



Universidad de Oviedo

MÁSTER EN CIENCIAS ANALÍTICAS Y BIOANALÍTICAS

Trabajo Fin de Máster

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE QUANTUM-DOTS POR
DIFRACCIÓN DE RAYOS X Y MICROSCOPIA ELECTRÓNICA**

Eva Montes Blanco

Julio 2015, Oviedo

AGRADECIMIENTOS

Me resulta grato expresar mis más sinceras gracias:

A mi tu tutor, el catedrático Santiago García Granda por su valiosa orientación en el planteamiento y realización del proyecto, así como a la cercanía y amabilidad de su carácter.

A el Dr. Jorge Ruiz Encinar por su excelente labor como coordinador del master, tanto en lo referido a aporte de conocimientos como en su comprensión, flexibilidad y paciencia a nivel personal.

A mi supervisor en este proyecto Mohammed Said, por el apoyo, orientación y duro trabajo proporcionados, y por su dedicación tanto laboral como amistosa.

A mis compañeros del master 2013/14 por convertir un curso duro y exigente en algo sobrellevable, lleno de buenos momentos con cenas, alegría, complicidad y compañerismo.

A Hiba El-Ghaziri porque, a pesar de las diferencias culturales, ha demostrado ser una de las compañeras más generosas con las que me he encontrado, tanto a nivel intelectual como personal, cuyo apoyo ha resultado inestimable en este curso.

A mi familia, amigos y buenas gentes de mi pueblo Tudela Veguín, por soportarme trabajando "PC en mano" incluso en momentos de ocio, en especial a la gente del Localín, de Gollín y de Corea.

A mi amigo Eliseo Cao por su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos, así como por los innumerables viajes a la facultad proporcionados.

A Rubén por su apaño con el pegamento y por el "efecto túnel".

A todos los profesores que han aportado sus conocimientos a servicio del nuestro.

A mis compañeros y superiores de la empresa Química del Nalón por proporcionarme una maravillosa experiencia laboral, en especial a Daniel Díaz Llorente.

A Carlos Rodríguez por devolver la música a mi vida aunque la melodía finalizase abruptamente.

**AFTER EVERY STORM
-IF YOU LOOK HARD ENOUGH-
A RAINBOW APPEARS (mc).**

0 TABLA DE CONTENIDO

0	Tabla de contenido	1
1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Los Quantum Dots	1
1.1.1	Propiedades de los Quantum Dots.....	1
1.1.2	Composición de los Quantum Dots	2
1.1.3	Síntesis de Quantum Dots	3
1.1.4	Aplicaciones de los Quantum Dots.....	3
1.1.5	Toxicidad y limitaciones de los Quantum Dots	5
1.2	CIS Quantum Dots (CuInS ₂).....	7
1.2.1	Propiedades, aplicaciones y futuras perspectivas de CIS Quantum Dots.....	7
1.2.2	Síntesis de CIS Quantum Dots	9
1.2.3	Toxicidad de CIS Quantum Dots	10
1.3	ZnO Quantum Dots.....	11
1.4	ZnS Quantum Dots	12
1.5	Técnicas de Caracterización - Fundamentos	13
1.5.1	Difracción de Rayos X	13
1.5.2	Microscopía SEM/TEM	15
2	OBJETIVOS	18
3	EXPERIMENTAL	19
3.1	SÍNTESIS de Quantum Dots	19
3.1.1	CuInS ₂ QD	19
3.1.2	ZnO Np	25
3.1.3	ZnS QD.....	27
3.2	CARACTERIZACIÓN de Quantum Dots- instrumentación	28
3.2.1	DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	28
3.2.2	SEM	29
3.2.3	TEM	30
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1	CuInS ₂ QD.....	31
4.1.1	Ruta sintética A (hidrotermal).....	31
4.1.2	Ruta sintética B (hidrotermal)	39
4.2	ZnO Quantum Dots.....	40
4.3	ZnS Quantum Dots	42

RELACIÓN DE FIGURAS:

