO EN FÍSICA

DIRECTOR/ES DEL PROYECTO: Dra. Arisbel Cerpa Naranjo

Dra. María Fuencisla Gislanz Muñoz

FECHA: JUNIO de 2025

RESUMEN

Este Trabajo de Fin de Grado (TFG) se enmarca en un campo de innovación y continuo desarrollo: la nanociencia. La motivación surge dado el creciente interés de la comunidad científica en la búsqueda de métodos de síntesis de nanopartículas sencillos, reproducibles y escalables que permita utilizarlas en aplicaciones de diferentes campos.

El proyecto estudia la síntesis y caracterización de nanopartículas tipo *core-shell* formadas por un núcleo de plata (Ag) y una corteza de óxido de zinc (ZnO), resaltando su importancia en posibles aplicaciones biomédicas. Se ha desarrollado en colaboración con el grupo de investigación NANO – UEM.

Durante el trabajo se han ejecutado métodos de síntesis, mediante reducción química y tratamiento hidrotermal. Además, se ha puesto el foco en la optimización de los procesos, ofreciendo una nueva propuesta: la síntesis asistida con reactor de microondas. Las nanoestructuras obtenidas han sido caracterizadas mediante técnicas como microscopía electrónica de transmisión (TEM), microscopía electrónica de barrido (SEM, del inglés *Scanning Electron Microscopy*), dispersión dinámica de la luz (DLS), potencial Zeta y espectroscopía ultravioleta – visible (UV-Vis).

Los resultados muestran la importancia del control en los parámetros de condiciones de síntesis, y las ventajas en cuanto a tiempo y homogeneidad de las nanopartículas obtenidas al utilizar un reactor de microondas en los procesos. Además, las propiedades sugieren un alto potencial en aplicaciones antimicrobianas, liberación de fármacos, biosensores y bioimagen, abriendo la puerta a futuras investigaciones y desarrollos industriales en nanomedicina.

Palabras clave: nanopartículas, *core – shell* Ag/ZnO, síntesis hidrotermal, reactor de microondas, caracterización, aplicaciones biomédicas.

ABSTRACT

This Bachelor's thesis is framed within a field of innovation and continuous development: nanoscience. The motivation arises from the growing interest of the scientific community in the search of simple, reproducible, and scalable nanoparticle synthesis methods that enable use in a wide range of applications.

The project focuses on the synthesis and characterization of core – shell nanoparticles composed of a silver (Ag) core and a zinc oxide (ZnO) shell, highlighting their relevance for possible biomedical application. It has been developed in collaboration with the NANO – UEM research group.

Throughout the Project, synthesis methods based on chemical reduction and hydrothermal treatment were carried out. Additionally, efforts were made to optimize the processes, introducing a novel approach: microwave – assisted synthesis. The resulting nanostructures were characterized using techniques such as transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), Dynamic light scattering (DLS), Zeta potential analysis, and ultraviolet – visible spectroscopy (UV – Vis).

The results emphasize the importance of precise control over synthesis conditions, as well as the advantages in terms of time and nanoparticle homogeneity when using a microwave reactor. Moreover, the observed properties suggest strong potential in antimicrobial applications, drug delivery, biosensing and bioimaging, opening the door to future research and industrial developments in nanomedicine.

Key Words: nanoparticles, core – shell Ag/ZnO, hydrothermal synthesis, microwave reactor, characterization, biomedical applications.

AGRADECIMIENTOS

Dicen que “Solos llegamos más rápido, pero acompañados llegamos más lejos”, y después de realizar este TFG no podría estar más de acuerdo. Por eso, me gustaría dedicar unas líneas a todas las personas que han estado a mi lado en el desarrollo de este proyecto.

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la **Lic. Miriam Roldán Matilla** por haberme acompañado durante todo el camino. Gracias por tu incondicional apoyo, por enseñarme y compartir todos tus conocimientos conmigo, por guiarme en las infinitas horas de laboratorio, ayudarme en la interpretación de resultados y hacerme siempre ir más allá. Sobre todo, gracias por darme confianza e impulsarme cuando las cosas no salían como queríamos. Sin duda, este proyecto no habría sido el mismo sin tu constancia, implicación y cercanía.

Me gustaría mencionar a mi profesor de la asignatura “Introducción a la Nanotecnología”, **Javier Pérez Piñeiro**, quien me proporcionó conocimientos durante el curso que resultaron esenciales para la realización de mi TFG. Además, siempre estuvo dispuesto a ayudarme en las dificultades de laboratorio y resolver mis dudas.

También quisiera agradecer a mis directoras **Dra. Arisbel Cerpa Naranjo** y **Dra. María Fuencisla Gislanz Muñoz**, por confiar en mí y brindarme la oportunidad de trabajar en el grupo de investigación NANO – UEM. Ha sido una experiencia exigente, pero a la vez satisfactoria y enriquecedora, que me ha permitido crecer a nivel académico, profesional y, sin duda, ha marcado mis decisiones futuras dentro del ámbito de la investigación en nanomedicina.

A mi **familia**, por su paciencia todas las noches escuchándome hablar de mis experimentos, por apoyarme en mis momentos de mayor agobio y por darme siempre ánimos para continuar.

Por último, a mis **amigos y compañeros del grado**, por todos los momentos compartidos durante estos cuatro años, por hacer que el camino haya sido más llevadero, por el compañerismo y por estar ahí siempre, incluso cuando era un saquito de nervios antes de cada examen. Y en especial, a **Miguel Ángel**, por su paciencia infinita, por creer en mí en todo momento y por animarme siempre a seguir.

*“A veces sentimos que lo que hacemos es tan solo una gota en el mar,
pero el mar sería mucho menos si le faltara una gota.”*

Madre Teresa de Calcuta

TABLA RESUMEN

	DATOS
Nombre y apellidos:	Silvia Pérez Pérez
Título del proyecto:	Síntesis y caracterización de nanopartículas para aplicaciones biomédicas.
Directores del proyecto:	Dra. Arisbel Cerpa Naranjo Dra. María Fuencisla Gislanz Muñoz
El proyecto se ha realizado en colaboración de una empresa o a petición de una empresa:	Si, con la colaboración del grupo de investigación NANO-UEM.
El proyecto ha implementado un producto: (esta entrada se puede marcar junto a la siguiente)	NO
El proyecto ha consistido en el desarrollo de una investigación o innovación: (esta entrada se puede marcar junto a la anterior)	SI
Objetivo general del proyecto:	Síntesis y caracterización de nanocompuestos <i>core-shell</i> formados por plata y óxido de zinc (Ag/ZnO).

Índice

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
TABLA RESUMEN	8
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 ESTADO DEL ARTE	11
1.2 CONTEXTO Y JUSTIFICACIÓN	12
1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
1.4 PLANIFICACIÓN DEL TFG	13
1.5 RECURSOS REQUERIDOS.....	15
Capítulo 2. OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVOS GENERALES.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
2.3 BENEFICIOS DEL PROYECTO.....	16
Capítulo 3. MARCO TEÓRICO.....	17
Capítulo 4. METODOLOGÍA	20
4.1 SÍNTESIS	20
4.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS <i>CORE-SHELL</i>	31
Capítulo 5. RESULTADOS	37
5.1 REALIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE CSNs Ag/ZnO.....	37
5.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ESTRUCTURAL.....	38
5.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA Y ÓPTICA.....	45
Capítulo 6. DISCUSIÓN.....	48
6.1 APLICACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	50
6.2 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	53
Capítulo 7. CONCLUSIONES	54
7.1 CONCLUSIONES DEL TRABAJO	54
7.2 CONCLUSIONES PERSONALES.....	55

Capítulo 8.	REFERENCIAS.....	56
Capítulo 9.	ANEXOS	61
	ANEXO I: CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD.....	61
	ANEXO II: GRÁFICAS.	62
	ANEXO III: ESTUDIO DEL PUNTO ISOELÉCTRICO POR TITULACIÓN	65
	ANEXO IV: ÍNDICE DE FIGURAS.....	67
	ANEXO V: ÍNDICE DE TABLAS.....	70
	ANEXO VI: LISTA DE ABREVIATURAS	71

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

Este Trabajo de Fin de Grado se centra en la síntesis de nanopartículas *core – shell* (CSNs), concretamente de plata y óxido de zinc (Ag/ZnO), y el posterior estudio de sus características morfológicas y propiedades físico-químicas y ópticas mediante el uso de diferentes equipos de caracterización. Además, el proyecto incluye un estudio de las posibles aplicaciones biomédicas de las nanopartículas obtenidas.

1.1 ESTADO DEL ARTE

La nanotecnología es un campo interdisciplinario que ha revolucionado múltiples sectores científicos e industriales, dando lugar a una amplia gama de aplicaciones innovadoras, que abarcan áreas desde la medicina hasta la tecnología. El avance y la búsqueda de nuevas nanopartículas (NPs) hace que surjan unas estructuras denominadas *core – shell*, compuestas por un núcleo central (*core*) rodeado de una capa protectora (*shell*), cuya composición puede modificarse para dotar a la partícula de propiedades específicas [1].

En este contexto, los CSNs formados por un núcleo de plata y una corteza de óxido de zinc han llamado bastante la atención debido a las excelentes propiedades de ambos materiales. Por un lado, la plata ha sido utilizada históricamente como agente antimicrobiano y el interés por sus características se convierte en una opción clara de estudio [2]. Por otro lado, el óxido de zinc se ha empleado desde el siglo XIX como antiséptico, fotoprotector y cicatrizante [3].

Hasta día de hoy, la obtención de las nanopartículas Ag/ZnO se ha realizado mediante diversas técnicas. Por ejemplo, a través de la ablación láser en líquidos, generando estructuras monodispersas con una corteza de ZnO rodeando al núcleo de Ag [4]. Otros enfoques muy empleados son las síntesis químicas, que recurren a rutas sencillas que no requieren de grandes equipos [5], [6]. También se han utilizado técnicas basadas en plasma atmosférico [7], que destacan por la alta pureza lograda en las NPs. Y, en paralelo a todo ello y como técnicas más novedosas, se han desarrollado numerosos métodos de síntesis verde, donde se recurre a extractos vegetales que actúan como agentes reductores y estabilizantes [8], [9].

En el mundo de la medicina, la importancia de las NPs se puede evaluar a partir del drástico aumento de los artículos publicados en este campo, pasando de unos pocos a principio de la década de 1990 a varios miles en la actualidad [10]. Concretamente, los CSNs de Ag/ZnO han mostrado potencial en diversas áreas biomédicas. El uso más estudiado es su actividad antimicrobiana y antiséptica, donde se ha demostrado que estas nanoestructuras son eficaces para combatir bacterias Gram – positivas, Gram – negativas y levaduras patógenas. Por otro lado, estas nanopartículas se diseñan y estudian para mejorar la liberación controlada de fármacos. En este campo, las NPs de ZnO ya se utilizan como administradores inteligentes de medicamentos oncológicos [11]. Así mismo, la capacidad del ZnO para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de inducir apoptosis en células tumorales, hace que estas partículas nanohíbridas puedan ser usadas en un futuro para tratar el cáncer [11]. Por último, su respuesta óptica y biocompatibilidad – dependiente de factores como la concentración, el

tamaño o el entorno celular– las hace unas posibles candidatas para la formación de sensores biomédicos y diagnóstico.

En términos generales, los avances recientes muestran que los CSNs Ag/ZnO integran las propiedades de ambos componentes, haciéndolos idóneos para múltiples aplicaciones biomédicas, especialmente en la lucha contra la resistencia antimicrobiana y en terapias avanzadas contra el cáncer.

1.2 CONTEXTO Y JUSTIFICACIÓN

Durante los últimos años, el campo de las nanopartículas ha experimentado un crecimiento exponencial, asociado principalmente a su amplio potencial en aplicaciones muy diversas. Concretamente, en el mundo de las aplicaciones biomédicas, se ha impulsado el desarrollo de soluciones nanotecnológicas para abordar grandes problemas actuales.

Principalmente, se utilizan para aplicaciones en sistemas de encapsulación y protección de sustancias, biorreactores, sistemas de almacenamiento térmico o en la liberación controlada y administración dirigida de fármacos [12].

En este contexto, las nanoestructuras Ag/ZnO se presentan como vehículos nanométricos para la administración de fármacos, ya que pueden proteger su carga útil, dirigirse al lugar concreto donde se encuentra la enfermedad y controlar la liberación del medicamento [13]. Así mismo, exhiben fuertes propiedades antibacterianas y antifúngicas [7] que podrían utilizarse contra las infecciones bacterianas.

El presente TFG se enmarca en este panorama de innovación y busca contribuir al avance del conocimiento actual sobre las nanopartículas. Además, pretende abrir numerosas líneas de futuro tanto en el mundo de la investigación, facilitando el desarrollo de estudios en centros de investigación dedicados a la nanociencia o la nanotecnología; como en la industria privada, la cual puede beneficiarse de este tipo de nanoestructuras, aplicándolas en el desarrollo de fármacos, terapias antimicrobianas, o biomateriales avanzados.

1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Si bien es cierto que la síntesis y caracterización de estas NPs cobran cada vez más fuerza, resaltando la importancia de las estructuras del tipo *core – shell* por sus múltiples aplicaciones en campos como la fotocatalisis o la biomedicina, actualmente existen grandes brechas y desafíos importantes dentro del mundo de estas nanoestructuras.

En primer lugar, a pesar de los numerosos estudios basados en distintos métodos para la formación de nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO [14], se presenta una gran dificultad en el control de las síntesis dada la complejidad de la formación de la interfase entre el núcleo y la corteza.

Los principales problemas radican en las complicaciones asociadas a lograr una síntesis reproducible y escalable, así como en el control preciso de parámetros fundamentales como el tamaño, la morfología, la uniformidad o la estabilidad coloidal. Las variaciones significativas de

los resultados conseguidos en distintos estudios dificultan el ajuste de las propiedades de los *core – shell*, limitando su potencial para aplicaciones específicas.

El Trabajo de Fin de Grado propuesto tiene como objetivo sintetizar nanopartículas *core – shell* de plata y óxido de zinc (Ag/ZnO), logrando la geometría esférica. Por un lado, se llevará a cabo un método de reducción química [5], y por otro lado, un tratamiento hidrotermal [6]. Además, con el fin de optimizar los procesos de síntesis se planteará una propuesta innovadora basada en el uso de un reactor de microondas, que principalmente permita reducir los tiempos. A partir de los nanocompuestos obtenidos mediante todos los procedimientos, se realizará un análisis comparativo tanto de la eficiencia de los métodos, como de las características físico – químicas y ópticas observadas.

De esta forma, el presente trabajo no solo busca realizar una comparación rigurosa entre métodos de síntesis convencionales, sino también explorar nuevas vías que permitan superar las limitaciones actuales. Así, se contribuye al desarrollo de nanomateriales más controlables, reproducibles y eficientes para su futura aplicación.

1.4 PLANIFICACIÓN DEL TFG

Para la planificación del proyecto se aplica el siguiente programa de ejecución:

Revisión bibliográfica y elaboración del estado del arte: se investiga sobre el estado del arte mediante la búsqueda de artículos científicos sobre la síntesis y caracterización de nanopartículas *core – shell*, así como sus posibles aplicaciones en distintos campos.

Anteproyecto: se redacta un documento en el que se expone el análisis del problema y se presenta la solución propuesta. En esta fase se definen los objetivos generales y específicos del proyecto, y se identifica el alcance y las limitaciones de este.

Desarrollo del trabajo experimental: incluye todo el trabajo realizado en el laboratorio.

- **Síntesis de *core – shell*:** se preparan los protocolos de síntesis correspondientes redactando un documento en el que se recogen los materiales y reactivos necesarios indicando la función de cada uno de ellos, la descripción detallada del procedimiento a seguir, las precauciones de seguridad del proceso (posibles riesgos asociados a los productos químicos, equipo de protección personal...) y observaciones adicionales sobre posibles dificultades que podría surgir durante el experimento.
Se llevará a cabo la preparación de los materiales en el laboratorio, y se realizará un simulacro de los protocolos propuestos con el objetivo de evitar posibles imprevistos en el momento del experimento. Una vez organizado el proceso, la síntesis se realizará en el laboratorio el/los día/s acordado/s.
- **Caracterización de los *core – shell*:** En primer lugar, se realizará un estudio teórico del funcionamiento de los equipos de caracterización, así como del fundamento físico que los sustenta, analizando los posibles parámetros de caracterización que ofrece cada técnica. Después, una vez obtenidas las muestras, se someterán a distintas técnicas de caracterización entre las que se incluye el Potencial Zeta, DLS, la espectroscopía UV-Vis, la microscopía óptica de transmisión y la microscopía óptica de barrido.

Análisis de los resultados:

- Estudio de las gráficas e imágenes obtenidas en la caracterización de las distintas técnicas, así comparación con las referencias bibliográficas encontradas.
- Análisis de posibles puntos débiles, fallos y parámetros de la síntesis que influyen en los distintos resultados obtenidos.

Estudio de las aplicaciones alcanzables del proyecto y posibles líneas de futuro: se realiza la búsqueda bibliográfica de artículos relacionados con el tema, analizando las aplicaciones de los *core – shell* en distintos ámbitos. Además, se determina el alcance el proyecto. Una vez realizada la síntesis y caracterización de la muestra obtenida, se realiza un estudio de la posible aplicación más apta para los *core – shell* y se establecen las líneas de futuro del proyecto.

Redacción y preparación de la defensa: se prepara la presentación para la defensa ante el tribunal, incluyendo gráficos, imágenes y los resultados obtenidos en la síntesis y caracterización.

Con el objetivo de tener un cronograma visual se ha diseñado el Diagrama de Gantt de la **Figura 1**. Se marca la fecha límite propuesta para acabar cada una de las fases en rojo.

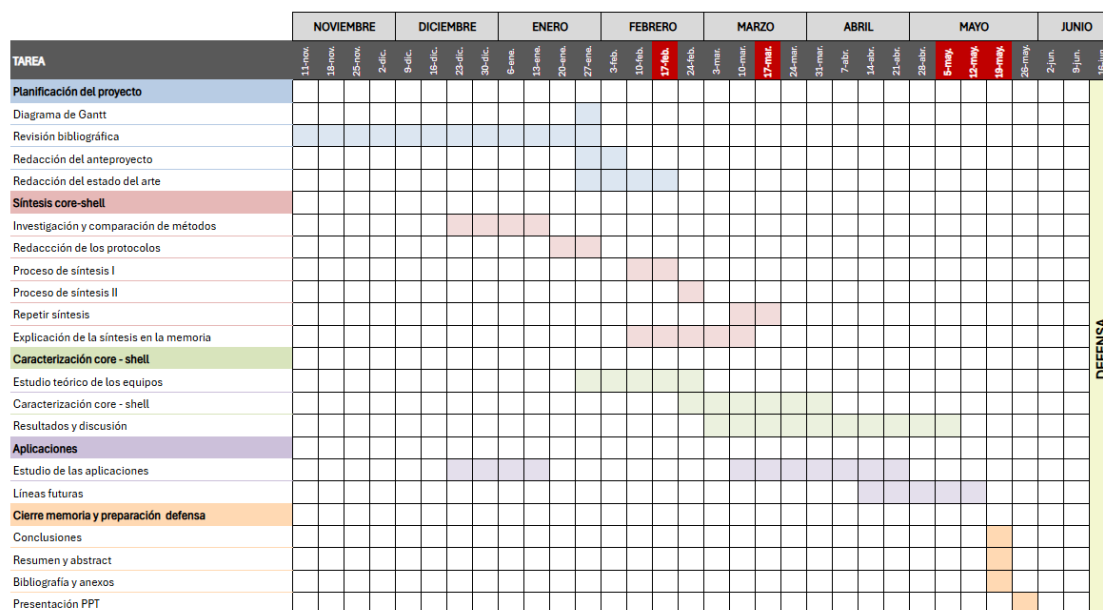


Figura 1: Diagrama de Gantt con la planificación del Trabajo de Fin de Grado [Elaboración propia].

1.5 RECURSOS REQUERIDOS

Para el desarrollo del TFG se han utilizado diferentes recursos instrumentales, digitales y bibliográficos.

En primer lugar, la parte experimental que incluye la síntesis y caracterización de las nanopartículas se ha realizado en los laboratorios de STEAM de la **Universidad Europea**. Para la caracterización morfológica y estructural se ha recurrido al microscopio electrónico de transmisión y microscopio electrónico de barrido del **Centro Nacional de Microscopía Electrónica (CNME)** de la Universidad Complutense de Madrid.

En el análisis de imágenes obtenidas mediante TEM y SEM se ha utilizado el software de procesamiento de imágenes **Image J**. Para el tratamiento de datos y la representación gráfica de los resultados experimentales se ha empleado Python, junto con las bibliotecas especializadas **Matplotlib** y **Pandas**.

En cuanto a la redacción académica, con el principal objetivo de mejorar la comprensión del documento y evitar la aparición reiterada de palabras, se han utilizado herramientas de inteligencia artificial como **ChatGPT** (OpenAI) y **Gemini** (Google DeepMind). Su uso no ha sido utilizado para la elaboración de protocolos de síntesis, ni para el análisis crítico e interpretación de los resultados.

En este contexto, para la búsqueda de literatura y referencias bibliográficas se ha hecho uso de bases de datos reconocidas como **Google Scholar** y **Web of Science**, recurriendo así a publicaciones de alto impacto. La gestión de todas las referencias se ha realizado a partir del gestor bibliográfico **Mendeley**.

Capítulo 2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GENERALES

El objetivo general del presente trabajo consiste en analizar y mejorar los procesos de síntesis de *core – shell* Ag/ZnO seleccionados, así como caracterizar las nanopartículas obtenidas para el estudio de su aplicación más adecuada en la biomedicina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Dentro de los objetivos más específicos del proyecto se encuentran:

- **Realizar y optimizar la síntesis de nanopartículas core-shell de Ag/ZnO:** se tratará de sintetizar las nanopartículas mediante un método químico, un tratamiento hidrotérmico y una síntesis con reactor de microondas, realizando una comparativa de los resultados obtenidos a partir de la caracterización de estos con las referencias bibliográficas encontradas. Con todo ello, se analizarán otros parámetros como la complejidad, reproducibilidad o alcance de los procesos.
- **Caracterizar morfológica y estructuralmente** las muestras mediante técnicas de TEM y SEM para obtener información de la forma de las nanopartículas obtenidas o grosor de la capa de ZnO; y a partir DLS, estudiando el tamaño y la distribución de partículas.
- **Caracterizar físico – química y ópticamente** las nanopartículas obtenidas a partir de potencial Zeta, midiendo la estabilidad coloidal y la carga superficial; y espectroscopía UV-Vis, analizando las propiedades ópticas.

2.3 BENEFICIOS DEL PROYECTO

Con este proyecto se pretende realizar un estudio comparativo de dos métodos de síntesis diferentes, aportando conocimiento sobre las condiciones óptimas para la formación de las nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO deseadas.

Por otro lado, la posibilidad de optimizar estos procesos permitiría escalarlo, de forma que sea aplicable a nivel industrial para el desarrollo de fármacos, la formación de biomateriales avanzados o sistemas de descontaminación.

Por último, el estudio aporta conocimiento al creciente campo de investigación de la nanociencia, y abre nuevas líneas futuras en el mundo de la salud mostrando la posible aplicación de los *core – shell* de plata y óxido de zinc.

Capítulo 3. MARCO TEÓRICO

Los avances en la nanociencia y tecnología hacen posible la síntesis de nanopartículas – partículas extremadamente pequeñas con un tamaño entre 1 y 100 nanómetros–. Este tipo de estructuras presenta grandes ventajas entre las que destaca su alta relación superficie – volumen, que les otorga una mayor energía superficial y propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas únicas [10].

Además, presentan gran variedad de formas, como esferas, cubos, varillas, primas o estructuras núcleo – capa. En concreto, las estructuras nanohíbridas *core – shell* han cobrado un interés especialmente destacado dentro de la comunidad científica.

Las características observadas en las nanopartículas están estrechamente ligadas al método de síntesis utilizado, ya que este define sus propiedades físico – químicas y morfológicas, y deben ser consideradas para optimizar su rendimiento en aplicaciones específicas. Por ejemplo, la toxicidad de las nanopartículas de plata (AgNPs) depende de su tamaño, concentración, pH del medio y tiempo de exposición a los patógenos [15]. Por ello, la elección del método de síntesis no solo afecta a su estabilidad y funcionalidad, sino también a su eficacia en el contexto de uso final.

Los procesos de fabricación de nanopartículas suelen agruparse en dos categorías (**Figura 2**): las técnicas descendentes (**top – down**), que consisten en la división de material macroscópico hasta llegar a tamaño nanométrico; o las técnicas ascendentes (**bottom – up**), que se basan en la fabricación de nanopartículas con capacidad de autoensamblarse a través de la condensación de átomos o entidades moleculares [16].

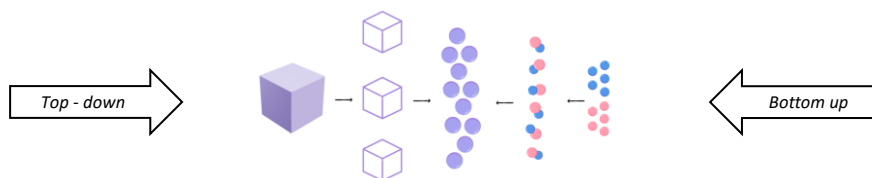


Figura 2: Procesos de síntesis de nanomateriales top – down y bottom – up [Elaboración propia].

Por otro lado, dentro de los tipos de síntesis de nanopartículas, se pueden distinguir métodos químicos, biológicos o físicos, cada uno con ventajas y limitaciones particulares.

Las **síntesis químicas** se caracterizan generalmente por la ocurrencia de reacciones químicas controladas en un medio líquido. Dentro de la versatilidad inherente de los métodos químicos, se incluyen procesos de oxidación – reducción, sol – gel, síntesis hidrotermal, microemulsiones, síntesis sonoquímica y reducción electroquímica [17]. En el presente TFG se van a aplicar los siguientes métodos [18]:

- La **síntesis por reducción química**, que se basa en la reducción de una sal metálica disuelta mediante el uso de un agente reductor.
- La **síntesis hidrotermal**, que consiste en disolver un precursor metálico en un recipiente cerrado (autoclave) que se calienta por encima de su punto de ebullición generando una

presión mayor que la atmosférica. Estos procesos requieren tiempos de reacción muy largos.

- La **síntesis mediante reactor de microondas**, que emplea radiación de microondas para calentar rápida y uniformemente la mezcla de reacción, favoreciendo una nucleación homogénea y reduciendo drásticamente los tiempos de síntesis.

Otros tipos de síntesis son los conocidos como **métodos “verdes”** que buscan ser amigables con el medio ambiente. Este tipo de procesos se basan en una técnica de bioproducción de nanomateriales que utiliza agentes reductores “verdes” con poder oxidante que no requieren de agentes estabilizantes [19]. Existen distintas estrategias utilizadas para la síntesis verde de nanopartículas entre las que se encuentran el uso de sales de metales durante el crecimiento de la planta y la posterior extracción del nanomaterial con el tejido vegetal seco; o, el método más rápido, mediante extractos acuosos de plantas que contienen ingredientes activos que facilitan el proceso de formación de las nanopartículas [16].

Por último, dentro de los métodos de **síntesis física** destacan la ablación láser y los procesos evaporación – condensación. Estas técnicas utilizan fenómenos mecánicos y energía para descomponer materiales macroscópicos en otros más pequeños. En comparación con los métodos químicos, son más ventajosos ya que no requieren el uso de reactivos químicos y se consigue una uniformidad mayor en la distribución de las nanopartículas. No obstante, su principal inconveniente radica en la necesidad de equipamiento altamente sofisticado y de difícil acceso, y el mayor coste energético y económico que supone su uso [20].

Sea cual sea el método seleccionado, es esencial controlar y ajustar con precisión las condiciones de síntesis de las nanopartículas. Entre los parámetros más relevantes se encuentran la temperatura y el tiempo de reacción, que determinan la tasa de nucleación y crecimiento cristalino; la concentración de precursores y la relación molar entre reactivos, que definen la disponibilidad de especies reactivas; y el pH del medio, que influye en la solubilidad iónica y en la estabilidad de los coloides. Asimismo, la velocidad de agitación y la naturaleza del disolvente afectan la homogeneidad y el transporte de masa, mientras que el tipo y concentración de surfactantes o estabilizantes regulan la agregación y la morfología de las partículas. En métodos hidro- o solvotermales, la presión aplicada es crítica, y en técnicas asistidas —como ultrasonidos o microondas— la potencia y frecuencia determinan la eficiencia en la transferencia de energía [21].

Para evaluar los procesos de síntesis y estudiar las propiedades físico – químicas y morfológicas de las nanopartículas sintetizadas se aplican distintas técnicas de caracterización. Más adelante, en la sección 4.2, se detallan las características principales de estas técnicas y la información aportada por cada una.

En este contexto, la elección de las estructuras CSNs basadas en plata y óxido de zinc (Ag/ZnO) resulta notablemente atractiva debido a la combinación de las propiedades únicas de ambos materiales, ya que permite una mayor versatilidad y control sobre sus características.

La **plata** es un metal noble que destaca por sus propiedades ópticas, eléctricas, mecánicas y estructurales. Su fotoactividad y alta capacidad de interacción con las células microbianas las

promueve como agentes antimicrobianos naturales eficientes [15], [19]. Además, la plata actúa como agente no tóxico y biocompatible (según su concentración y/o condiciones del medio) [17], lo que hace que, junto con su pequeño tamaño y su carga superficial positiva, puedan interactuar con las membranas celulares bacterianas cargadas negativamente y sean utilizadas en la penetración de células microbianas, inhibiendo el crecimiento microbiano.

Por otro lado, el **óxido de zinc** es un semiconductor de banda prohibida ancha y directa ($\sim 3,3$ eV) una alta energía de enlace del excitón (60 meV). Su estructura cristalina hexagonal tipo wurtzita no solo lo hace estable a temperaturas y presiones moderadas, sino que también contribuye a sus efectos piezoeléctricos y piroeléctricos utilizados como recolectores de energía en nanogeneradores, sensores y actuadores. Así mismo, su buena compatibilidad y baja toxicidad lo hace adecuado para aplicaciones biomédicas como la administración de fármacos, bioimagen, tratamientos antibacterianos y anticancerígenos [22].

Cabe destacar que, las estructuras *core – shell* son sumamente deseables para diferentes aplicaciones en distintos campos, entre los que se encuentra la industria alimentaria, la cosmética, la biomedicina, la ciencia de materiales o la farmacéutica [12]. Esto es debido a que presentan mayores ventajas en comparación con otros nanomateriales [10], [23]. En primer lugar, utilizar un material inerte y biocompatible rodeando el núcleo de las NPs mejora la estabilidad ante cambios químicos o térmicos del entorno, y facilita la conjugación en la nanoestructura con otras moléculas bioactivas. Además, si es un componente benigno e hidrófilo, se reduce la toxicidad, aumenta la biocompatibilidad, y se consigue superar el problema de dispersabilidad de nanopartículas en los sistemas biológicos (acuosos).

Concretamente, la nanomedicina utiliza las NPs como herramientas para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de enfermedades con el objetivo final de mejorar la calidad de vida de las personas. Dentro de los principales objetivos de esta ciencia se encuentran: la comprensión de la base molecular de enfermedades, la predisposición del paciente y la respuesta en la terapia; la obtención de imágenes a nivel molecular, celular y del paciente; y el diseño de terapias funcionales y sistemas de administración de fármacos más eficaces [24].

En conjunto, la selección del tipo de nanopartícula, la composición y el método de síntesis empleado son determinantes para obtener las propiedades físico – químicas necesarias para específicas aplicaciones. El conocimiento profundo de los procesos de síntesis y caracterización es fundamental para optimizar su rendimiento y garantizar la seguridad y eficacia.

Capítulo 4. METODOLOGÍA

Este capítulo se centra en la descripción de los protocolos de síntesis aplicados junto con los materiales y aparatos utilizados para las mismas. Además, se explica el funcionamiento de los equipos de caracterización a utilizar, sus especificaciones técnicas y la preparación de las muestras para la toma de medidas.

4.1 SÍNTESIS

Para la síntesis de las estructuras *core – shell* Ag/ZnO, se emplean dos métodos de síntesis distintos: la reducción química y la síntesis hidrotermal, siguiendo los procedimientos descritos en los artículos [5], [6], respectivamente. Con el objetivo de realizar un análisis comparativo y optimizar las síntesis, cada uno de estos métodos se realiza mediante dos variantes diferentes, tal y como se muestra en el esquema de la **Figura 3**.

El método de síntesis por reducción química se basa en un procedimiento químico húmedo, en el que se sintetizan directamente las nanoestructuras híbridas *core – shell* de Ag/ZnO mediante la reducción de sales metálicas en disolución y su posterior tratamiento térmico.

Por otro lado, en el caso de la síntesis hidrotermal, el objetivo es obtener una estructura *core – shell* con un hueco entre el núcleo de plata y la corteza de óxido de zinc. Para ello, primero se forma una estructura Ag/C, es decir, un núcleo de plata rodeado de carbono. Después, se generan nanopartículas de ZnO que acabarán depositándose sobre la estructura Ag/C. Finalmente, se elimina la capa de carbono intermedia mediante calcinación, dejando un hueco entre el núcleo metálico y la corteza.

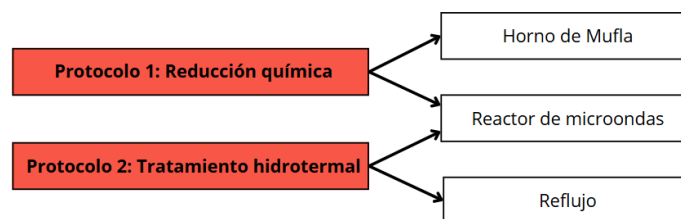


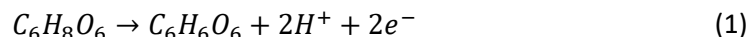
Figura 3: Esquema de los protocolos de síntesis utilizados y sus respectivas variantes [Elaboración propia].

Reactivos y función.

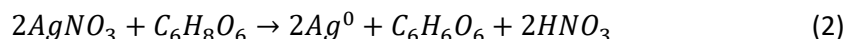
Los reactivos empleados en cada una de las síntesis se detallan en la **Tabla 1**, indicando las cantidades necesarias, el peso molecular (PM) en $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y la casa comercial de cada uno de ellos. A continuación, se detalla su función, con el objetivo de facilitar la comprensión de los procedimientos de síntesis.

En primer lugar, el **nitrate de plata** (AgNO_3) se utiliza como precursor metálico en ambos protocolos. Para obtener plata metálica (Ag^0) es necesario reducir los iones de plata (Ag^+) presentes en el precursor a partir de un agente reductor.

En el primer protocolo, se utiliza **ácido ascórbico** (AA). Durante la reacción, el AA se oxida de la siguiente manera:



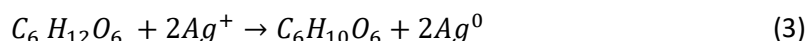
Por lo tanto, el proceso de reducción completo que tiene lugar viene descrito por:



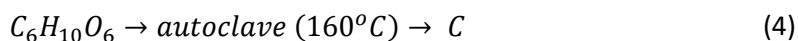
De forma que, como resultado, se obtiene la plata metálica que constituirá los núcleos de las estructuras *core – shell* que se desean obtener; y ácido nítrico disperso en el disolvente.

Para favorecer la disolución del ácido ascórbico y mejorar la eficiencia del proceso de reducción, el pH de la disolución se ajusta añadiendo **hidróxido de sodio** (NaOH). Este reactivo puede influir en la velocidad de reacción y, por tanto, en el crecimiento de los núcleos de plata.

En el segundo protocolo, el agente reductor es la **glucosa** ($C_6H_{12}O_6$), que además de formar plata metálica (Ag^0), origina ácido glucónico ($C_6H_{10}O_6$) mediante la siguiente reacción:

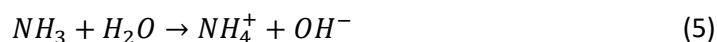


Para formar la capa de carbono es necesario realizar un tratamiento térmico en autoclave. A lo largo del proceso, el ácido glucónico obtenido se piroliza, convirtiéndose en una forma de carbono amorfo que se deposita sobre los núcleos de plata, mejorando su estabilidad y controlando la morfología. Se obtiene una estructura *core - shell* Ag/C.

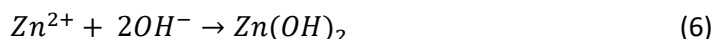


En este protocolo, el **ácido ascórbico** (AA) se utiliza para eliminar residuos de iones de plata (Ag^+) y dominar el crecimiento de las NPs.

Para continuar con la formación de la corteza de óxido de zinc, en ambos protocolos se utiliza como componente principal el **nitrate de zinc hexahidratado** [$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$]. Se agrega a la muestra al mismo tiempo que el precursor **hexametilentetramina** (HMT), también conocido como urotropina. Este último componente actúa como estabilizador del pH favoreciendo el crecimiento controlado y uniforme de la corteza. También, provoca la liberación de los iones OH^- en la solución mediante la siguiente reacción:



haciendo que interaccionen con los iones de Zn^{2+} , originando hidróxido de zinc [$Zn(OH)_2$]:



Finalmente, este se deshidrata produciendo el óxido de zinc de interés para la formación de la corteza:



La estabilidad de los núcleos y su crecimiento también se controla mediante el uso del agente tensioactivo **bromuro de hexadeciltrimetilamonio** (CTAB). Este compuesto evita la aglomeración y precipitación de las nanopartículas, logrando un tamaño pequeño y uniforme de las mismas. Además, ayuda en la deposición del ZnO y formación de una capa homogénea.

Por último, para asegurar el lavado y purificación de la muestra se utiliza **agua desionizada** y **etanol**. El agua también actúa como disolvente, proporcionando durante todo el proceso un medio homogéneo libre de impurezas.

Tabla 1: Reactivos utilizados en los protocolos de reducción química y tratamiento hidrotermal con su respectivo peso molecular (en $g\text{mol}^{-1}$), casa comercial y cantidades.

REACTIVOS	REDUCCIÓN QUÍMICA	TRATAMIENTO HIDROTERMAL
Nitrato de plata (AgNO_3 ; PM = 169,87; Sigma Aldrich)	1 mL	0,5 mL
Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, PM = 364,46; Sigma Aldrich)	131,2 mg	131,2 mg
Ácido ascórbico (AA, PM = 176,13; Labkem)	31,7 mg	31,7 mg
Hidróxido de sodio (NaOH , PM = 40,00 ; Scharlab)	2,6 mL	
Nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, PM = 297,46; Scharlab)	3,6 mL	107,1 mg
Hexametilentetramina (HMT, PM = 140,19; Scharlab)	3,6 mL	54,5 mg
Glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; PM = 180,16; Sigma Aldrich)	–	4 g

Materiales y equipo de laboratorio.

Para realizar cada una de las síntesis, se necesita el siguiente material de laboratorio:

- Papeles de pesaje.
- Probeta de capacidad 100 mL.
- Espátula metálica.
- Imán de agitación.
- Vaso de precipitados de capacidad 200 mL.
- Matraces Erlenmeyer de capacidad 100 mL.
- Tubos Falcon cónicos de 15 mL y 50 mL para centrífuga.
- Pipeta automática volumen variable de 100 – 1000 μL (Digipette).
- Pipetas Pasteur de plástico de capacidad 5 mL.
- Crisol de porcelana de forma media de capacidad 120 mL.
- Guantes térmicos de contacto calor de rizo de Kevlar.

- Vial de vidrio.

Además, para la toma de medidas y los distintos procesos se utilizan los equipos indicados a continuación:

- Báscula OHAUS PA124.
- Baño ultrasonidos de 1 litro de Selecta.
- Centrífuga compacta Spectrafuge 6C de 6500 rpm y $r = 8,5$ cm de Labnet.
- Centrífuga Digicen 21R de rotor RT154 con 9000 rpm y $r = 10,1$ cm de ORTOALRESA.
- Cabina de filtración de gases Cruma 1200.
- Agitador magnético MULTIMATIC 5-N, 230V Y 50/60 Hz.
- Reactor de microondas Monowave 400 de Anton Paar con vial G30 de capacidad máxima 20 mL.
- Horno de Mufla alta temperatura de Optic Ivymen System.

Finalmente, para la preparación del montaje del sistema de reflujo utilizado en el protocolo 2 (**Figura 10**) será necesario:

- Autoclave de acero inoxidable con recubrimiento de teflón de capacidad 50 mL.
- Balón de destilación de capacidad 200 mL con boca 29/32.
- Columna de reflujo de bolas con boca 29/32.
- Tuberías de refrigeración.
- Soporte con pinza de agarre.
- Baño de silicona.
- Agitador magnético digital con calefacción hasta 340°C con sensor de temperatura Pt1000 de Labbox.

Cabe mencionar que, durante todos los procesos de síntesis aplicados en el laboratorio se siguen unas estrictas consideraciones de seguridad (**ANEXO I: CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD.**).

Preparación de los materiales.

Antes de comenzar las síntesis, se preparan disoluciones madre de 50 mL a 0,1 M de los siguientes reactivos: nitrato de plata, hidróxido de sodio, nitrato de zinc y hexametilentetramina. La cantidad de sustancia necesaria para cada compuesto se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$m = M \cdot V \cdot M_m \quad (8)$$

donde m es la masa medida en gramos, M la molaridad de la disolución en mol/L, V el volumen total de disolución en litros, y M_m el peso molecular de cada elemento en g/mol.

La **Tabla 2** muestra las masas teóricas calculadas y las masas experimentales obtenidas mediante la balanza analítica de alta precisión.

Tabla 2: Comparación entre las masas teóricas calculadas y las experimentales obtenidas para la preparación de disoluciones madre de $AgNO_3$, $NaOH$, $Zn(NO_3)_2$ y HMT a 0,1 M.

Sustancia	Masa teórica (g)	Masa experimental (g)
$AgNO_3$	0,849	$0,853 \pm 0,001$
$NaOH$	0,200	$0,203 \pm 0,001$
$Zn(NO_3)_2$	1,487	$1,483 \pm 0,001$
HMT	0,701	$0,709 \pm 0,001$

Las cantidades obtenidas se vierten sobre los matraces Erlenmeyer y se añaden 50 mL de agua destilada en cada uno de ellos. Se agitan ligeramente las muestras, se tapan con *Parafilm* y se conservan en el frigorífico a una temperatura de 4°C.

4.1.1 Síntesis mediante reducción química.

Con el objetivo de ofrecer una representación visual que facilite la comprensión del protocolo descrito, se realiza el siguiente esquema (Figura 4).