Fig. 1	Representación esquemática de un QD	Pág.1
Fig. 2	Emisión de luz tras excitación electrónica en un quantum dot	Pág.1
Fig. 3	Fluorescencia de quantum dots de diferentes tamaños	Pág.2
Fig. 4	Representación de un QD "core-shell"	Pág. 3.
Fig. 5	Estructura cristalina de CuInS ₂	Pág. 7
Fig. 6	Viabilidad celular in vitro de células PC3M tratados con concentraciones variables de CuInS ₂ QD y QD/ PGA-DOX durante 48 h	Pág. 11
Fig. 7	Estructura electrónica (izda.) y estructura cristalina hexagonal de wurzita (dcha.) de ZnO, donde el Oxígeno se muestra en amarillo y el Zinc en gris.	Pág. 11
Fig. 8	Patrón de difracción de rayos X para cuarzo (SiO ₂)	Pág. 13
Fig. 9	Apariencia de un difractograma de polvo cristalino	Pág. 14
Fig. 10	Imagen tomada de un experimento de difracción	Pág. 14
Fig. 11	Comparación de los distintos tipos de microscopía	Pág. 15
Fig. 12	Interacción del haz de electrones con la muestra.	Pág. 15
Fig. 13	Esquema de un microscopio SEM	Pág. 16
Fig. 14	Esquema de un microscopio TEM	Pág. 17
Fig. 15	Diagrama de energía del fotoánodo a cuya construcción se aplicarían los CuInS ₂ QDs obtenidos a partir de polvo de granada.	Pág. 22
Fig. 16	Molinillo eléctrico utilizado para obtener polvo de piel de granada.	Pág. 22
Fig. 17	Polvo de piel de granada empleado en la síntesis	Pág. 23
Fig. 18	Precipitados pastosos obtenidos por la ruta sintética C, imposibles de extraer del tubo de ensayo.	Pág. 25
Fig. 19	Difractómetro PANalytical X'Pert Pro, SCT's Universidad de Oviedo.	Pág. 28
Fig. 20	Microscopio electrónico de barrido modelo JEOL-6610LV, SCTs de la Universidad de Oviedo	Pág. 29
Fig. 21	Metalizador de muestras SCD 004 Sputter Coater, Universidad de Oviedo.	Pág. 30
Fig. 22	Microscopio de transmisión electrónica MET JEOL-2000 EX-II, SCTs, Universidad de Oviedo	Pág. 30
Fig. 23	Patrones XRD de NP's de CuInS ₂ recubiertas con a) MPA; b) L-cisteína	Pág. 31
Fig. 24	Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) A1, b) A3 y c) A4	Pág. 32
Fig. 25	Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) A5, b) A6 y c) A7	Pág. 33
Fig. 26	Imágenes tomadas por SEM de las muestras a) A1, b) A3, c) A4, d) A5,	Pág. 35
Fig. 27	Imágenes tomadas por TEM de las muestras a) A1, b) A3, c) A4, d) A5, e) A6 y f) A7	Pág. 37
Fig. 28	Esquema del efecto de maduración de Ostwald, por el que con el tiempo las partículas más pequeñas se disuelven y las mayores aumentan de tamaño.	Pág. 38
Fig. 29	Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) B2 y b) B5	Pág. 39
Fig. 30	Patrones XRD de NP's de ZnO obtenidas mediante síntesis hidrotermal (rojo) y solvotermal (azul)	Pág. 40
Fig. 31	Resultados del análisis elemental por SEM de la muestra E (ZnO)	Pág. 40
Fig. 32	Imágenes tomadas por SEM de la muestra E (ZnO)	Pág. 41
Fig. 33	Imágenes tomadas por SEM de la muestra E (ZnO) a distintas ampliaciones, tomando como referencia 100 y 50 nm respectivamente.	Pág. 42
Fig. 34	Patrones XRD de NP's de ZnO obtenidas mediante síntesis hidrotermal (rojo) y solvotermal (azul)	Pág. 42
Fig. 35	Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) F2, b) F1	Pág. 43
Fig. 36	Imágenes tomadas por SEM de las muestras a) F2, b) F1	Pág. 44
Fig. 37	Imágenes tomadas por TEM de las muestras a) F2, b) F3	Pág. 45