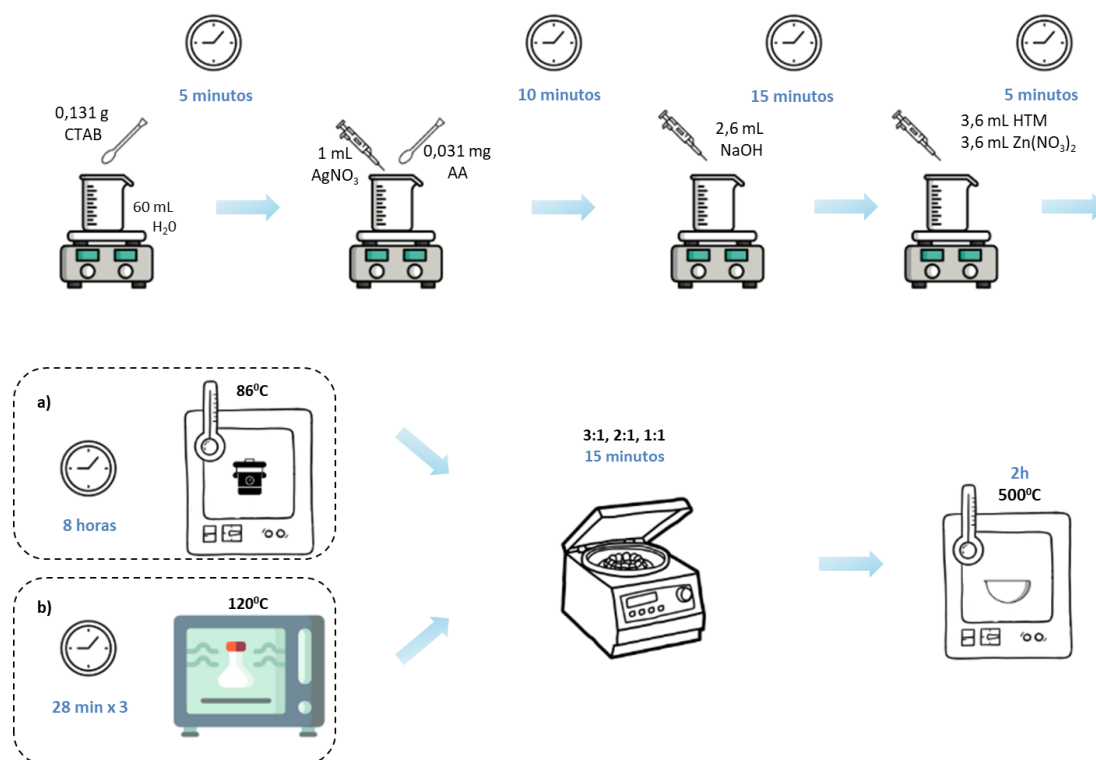


Figura 4: Descripción visual de los procesos realizados para la síntesis de core - shell Ag/ZnO mediante reducción química a partir del uso de (a) un horno de Mufla o (b) el reactor de microondas.

La síntesis mediante reducción química se inicia con una primera fase que consiste en la formación de los núcleos de plata. Para ello, el procedimiento a seguir es el siguiente:

- 1) En un vaso de precipitados de capacidad 200 mL colocado sobre el agitador magnético se añaden $0,131 \pm 0,001$ g de CTAB, y se disuelven en 60 ± 1 mL de agua destilada. La muestra se agita durante 5 minutos.

- 2) Con una pipeta automática, se añaden $1000 \pm 1 \mu\text{L}$ de la solución acuosa de nitrato de plata (AgNO_3 ; 0,1M) con agitación continua.
- 3) Sin dejar de agitar, se agregan $0,031 \pm 0,001 \text{ g}$ de AA y se deja mezclando durante 10 minutos más.
- 4) Nuevamente, con una pipeta automática, se añaden $2600 \pm 3 \mu\text{L}$ de hidróxido de sodio (NaOH ; 0,1M) gota a gota, y se mantiene la agitación durante unos últimos 15 minutos.

El volumen final de la disolución formada en esta primera parte es de $63,6 \pm 1 \text{ mL}$. Se realiza dos veces, una para cada variante del protocolo. En la primera prueba de esta síntesis la mezcla adquiere un tono amarillo brillante; mientras que en el segundo ensayo el color se oscureció, tendiendo a un tono marrón amarillento, tal y como se muestra en la **Figura 5**.

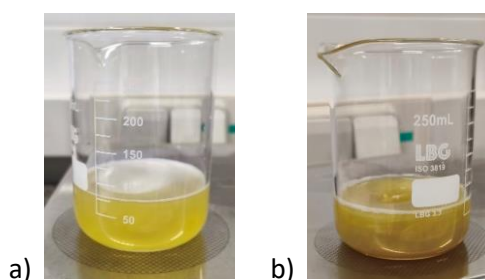


Figura 5: Disolución obtenida en la primera fase de la síntesis de la prueba 1 (a) y del ensayo 2 (b).

Este cambio de color es un indicador de la formación inicial del complejo reactivo en el proceso. Sin embargo, la diferencia de tonos entre ambos vasos de precipitados puede estar asociada a una variación en el tamaño o dispersión de las nanopartículas, cambios sutiles en la velocidad de adición de NaOH – ya que una reducción más lenta puede dejar iones Ag^+ dispersos en solución – o, distintas concentraciones de CTAB, el cual afecta a la estabilidad coloidal y a la formación de agregados.

La segunda fase se basa en la formación de la corteza de óxido de zinc mediante precipitación controlada. Se realiza mediante la adición gota a gota de $3600 \pm 4 \mu\text{L}$ de nitrato de zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$; 0,1M) y otros $3600 \pm 4 \mu\text{L}$ de urotropina (HMT; 0,1M), con agitación continua durante 5 minutos. Así, el volumen final de la disolución toma un valor de $70,8 \pm 1,0 \text{ mL}$. Después, para asegurar la formación de los *core – shell* en esta disolución, se aplican dos procesos diferentes:

Durante el primer ensayo, la muestra obtenida se calienta a 86°C durante 8 horas en un **horno de Mufla sin agitación**. La disolución obtenida adquiere un color oscuro y se observa la precipitación de los materiales en el fondo del vaso de precipitados, tal y como se muestra en la **Figura 6a**.

Por otro lado, con el objetivo de optimizar la síntesis y reducir el tiempo de proceso, se emplea un **tratamiento con reactor microondas** (del inglés, *microwave* (MW)). Este procedimiento permite alcanzar unas condiciones equivalentes a un calentamiento convencional de 86°C durante 8 horas, aplicando una temperatura de 120°C durante solo 28 minutos, gracias al uso de una tabla de equivalencias térmicas.

Además, a diferencia del primer experimento, se incorpora la agitación continua a lo largo del proceso. Asimismo, la muestra se sónica en el baño ultrasónicos antes de realizar el tratamiento térmico, de manera que se asegura la correcta disolución y dispersión homogénea de todos los compuestos utilizados. Dado que la capacidad del vial G30 utilizado es de 20 mL máximo, la muestra se divide en 4. Esto implica que, mientras una parte es sometida al tratamiento, el resto continúa en agitación. Como resultado, los tiempos de tratamiento de las disoluciones en los cuatro viales son diferentes. No obstante, y a pesar de los distintos periodos de agitación, tras el proceso térmico todas las muestras presentan el mismo tono marrón café que se observa en la **Figura 6b**.

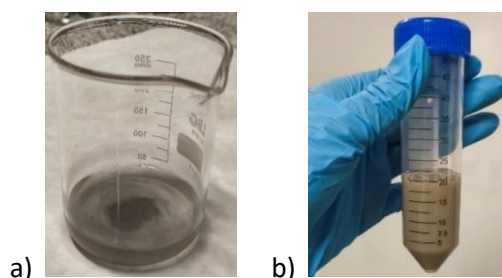


Figura 6: Disolución obtenida a la segunda fase de síntesis de la prueba 1 realizada mediante horno de Mufia sin agitación (a) y del ensayo 2 en reactor de microondas con agitación (b).

Tras enfriarse las muestras, se someten a tres lavados consecutivos en centrífuga, empleando mezclas de agua y alcohol en proporciones 3:1, 2:1 y 1:1, respectivamente, siguiendo los siguientes pasos:

- I. Las muestras se introducen en la centrífuga para conseguir depositar el material de interés sobre la superficie de los Falcon. Es fundamental equilibrar el movimiento del rotor llenando los tubos enfrentados con el mismo volumen de disolución.
- II. Finalizado el proceso de centrifugación, se retira el sobrenadante en cada lavado y se añade el nuevo volumen de disolución agua – alcohol correspondiente.
- III. Los tubos se colocan en el baño de ultrasónicos para dispersar la muestra de manera uniforme.

El proceso se repite para cada proporción agua – alcohol indicados. Este paso permite la retirada de reactivos que no han reaccionados o subproductos formados durante el proceso, de manera que se purifican las nanopartículas obtenidas.

Entre cada lavado del primer ensayo, la disolución se centrifuga a 6000 rpm durante 15 minutos en la centrífuga Spectrafuge. Esto requiere el uso de varios tubos Falcon de menor capacidad, lo que podría influir en la cantidad de muestra final obtenida debido a un mayor riesgo de pérdida de material durante el proceso. Por ello, con el objetivo de optimizar esta etapa y maximizar la cantidad de material recuperado, en el segundo ensayo se utiliza la centrífuga Digicen con rotor GT154, permitiendo el uso de tubos Falcon de mayor capacidad. Así, se obtienen finalmente 43 ± 1 mg de material (**muestra P1MW sin calcinar**) en polvo de tono marrón (**Figura 7**).

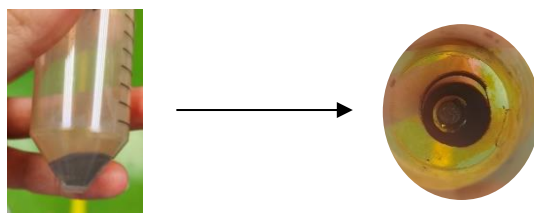


Figura 7: Muestra obtenida tras el lavado y secado a partir del protocolo 1 con el reactor de microondas (P1MW).

Por último, se realiza el tratamiento térmico de las muestras. Se secan a 40°C durante 48 horas, y, posteriormente, se calcina el polvo conseguido a 500°C en atmósfera de aire en un transcurso de 2 horas. Para ello, la muestra se deposita previamente en un crisol (Figura 8).

Para conservar la muestra obtenida y minimizar pérdidas de material, en la segunda prueba se diluye el sólido resultante en agua, asegurando que no quede residuo en la superficie del crisol. Resulta llamativo como la calcinación provoca un cambio de color de la disolución del tono marrón café observado en la Figura 6b al color morado de la Figura 8b.

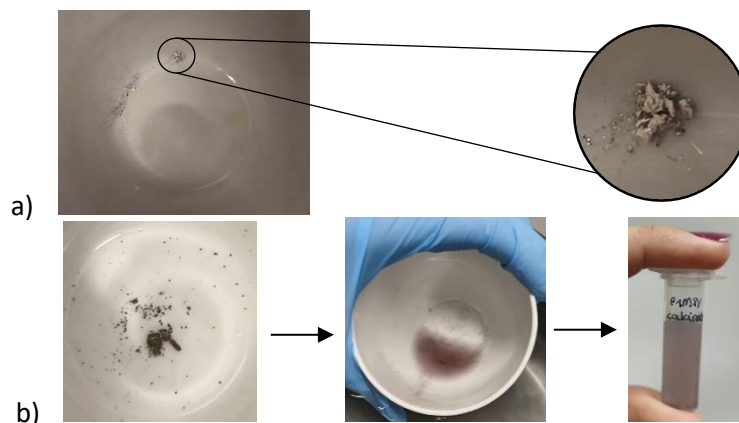


Figura 8: Muestra final obtenida tras el proceso de síntesis 1 mediante (a) horno de Mufla (P1H) y (b) en reactor de microondas (P1MW calcinada).

4.1.2 Síntesis hidrotermal.

Con el objetivo de ofrecer una representación visual que facilite la comprensión del protocolo descrito, se realiza el esquema que se muestra en la Figura 13.

La primera fase del protocolo 2 consiste en la formación de núcleos de plata rodeados de una corteza de glucosa (**muestra AgC**). Para ello, se disuelven $4,000 \pm 0,001$ g de glucosa en 35 ± 1 mL de agua manteniendo la mezcla en agitación constante durante 40 minutos hasta que no se observan restos sólidos en la disolución. Después, con una pipeta automática, se añaden 500 ± 1 μ L de la disolución madre de nitrato de plata 0,1M gota a gota bajo agitación vigorosa, y se continúa con la agitación durante 30 minutos. El volumen final de la disolución en este paso es de $35,5 \pm 1$ mL.

Luego, la mezcla se transfiere a un autoclave de acero inoxidable con revestimiento de teflón de capacidad 50 mL, y se coloca en el horno de Mufla a 160°C durante 5 horas. En esta fase tiene lugar la reacción hidrotermal que permite la deposición de la glucosa sobre los núcleos de plata.

Pasado el tiempo, se deja enfriar la muestra en el autoclave a temperatura ambiente hasta que la presión se reduce y se puede abrir el recipiente. La disolución adquiere un color marrón, tal y como se muestra en la **Figura 9**.



Figura 9: Disolución de tono marrón obtenida tras el tratamiento hidrotermal en autoclave a 160°C durante 5 horas.

Para retirar posibles impurezas, reactivos que no han reaccionados o subproductos formados durante el proceso hidrotermal, se realizan 3 lavados con agua y etanol en proporciones 3:1, 2:1 y 1:1. Entre cada lavado, se centrifuga la disolución a 5000 rpm durante 15 minutos. Al finalizar el proceso de purificación de la muestra, se retira todo el sobrenadante posible y se deja secando a 40°C durante 24 horas. Así, se obtiene la estructura *core – shell* Ag/C.

Esta disolución se conserva en etanol a temperatura 4°C en el frigorífico. Antes de utilizarla para la siguiente parte de la síntesis, se realiza un lavado en agua y centrifugado a 5500 rpm durante 10 minutos.

La siguiente etapa de la síntesis consiste en la formación de la corteza de óxido de zinc sobre la glucosa. Mediante agitación continua, se disuelven $0,131 \pm 0,001$ g de CTAB y $0,031 \pm 0,001$ g de AA en 55 ± 1 mL de agua. Pasados 5 minutos, se añaden $0,545 \pm 0,001$ g de urotropina y $0,107 \pm 0,001$ g de nitrato de zinc hexahidratado a la solución. Una vez disueltos todos los reactivos, se agregan 500 ± 1 μ L de las nanopartículas Ag/C obtenidas en la fase anterior. Al contrario que en el artículo, se trabaja en disolución en lugar de en polvo con el objetivo de aprovechar todo el material posible y evitar las pérdidas. Para continuar, en este protocolo también se aplican dos líneas de tratamiento térmico diferentes.

En primer lugar, la mezcla se mantiene en agitación continua a 86°C durante 8 horas mediante **reflujo (muestra P2R)**. Para ello, se prepara el siguiente montaje (**Figura 10**): se coloca el balón de destilación (1) dentro de un baño de silicona (2), y este último sobre el agitador magnético con calefacción (3). En la boca del balón de destilación se conecta la columna de reflujo (4). La boquilla de la parte inferior (5) de la columna se conecta a un tubo para la entrada de agua, y por la boquilla de la parte superior (6) se produce la salida de esta. Para sujetar la columna se utiliza una pinza metálica. Por último, para poder controlar la temperatura a la que ocurre la reacción, se coloca el termopar (7) en el baño de silicona.

Durante las primeras 4 horas y 30 minutos del proceso no se observa ningún cambio en la disolución. Se plantea la hipótesis de que pueda deberse a una lectura inexacta de la temperatura registrada por el termopar, al estar situado en la silicona. Esta ubicación podría no reflejar con precisión el grado térmico en el interior del balón de precipitados debido a la interfase entre los dos medios que limita la transferencia de calor. Por ello, se decide aumentar la temperatura hasta 95°C. Es en ese momento y hasta el final de las 8 horas, cuando se observa la nucleación de las nanopartículas, provocando que la disolución se torne turbia.



Figura 10: Montaje de reflujo empleado en la síntesis mediante el protocolo 2 con el balón de destilación (1), un baño de silicona (2), el agitador magnético con calefacción (3), la columna de reflujo (4) con la boquilla inferior (5) y boquilla superior (6), y el termopar (7).

La segunda manera de continuar, que tiene como objetivo optimizar la síntesis, se basa en someter a la muestra a un **tratamiento con microondas** a una temperatura equivalente de 120°C durante 28 minutos, con agitación continua (**muestra P2MW sin calcinar**). Además, para comprobar la influencia de la agitación durante el proceso de formación de las estructuras *core-shell* completas, se coloca un vial en el microondas a la misma temperatura y durante el mismo tiempo, pero sin imán. La diferencia en los resultados se observa al extraer las muestras del equipo, evidenciando una clara distinción en la distribución de las partículas: en presencia de agitación, se observa como las NPs permanecen suspendidas en el líquido y precipitan gradualmente; mientras que, en ausencia de agitación, se encuentran agrupadas y depositadas en el fondo del vial.

Una vez se retiran las disoluciones del reflujo y/o del microondas, vuelve a realizarse el lavado de la misma forma que en la primera fase: 3 lavados con agua – etanol en proporciones 3:1, 2:1 y 1:1. Se deja secar la muestra a 40°C durante 48 horas.

Cabe destacar que, tras la primera centrifugación de las disoluciones obtenidas a partir del tratamiento con microondas, se observa una diferencia notable en el color de las mismas en función de si se aplicó o no agitación durante el proceso, como se puede observar en la **Figura 11**. La disolución tratada con agitación presenta una apariencia transparente, mientras que la de sin agitación se aprecia un tono amarillo característico de la plata.



Figura 11: Comparación de las disoluciones tras la primera centrifugación de los tratamientos por microondas con agitación (a la izquierda) y sin agitación (a la derecha).

La cantidad de muestra P2R obtenida una vez secada queda depositada sobre la superficie del Falcon impidiendo su extracción y deposición sobre el crisol para continuar con la síntesis (**Figura 12**):



Figura 12: Deposición de la muestra P2R en la superficie del tubo Falcon tras el secado.

Finalmente, se realiza la calcinación de la muestra **P2MW** en el horno de Mufla. Para ello, se coloca el producto a 500°C durante 2 horas en atmosfera de aire. En esta fase se obtiene el producto final: *core – shell* Ag/ZnO. Es importante dejar enfriar el material una vez finalizado el proceso.

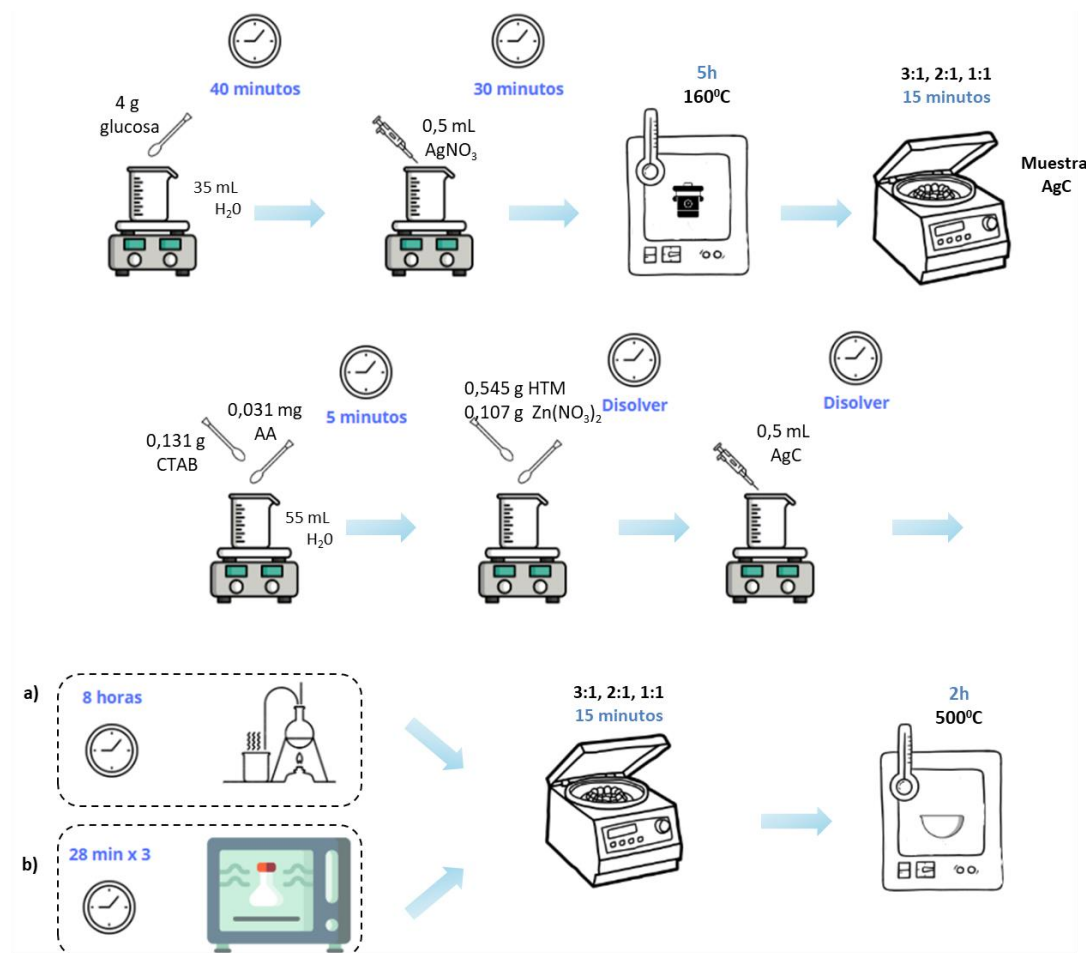


Figura 13: Esquema del proceso realizado para la síntesis de core - shell Ag/ZnO mediante tratamiento hidrotermal con (a) sistema de reflujo y (b) reactor de microondas.

4.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS CORE-SHELL

Para realizar un análisis de las propiedades físico – químicas, ópticas y morfológicas de las estructuras obtenidas en ambas síntesis, se emplean diversas técnicas de caracterización. La combinación de todos los equipos posibilita la comparación los resultados conseguidos por cada protocolo de forma precisa, y proporciona información para el estudio de la relación entre las propiedades y las condiciones de síntesis, y las posibles aplicaciones futura de las nanoestructuras obtenidas.

A continuación, se describen cada una de las técnicas de caracterización brevemente, indicando los parámetros que permite conocer, las características del equipo seleccionado y la preparación de la muestra.

4.2.1 Microscopio Electrónico de Transmisión.

El Microscopio Electrónico de Transmisión permite obtener imágenes de alta resolución de la estructura interna de materiales nanométricos. Dentro de los parámetros que se pueden estudiar, se encuentran la morfología, la estructura cristalina y algunos defectos o maclas¹ producidos durante los procesos de síntesis de las nanopartículas.

Este equipo funciona mediante la transmisión de un haz de electrones, que interactúa con la muestra. El sistema óptico formado por las lentes electromagnéticas guía el haz de electrones hasta que llega al detector, donde se proyecta la imagen aumentada [25].

A partir de un TEM de alta resolución (HRTEM), se pueden adquirir patrones de difracción (PD) bidimensionales de los materiales sintetizados mediante la técnica denominada SAED (del inglés, *Selected Area Electron Diffraction*) [26].

Por último, la Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDAX) es una técnica analítica utilizada también en conjunto con el TEM. Permite analizar la composición elemental de la muestra y determinar la cantidad cada uno de los elementos presentes en la misma [27].

El aparato utilizado se muestra en la **Figura 14**. Se corresponde con el modelo JEM – 2100 HR operado a 200 kV en el Centro Nacional de Microscopía Electrónica de la Universidad Complutense de Madrid. Opera a partir de un cañón de electrones termoiónico de hexaboruro de lantano (LaB₆) en condiciones de alto vacío.

La preparación de la muestra debe asegurar una buena dispersión de las nanopartículas. Para ello, el material obtenido se disuelve en butanol (CH₃(CH₂)₃OH, PM = 74,12; PanReac AppliChem ITW Reagents) y se somete a un proceso de sonicación por punta 3 minutos y, después, en baño ultrasonidos durante 15 minutos con el fin de eliminar agregados y lograr una dispersión uniforme.

¹ Defecto estructural donde una parte de cristal está orientada como una imagen especular de otra parte del mismo cristal.

Después, con una pipeta Pasteur se deposita una pequeña gota de la solución obtenida sobre una rejilla de cobre de 300 *mesh*² y se deja secar al aire, de forma que el butanol se evapora por completo. Con el microscopio óptico se comprueba que la muestra está equitativamente distribuida por la superficie. Finalmente, la rejilla se coloca en el porta doble tilt con cabeza de berilio. El uso de este elemento minimiza la interferencia en la señal de rayos X al hacer el análisis por EDAX. En todo momento, la manipulación de la rejilla se realiza con pinzas de punta fina.



Figura 14: Microscopio Electrónico de Transmisión JEM-2100 del CNME de la Universidad Complutense en Madrid.

4.2.2 Microscopio electrónico de Barrido.

La microscopía electrónica de barrido es una técnica de caracterización que permite la examinación y observación directa de gran parte de la muestra de estudio y produce imágenes tridimensionales de su superficie de alta resolución [28]. Proporciona información acerca de la topografía, estructura, composición y conductividad eléctrica del material [29]. Además, permite identificar posibles aglomeraciones, irregularidades en el recubrimiento o variaciones en el tamaño de las partículas.

El equipo funciona mediante un haz de electrones de alta energía que es dirigido a través de un sistema de lentes, de manera que incide directamente en la muestra e interactúa con ella. El haz electrónico barre toda la superficie con continuas idas y venidas mediante un sistema de bobinas de barrido. El detector de electrones secundarios y retrodispersados, generados como respuesta al impacto, los convierte en una señal digital para generar una imagen en blanco y negro [28], [29]. Esta imagen puede colorearse a *posteriori* con el uso de software especializado.

El aparato utilizado se muestra en la **Figura 15**. Se corresponde con el modelo JEOL JSM – 6335F del CNME de la Universidad Complutense de Madrid. Opera a partir de un cañón de electrones de cátodo frío de emisión de campo.

Para la preparación de las muestras, en primer lugar, se coloca una cinta de carbono de doble cara sobre unos portaobjetos de acero inoxidable de 1,2 cm de diámetro y 0,8 cm de altura. Con una pipeta Pasteur, se espolvorea la muestra en polvo sobre la cinta adhesiva, o se deposita una pequeña gota de la disolución utilizada. Para evitar aglomeraciones de partículas se golpea

² Medida que describe el número de aberturas por pulgada lineal en una rejilla o malla.

suavemente el portaobjetos por su cara lateral e inferior. Después, con el objetivo de eliminar los restos de humedad, se colocan las muestras en una cámara de vacío durante 1 hora aproximadamente.

Por último, dado que la técnica requiere que la muestra sea conductora, se realiza un recubrimiento con una fina capa de grafito con un sistema de evaporación térmica (Recubridor Q150 T Plus, Aname, Instrumentación Científica). El grafito mejora la conductividad eléctrica y permite una mejor calidad de la imagen tomada por el SEM.



Figura 15: Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM - 6335F del CNME de la Universidad Complutense de Madrid.

4.2.3 Dispersión Dinámica de Luz.

La dispersión dinámica de la luz es una técnica que permite determinar el tamaño de las nanopartículas en disolución mediante el análisis de las fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersada debido al movimiento Browniano de las partículas. Las NPs de menor tamaño se mueven más rápidamente que las partículas grandes, lo que puede detectarse midiendo los ángulos de dispersión de la luz. A partir de cálculos de correlación, el equipo es capaz de determinar el tamaño de las nanopartículas con el coeficiente de difusión D , mediante la relación de Stokes – Einstein descrita según la **Ecuación (9)** [30], [31].

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (9)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-23} \text{ kgm}^2\text{s}^{-2}\text{K}^{-1}$), T es la temperatura absoluta, η es la viscosidad del medio, y R_h el radio hidrodinámico [31].

El equipo utilizado se muestra en la **Figura 16**. Se corresponde con el modelo Zetaziser Nano ZS operado a longitud de onda roja de 632,8 nm de la casa comercial Malvern.

Para la preparación de la muestra, con el objetivo de asegurar la adecuada uniformidad de la distribución y evitar la aglomeración de las NPs, se somete a un tratamiento de ultrasonido con sonda durante un intervalo de 3 minutos. Si la muestra presenta una concentración elevada, se diluye para mejorar su estabilidad y lograr una dispersión más efectiva. Posteriormente, la disolución se transfiere a una cubeta utilizando una pipeta Pasteur y agregando la cantidad exacta que se indica en el equipo.



Figura 16: Zetaziser Nano ZS operado a longitud de onda roja de 632,8 nm de la casa comercial Malvern

El software utilizado proporciona información mediante tres gráficas diferentes [30]:

- **Intensidad frente al tamaño:** se basa en la intensidad de la luz dispersada, mediante aproximación de Rayleigh, aplicada cuando las partículas son mucho más pequeñas que la longitud de onda del haz. Indica que la intensidad de dispersión de una partícula es proporcional a la sexta potencia de su diámetro. Por ello, las partículas más grandes tienden a dispersar más cantidad de luz que las pequeñas, lo que se les da mayor peso en la distribución. Esta representación podría resaltar la presencia de unos pocos agregados grandes.
- **Volumen frente al tamaño:** refleja la proporción relativa del volumen total de la muestra ocupado por partículas de diferentes tamaños. Esta representación deriva de la distribución por intensidad mediante la teoría de Mie, que relaciona la intensidad de luz dispersa con el tamaño de las partículas, suponiendo que estas son esféricas y homogéneas [32]. La gráfica indica si los agregados constituyen una porción significativa de la masa total de la muestra [33].
- **Número de partículas frente al tamaño:** representa el número relativo de partículas de cada tamaño dentro de la muestra. Si bien es la representación más atractiva para comprender la cantidad de partículas presentes en la disolución, los agregados o las muestras polidispersas pueden generar cambios significativos en el cálculo de la distribución, haciéndola menos confiable [33].

Así, el DLS permite conocer el radio hidrodinámico de las nanopartículas, que indica el tamaño efectivo de las mismas en la disolución; el índice de polidispersidad, analizando si se trata de una muestra monodispersa o polidispersa; y la homogeneidad en la misma, dando una idea de la presencia de agregados en la preparación.

4.2.4 Potencial Zeta.

El potencial Zeta (ζ) mide la repulsión o atracción electrostática entre las partículas de un coloide y se relaciona directamente con su estabilidad. Se mide mediante la técnica de microelectroforésis aplicando un campo eléctrico que genera el movimiento de las partículas [30], [34].

La velocidad de las partículas se mide mediante la fluctuación de la intensidad en la señal a partir de un láser de velocidad de Doppler (LDV). La dirección de las partículas, que va a determinar el signo de la carga superficial, se mide mediante la dispersión de luz de análisis de fases (PALS, del inglés *Phase Analysis Light Scattering*) [30].

El signo del valor del potencial ζ permite conocer la carga superficial positiva o negativa de la muestra [34]. El valor numérico que puede tomar está asociado a un nivel de estabilidad coloidal: se considera que valores absolutos del potencial zeta por debajo de ± 10 mV indican baja estabilidad, mientras que rangos de ± 20 a ± 30 mV reflejan estabilidad de moderada a buena, y valores superiores a ± 30 mV indican alta estabilidad electrostática.

No obstante, hay que tener en cuenta que el potencial ζ también se ve afectado por factores estéricos [35], como la presencia de moléculas (polímeros, surfactantes u otros componentes) en la superficie de las partículas que alejan el plano de deslizamiento – donde se mide el potencial ζ – de la superficie real de la partícula.

El equipo utilizado se muestra en la **Figura 16**. Se corresponde con el modelo Zetaziser Nano ZS y el titrador MPT-2 operado a longitud de onda roja de 632,8 nm de la casa comercial Malvern.

Para la preparación de las muestras, dada la importancia de tener una distribución homogénea y dispersión adecuada de las nanopartículas evitando la formación de aglomerados y garantizando mediciones correctas, se aplica un proceso de ultrasonificación por punta durante 3 minutos. En caso de ser necesario, se diluye la muestra para optimizar su dispersión, estabilidad y uniformidad. La disolución se coloca dentro de una cámara llamada celda o célula electroforética mediante el uso de una pipeta Pasteur. La celda tiene dos electrodos en sus extremos conectados a la fuente, que provocan la aparición del campo eléctrico en la celda generando el movimiento de las partículas [30].

Para medir el potencial Zeta de la muestra a distintos pH mediante titulación automática se utiliza el MPT – 2. Esto permite conocer el punto isoeléctrico (pI) –punto de mayor inestabilidad del coloide donde las partículas tienen carga neta cero – [30].

Para utilizar el equipo, se preparan muestras con reactivos según su fuerza ácida o básica (HCl 0,1M como ácido fuerte; NaOH 0,1M y 0,01M como bases), y se colocan en las posiciones A (rojo), B (amarillo) y C (verde) del montaje respectivamente, tal y como se puede ver en la **Figura 17**. Es importante asegurarse de que los botes están correctamente etiquetados y quedan bien sujetos al soporte. Antes de iniciar la titración, hay que verificar que las conexiones de los tubos de aspiración quedan libres de aire y que el sistema de agitación no realiza vibraciones excesivas.

El sistema, conectado al equipo MPT – 2 y a la celdilla electroforética, ajusta el pH de la muestra mediante la adición controlada de ácido o base. Los conductos permiten la circulación de la muestra entre ambos equipos. Así, se registra el potencial ζ de forma secuencial a lo largo del rango de pH seleccionado.



Figura 17: Disposición del equipo de titración con la muestra a la izquierda de la imagen, y el ácido fuerte (rojo), la base media (amarillo); y la base fuerte (verde) colocadas en sus posiciones.

4.2.5 Espectrofotometría ultravioleta visible.

La espectrofotometría ultravioleta – visible se utiliza para analizar las propiedades ópticas de los materiales, midiendo la absorbancia y transmitancia de una disolución en la región de longitudes de onda desde 190 nm hasta 800 nm [36].

A partir de la radiación UV – Vis, la materia interactúa con los fotones, absorbe energía y se produce la excitación de electrones de un nivel energético inferior a uno de mayor energía. [36]. Estas transiciones permiten medir la cantidad de luz absorbida por el material en función de la longitud de onda del haz incidente, de manera que se puede determinar la composición química de la muestra y la concentración. Además, la técnica permite calcular la energía del GAP teniendo en cuenta la **Ecuación (10)**.

$$E_G = \frac{hc}{\lambda} \quad (10)$$

siendo h la constante de Planck ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J·s), c la velocidad de la luz ($3 \cdot 10^8$ ms⁻¹) y λ la longitud de onda asociada al pico de máxima absorbancia.

El equipo utilizado (**Figura 18**) se corresponde con el modelo Jasco V – 770 que trabaja junto con el Software Spectra Manager™. Este espectrofotómetro de doble haz y alta sensibilidad trabaja en un amplio rango de longitud de onda de 190 a 2700 nm (UV, Visible e infrarrojo cercano), y un ancho de banda espectral variable que mejora la resolución espectral y la precisión en la detección [37].

Para realizar la toma de medidas, las muestras se dispersan en agua consiguiendo una suspensión homogénea. Se utiliza una cubeta de cuarzo de Hellma Analytics, en la que se depositan las disoluciones y se introduce en el espectrofotómetro.



Figura 18: Espectrofotómetro Jasco V - 770 de doble haz.

Capítulo 5. RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos a lo largo del TFG, organizados en función de los objetivos iniciales propuestos, con el fin de evaluar su grado de cumplimiento. En primer lugar, se muestran los resultados relacionados con las síntesis realizadas y la optimización de estas para la formación de los CSNs Ag/ZnO. A continuación, se analiza su caracterización morfológica y estructural. Por último, se exponen los resultados obtenidos en el estudio de sus propiedades físico – químicas y ópticas.

5.1 REALIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE CSNs Ag/ZnO

Para contextualizar la comparación, es importante señalar que los protocolos de síntesis descritos emplean prácticamente los mismos reactivos, en cantidades similares o incluso iguales en algunas ocasiones. Sin embargo, a pesar de que ambos procesos tienen como objetivo final la obtención de estructuras nanohíbridas Ag/ZnO, difieren significativamente en cuanto a los mecanismos de formación y condiciones experimentales empleadas.

La síntesis por reducción química destaca por su rapidez y simplicidad. El uso del ácido ascórbico como agente reductor y el NaOH como regulador del pH del medio proporciona cierto control sobre el proceso. La opción inicial del protocolo se basa en el uso de un horno de Mufla para formar *los core – shell*, pero el proceso fue largo (8h) y no permitió la agitación de la disolución durante el calentamiento. Esto provocó que los materiales precipitaran en el fondo del recipiente y no reaccionaran correctamente (**Figura 6a**).

Como propuesta y alternativa para optimizar la síntesis, se incorpora el uso de un reactor de microondas con agitación durante el proceso final de la formación de las nanopartículas. Este equipo disminuye notablemente los tiempos de reacción, mejora la homogeneidad de las muestras, y logra la deposición correcta del óxido sobre la superficie de los núcleos de plata. Como resultado, la modificación del protocolo genera una muestra con características morfológicas y composicionales claramente superiores. La discusión de su caracterización detallada se analizará en profundidad más adelante, demostrando su éxito como el método más eficaz del estudio.

Por otro lado, el protocolo 2 basado en la síntesis hidrotermal se diferencia principalmente en la introducción de un paso intermedio: la formación de las estructuras AgC. Este paso añade una complejidad adicional al protocolo y prolonga significativamente los tiempos totales de síntesis. La eficacia en esta etapa es determinante, ya que la morfología y tamaño que obtienen las estructuras AgC repercute directamente en los resultados de los procedimientos posteriores. Como se observará posteriormente en la caracterización, una síntesis inadecuada en esta fase inicial compromete la eficacia de todo el procedimiento.

En este segundo protocolo, para la formación de las estructuras CSNs Ag/ZnO completas se plantea, como primera opción, el uso de un sistema de reflujo. El montaje, además de ser complejo y poco práctico, no permitió un control eficiente de las condiciones de síntesis,

principalmente de la temperatura, que debía alcanzar los 86°C y mantenerse constante durante 8 horas.

Como alternativa se propone de nuevo el uso del reactor de microondas, que optimiza la síntesis. En esta ocasión no solo reduce los tiempos, sino que simplifica en gran medida el montaje. Además, se comprobó la importancia de la agitación durante el calentamiento final, concluyendo que la agitación durante el tratamiento térmico es fundamental para la correcta formación de las estructuras nanohíbridas.

5.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ESTRUCTURAL

En este apartado se presentan las imágenes y gráficas obtenidas mediante TEM, SEM y DLS, con el objetivo de analizar la morfología, el tamaño, la distribución de las nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO, así como evaluar la formación del núcleo de plata y la corteza de óxido de zinc. Estas técnicas facilitan la identificación de las diferencias entre los distintos métodos de síntesis empleados, y proporcionan información clave para determinar la idoneidad de las muestras para realizar la caracterización físico – química y óptica posterior.

5.2.1 Microscopio Electrónico de Transmisión.

El TEM se emplea con el objetivo de verificar la correcta formación de las estructuras *core – shell* sintetizadas. Además, se aplican las técnicas SAED y EDAX en aquellas muestras que se consideran adecuadas para un análisis estructural y composicional más detallado.

Protocolo 1:

En primer lugar, se analiza la muestra obtenida mediante la **síntesis de reducción química con horno de Mufla (P1H)**. La espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (**Figura 19**) resulta fundamental para confirmar la presencia de los elementos constituyentes de la muestra, la plata y el óxido de zinc. La gráfica obtenida revela una clara ausencia de zinc, lo que sugiere que no se consigue una buena unión entre la corteza y los núcleos de plata. Además, se detecta la presencia de bromo procedente del surfactante CTAB, lo que podría indicar que el proceso del lavado de la muestra no ha sido completamente efectivo.

En la **Figura 20a** se observa una aglomeración de material sin una estructura geométrica bien definida. Aunque se aprecian zonas de mayor contraste que pueden estar relacionadas con la presencia de núcleos metálicos más densos, no se logra identificar una clara delimitación entre el núcleo y la coraza.

Finalmente, el espectro SAED (**Figura 22a**) presenta un patrón de anillos concéntricos difuminados, correspondiente con un material amorfo o con bajo grado de cristalinidad y/o con defectos estructurales. Esto puede deberse a una síntesis incompleta que no favoreció el crecimiento cristalino definido, dando lugar a imperfecciones en la red.

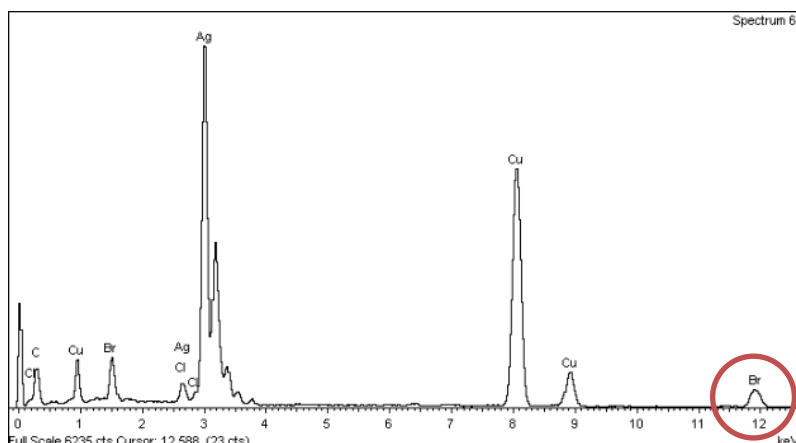


Figura 19: Espectro EDAX de la muestra P1H donde se observa la presencia de bromo proveniente del CTAB, y la ausencia completa de ZnO.

A continuación, se realiza el estudio de las nanopartículas sintetizadas mediante **reducción química con el reactor de microondas (P1MW) sin calcinar**. El análisis TEM (Figura 20b), muestra la correcta formación de las estructuras *core – shell* Ag/ZnO. Se observan núcleos oscuros correspondientes a la plata (*core*) rodeados por una capa más clara atribuida al recubrimiento de óxido de zinc (*shell*), distinguiéndose la interfase entre ambos materiales [6]. Se consigue una estructura bien definida y geoméricamente esférica, lo que evidencia un crecimiento controlado y homogéneo en las fases del proceso.

No obstante, se puede ver que la corteza de ZnO presenta regiones de diferente grosor, distribuyéndose de forma un poco heterogénea sobre la superficie del núcleo. Esto puede tener implicaciones tanto en las propiedades ópticas como en la dispersión de tamaños obtenida más adelante por técnicas como DLS, donde los cálculos se realizan suponiendo nanopartículas esféricas.

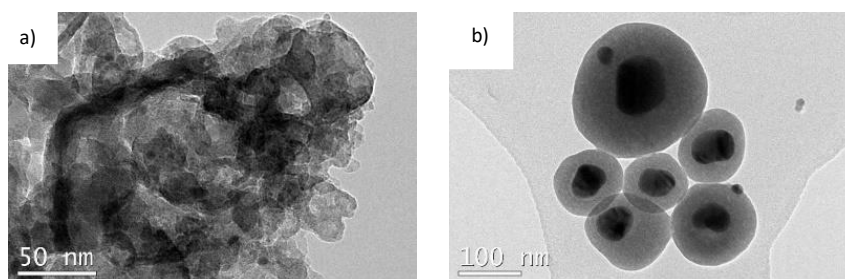


Figura 20: Imágenes TEM de las disoluciones obtenidas mediante la síntesis de reducción química. (a) Aglomerado sin estructura bien definida de la muestra P1H. (b) Formación de estructuras *core-shell* Ag/ZnO bien delimitadas y esféricas en la muestra P1MW sin calcinar.

El análisis EDAX de la muestra (**ANEXO II: GRÁFICAS. Figura 31**) confirma la presencia de plata y óxido de zinc, y la ausencia completa de otras sustancias como el bromo. En la zona central hay un 91,43% de Ag, mientras que la corteza está compuesta en un 95,58% por ZnO. En comparación con el primer ensayo, realizado mediante el horno de Mufla, se consigue una mayor eficacia en el lavado de las muestras y una mejor integración del ZnO respecto a los residuos de tensioactivo.