0.1 RELACIÓN DE TABLAS:

Tabla 1	Propiedades y aplicaciones de CuInS ₂ Quantum Dots.	Pág. 8
Tabla 2	Nanopartículas CuInS ₂ coloidales preparadas por diferentes métodos.	Pág. 9
Tabla 3	Composición elemental cuantitativa de las muestras A1, A3 y A5	Pág. 32
Tabla 4	composición elemental cuantitativa de las muestras A5, A6 y A7	Pág. 33
Tabla 5	Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras B2 y B3	Pág. 39
Tabla 6	Resultados del análisis elemental por SEM de la muestra E (ZnO)	Pág. 41
Tabla 7	Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras F2 y F1	Pág. 44

1 INTRODUCCIÓN

1.1 LOS QUANTUM DOTS

La **nanotecnología** es el estudio y desarrollo de sistemas en escala nanométrica. Al reducir el tamaño de un material por debajo de 100nm aparecen bruscas variaciones en sus propiedades. Cuando las tres dimensiones llegan a ser nanométricas (nanoestructuras cero-dimensionadas o **nanopartículas**), el material se conoce como **Quantum Dot o punto cuántico**, ya que los cambios en las propiedades surgen de la naturaleza mecánico-cuántica de la física en los dominios ultrapequeños. Por presentar una relación superficie/volumen muy elevada (la mayor parte de sus átomos están en su superficie) y un reducido tamaño, exhiben un confinamiento en las tres direcciones espaciales por lo que no existe deslocalización de electrones (**confinamiento cuántico**). Esto implica que los niveles de energía del QD están cuantizados y sus propiedades ópticas y electrónicas se ven determinadas por el tamaño físico del mismo, presentando un comportamiento intermedio entre el material a nivel macroscópico y a escala atómica.

Los QDs son nanocristales semiconductores coloidales, con un diámetro de partícula típicamente entre 2-12 nm. Pudiendo contener desde 100 a 100.000 átomos de elementos pertenecientes a los grupos II-VI, III-V o IV de la tabla periódica, ordenados en una estructura cristalina de forma habitualmente esférica.

Estas nanopartículas fueron descubiertas en los años 80 por *Alexei Ekimov* y *Louis Brus*, y desde entonces, las referencias científicas de trabajos utilizando quantum dots se han visto incrementadas exponencialmente, con más de 4000 artículos al año durante la última década, y más de 6000 anualmente en los últimos cinco años. El término "puntos cuánticos" fue acuñado por Mark Reed.

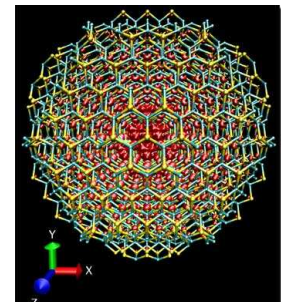


Fig.1. Representación esquemática de un QD

1.1.1 Propiedades de los Quantum Dots

Un semiconductor posee una banda energética llena de electrones (banda de valencia) y una banda energética vacía (banda de conducción) separadas por una diferencia de energía (**bandgap**). Esta diferencia de energía es mayor que para un material conductor y menor que para un material aislante.

Un proceso luminescente consiste en la excitación de un electrón de la banda de valencia a la banda de conducción y el regreso de ese electrón a la banda de valencia con la consiguiente emisión de un fotón con energía igual al "bandgap".

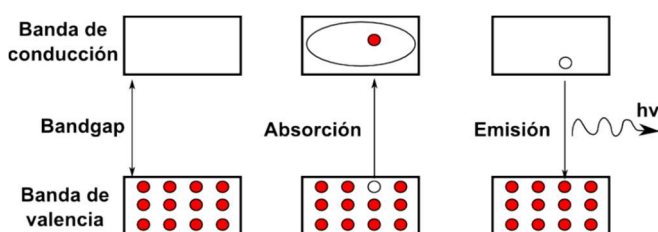


Fig. 2. Emisión de luz tras excitación electrónica en un quantum dot

Como para los QDs el salto de energía está relacionado no solo con la composición del material, sino también con el tamaño de la nanopartícula (de manera que a medida que el tamaño de esta disminuye el "salto de banda" se incrementa), el color del fotón emitido será función del mismo.