El conjunto de imágenes conseguidas mediante TEM, permite realizar un análisis de la distribución de tamaños del núcleo, la corteza y la nanopartícula completa. Para ello, se utiliza *ImageJ*, un programa para el análisis de imágenes. Aunque el número de eventos analizados es pequeño, se aprecia una tendencia clara hacia una morfología esférica con tamaños relativamente homogéneos. Se obtienen unos valores medios de las dimensiones del núcleo, la corteza y la nanopartícula de **54,77 nm**, **28,68 nm** y **116,37 nm** respectivamente (**ANEXO II: GRÁFICAS. Figura 32**).

Además, el **patrón de difracción de puntos nítidos** observado (**Figura 22b**), que se obtiene mediante la técnica SAED, refleja la estructura cristalina correspondiente a la plata con los planos cristalinos propios de la FCC: (111), (200), (220), (311) y (222) [38]. Superpuesto a este, se puede observar un patrón de difracción de anillos difusos, propio de la estructura amorfa que presenta el óxido de zinc antes de ser calcinado. Dado que no se analiza la muestra calcinada, no se puede observar el PD correspondiente a la estructura hexagonal compacta (wurtzita) que adquiere el ZnO al cristianizarse. El uso del software *Image J*, permite calcular las distancias interplanares, obteniéndose los valores que se muestran en la **Tabla 3**. Estos resultados son muy próximos a los valores reportados en la literatura, lo que respalda la presencia de una estructura cristalina bien definida y coherente con la esperada para este tipo de material.

Protocolo 2:

La caracterización del protocolo 2 se inicia con la comprobación de la correcta formación de los **núcleos Ag/C** formados en la primera fase de la síntesis, ya que se utilizan posteriormente para la creación de los *core – shell*.

En las primeras imágenes tomadas mediante TEM se observa un crecimiento controlado de los núcleos de plata y parecen mostrar la correcta formación de los núcleos Ag/C, con estructuras bien definidas, una geometría mayoritariamente esférica y recubiertas de una capa de glucosa uniforme (**Figura 21abc**). No obstante, la presencia significativa de aglomerados en la muestra no permite determinar fielmente la constitución de dichos núcleos. Para estimar el tamaño medio de los núcleos de plata, se analizaron únicamente las nanopartículas situadas fuera de los aglomerados, obteniendo un valor de **45,39 nm**.

Ante la falta de certeza en los resultados iniciales, se llevó a cabo una segunda caracterización en una fecha posterior, utilizando una disolución menos concentrada. En este caso, se vuelve a observar la formación de la capa de glucosa uniforme alrededor de los núcleos de plata, aunque con una notable diversidad en cuanto a tamaños y formas (**Figura 21def**). La geometría esférica no se conserva y la distribución partículas resulta no homogénea. Además, en este caso el tamaño de los núcleos de plata, considerando únicamente aquellas partículas con morfología casi esférica (excluyendo nanorods o geometrías triangulares), asciende a **237,45 nm**.

Estos resultados sugieren que los aglomerados observados en la primera caracterización probablemente contenían núcleos de mayor tamaño que no pudieron identificarse claramente en ese momento. Además, indican que las condiciones de síntesis (tiempo de reacción, pH, agitación, temperatura...) no han sido adecuadas y/o controladas correctamente.

La observación de partículas similares en la primera y segunda caracterización (**Figura 21c y Figura 21f**) de la muestra sugiere que durante el periodo entre cada toma de medidas las estructuras Ag/C se han conservado correctamente.

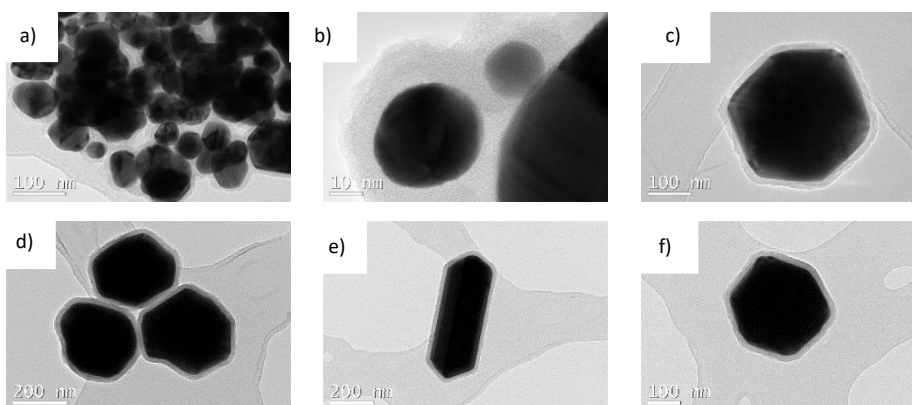


Figura 21: Imágenes TEM de los núcleos de plata recubiertos con glucosa. (a, b, c) Se observa una capa de glucosa uniforme y la presencia de aglomerados. El tamaño medio estimado es de 45,39 nm. (d, e, f) Se parecía heterogeneidad en la forma y tamaño de las partículas, el cual asciende a 237,45 nm.

Con todo ello, se realiza además un estudio SAED de la plata para comprobar si presenta una estructura cristalina bien ordenada. Se obtiene el patrón de difracción de puntos nítidos (**Figura 22c**) característico de la estructura FCC de este elemento. En este caso, también se realiza un estudio complementario de las distancias interplanares a partir del software *ImageJ* (**Tabla 3**). Los resultados permiten concluir que, a pesar de la diversidad de tamaños y formas, las nanopartículas tienen un alto grado de orden estructural y son cristalinas. Cabe destacar que no se detecta el carbono que envuelve los núcleos de plata en el patrón.

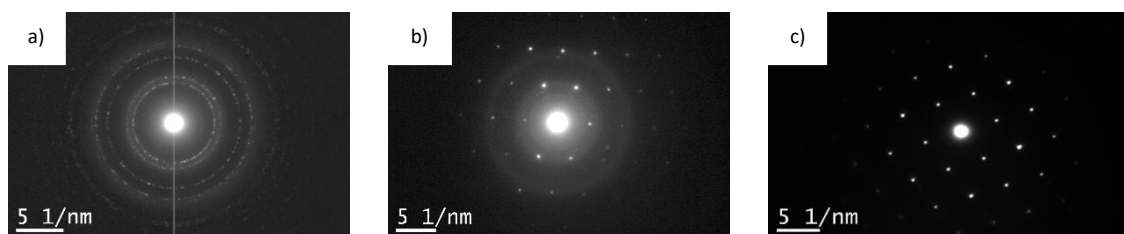


Figura 22: Patrones de difracción SAED. (a) Patrón de anillos concéntricos difuminados característicos de una estructura amorfa de la muestra P1H. (b) Patrón mixto de puntos nítidos y anillos difusos de la muestra P1MW sin calcinar. (c) Patrón de difracción de anillos nítidos característico de la estructura FCC de la plata en la muestra Ag/C.

Tabla 3 Planos de difracción característicos de la plata con sus distancias interplanares teóricas, calculadas mediante la Ley de Bragg, y experimentales para las muestras P1MW sin calcinar y AgC, obtenidas mediante el software ImageJ.

Plano de difracción	Distancia teórica (nm)	Distancia experimental	
		P1MW	AgC
(111)	0,2361	0,2421	0,2365
(200)	0,2045	0,2046	0,2041
(220)	0,1446	0,1309	0,1438
(311)	0,1233	0,1230	0,1232
(222)	0,1181	0,1112	0,1180

La siguiente muestra para analizar es la sintetizada mediante el **tratamiento hidrotermal utilizando el sistema de reflujo (P2R)**. En la **Figura 23**, las zonas oscuras se corresponden con los núcleos de plata presentes provenientes de la muestra AgC, mientras que las áreas más claras corresponden al óxido de zinc que los recubre. No obstante, no se observa ninguna geometría completamente definida. Los resultados podrían asociarse a un inicio de nucleación o intento de formación de las estructuras *core – shell* Ag/ZnO. Se cree que el fallo en el control de la temperatura del sistema de reflujo provocó un retraso en el inicio de la nucleación de los *core – shell*, quedando aglomerados en la muestra y nanopartículas no formadas.

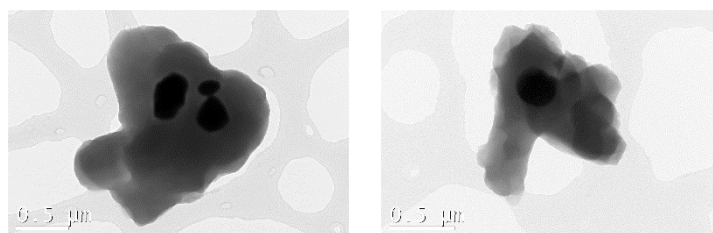


Figura 23: Imágenes TEM de la muestra P2R obtenida por tratamiento hidrotermal. No se observa una estructura definida, seguramente por un retraso en el inicio de la nucleación de los CSNs.

Por último, las **nanopartículas** sintetizadas mediante el **reactor de microondas antes de ser calcinadas** presentan unos resultados completamente distintos. La **Figura 24a** muestra la formación de nanopartículas de zinc correspondientes a la segunda fase de la síntesis. Se puede ver la deposición parcial del ZnO sobre los núcleos de plata (**Figura 24bc**). No obstante, quedan grandes aglomerados del mismo en toda la muestra.

Cabe destacar que los pasos posteriores a la formación de las estructuras AgC no consiguen reducir el tamaño de los núcleos de plata, ni corregir su forma. El fallo se arrastra en todos los procesos, impidiendo la correcta formación de las nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO que se buscaban.

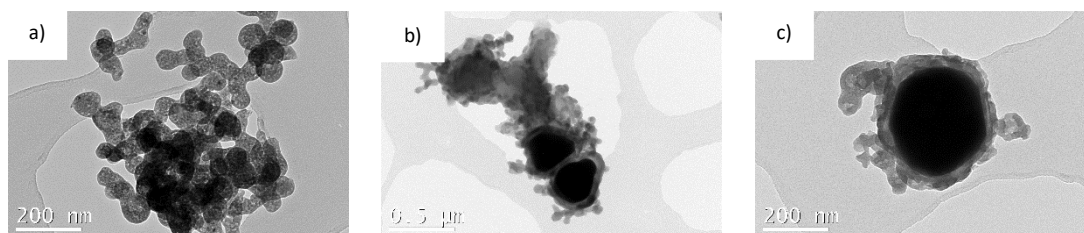


Figura 24: Imágenes TEM de la muestra P2MW sin calcinar. (a) Formación de nanopartículas ZnO. (b, c) Deposición parcial del ZnO sobre los núcleos de plata con presencia de aglomerados y heterogeneidad en la corteza.

La **muestra sometida a calcinación** fue también objeto de análisis con el fin de evaluar la cristalización del óxido de zinc. Para confirmar la presencia solamente de óxido de zinc se realizó un EDAX (**Figura 25a**) en la región de la figura **Figura 25b**. El TEM permite observar zonas con distintos tonos de grises, lo que podría estar asociado a variaciones en la intensidad y distribución de los electrones difractados como consecuencia de las diferentes orientaciones de los planos cristalinos en el material.

En este contexto, el SAED (**Figura 25c**) revela un patrón de difracción compuesto por anillos concéntricos no difusos. Esto reafirma la presencia de múltiples dominios cristalinos orientados aleatoriamente. La literatura sugiere que la fase predominante en nanopartículas de ZnO es la wurtzita [22]. Sin embargo, la identificación estructural definitiva requiere la determinación cuantitativa de las distancias interplanares correspondientes a cada anillo. Para ello, es necesario conocer parámetros instrumentales como la distancia cámara y el voltaje de aceleración del TEM [39].

Una vez calculadas las distancias, estas deben compararse con datos cristalográficos de referencia disponibles en bases como la PDF-4+ del *International Centre for Diffraction Data* (ICDD) [40] o el *Crystallography Open Database* (COD) [41].

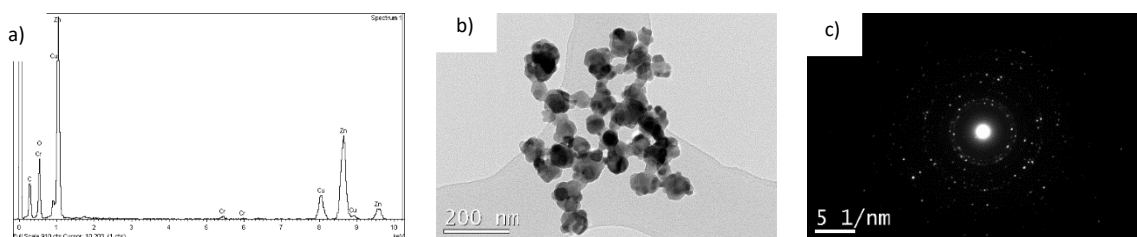


Figura 25: a) Análisis EDAX realizado sobre una zona aglomerada de la muestra calcinada, que confirma la presencia exclusiva de óxido de zinc; b) imagen TEM de dicha región, seleccionada para la obtención del patrón de difracción; c) patrón SAED correspondiente, en el que se observan puntos definidos y anillos concéntricos relativamente nítidos, indicativos de una fase cristalina en el material.

5.2.2 Microscopio Electrónico de Barrido.

Para estudiar la morfología superficial y la distribución de las nanopartículas obtenidas se emplea el microscopio electrónico de barrido. Dados los resultados obtenidos a partir de la caracterización por microscopía electrónica de transmisión, el SEM se aplica solamente a las muestras P1MW sin calcinar y P2MW calcinada.

En primer lugar, la **Figura 26** se corresponde con las nanopartículas obtenidas mediante el proceso de **síntesis de reducción química con el uso de reactor de microondas sin calcinar**. Por un lado, se confirma la distribución homogénea de las nanopartículas en la disolución, sin presencia abundante de aglomerados. Por otro lado, se reafirma la geometría esférica de los *core – shell*. Además, se observa como la corteza está formada por nanopartículas de óxido de zinc que tienden a agregarse entre sí, dando lugar a una estructura rugosa y heterogénea en la superficie [6]. Este resultado sugiere un control adecuado en el proceso de nucleación y crecimiento durante la síntesis.

Por otro lado, las imágenes SEM correspondientes a la muestra sintetizada mediante el **tratamiento hidrotérmal en reactor de microondas sin calcinar** permiten observar la formación de agregados de óxido de zinc (**Figura 27a**), así como la presencia aislada de nanopartículas esféricas dispersas en la disolución (**Figura 27b**). Asimismo, se aprecia una morfología similar a la observada previamente en los núcleos AgC, con esa variedad de formas previamente comentada (**Figura 27c**).

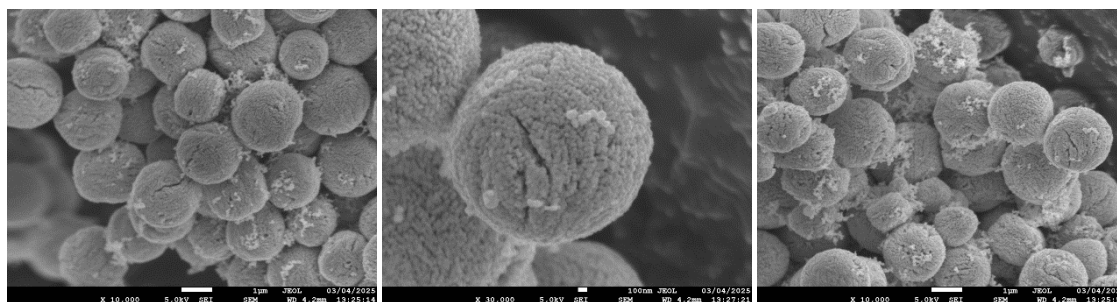


Figura 26: Imágenes SEM de la muestra P1MW sin calcinar. Se observa una distribución homogénea, geometría esférica y corteza rugosa formada por NPs de ZnO.

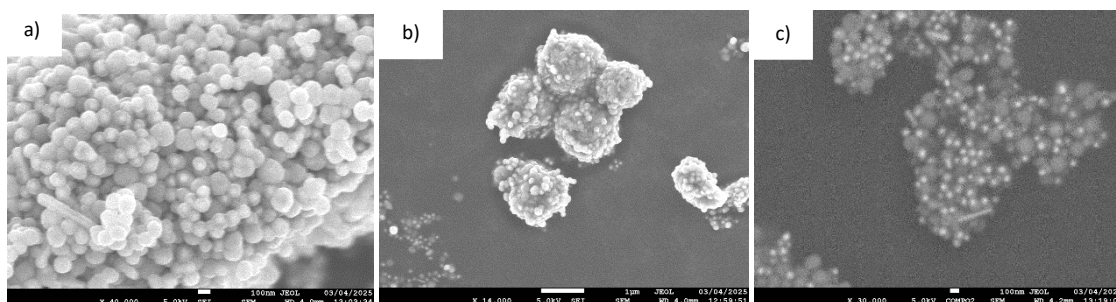


Figura 27: Imágenes SEM de la muestra P2MW sin calcinar. (a) Agregados de NPs de ZnO. (b) AgZnO CSNs esféricas. (c) Morfología variada similar a la observada en los núcleos AgC.

Nota: Dada la baja calidad de los resultados obtenidos mediante el protocolo 1 en horno de Mufla, y las dos variantes del protocolo 2 con TEM y SEM, no se continúa con su caracterización para evitar comprometer la fiabilidad del análisis comparativo. Estas muestras presentan una morfología poco definida y una distribución irregular de tamaño, lo que dificultaría el estudio de sus propiedades físico – químicas y ópticas con el resto de las técnicas, obteniendo resultados no representativos ni relevantes. Por tanto, el resto del estudio se centra en la muestra sintetizada mediante el protocolo 1 con reactor de microondas.

5.2.3 Dispersión Dinámica de Luz.

El análisis DLS realizado para la muestra *core – shell Ag/ZnO P1MW sin calcinar*, revela un tamaño hidrodinámico promedio de **160,5 nm** y un índice de polidispersidad (PDI) de **0,366.**, indicando una distribución de tamaño variable y una muestra polidispersa. En las tres gráficas presentadas (**ANEXO II: GRÁFICAS. Figura 33**) se observa una tendencia progresiva hacia dimensiones mayores, siendo esto un indicador de la posible formación de agregados durante la toma de medida e inestabilidad de la muestra.

La gráfica basada en la intensidad de la luz dispersada muestra un pico dominante en 209,2 nm. Esto es debido a que las partículas de mayor tamaño dispersan más la luz, contribuyendo desproporcionalmente a la señal y sobreestimando la cantidad de partículas grandes presentes en la muestra. Por otro lado, la gráfica de volumen indica como la mayor parte de la muestra se encuentra en el rango de 60 a 300 nm, lo cual es consistente con la polidispersidad de la muestra.

Cabe destacar que, los resultados pueden estar sesgados hacia partículas más grandes dada la sensibilidad de la técnica ante la presencia de agregados y la amplia distribución de tamaños en la muestra. Los datos deben complementarse con otras técnicas para obtener una caracterización más precisa.

5.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA Y ÓPTICA

En esta sección se muestran los resultados conseguidos mediante potencial Zeta y espectroscopía UV – Vi, correspondientes a la caracterización físico – química y óptica de las nanopartículas.

5.3.1 Potencial Zeta.

En primer lugar, se obtiene un valor de **potencial Zeta negativo** de **-15,7 mV** para la **muestra P1MW sin calcinar**. A pesar de ser un valor relativamente bajo asociado a la poca estabilidad de las NPs, no se observa su agregación y sedimentación en el tubo Falcon donde se conserva. Esto sugiere la presencia de mecanismos de estabilización no electrostáticos, como la estabilización estérica [35]. Podría ocurrir que la corteza de ZnO tenga propiedades superficiales que favorezcan la absorción de ciertas especies, de manera que las nanopartículas estuvieran rodeadas de otras moléculas más grandes que impidiesen su acercamiento y agregación. Además, la carga superficial negativa indica la presencia de iones negativos en la superficie de las partículas o de grupos funcionales ionizados en la corteza externa de ZnO.

En caso de existir una capa estérica significativa, el diámetro hidrodinámico obtenido mediante la medida DLS sería significativamente mayor que el diámetro real. Es por ello por lo que, mientras que el software ImageJ permite calcular un valor medio de las nanopartículas **116,37 nm**, el DLS muestra un número significativamente mayor, de 160,5 nm, sobreestimando el tamaño real de los *core – shell* obtenidos.

Para la **muestra P1MW calcinada** se obtiene un valor aún más cercano a cero, de **-13,7 mV**. Esto indica que la calcinación de las nanopartículas no solo induce la transición de la fase cristalina del ZnO, sino que podría haber causado cambios en la superficie, provocando una ligera disminución en el valor del potencial Zeta. Esta reducción podría estar relacionada con la eliminación de los grupos funcionales superficiales o con una reorganización de la corteza tras el tratamiento térmico. Como consecuencia, en esta última disolución se observa la precipitación y sedimentación de las nanopartículas en el fondo del tubo Falcon tras un periodo de reposo no muy largo. Aún con todo, la carga superficial negativa se mantiene.

La **Figura 28** representa el potencial Zeta medido para ambas muestras. Esta medida, se realiza al pH de la muestra, en torno a 7,5 en ambas disoluciones. Cabe destacar que los resultados no difieren significativamente de los obtenidos en un estudio previo mediante síntesis química [42].

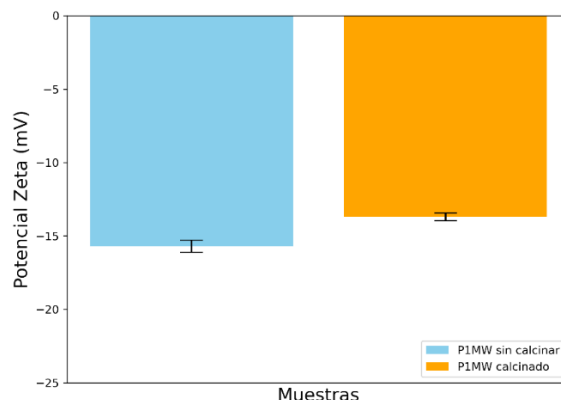


Figura 28: Representación de la distribución del potencial Zeta al pH de la muestra ($\sim 7,5$) en la disolución P1MW sin calcinar (azul) y calcinado (naranja), obteniéndose unos valores de $-15,7$ mV y $-13,7$ mV respectivamente.