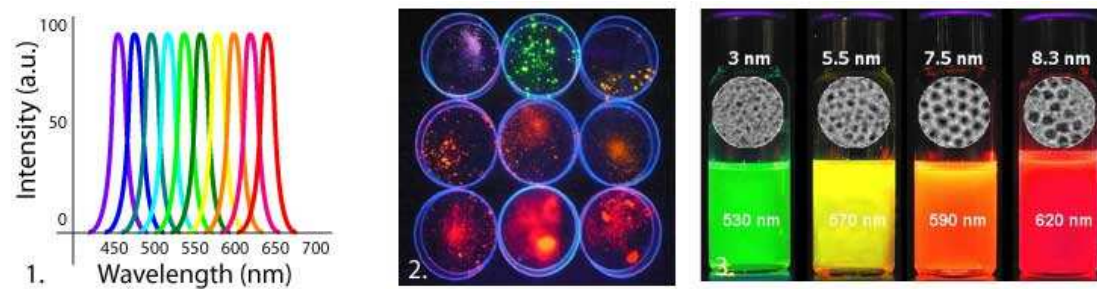


Fig 3. Fluorescencia de quantum dots de diferentes tamaños

La excitación de un electrón en los QDs se puede producir por absorción de luz de varias energías (continuo), por lo que presentan un espectro de absorción ancho. Sin embargo, emiten luz de energías discretas (un solo color) que depende de su tamaño.

Por otra parte, la intensidad fluorescente es mayor que para los fluoróforos convencionales, presentando rendimientos cuánticos generalmente superiores al 40%.

Por tanto, las propiedades fotoluminiscentes de los quantum dots pueden resumirse en el siguiente cuadro:

- Emisiones fluorescentes muy intensas.
- Anchos espectros de absorción y muy estrechos espectros de emisión luminiscente
- Gran separación entre las longitudes de onda de excitación y emisión (más de 100 nm).
- Largos tiempos de vida media del fenómeno luminiscente (10-50 ns).
- Mayor resistencia a fenómenos de "photobleaching" (foto blanqueo).
- Posibilidad de controlar la longitud de onda de emisión desde el ultravioleta al infrarrojo modificando la composición y/o el tamaño del nanocrystal

1.1.2 Composición de los Quantum Dots

Los principales materiales semiconductores de los que están hechos los quantum dots son **CdSe**, **CdS**, **CdTe**, **CdMnTe**, **InP**, **ZnS**, **CeO₂**, **PbS**, y **CuInS₂** o **CuGaS₂**, ya que éstos materiales poseen unas propiedades electrónicas adecuadas para obtener quantum dots fluorescentes. No obstante, cada uno de estos materiales presenta unas propiedades diferentes en cuanto a estructura, toxicidad (por liberación de metales), comportamiento óptico o capacidad para unir grupos funcionales a su superficie.

Los quantum dots pueden estar formados por un solo semiconductor o por una mezcla de ellos en un **sistema core-shell**. Estos últimos se componen de un núcleo de semiconductor (core) al que se le hace crecer otro semiconductor alrededor formando una capa externa (shell). Esta capa exterior protege al núcleo contra la oxidación y los defectos en su estructura, aumentando la estabilidad de los quantum dots e incluso incrementando la luminiscencia de estas nanopartículas. Dentro de estos quantum dots core-shell, destacan los hechos de **CdSe-ZnS**, por ser unos de los más estudiados y empleados, además de presentarse dopados con Mn, que modifica sus propiedades.

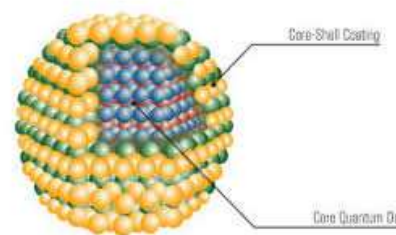


Fig.4. Representación de un QD "core-shell"

1.1.3 Síntesis de Quantum Dots

Existen diversas maneras de sintetizar los quantum dots, aunque el procedimiento más simple y universalmente seguido es su síntesis como nanopartículas coloidales en disolución, o **síntesis orgánica (solvotermal)**. Consiste, básicamente, en una reacción química a alta temperatura entre precursores o soluciones madre de los componentes en un disolvente orgánico. Los cristales de quantum dots se forman mediante un proceso de nucleación y crecimiento. A posteriori se realiza un paso de precipitación selectiva para obtener quantum dots del mismo tamaño.

Suele utilizarse un disolvente de coordinación a muy alta temperatura como el TOP o TOPO, cuya cobertura evita procesos de agregación. Las nanopartículas que se obtienen son solubles en medio orgánico, pero la mayoría de las aplicaciones necesitan que sean solubles en medio acuoso, por lo que, normalmente, la superficie de los quantum dots es modificada con algún polímero que le proporciona solubilidad en agua y capacidad para poder unirse con biomoléculas de interés.

En general, los QD resultantes de la síntesis coloidal presentan una excelente cristalinidad y bajísimos defectos estructurales.

Otra ruta para constituir nanocristales se denomina **fase acuosa o síntesis hidrotérmica**. Se basa en la reacción de sales metálicas que, junto con compuestos tiónicos (como mercaptoetanol o tioglicerol) estabilizan el nanocristal.

El uso de altas temperaturas empleando microondas mejora sensiblemente el campo cuántico y logra acortar los tiempos de síntesis.

Comparativamente con la síntesis orgánica, la acuosa resulta más barata y limpia, obteniéndose cristales de baja toxicidad, solubles en agua y estables. Sin embargo los tiempos de síntesis son bastante mayores y es imprescindible el recubrimiento con agentes estabilizadores.

1.1.4 Aplicaciones de los Quantum Dots

Debido a su comportamiento óptico, absorción y emisión, los quantum dots tienen y tendrán muchas aplicaciones:

Una de ellas son los quantum LEDs (**QLEDs**), ya que los quantum dots también poseen propiedades electroluminiscentes, pueden emitir luz tras aplicarles un voltaje eléctrico. Una de sus ventajas es que pueden utilizarse en sustratos flexibles, algo que no es posible con los materiales convencionales. Podrían emplearse para alumbrado eficiente o pantallas de dispositivos electrónicos ya que consumen poca energía.

Su alta capacidad de absorción de luz puede usarse para mejorar la eficiencia de **placas fotovoltaicas** y reducir su coste, con lo que pueden jugar un importante papel en el futuro de las energías renovables. Otra de sus próximas aplicaciones podría ser su uso en **computación cuántica**.

Dentro de la **Química Analítica**, los quantum dots se utilizan como marca fluorescente en bioensayos. Sus cualidades y su capacidad de formar múltiples estructuras (funcionalización con anticuerpos, oligonucleótidos, Biotina, lectinas, iones magnéticos, etc.) les otorgan una enorme versatilidad analítica y una sensibilidad a nivel de molécula única.

Al conjugarlos con biomoléculas se pueden detectar biomarcadores ópticamente.

Además de mejorar determinaciones estándar como el PSA, los QDs ofrecen nuevas alternativas en Western blotting y citometría de flujo. La fabricación de “laboratorios en un chip” es uno de los productos nanotecnológicos más destacados ya que permiten múltiples análisis simultáneos, a tiempo real, con un coste reducido y cantidades ínfimas de muestra.

En el campo de la **biotecnología** los QDs son útiles en la identificación génica por código de barras multicolor en microchips. Los QDs unidos a anticuerpos específicos permiten la detección por fluorescencia de diversas dianas en rutas metabólicas intracitoplasmáticas de células vivas sin alterar su fisiología.

Sin duda, la aplicación con mayor potencial que presentan los quantum dots es en **imagen biomédica**. Su empleo para el estudio de procesos biológicos en organismos, incluso in-vivo, permite obtener una información clave de cómo funcionan muchas enfermedades y facilitar la obtención de tratamientos adecuados para ellas. Su pequeño tamaño posibilita su introducción en células, e incluso el seguimiento de moléculas individuales.