Además, se realiza un estudio de titulación para encontrar el punto isoeléctrico de la disolución. Los resultados se presentan en el **ANEXO III: ESTUDIO DEL PUNTO ISOELÉCTRICO POR TITULACIÓN**. Dado que la interpretación de estos datos no es concluyente, se ha optado por reservar su análisis detallado en dicho apartado.

5.3.2 Ultravioleta Visible.

En las estructuras *core - shell* Ag/ZnO, las propiedades ópticas ofrecen información acerca de la interacción entre la resonancia plasmónica del núcleo de plata y la absorción por banda prohibida de la capa de óxido de zinc.

Para empezar, se analiza el espectro UV – Vis de la **muestra P1MW sin calcinar (Figura 29)**. Se observa una brecha de banda típica de la resonancia plasmónica superficial (SPR) de la plata. No obstante, existe un claro desplazamiento al rojo hacia aproximadamente **490 nm**, en comparación con el valor típico para nanopartículas de plata pura (380 – 450 nm). Este corrimiento está asociado a la interacción entre el núcleo de Ag y la corteza de ZnO [43], indicando que no se trata de una mezcla simple de nanopartículas independientes [4], sino de una verdadera estructura *core – shell*. Además, la variedad de tamaños en las nanopartículas provoca un ensanchamiento y una menor definición de la banda.

En línea con esta observación, un estudio previo [4], utiliza el software FDTD Solutions para examinar cómo el grosor de la corteza de ZnO afecta al corrimiento al rojo del espectro. Se demuestra que un aumento en el grosor de la capa de óxido provoca un desplazamiento mayor del pico de absorción hacia longitudes de onda más altas, en coherencia con lo observado en esta muestra.

Por otro lado, con respecto al pico de absorbancia del ZnO, hay que tener en cuenta que este presenta una estructura amorfa, que impide la aparición de su señal característica en torno a 390 nm.

Por el contrario, el espectro UV – Vis de la **muestra P1MW calcinada (Figura 30)** si cuenta con un pico muy pronunciado en la zona de 360 – 380 nm, correspondiente al borde de banda de absorción del ZnO. Concretamente la máxima absorbancia se sitúa en **369 nm**, teniendo en

cuenta la **Ecuación (10)**, se obtiene un valor de la energía del GAP de **3,35 eV**. Esta transacción se asocia a un ZnO cristalizado en fase wurtzita, con menor densidad de efectos y un grosor de la corteza más uniforme, que permite transiciones directas banda a banda, generando un pico más agudo.

Por otro lado, existe una banda de absorción más suave, desde 420 nm hasta 600 nm aproximadamente, asociada a la resonancia plasmónica superficial localizada de la plata metálica. El corrimiento hacia el rojo se conserva tras el tratamiento térmico confirmando de nuevo la interacción núcleo – corteza. Sin embargo, el ensanchamiento se acentúa, lo que puede deberse a una mayor **diversidad de tamaños** en la muestra tras la calcinación, o la posible **aglomeración** de las nanopartículas durante la medida.

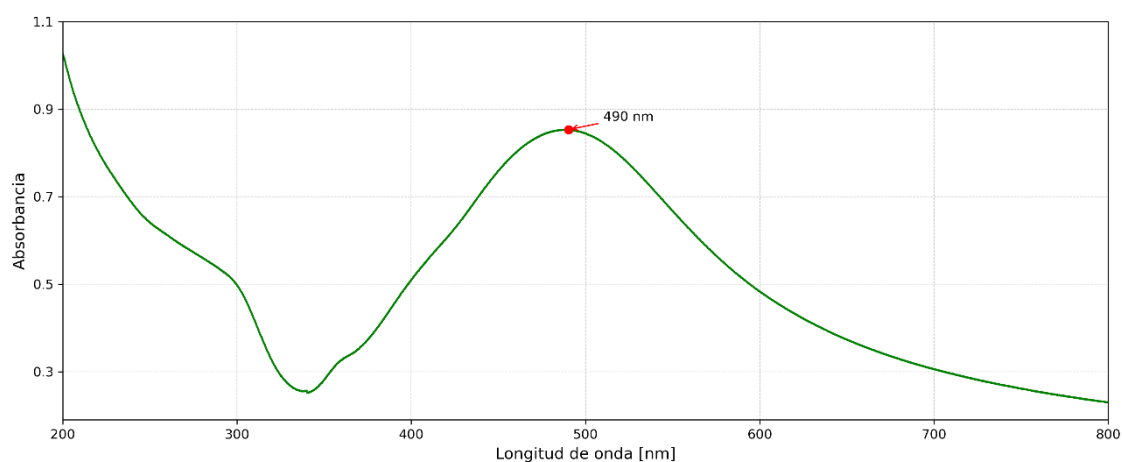


Figura 29: Espectro de absorción UV-Vis de la muestra Ag/ZnO sin calcinar.

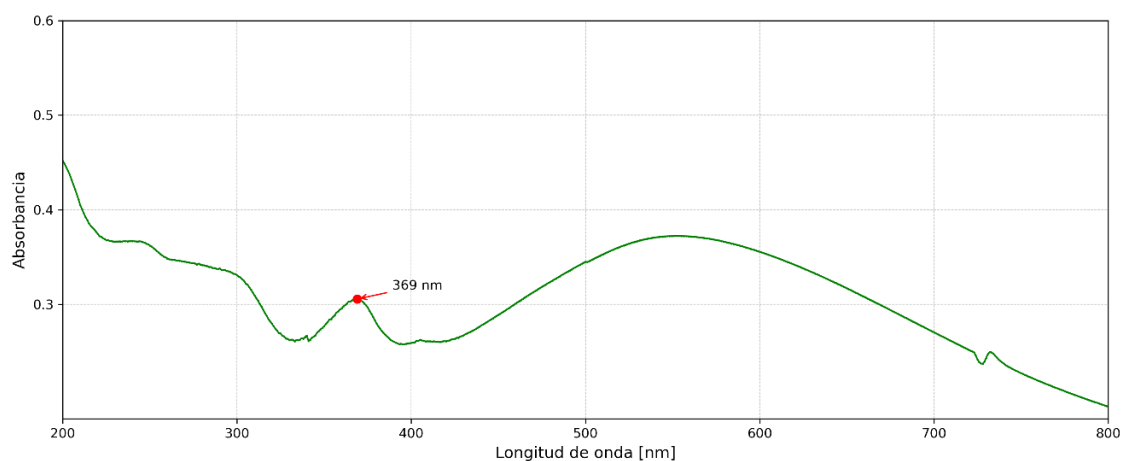


Figura 30: Espectro de absorción UV-Vis de la muestra Ag/ZnO calcinada.

Capítulo 6. DISCUSIÓN

Este TFG se ha basado en el desarrollo de dos protocolos diferentes para la síntesis de nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO mediante métodos de reducción química y tratamiento hidrotérmal. Sin embargo, la caracterización de las muestras obtenidas mostró resultados poco favorables en las NPs sintetizadas mediante el protocolo por reducción química utilizando un horno de Mufla, y la síntesis hidrotérmal (protocolo 2). Por ello, se van a analizar los problemas encontrados, sus posibles causas y opciones que permitan mejorar la calidad y reproducibilidad de los CSNs Ag/ZnO.

En primer lugar, la caracterización mediante microscopía óptica de transmisión de la muestra **P1H (Figura 20a)** reveló la aglomeración de material, sin una clara delimitación entre el núcleo y la corteza. Así mismo, el análisis SAED (**Figura 22a**) confirma la formación de una estructura policristalina poco ordenada. Estos resultados sugieren una clara falta de control sobre los parámetros de síntesis. La ausencia de agitación durante el calentamiento de la disolución provocó una dispersión insuficiente de todos los reactivos, impidiendo su combinación y favoreciendo la aglomeración de partículas. Esta falta de homogeneidad en la muestra dificultó la formación de la capa de ZnO sobre los núcleos de plata, tal y como se muestra en el espectro EDAX (**Figura 19**), donde se observa presencia de plata con una clara ausencia de ZnO. Esto sugiere que ha podido perderse durante la manipulación inadecuada de la muestra en los pasos de purificación, lo que explica también la evidencia de bromo procedente del surfactante CTAB.

Del mismo modo, los resultados de ambos procesos del **protocolo 2** no fueron los esperados. Esto se asocia a la mala calidad de las estructuras Ag/C iniciales. La caracterización mediante TEM (**Figura 21**) de la misma, permite observar una gran variedad de formas y tamaños en la muestra, así como grandes aglomeraciones. Esta heterogeneidad morfológica no se consigue mejorar en los procesos posteriores de la síntesis y afecta directamente a la formación de estructuras *core – shell* bien definidas.

Una agitación insuficiente de la muestra puede promover una nucleación no homogénea desde el inicio. Así mismo, la velocidad de crecimiento de los núcleos se regula a partir de la temperatura. La descompensación entre la agitación y el calentamiento no gradual de la muestra pudieron derivar en unas estructuras muy heterogéneas, tanto en tamaño como en forma. Además, una concentración inadecuada del surfactante (CTAB) podría haber favorecido la inestabilidad de las NPs y la aglomeración del material. Cabe destacar que, a diferencia del protocolo 1, no se utiliza NaOH como base para controlar el pH del medio, lo cual puede alterar la nucleación y el crecimiento de los CSNs.

En contraste con estos resultados poco satisfactorios, la muestra sintetizada mediante el reactor de microondas en el primer protocolo (**P1MW**), presentó un resultado completamente diferente y mejor.

En primer lugar, la caracterización por TEM, SEM y EDAX confirmaron la formación eficiente y controlada de las estructuras *core-shell* Ag/ZnO, con una definición clara en la **interfase núcleo – corteza**. Se presenta una distribución **homogénea** de las nanopartículas geométricamente

esféricas, sin aglomeraciones significativas. Además, la difracción (**Figura 22b**) confirma la estructura cristalina **FCC** de la plata, con sus planos recogidos en la **Tabla 3**.

En relación con la estabilidad coloidal de la muestra sin calcinar, el **pI** se encuentra **en torno a pH 2,0 – 3,0**; muy por debajo del pH fisiológico ($\sim 7,4$). Además, se obtiene un valor de potencial Zeta negativo de **-15,7 mV** al pH de la muestra ($\sim 7,5$). Este sugiere la presencia de factores estéricos, dado la ausencia de agregación y sedimentación en el tubo Falcon. En cambio, la calcinación provocó una disminución en el valor (**-13,7 mV**), reduciendo la estabilidad y causando la sedimentación de las NPs, posiblemente asociada a variaciones en la superficie del ZnO. Todo ello, podría estar asociado a la presencia de una capa estérica. Esto podría justificar que el DLS mida un tamaño superior, de **160,5nm**, en comparación con el resultado obtenido mediante el software *ImageJ* de **116,37 nm**.

Finalmente, los espectros UV-Vis revelan un claro **corrimiento al rojo** de la SPR que confirma la interacción entre el núcleo y la corteza, y puede estar también asociado a variaciones en el grosor de la capa ZnO. Los ensanchamientos observados se atribuyen a la heterogeneidad en el tamaño de las nanopartículas. Además, en la muestra calcinada aparece un **pico característico en 369 nm**, asociado al borde de banda del ZnO en fase wurtzita ($E_g \sim 3,35 \text{ eV}$), que se desarrolla tras el tratamiento térmico.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran la eficacia en el protocolo 1 basado en reducción química asistida por un reactor de microondas, evidenciando una notable mejora en la formación de las estructuras *core – shell* Ag/ZnO. Este nuevo enfoque reduce los tiempos de síntesis, mejora la reproducibilidad, simplifica el proceso y permite obtener unas estructuras esféricas con excelentes propiedades físico – químicas y ópticas. Estos avances consolidan el protocolo 1 MW como el de mayor éxito experimental de todo el estudio

Desde una perspectiva biomédica, el tamaño pequeño obtenido convierte a estas nanopartículas en mecanismos prometedores para atravesar barreras biológicas y acceder a tejidos específicos [10]. Por otro lado, la carga negativa moderada podría facilitar interacciones electrostáticas con componentes cargados positivamente, como proteínas específicas, membranas celulares o matrices extracelulares. La presencia de factores estéricos ayuda a minimizar la agregación, aunque sería adecuado incrementar el valor absoluto del potencial Z para garantizar la estabilidad del sistema a largo plazo. Por último, las propiedades ópticas combinadas con un estudio de la fotoactividad de los CSNs Ag/ZnO podría utilizarse para la generación controlada de especies reactivas de oxígeno (ROS), capacidad antimicrobiana y opciones de trazabilidad óptica [44]. Todo ello abre nuevas líneas futuras de investigación orientadas a su aplicación en campos como la biomedicina, la fotocatalisis o el desarrollo de biosensores.

6.1 APLICACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Las nanopartículas multimodales que actúan como agentes de contraste y permiten simultáneamente la administración, obtención de imágenes y tratamiento de tejidos resultan de especial interés en el mundo de la medicina [45]. Particularmente, los *core-shell* Ag/ZnO se presentan como plataformas híbridas de notable potencial gracias a sus propiedades funcionales altamente ajustables. La sinergia entre el comportamiento del núcleo metálico y las características del ZnO optimizan la biocompatibilidad, la funcionalización superficial, la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la fotocatálisis [44]. Estas cualidades hacen que los CSNs Ag/ZnO sean unos candidatos excelentes en diversas aplicaciones biomédicas.

Actividad antimicrobiana y fotocatalítica.

La sinergia entre el óxido de zinc, que absorbe radiación ultravioleta, y la plata, cuya SPR mejora la sensibilidad del sistema hacia el visible, potencia la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), responsables de la degradación de contaminantes e inactivación de microorganismos [8].

Desde el punto de vista fotocatalítico, estos nanomateriales han sido utilizados para la eliminación de compuestos orgánicos e iones metálicos. Por ejemplo, se ha logrado la degradación de colorantes como la rodamina B bajo luz solar de una forma muy eficiente mediante nanohilos Ag/ZnO [46], o la eliminación de iones metálicos tóxicos, como Cd^{2+} o fosfatos (PO_4^{3-}), del agua [47].

Por otro lado, ante la creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos convencionales y la aparición de cepas multirresistentes [48], las nanopartículas Ag/ZnO se presentan como una gran opción. Una estructura *core-shell* Ag/ZnO podría mitigar la toxicidad del núcleo metálico mientras mantiene, o incluso mejora, su efecto antimicrobiano. Existe la posibilidad de funcionalizar estas estructuras con dosis reducidas de antibióticos, logrando minimizar el riesgo de desarrollo de resistencia bacteriana [6].

Como línea futura del proyecto, se podría realizar un estudio comparativo de la liberación de Ag^+ y generación de ROS en función del espesor de la corteza ZnO. Este análisis permitiría evaluar con mayor profundidad el potencial antimicrobiano de nuestras nanoestructuras. Los resultados podrían ser interesantes para su aplicación en recubrimientos antibacterianos para catéteres o superficies quirúrgicas, apósitos o implantes biomédicos. Se combatiría así el creciente problema de las infecciones resistentes.

Liberación dirigida de fármacos.

El tratamiento de patologías como el cáncer o el VIH se realiza mediante la administración de fármacos por el sistema circulatorio, lo que provoca una alta tasa de dilución, reduce la eficiencia y aumenta los efectos secundarios [10]. En este contexto, los CSNs Ag/ZnO se convierten en vehículos prometedores para la administración localizada y dirigida del fármaco [45].

La superficie funcionalizable y porosa del ZnO, permite la encapsulación o adhesión del fármaco en la superficie de la NP (cuanto mayor en la superficie, más aumenta la capacidad de carga del fármaco). El nanotransportador libera el medicamento en el punto de interés, al entrar en una zona con un pH concreto, una temperatura determinada o detectar la presencia de ciertos aditivos [10]. El núcleo de Ag ofrece capacidades adicionales como trazabilidad óptica, permitiendo realizar el seguimiento de la nanoestructura mediante fluorescencia; y modulación de la respuesta fotoestimulada.

Algunos estudios han demostrado la viabilidad de sintetizar nanopartículas Ag/ZnO a partir de extractos de cáscaras de frutas, las cuales presentan propiedades antimicrobianas y potencial para su aplicación en sistemas de liberación controlada de fármacos [8], [9]. Su tamaño nanométrico les permite atravesar barreras biológicas y acceder a tejidos específicos, pudiendo administrar el fármaco con precisión, optimizando la eficacia terapéutica y reduciendo los efectos adversos.

Cabe destacar que, la biocompatibilidad del ZnO puede depender de factores como la concentración, el tiempo de exposición o el tipo de tejido involucrado [49]. En este contexto, una posible línea de estudio consistiría en evaluar la biocompatibilidad y eficiencia de las nanopartículas CSNs Ag/ZnO en microambientes simulados de patologías específicas. Se analizaría su respuesta a estímulos concretos, su efecto citotóxico y antimicrobiano, y su trazabilidad óptica.

Bioimagen y biosensores.

El desarrollo de técnicas de bioimagen no invasivas como la resonancia magnética (MR), la tomografía por emisión de positrones (PET), el ultrasonido y la imagen óptica facilitan la detección temprana, el seguimiento y prevención de enfermedades [10]. En este contexto, los sistemas Ag/ZnO podrían ser capaces de adaptarse a distintas modalidades de diagnóstico, gracias a sus propiedades ópticas, baja toxicidad (en estudio) y su capacidad de ser funcionalizadas.

En bioimagen, los agentes de contraste convencionales, como los compuestos a base de gadolinio Gd (III), presenta riesgos de toxicidad por acumulación en órganos pudiendo causar efectos secundarios perjudiciales al no ser fácilmente eliminados por el organismo [10]. Recientemente, se ha desarrollado una nueva clase de agente de contraste basada en manganeso hueco recubierto de sílice mesoporosa [50]. Una alternativa y opción innovadora podría ser el dopaje de las estructuras *core-shell* obtenidas con iones de manganeso Mn²⁺, para convertirlas en agentes de contraste más biocompatibles y con menor riesgo de toxicidad por acumulación.

En biosensado, se apuesta por el desarrollo de nanomateriales nuevos que pueden utilizarse como marcadores fluorescentes externos [10]. Las estructuras nanohíbridas *core-shell*, con rica química superficial, una buena cinética de transferencia de electrones, su morfología única y la

alta actividad catalítica [51], se presentan como una buena opción para el funcionamiento de los biosensores³.

Concretamente, el ZnO es un potente marcador fluorescente que resiste al fotoblanqueo⁴ [10]. Mientras que la plata presenta un plasmón superficial fuerte que mejora las señales ópticas. La combinación de ambos materiales los convierte en excelentes transductores en sensores ópticos o electroquímicos. Algunos estudios ya han reportado su uso en biodetección de células dañadas, glucosa, colesterol, ARN o ADN [51], microorganismos y especies redox relevantes en entornos clínicos y ambientales [52].

Para su aplicación en biosensado, los *core – shell* Ag/ZnO sintetizados deben ser funcionalizados mediante grupos químicos o biomoléculas específicas que reconozcan el analito objetivo. Por ejemplo, la modificación de ZnO con grupos tioles (-SH) y ácidos fosfónicos y aminos permite la detección biomoléculas como la troponina I cardíaca [53]. Asimismo, es posible anclar biomoléculas, como ADN monocatenario, a la superficie de ZnO mediante una funcionalización escalonada con ácidos carboxílicos bifuncionales [54].

En resumen, los CSNs Ag/ZnO se posicionan como candidatas excepcionales y versátiles para aplicaciones biomédicas, tanto por su tamaño nanométrico, su carga superficial (controlada) y su funcionalidad.

³ Dispositivo analítico de detección química portátil, de alto rendimiento y fácil de usar, que convierte una respuesta biológica generada a partir de la interacción entre el material biológico y un analito, en una señal eléctrica que un instrumento puede leer [51].

⁴ Degradación o pérdida de la fluorescencia en una sustancia, poner a pie de página

6.2 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La propuesta de este TFG, basada en el estudio y desarrollo de dos procesos diferentes de síntesis de nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO ha contado con una base experimental sólida desde el principio [5], [6]. La revisión de artículos publicados relacionados con el tema permitió elaborar dos protocolos muy útiles como punto de partida de la investigación.

No obstante, los procesos propuestos eran muy costosos y duraderos. Se contó con claras dificultades en el montaje experimental y un acceso limitado a la instrumentación necesaria.

Los resultados no idóneos obtenidos en la primera caracterización derivaron en una revisión de los pasos seguidos en cada procedimiento. En particular, el método de reducción química con el horno de Mufla demostró un claro descontrol sobre los parámetros de síntesis. Además, la imposibilidad de agitar la mezcla durante el calentamiento afectó directamente en la formación de las nanoestructuras. Por otro lado, el protocolo 2 realizado mediante el sistema de reflujo contaba con un montaje complicado y no permitió ajustar la temperatura correctamente.

Se hizo frente a estos inconvenientes buscando una optimización de los procesos de síntesis y la formación correcta de las CSNs Ag/ZnO. El cambio más relevante fue la incorporación de un reactor de microondas en ambos protocolos.

La reproducibilidad de los experimentos se vio condicionada por la duración de los protocolos de síntesis. Los plazos estrictos de entrega del proyecto impidieron repetir los ensayos y probar otras condiciones de síntesis. Por otro lado, la falta de materiales y los tiempos de entrega por parte de los proveedores retrasaron el inicio de los procesos, afectando a la planificación y desarrollo del proyecto.

En cuanto a la caracterización, se encontraron grandes dificultades en el estudio de titración de la muestra. Concretamente, se observó un comportamiento anómalo de la disolución, evidenciado por su resistencia a la modificación del pH, lo que complicó la obtención de resultados reproducibles y consistentes. Además, la falta de referencias bibliográficas específicas sobre esta técnica impidió la comparación y corroboración de los resultados.

Asimismo, cabe destacar que se contaba con un tiempo restringido en el uso de equipos como TEM o SEM, lo que limitó la posibilidad de realizar un análisis más exhaustivo de las muestras. (Por ejemplo, fue el caso de la muestra AgC caracterizada la primera vez, donde se obtuvieron resultados incompletos y no precisos).

Con todo ello, los resultados finalmente obtenidos fueron satisfactorios y permitieron cumplir con los objetivos propuestos inicialmente en el trabajo.

Capítulo 7. CONCLUSIONES

7.1 CONCLUSIONES DEL TRABAJO

Tras presentar el análisis y discusión de los resultados, así como las limitaciones del estudio, se puede concluir que se ha cumplido satisfactoriamente el objetivo general planteado al inicio del proyecto.

En primer lugar, se lleva a cabo la síntesis de las nanopartículas *core – shell* Ag/ZnO mediante los distintos métodos seleccionados. Se identifican las limitaciones de los procesos descritos en otros artículos, y se contribuye al desarrollo de una nueva ruta de síntesis optimizada mediante la incorporación del reactor de microondas, que ha demostrado ser más eficiente, rápida y con mejores resultados.

Las características morfológicas y estructurales se evalúan mediante TEM, SEM y DLS. Además, las propiedades físico – químicas y ópticas se estudian a partir del uso del Potencial Zeta y la espectrofotometría UV-Vis.

Todo ello, ha permitido realizar un análisis profundo de cada uno de los protocolos y sus respectivas variantes, identificando los posibles errores, limitaciones y oportunidades de mejora. Se ha demostrado la importancia en el control de los parámetros durante el proceso de formación de las nanoestructuras, como la temperatura o la agitación. Asimismo, se ha realizado una comparación crítica entre los resultados obtenidos en este trabajo y aquellos reportados en las referencias bibliográficas encontradas, enriqueciendo la interpretación de los datos.

Por último, se ha evidenciado que las nanopartículas obtenidas pueden ser unas candidatas prometedoras en aplicaciones biomédicas como sistemas antimicrobianos o en liberación controlada de fármacos. No obstante, cabe destacar que aún queda muchos aspectos que deben ser optimizados y validados antes de que puedan ser implementadas en aplicaciones reales, como la reproducibilidad de los protocolos, la mejora de la estabilidad coloidal, un estudio profundo de biocompatibilidad a largo plazo o de su comportamiento en medios biológicos.

En conclusión, el presente TFG cuenta con un enfoque adaptativo que ha fortalecido la calidad del estudio y ha abierto nuevas posibilidades de aplicación para las nanoestructuras obtenidas, principalmente en el mundo de la medicina.

7.2 CONCLUSIONES PERSONALES

En primer lugar, este TFG me brindó la oportunidad de acceder al grupo de investigación NANO-UEM. Esto me ha permitido trabajar en un entorno real de investigación. He conocido algunas de las dificultades y exigencias que se presentan al intentar llevar a cabo un proyecto de innovación científica, conociendo un poco más el día a día de la ciencia. Además, he comprendido la importancia de realizar una búsqueda profunda de artículos previamente publicados acerca del tema, para poder abordar el proyecto desde un punto de vista más eficiente, y he aprendido a navegar en las diversas plataformas de búsqueda bibliográfica.

Por otro lado, en el ámbito del laboratorio, he adquirido habilidades fundamentales para la manipulación de materiales, la síntesis de nanoestructuras y la utilización de equipos de caracterización avanzados, como el TEM, SEM, potencial Zeta o el espectrofotómetro UV-Vis. Del mismo modo, me he enfrentado a la interpretación de resultados, estudiando y justificando los factores que podrían haber influido en que éstos fueran, o no, óptimos y acordes con lo esperado. Ha sido un proceso de ensayo y error prolongado durante semanas, acompañado de un aprendizaje continuo.

Por último, a nivel personal, el trabajo se presenta como una experiencia para reflejar todo lo aprendido a lo largo de la carrera universitaria, no solo académicamente, sino también en competencias como la autonomía, capacidad de análisis y resolución de problemas. Permite gestionar un proyecto a largo plazo, planificando cada fase, teniendo claros los objetivos y la forma en la que se van a lograr desde un inicio. He reforzado mi creencia en la importancia del trabajo en equipo y del compromiso en la investigación, siendo este esencial para permitir el progreso del proyecto.

En general, esta experiencia ha incrementado mi interés por seguir formando parte del mundo de la nanociencia, especialmente en sus aplicaciones más innovadoras, que permitan desarrollar tratamientos contra enfermedades, mejorando la salud y calidad de vida de las personas.

Capítulo 8. REFERENCIAS

- [1] R. Hayes, A. Ahmed, T. Edge, y H. Zhang, «Core-shell particles: Preparation, fundamentals and applications in high performance liquid chromatography», 2014, *Elsevier*. doi: 10.1016/j.chroma.2014.05.010.
- [2] T. Bruna, F. Maldonado-Bravo, P. Jara, y N. Caro, «Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications», *Int J Mol Sci*, vol. 22, n.º 13, p. 7202, 2021, doi: 10.3390/ijms22137202.
- [3] M. Gupta, V. K. Mahajan, K. S. Mehta, y P. S. Chauhan, «Zinc Therapy in Dermatology: A Review», *Dermatol Res Pract*, vol. 2014, pp. 1-11, 2014, doi: 10.1155/2014/709152.
- [4] Y. Zhao, S. Li, Y. Zeng, y Y. Jiang, «Synthesis and properties of Ag/ZnO core/shell nanostructures prepared by excimer laser ablation in liquid», *APL Mater*, vol. 3, 2015, doi: 10.1063/1.4928287.
- [5] A. N. Kadam *et al.*, «Facile synthesis of Ag-ZnO core-shell nanostructures with enhanced photocatalytic activity», *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 17, dic. 2017, doi: 10.1016/j.jiec.2017.12.003.
- [6] W. Han *et al.*, «A novel Ag/ZnO core-shell structure for efficient sterilization synergizing antibiotics and subsequently removing residuals», *Green Energy and Environment*, vol. 9, pp. 366-377, jul. 2024, doi: 10.1016/j.gee.2022.07.004.
- [7] A. Khalid *et al.*, «State of the Art Synthesis of Ag-ZnO-Based Nanomaterials by Atmospheric Pressure Microplasma Techniques», *Surfaces*, vol. 7, pp. 680-697, 2024, doi: 10.3390/surfaces7030044.
- [8] S. Anjum, K. Nawaz, B. Ahmad, C. Hano, y B. H. Abbasi, «Green synthesis of biocompatible core-shell (Au-Ag) and hybrid (Au-ZnO and Ag-ZnO) bimetallic nanoparticles and evaluation of their potential antibacterial, antidiabetic, antiglycation and anticancer activities», *RSC Adv*, vol. 12, pp. 23845-23859, ago. 2022, doi: 10.1039/d2ra03196e.
- [9] M. Chaudhary *et al.*, «Pharmaceutical orientation and applications of silver/zinc oxide nanoparticles developed from various fruit peel extracts: an emerging sustainable approach», *Discover Sustainability*, vol. 6, n.º 1, p. 7, ene. 2025, doi: 10.1007/s43621-024-00728-y.
- [10] K. Chatterjee, S. Sarkar, K. Jagajjanani Rao, y S. Paria, «Core/shell nanoparticles in biomedical applications», *Adv Colloid Interface Sci*, vol. 209, pp. 8-39, 2014, doi: 10.1016/j.cis.2013.12.008.
- [11] S. Anjum *et al.*, «Recent Advances in Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) for Cancer Diagnosis, Target Drug Delivery, and Treatment», *Cancers (Basel)*, vol. 13, n.º 18, p. 4570, 2021, doi: 10.3390/cancers13184570.

- [12] F. M. Galogahi, Y. Zhu, H. An, y N.-T. Nguyen, «Core-shell microparticles: Generation approaches and applications», *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, vol. 5, pp. 417-435, 2020, doi: 10.1016/j.jsamd.2020.09.001.
- [13] R. Kumar *et al.*, «Core-shell nanostructures: perspectives towards drug delivery applications», *J Mater Chem B*, vol. 8, n.º 39, pp. 8992-9027, 2020, doi: 10.1039/D0TB01559H.
- [14] S. Seong *et al.*, «Synthesis of Ag-ZnO core-shell nanoparticles with enhanced photocatalytic activity through atomic layer deposition», *Mater Des*, vol. 177, p. 107831, may 2019, doi: 10.1016/j.matdes.2019.107831.
- [15] K. S. Siddiqi, A. Husen, y R. A. K. Rao, «A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties», *J Nanobiotechnology*, vol. 16, p. 14, 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0334-5.
- [16] M. Gómez Garzón, «Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde.», *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, vol. 27, n.º 2, pp. 75-80, 2018, doi: 10.31260/RepertMedCir.v27.
- [17] R. Wu *et al.*, «The mini-review for synthesis of core@Ag nanocomposite», *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 15, n.º 1, p. 103519, 2022, doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103519.
- [18] L. Tamayo, H. Palza, J. Bejarano, y P. A. Andrea Zapata, «Polymer composites with metal nanoparticles: synthesis, properties, and applications.», *In Polymer composites with functionalized nanoparticles*, pp. 249-286, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814064-2.00008-1>.
- [19] T. Gómez Quintero, M. A. Arroyo Ornelas, G. Hernández Padrón, y L. S. Acosta Torres, «Nanopartículas de plata: Aplicaciones biomédicas», *Química Hoy*, vol. 3, 2013.
- [20] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V Mirmohammadi, y B. Zolfaghari, «Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods», *Res Pharm Sci*, vol. 9, n.º 6, pp. 385-406, 2014.
- [21] P. Abrica-González y S. Gómez-Arroyo, «Efectos y caracterización de nanopartículas atmosféricas (NP-CuO, ZnO) en plantas», *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, vol. 38, pp. 145-164, ago. 2021, doi: 10.20937/RICA.54303.
- [22] D. K. Sharma, S. Shukla, K. K. Sharma, y V. Kumar, «A review on ZnO: Fundamental properties and applications», *Mater Today Proc*, vol. 49, pp. 3028-3035, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2020.10.238.
- [23] S. Shaktawat, K. R. Singh, S. Thapa, R. Verma, J. Singh, y R. P. Singh, «Optical characteristics and biosensing application of core@shell nanomaterials», *Materials Letters: X*, vol. 17, p. 100187, mar. 2023, doi: 10.1016/j.mblux.2023.100187.
- [24] R. Duncan *et al.*, «ESF scientific forward look on nanomedicine: Policy briefing.», pp. 1-6, 2005.

- [25] J. E. Alfonso Orjuela y D. E. Corredor P., *Teoría básica de microscopía electrónica de transmisión*, 1.^a ed. Sede Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2009.
- [26] MyScope Microscopy Training, «Transmission Electron Microscopy». [En línea]. Disponible en: www.myscope.training
- [27] Ray F. Edgerton, *Physical Principles of Electron Microscopy*, 1.^a ed. New York, Springer, 2005. Accedido: 26 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/b136495>
- [28] J. Renau-Piqueras y M. Faura, «Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido 1.-Introducción», 1994.
- [29] J. Clavijo, «Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM)», *Elementos*, vol. 3, n.º 3, jun. 2013.
- [30] Malvern Instruments, «Zetasizer Nano User Manual», 2013.
- [31] J. Stetefeld, S. A. McKenna, y T. R. Patel, «Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences», *Biophys Rev*, vol. 8, n.º 4, pp. 409-427, 2016, doi: 10.1007/s12551-016-0218-6.
- [32] Anton Paar, «The principles of dynamic light scattering ».
- [33] Malvern Instruments Ltd, «FAQ - Calculating Volume Distributions from DLS Data», Malvern, Worcestershire, UK.
- [34] R. J. Hunter, *Zeta potential in colloid science: principles and applications*, 3.^a ed. Londres: Academic Press, 1981.
- [35] T. L. Moore *et al.*, «Nanoparticle colloidal stability in cell culture media and impact on cellular interactions», *Chem Soc Rev*, vol. 44, n.º 17, pp. 6287-6305, 2015, doi: 10.1039/C4CS00487F.
- [36] J. Novomisky Nechcoff, «Preparación y caracterización de Quantum Dots de Nitruro de Carbono. Estudio de sus propiedades espectroscópicas y aplicación en ensayos fotoquímicos y biológicos.», Trabajo de Tesina, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 2020.
- [37] Jasco Corporation, «V-700 Series UV_Visible/NIR Spectrophotometers», Japón: Jasco Corporation.
- [38] Charles Kittel, *Introduction to Solid State Physics Charles Kittel*, 8.^a ed., vol. 1. University of California, Berkeley, 2005.
- [39] L. Reimer, *Transmission electron microscopy: physics of image formation and microanalysis*, vol. 36. Springer, 2013.
- [40] International Centre for Diffraction Data, «PDF-4+ Database», International Centre for Diffraction Data. [En línea]. Disponible en: <https://www.icdd.com/products/pdf-4/>

- [41] S. Gražulis *et al.*, «Crystallography Open Database (COD): an open-access collection of crystal structures and platform for world-wide collaboration», *Nucleic Acids Res*, vol. 40, n.º D1, pp. D420-D427, ene. 2012, doi: 10.1093/nar/gkr900.
- [42] N. Senthilkumar, M. Ganapathy, A. Arulraj, M. Meena, M. Vimalan, y I. Vetha Potheher, «Two step synthesis of ZnO/Ag and ZnO/Au core/shell nanocomposites: Structural, optical and electrical property analysis», *J Alloys Compd*, vol. 750, pp. 171-181, mar. 2018, doi: 10.1016/j.jallcom.2018.03.348.
- [43] S. S. Patil *et al.*, «Nanostructured microspheres of silver @ zinc oxide: an excellent impeder of bacterial growth and biofilm», *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 16, pp. 1-11, 2014, doi: 10.1007/s11051-014-2717-3.
- [44] B. Ghaemi *et al.*, «Intracellular ROS Induction by Ag@ZnO Core–Shell Nanoparticles: Frontiers of Permanent Optically Active Holes in Breast Cancer Theranostic», *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 10, pp. 24370-24381, 2018, doi: 10.1021/acsami.8b03822.
- [45] F. M. Galogahi, Y. Zhu, H. An, y N.-T. Nguyen, «Core-shell microparticles: Generation approaches and applications», *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, vol. 5, pp. 417-435, 2020, doi: 10.1016/j.jsamd.2020.09.001.
- [46] J. Xiong, Q. Sun, J. Chen, Z. Li, y S. Dou, «Ambient controlled synthesis of advanced core–shell plasmonic Ag@ZnO photocatalysts», *CrystEngComm*, vol. 18, n.º 10, pp. 1713-1722, 2016, doi: 10.1039/C6CE00013D.
- [47] F. Mohamed, A. Enaiet Allah, K. A. Abu Al-Ola, y M. Shaban, «Design and Characterization of a Novel ZnO–Ag/Polypyrrole Core–Shell Nanocomposite for Water Bioremediation», *Nanomaterials*, vol. 11, n.º 7, p. 1688, jun. 2021, doi: 10.3390/nano11071688.
- [48] D. Quiñones Pérez, «Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque “Una salud” », *Rev Cubana Med Trop*, vol. 69, n.º 3, pp. 1-17, 2017.
- [49] J. Zarría-Romero, A. Osorio, J. Pino, B. Shiga, y D. Vivas-Ruiz, «Efecto de las nanopartículas industriales TiO₂, SiO₂ y ZnO sobre la viabilidad celular y expresión génica en médula osea roja de *Mus musculus*», *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, vol. 34, n.º 3, p. 436, 2017, doi: 10.17843/rpmesp.2017.343.2425.
- [50] T. Kim *et al.*, «Mesoporous Silica-Coated Hollow Manganese Oxide Nanoparticles as Positive T₁ Contrast Agents for Labeling and MRI Tracking of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells», *J Am Chem Soc*, vol. 133, n.º 9, pp. 2955-2961, mar. 2011, doi: 10.1021/ja1084095.
- [51] S. Shaktawat, K. R. Singh, S. Thapa, R. Verma, J. Singh, y R. P. Singh, «Optical characteristics and biosensing application of core@shell nanomaterials», *Materials Letters: X*, vol. 17, p. 100187, mar. 2023, doi: 10.1016/j.mlblux.2023.100187.
- [52] U. Mushtaq, V. Sharma, H. C. Swart, y V. Kumar, «Functionality of Metal Oxide-Based Core-Shell Nanoparticles», 2023, pp. 159-188. doi: 10.1007/978-981-99-5640-1_6.

- [53] N. R. Shanmugam, S. Muthukumar, y S. Prasad, «Surface modification of ZnO nanostructured electrodes with thiol and phosphonic acid moieties for biosensing applications», *Analytical Methods*, vol. 9, n.º 37, pp. 5525-5533, 2017, doi: 10.1039/C7AY01625E.
- [54] O. Taratula *et al.*, «Stepwise Functionalization of ZnO Nanotips with DNA», *Langmuir*, vol. 25, n.º 4, pp. 2107-2113, feb. 2009, doi: 10.1021/la8026946.
- [55] X. Wang, T. Sun, H. Zhu, T. Han, J. Wang, y H. Dai, «Roles of pH, cation valence, and ionic strength in the stability and aggregation behavior of zinc oxide nanoparticles», *J Environ Manage*, vol. 267, p. 110656, 2020, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110656.
- [56] M. Laurenti, S. Stassi, G. Canavese, y V. Cauda, «Surface Engineering of Nanostructured ZnO Surfaces», *Adv Mater Interfaces*, vol. 4, 2017, doi: 10.1002/admi.201600758.
- [57] D. Cardoso, A. Narcy, S. Durosoy, C. Bordes, y Y. Chevalier, «Dissolution kinetics of zinc oxide and its relationship with physicochemical characteristics», *Powder Technol*, vol. 378, pp. 746-759, 2021, doi: 10.1016/j.powtec.2020.10.049.
- [58] R. A. Reichle, K. G. McCurdy, y L. G. Hepler, «Zinc Hydroxide: Solubility Product and Hydroxy-complex Stability Constants from 12.5–75 °C», *Can J Chem*, vol. 53, pp. 3841-3845, 1975, doi: 10.1139/v75-556.

Capítulo 9. ANEXOS

ANEXO I: CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD.

Los protocolos descritos implican la manipulación de compuestos químicos peligrosos y equipos que requieren cierta precaución. Por ello, es esencial conocer las medidas de seguridad necesarias para evitar accidentes y garantizar la protección de los trabajadores.

En primer lugar, se recomienda el uso de bata de laboratorio, gafas de protección y guantes de nitrilo para manipular todos los reactivos. Se trabaja con reactivos irritantes para la piel, como el nitrato de plata o el ácido ascórbico; y sustancias corrosivas como el hidróxido de sodio, que pueden crear manchas en la piel e irritación ocular. En caso de contacto, hay que lavar la zona inmediatamente con abundante agua.

Por otro lado, el manejo de los recipientes colocados en el horno de alta temperatura, como los crisoles o el autoclave, debe realizarse con guantes térmicos adecuados. Es importante mantener estos guantes lejos de los productos químicos corrosivos, para no comprometer su eficiencia y asegurar su buen estado. Además, hay que comprobar las condiciones de calentamiento de los materiales con los que se está trabajando, para evitar accidentes dentro de los equipos. Se recomienda esperar a que los recipientes se enfríen para poder manipularlos.

También hay que tener en cuenta que, dado que algunos productos como el CTAB o el NaOH pueden emitir vapores volátiles, se recomienda trabajar bajo campana extractora, e incluso, usar mascarilla.

Finalmente, es importante etiquetar todos los recipientes indicando el reactivo que contienen, y almacenarlos en condiciones adecuadas. Todos los residuos químicos generados deben eliminarse correctamente y, nunca por el desagüe.

ANEXO II: GRÁFICAS.

Espectros EDAX de la muestra P1MW sin calcinar.

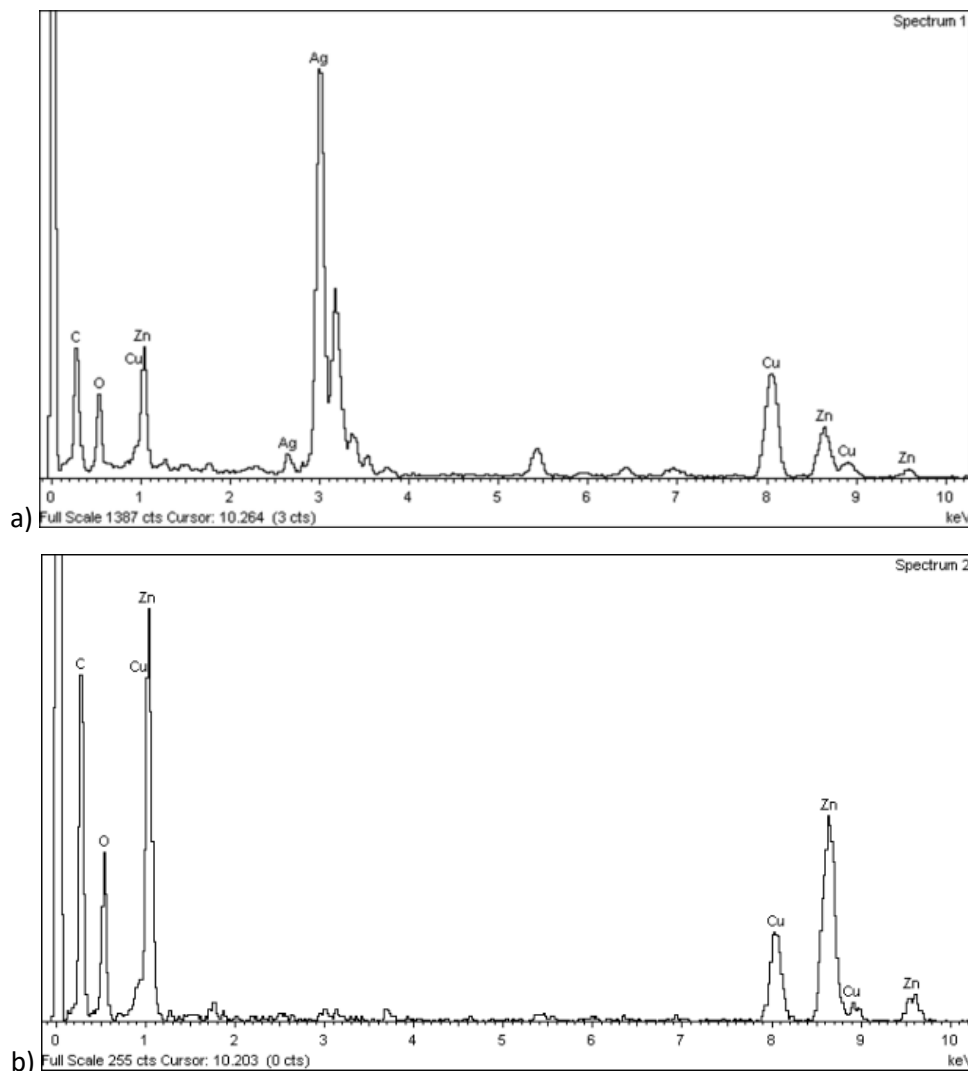


Figura 31: Espectro EDAX de la muestra P1MW sin calcinar en (a) una región del núcleo con plata y (b) posicionando el detector sobre la corteza de ZnO.