Así, permiten comprender, a la vez, el tráfico de proteínas, su localización, reciclaje y función en lo que se viene llamando **Proteómica Visual**. Estas aplicaciones unidas a la capacidad de visualizar simultáneamente diferentes quantum dots por su diferente color hacen que estas nanopartículas sean muy prometedoras.

Nuevas aplicaciones en **oncología clínica** permiten identificar células cancerosas aisladas en sangre circulante y una mayor exactitud en el mapeado de Ganglio centinela en neoplasias de mama, así como conseguir discriminar selectivamente el nódulo tumoral en neurocirugía cerebral.

Además, **la medicina regenerativa** promete terapias sustitutivas de órganos y tejidos generados “in vitro”.

Sin embargo, una de las cuestiones a resolver para que puedan tener un mayor uso clínico es la toxicidad de algunas de estas partículas para estudios in vivo.

1.1.5 Toxicidad y limitaciones de los Quantum Dots

A pesar de lo prometedor en cuanto a sus propiedades y aplicaciones, el mayor inconveniente de los Quantum Dots es su potencial toxicidad.

Al estar compuestos en muchos casos de metales pesados y tóxicos como el cadmio, el arsénico o el plomo, puede esperarse que provoquen cierto daño si se usan in vivo, o provocar problemas medioambientales graves a largo plazo debido a fugas o filtraciones de Cadmio.

Además, debido a su ínfimo tamaño, existe a la posibilidad de que estas nanoestructuras puedan atravesar las barreras celulares.

Diversos estudios críticos han reportado que se produce la liberación de metales pesados del núcleo de dichos QDs^{1,2,3}. Kirchner y sus colaboradores reportaron que cualquier tipo de nanopartícula podría reducir la viabilidad de las células si se aplican en concentraciones micromolares⁴. Wang y sus colegas mostraron que incluso en concentraciones nanomolares, los QDs pueden provocar efectos tóxicos en microorganismos, desembocando en daño del ADN y degradación de proteínas⁵.

Por otra parte, en un estudio realizado en 2005, Rieger y colaboradores mencionaron que se pueden inyectar por encima de 108 quantum dots en embriones de pez cebra sin aparentes daños en el desarrollo o malformaciones durante el proceso de embriogénesis⁶.

En otro estudio en 2014⁷ se determinaron los posibles efectos citotóxicos de un conjunto de puntos cuánticos con tamaños en el rango de 2.0- 3.5 nm, mediante evaluación fotofísica sistemática tanto in vivo como in vitro. Estos efectos se estudiaron en la línea celular del carcinoma pancreático humano "BON". Se encontró que los QD de Teluro y Seleniuro de cadmio con o sin cáscara de sulfuro de cinc y revestidos con ácido 3-mercaptopropiónico (MPA) eran altamente citotóxicos incluso a concentraciones nanomolares. Sin embargo, caparlos con L-glutatión (GSH) o ácido tioglicólico (TGA) redujo severamente la citotoxicidad de los mismos, demostrando buena tolerabilidad.

Sin embargo, a pesar de estos datos, la utilización de estas estructuras in vivo aún se encuentra en proceso, ya que el hecho de que los puntos cuánticos se sintetizan con elementos tóxicos, no implica necesariamente que ellos deban serlo.

¹Chen, N., He, Y., Su, Y., Li, X., Huang, Q., Wang, H., Zhang, X. Tai, Fan, C., 2012. **The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots**. *Biomaterials* 1238–1244.

²Su, Y., He, Y., Lu, H., Sai, L., Li, Q., Li, W., Wang, L., Shen, P., Huang, Q., Fan, C., 2009. **The cytotoxicity of cadmium based, aqueous phase-synthesized, quantum dots and its modulation by surface coating**. *Biomaterials* 19–25.

³Su, Y., Hu, M., Fan, C., He, Y., Li, Q., Li, W., Wang, L.H., Shen, P., Huang, Q., 2010. **The cytotoxicity of CdTe quantum dots and the relative contributions from released cadmium ions and nanoparticle properties**. *Biomaterials* 4829–4834

⁴Kirchner, C., Liedl, T., Kuderer, S., Pellegrino, T., Muñoz Javier, A., Gaub, H.E., Stülzle, S., Fertig, N., Parak, W.J., 2005. **Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles**. *Nano Letters* 5, 331–338

⁵Wang, Q., Fang, T., Liu, P., Min, X., Li, X., 2011. **Study of the bioeffects of CdTe quantum dots on Escherichia coli cells**. *Journal of Colloid and Interface Science* 363, 476– 480.

⁶Rieger S, Kulkarni, RP, Darcy D, Fraser SE, Köster RW. **Quantum dots are powerful multipurpose vital labeling agents in zebrafish embryos**. *Dev Dyn* 2005;234(3):670-681.

⁷ **Synthesis and characterization of quantum dots designed for biomedical use** W. Kuzyniak et al. / *International Journal of Pharmaceutics* 466 (2014) 382–389

Algo que sí se ha demostrado es que los QD de CdSe son altamente tóxicos para las células cultivadas bajo iluminación UV. La energía de la irradiación UV es cercana a la de la energía de enlace químico covalente de nanocristales de CdSe. Como resultado, las partículas de semiconductores se pueden disolver, en un proceso conocido como fotólisis, para liberar iones de cadmio tóxicos en el medio de cultivo. En ausencia de irradiación UV, sin embargo, los puntos cuánticos con un recubrimiento de polímero estable se han hallado ser esencialmente no tóxicos^{8,9}.

"No hay datos aun para estimar la toxicidad de los nanocristales", publicaba en 2011 la revista Nature Biotechnology. Recabar estos datos no es nada fácil debido a la gran diversidad de puntos cuánticos sintetizados por laboratorios que usan métodos y materiales distintos. Los institutos nacionales de salud estadounidenses han creado un Laboratorio de Caracterización en Nanotecnología que probará las muestras que envíen los grupos y decidirá si cumplen las normas de toxicidad establecidas por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos. Así mismo, la Comisión Europea considera, a través de su comité científico de los riesgos sanitarios emergentes y recientemente identificados (CCRSERI) que con los métodos actuales, aunque adecuados para evaluar muchos de los riesgos derivados de productos y procesos que incorporan las nanopartículas, es posible que no sean suficientes para cubrir todos los riesgos. La Comisión Europea aboga por crear nuevas metodologías que consigan determinar las propiedades físicas y químicas de las nanopartículas y evaluar el riesgo potencial en sistemas vivos y en el medio ambiente.

Además, en muchas regiones del mundo, existe ya una restricción o prohibición del uso de metales pesados en muchos artículos de uso doméstico, lo que significa que la mayoría de los puntos cuánticos basados en cadmio son inutilizables para aplicaciones de bienes de consumo.

Aparte de la potencial toxicidad, otra de las aparentes limitaciones de los quantum dots utilizados in vivo es la **autofluorescencia de algunos tejidos** como el intestino y la piel, o la no penetración de luz a algunos órganos. Dichas limitaciones han sido resueltas por diversos investigadores, quienes han construido quantum dots que fluorescen en el infrarrojo cercano (700-900 nm), lo cual hace a estas nanoestructuras atractivas para la imagen in vivo (**CIS QDs**).

En esta línea, existe un gran interés investigador en la síntesis y modificación superficial de los QDs, buscando nano partículas cada vez más estables, con baja-nula citotoxicidad y con emisión luminiscente mejorada, de cara a futuras aplicaciones en bioanálisis.

En este contexto, una de las estrategias que se están investigando actualmente, como alternativa al empleo de quantum dots de CdSe fluorescentes (que hoy en día son los más estudiados y utilizados), consiste en la búsqueda de nuevos nanomateriales menos tóxicos como los óxidos y sulfuros de Zinc, y especialmente los **CIS QD (CuInS₂)**.