Distribuciones de tamaño de la muestra P1MW sin calcinar

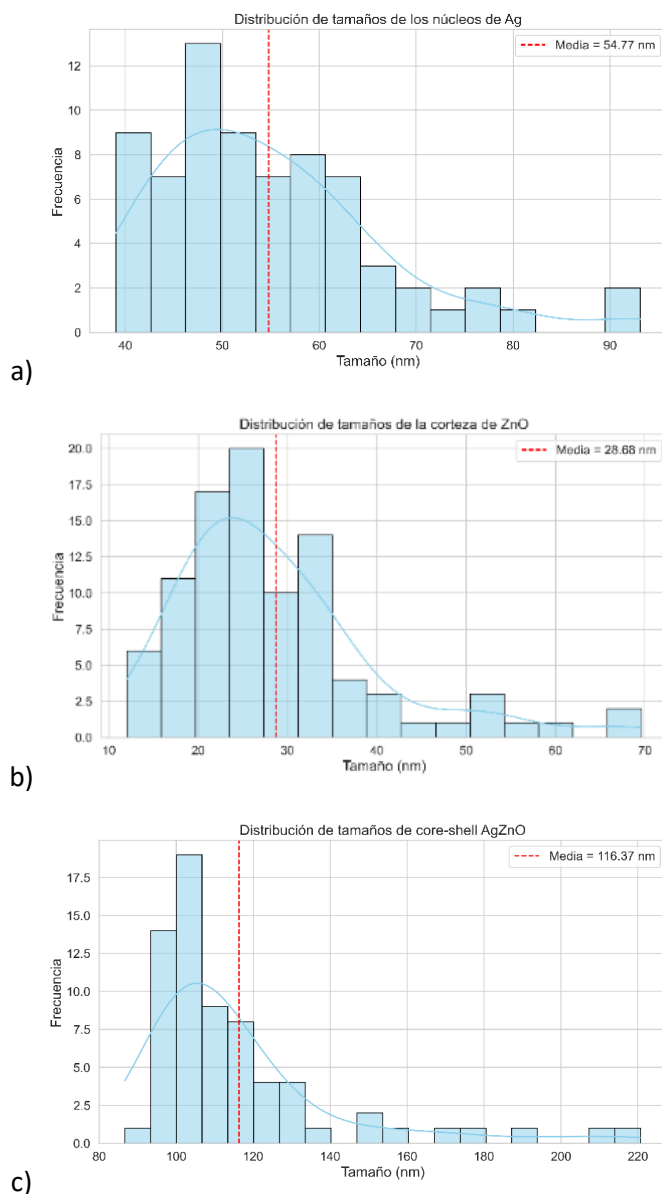


Figura 32: Distribución del tamaño de (a) los núcleos de Ag, (b) la corteza de ZnO y (c) la nanopartícula completa, de la muestra P1MW sin calcinar.

Gráficas obtenidas mediante el análisis DLS de la muestra P1MW sin calcinar.

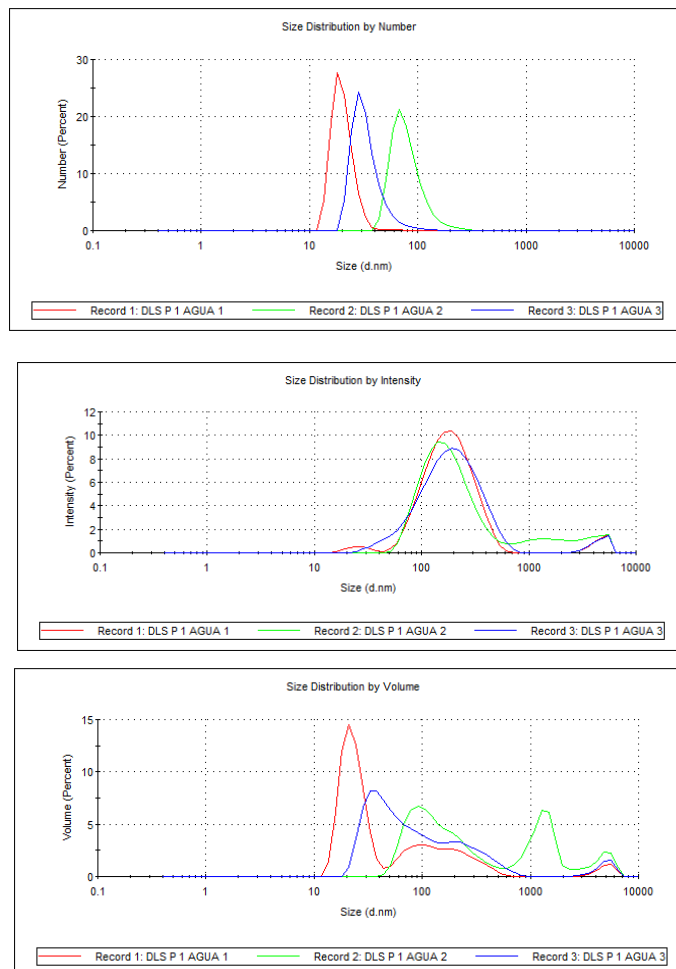


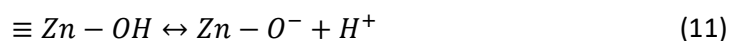
Figura 33: Distribución del (a) número de nanopartículas (b) intensidad y (c) volumen en función del tamaño de los CSNs Ag/ZnO obtenidos mediante el P1MW sin calcinar.

ANEXO III: ESTUDIO DEL PUNTO ISOELÉCTRICO POR TITULACIÓN

Conocer el punto isoeléctrico de la muestra permite ajustar las condiciones del medio para maximizar la estabilidad coloidal, un factor muy importante a tener en cuenta para la aplicación de la nanoestructura. Por ello, se evalúa el comportamiento del potencial Zeta en función del pH.

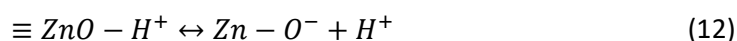
Se realiza un estudio de la **muestra P1MW sin calcinar**, concentrada y sin electrolito añadido. Se programa la titración ácido-base en un rango de pH de 2 a 9. No obstante, en la **Figura 34** se observa como la muestra no responde claramente en el intervalo de pH 5-6, y finalmente, la titulación se interrumpe alrededor de pH 7,3, sin alcanzar el límite superior previsto. La evolución del ζ revela un cruce por valores cercanos a cero entre pH **2.0** y **3.0**, lo que permite identificar el **punto isoeléctrico** del sistema. En ese estado, la agregación es altamente probable.

Por otro lado, los valores del potencial Zeta muestran una evolución progresiva hacia valores más negativos a medida que aumenta el pH. Esta tendencia es coherente con la deprotonación progresiva de los grupos hidroxilos superficiales de los CSNs.



La falta de respuesta por parte del equipo en el rango de pH 5-6, sugiere una alta densidad de sitios activos superficiales presentes en la muestra sin calcinar. La deprotonación del ZnO de forma gradual podrían consumir los grupos hidroxilos OH⁻, actuando como un sistema tampón. Cada alícuota de NaOH desprotona primero estos sitios activos, de manera que los OH⁻ “se alojan” temporalmente en la interfaz – sólido líquido. Este efecto impide el aumento de pH a pesar de la adición de base. Una vez se alcanza la saturación, el sistema ya no es capaz de neutralizar los H⁺/OH⁻, y responde bruscamente con una subida de pH hasta aproximadamente 7. El resultado del **tampón de superficie heterogéneo**⁵ puede provocar la detención total del sistema automático del titulador [55], [56].

La prueba se repite para una mezcla más diluida y sin electrolito añadido, con el objetivo de reducir el número de sitios activos superficiales. En este caso, se recorre el pH en rango descendente, desde el valor inicial de la muestra a 2,2. La adición de ácido HCl para bajar el pH viene acompañada de la protonación de los grupos $\equiv Zn - O^-$.



En la **Figura 35** se observa que el efecto tampón de la superficie es menos activo que en la deprotonación. Permite cambiar el pH lentamente, manteniendo constante el valor del potencial Zeta en la región de pH 5-6. Esta situación provoca una especie de **meseta de pH**

⁵ Sistema en el que la capacidad amortiguadora frente a H⁺/OH⁻ reside en grupos funcionales fijados a una fase sólida, y no en un par ácido-base completamente disuelto en la fase líquida, como ocurre en los tampones clásicos.

durante la titulación. Asimismo, se puede ver como el potencial Zeta tiende a aproximarse a cero conforme se acerca a la región de pH 2, aunque la titulación se detiene en pH 2,2 sin alcanzar dicho valor.

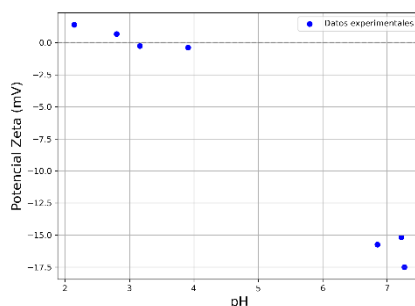


Figura 34: Evolución del potencial Zeta (ζ) en función del pH en un rango de pH 2 - 7,3 para la muestra P1MW sin calcinar, sin electrolito añadido. Se observa el pI entre pH 2,5 y 3,0; una discontinuidad en el intervalo de pH 5-6 y la interrupción de la titulación alrededor de pH 7,3.

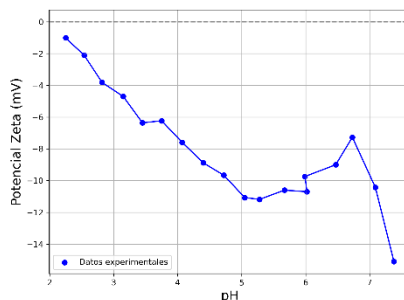
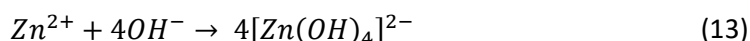


Figura 35: Evolución del potencial Zeta (ζ) en función del pH en un rango de pH 2,2 - 7,5 para la muestra P1MW sin calcinar, diluida, y sin electrolito añadido. Se observa una tendencia a cero conforme se acerca a la región de pH 2; y una meseta de pH en el intervalo de pH 5-6 con potencial Zeta casi constante.

Se plantea la hipótesis de que, por encima de pH 8, la solubilidad del ZnO aumentará. Se producirá la liberación de iones Zn^{2+} al medio que reaccionan con el exceso de OH^- , formando el anión complejo soluble tetrahidroxozincato (II) $[Zn(OH)_4]^{2-}$ [57], [58].



Este proceso consumiría irreversiblemente los iones de OH^- , impidiendo la continuación de la titulación en el intervalo básico. Además, comprometería la integridad estructural del nanosistema, ya que se diluye progresivamente el recubrimiento de ZnO. Todo ello, provocaría la pérdida de la funcionalidad superficial y haría que algunas estructuras internas como el núcleo metálico queden expuestas. Esto podría tener implicaciones en la toxicidad e interacción con entornos biológicos.

Los resultados obtenidos son interesantes para analizar el comportamiento de la muestra sin calcinar. Sin embargo, su interpretación no puede considerarse concluyente. Sería adecuado realizar un análisis detallado y comparativo con la muestra calcinada, lo que permitiría obtener una visión más completa y fundamentada del sistema.

ANEXO IV: ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de Gantt con la planificación del Trabajo de Fin de Grado [Elaboración propia].....	14
Figura 2: Procesos de síntesis de nanomateriales top – down y bottom – up [Elaboración propia].	17
Figura 3: Esquema de los protocolos de síntesis utilizados y sus respectivas variantes [Elaboración propia].....	20
Figura 4: Descripción visual de los procesos realizados para la síntesis de core - shell Ag/ZnO mediante reducción química a partir del uso de (a) un horno de Mufla o (b) el reactor de microondas.....	24
Figura 5: Disolución obtenida en la primera fase de la síntesis de la prueba 1 (a) y del ensayo 2 (b).	25
Figura 6: Disolución obtenida a la segunda fase de síntesis de la prueba 1 realizada mediante horno de Mufla sin agitación (a) y del ensayo 2 en reactor de microondas con agitación (b)...	26
Figura 7: Muestra obtenida tras el lavado y secado a partir del protocolo 1 con el reactor de microondas (P1MW).	27
Figura 8: Muestra final obtenida tras el proceso de síntesis 1 mediante (a) horno de Mufla (P1H) y (b) en reactor de microondas (P1MW calcinada).	27
Figura 9: Disolución de tono marrón obtenida tras el tratamiento hidrotermal en autoclave a 160°C durante 5 horas.	28
Figura 10: Montaje de reflujo empleado en la síntesis mediante el protocolo 2 con el balón de destilación (1), un baño de silicona (2), el agitador magnético con calefacción (3), la columna de reflujo (4) con la boquilla inferior (5) y boquilla superior (6), y el termopar (7).	29
Figura 11: Comparación de las disoluciones tras la primera centrifugación de los tratamientos por microondas con agitación (a la izquierda) y sin agitación (a la derecha).	29
Figura 12: Deposición de la muestra P2R en la superficie del tubo Falcon tras el secado.	30
Figura 13: Esquema del proceso realizado para la síntesis de core - shell Ag/ZnO mediante tratamiento hidrotermal con (a) sistema de reflujo y (b) reactor de microondas.	30
Figura 14: Microscopio Electrónico de Transmisión JEM-2100 del CNME de la Universidad Complutense en Madrid.....	32
Figura 15: Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM - 6335F del CNME de la Universidad Complutense de Madrid.....	33
Figura 16: Zetaziser Nano ZS operado a longitud de onda roja de 632,8 nm de la casa comercial Malvern	34

Figura 17: Disposición del equipo de titración con la muestra a la izquierda de la imagen, y el ácido fuerte (rojo), la base media (amarillo); y la base fuerte (verde) colocadas en sus posiciones.	36
Figura 18: Espectrofotómetro Jasco V - 770 de doble haz.....	36
Figura 19: Espectro EDAX de la muestra P1H donde se observa la presencia de bromo proveniente del CTAB, y la ausencia completa de ZnO.....	39
Figura 20: Imágenes TEM de las disoluciones obtenidas mediante la síntesis de reducción química. (a) Aglomerado sin estructura bien definida de la muestra P1H. (b) Formación de estructuras core-shell Ag/ZnO bien delimitadas y esféricas en la muestra P1MW sin calcinar. 39	39
Figura 21: Imágenes TEM de los núcleos de plata recubiertos con glucosa. (a, b, c) Se observa una capa de glucosa uniforme y la presencia de aglomerados. El tamaño medio estimado es de 45,39 nm. (d, e, f) Se parecía heterogeneidad en la forma y tamaño de las partículas, el cual asciende a 237,45 nm.	41
Figura 22: Patrones de difracción SAED. (a) Patrón de anillos concéntricos difuminados característicos de una estructura amorfa de la muestra P1H. (b) Patrón mixto de puntos nítidos y anillos difusos de la muestra P1MW sin calcinar. (c) Patrón de difracción de anillos nítidos característico de la estructura FCC de la plata en la muestra Ag/C.	41
Figura 23: Imágenes TEM de la muestra P2R obtenida por tratamiento hidrotérmal. No se observa una estructura definida, seguramente por un retraso en el inicio de la nucleación de los CSNs.....	42
Figura 24: Imágenes TEM de la muestra P2MW sin calcinar. (a) Formación de nanopartículas ZnO. (b, c) Deposición parcial del ZnO sobre los núcleos de plata con presencia de aglomerados y heterogeneidad en la corteza.....	42
Figura 25: a) Análisis EDAX realizado sobre una zona aglomerada de la muestra calcinada, que confirma la presencia exclusiva de óxido de zinc; b) imagen TEM de dicha región, seleccionada para la obtención del patrón de difracción; c) patrón SAED correspondiente, en el que se observan puntos definidos y anillos concéntricos relativamente nítidos, indicativos de una fase cristalina en el material.	43
Figura 26: Imágenes SEM de la muestra P1MW sin calcinar. Se observa una distribución homogénea, geometría esférica y corteza rugosa formada por NPs de ZnO.	44
Figura 27: Imágenes SEM de la muestra P2MW sin calcinar. (a) Agregados de NPs de ZnO. (b) AgZnO CSNs esféricas. (c) Morfología variada similar a la observada en los núcleos AgC.	44
Figura 28: Representación de la distribución del potencial Zeta al pH de la muestra ($\sim 7,5$) en la disolución P1MW sin calcinar (azul) y calcinado (naranja), obteniéndose unos valores de -15,7 mV y -13,7 mV respectivamente.	46
Figura 29: Espectro de absorción UV-Vis de la muestra Ag/ZnO sin calcinar.	47
Figura 30: Espectro de absorción UV-Vis de la muestra Ag/ZnO calcinada.	47

Figura 31: Espectro EDAX de la muestra P1MW sin calcinar en (a) una región del núcleo con plata y (b) posicionando el detector sobre la corteza de ZnO. 62

Figura 32: Distribución del tamaño de (a) los núcleos de Ag, (b) la corteza de ZnO y (c) la nanopartícula completa, de la muestra P1MW sin calcinar. 63

Figura 33: Distribución del (a) número de nanopartículas (b) intensidad y (c) volumen en función del tamaño de los CSNs Ag/ZnO obtenidos mediante el P1MW sin calcinar. 64

Figura 34: Evolución del potencial Zeta (ζ) en función del pH en un rango de pH 2 - 7,3 para la muestra P1MW sin calcinar, sin electrolito añadido. Se observa el pI entre pH 2,5 y 3,0; una discontinuidad en el intervalo de pH 5-6 y la interrupción de la titulación alrededor de pH 7,3. 66

Figura 35: Evolución del potencial Zeta (ζ) en función del pH en un rango de pH 2,2 - 7,5 para la muestra P1MW sin calcinar, diluida, y sin electrolito añadido. Se observa una tendencia a cero conforme se acerca a la región de pH 2; y una meseta de pH en el intervalo de pH 5-6 con potencial Zeta casi constante..... 66

ANEXO V: ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Reactivos utilizados en los protocolos de reducción química y tratamiento hidrotermal con su respectivo peso molecular (en gmol^{-1}), casa comercial y cantidades.....	22
Tabla 2: Comparación entre las masas teóricas calculadas y las experimentales obtenidas para la preparación de disoluciones madre de AgNO_3 , NaOH , $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y HMT a 0,1 M.	24
Tabla 3 Planos de difracción característicos de la plata con sus distancias interplanares teóricas, calculadas mediante la Ley de Bragg, y experimentales para las muestras P1MW sin calcinar y AgC, obtenidas mediante el software ImageJ.....	41

ANEXO VI: LISTA DE ABREVIATURAS

AA. -	Ácido ascórbico
Ag. -	Plata
AgNPs. -	Nanopartículas de plata
CNME. -	Centro Nacional de Microscopía Electrónica.
COD. -	<i>Crystallography Open Database</i>
CSNs. -	Nanopartículas <i>Core-Shell</i>
CTAB. -	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
DLS. -	Dispersión Dinámica de la Luz (del inglés, <i>Dynamic Light Scattering</i>)
EDAX. -	Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X
HMT. -	Hexametilentetramina
ICDD. -	<i>International Centre for Diffraction Data</i>
LDV. -	Láser de Velocidad de Doppler
MR. -	Resonancia Magnética
MW. -	<i>Microwave</i>
NPs. -	Nanopartículas
P1H. -	Muestra protocolo 1 horno de Mufla
P1MW. -	Muestra protocolo 1 <i>microwave</i>
P2MW. -	Muestra protocolo 2 <i>microwave</i>
P2R. -	Muestra protocolo 2 en reflujó
PALS. -	Dispersión de luz de análisis de fases (del inglés, <i>Phase Analysis Light Scattering</i>)
PD. -	Patrón de Difracción
PDI. -	Índice de polidispersidad
PET. -	Tomografía por emisión de positrones
pI. -	Punto isoeléctrico
PM. -	Peso molecular
ROS. -	Especies reactivas de oxígeno
SAED. -	Difracción de electrones de área seleccionada (del inglés, <i>Selected Area Electron Diffraction</i>)
SEM. -	Microscopía electrónica de barrido (del inglés, <i>Scanning Electron Microscopy</i>)
SPR. -	Resonancia plasmónica superficial
TEM. -	Microscopía electrónica de transmisión (del inglés, <i>Transmission Electron Microscopy</i>)
TFG. -	Trabajo de Fin de Grado
UV – Vis. -	Ultravioleta – Visible
ZnO. -	Óxido de zinc

[PÁGINA INTENCIONADAMENTE EN BLANCO]