Ésto constituye el objeto de este trabajo y los tres tipos elegidos se describen con detalle en la siguiente sección) por combinar las propiedades de los QDs con la posibilidad de realizar medidas in vivo, dada la ausencia de metales pesados en su composición.

⁸Ballou, B; Lagerholm, Bc; Ernst, La; Bruchez, Mp; Waggoner, As (2004). "**Noninvasive imaging of quantum dots in mice**". Bioconjugate chemistry 15 (1): 79–86. doi:10.1021/bc034153y.

⁹Pelley JL, Daar AS, Saner MA. Toxicol Sci. 2009 Dec;112(2):276-96 (2009). "**State of academic knowledge on toxicity and biological fate of quantum dots**". Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology 112 (2): 276–96. doi:10.1093/toxsci/kfp188.

1.2 CIS QUANTUM DOTS (CuInS₂)

Como se ha comentado en el apartado anterior, las nanopartículas han atraído gran atención debido a sus propiedades únicas y aplicabilidad en biomedicina, energías renovables y dispositivos ópticos. Sin embargo, los QD basados en cadmio u otros metales pesados, a pesar de haber sido extensamente examinados por sus excelentes propiedades físicas, presentan una grave limitación en términos de aplicación debido a su potencial toxicidad.

Los CIS QD constituyen una buena alternativa a los anteriores, dado que no contienen ningún elemento tóxico de clase A (Cd, Pb y Hg) o de clase B (Se y As).

1.2.1 Propiedades, aplicaciones y futuras perspectivas de CIS Quantum Dots

Estructura: Cristalizan en el sistema tetragonal similar a la calcopirita y la estructura de blenda de zinc de los compuestos II-VI (por ejemplo, ZnS y ZnSe), donde Cu e In reemplazan dos sitios de Zn en la red cristalina.

Sin embargo aún son necesarios estudios de características relacionadas con las relaciones constitutivas de elementos, las imperfecciones de celda y los átomos de superficie con sus enlaces incompletos.

Para mejorar la calidad cristalina y sintonizar la energía de banda prohibida para variar el rango espectral de absorción, los CIS pueden ser dopados con Zn, Se o Ga.

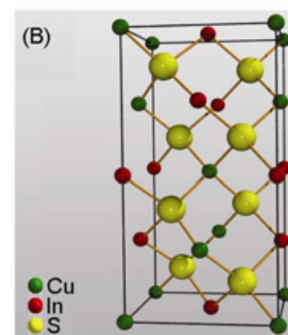


Fig 5. Estructura cristalina de CuInS₂

Fotoluminiscencia: El semiconductor calcopirítico CuInS₂ (CIS) es particularmente prometedor para aplicaciones fotovoltaicas debido a su coeficiente de absorción de capa de alrededor de 10⁵ cm⁻¹ y una energía directa de “bandgap” de aproximadamente 1.54 eV que es considerado el rango óptimo para la conversión eficiente de la energía solar ya que empareja directamente con el espectro.¹⁰

Así mismo, es conocido que dichos QDs pueden formar una capa barrera sobre el film de nanocristales de TiO₂, que aumenta la eficiencia de las células solares.¹¹

Para las aplicaciones en iluminación general, además de su alto coeficiente de absorción y emisión, los CIS QD presentan un ancho de banda de emisión relativamente amplio (típicamente > 100 nm) en comparación con los QDs tipo CdSe e InP, porque el proceso de recombinación radiativa de los mismos se acompaña de estados relacionados con defectos intra-GAP.¹² Por ello se les ha aplicado en tecnología LED, para mejorar con éxito el índice de rendimiento de color de los LEDs blancos.¹³

¹⁰ Zhou J, Li S, Gong X, Yang Y, Guo Y. **Preparation of CuInS₂ microspheres via a facile solution-chemical method** Mater Lett 2011; 65: 2001–3.

¹¹ Guo F, He J, Li J, Wu W, Hang Y, Jianli H. **Photovoltaic performance of bithiazole-bridged dyes-sensitized solar cells employing semiconducting quantum dot CuInS₂ as barrier layer material** Colloid Interface Sci 2013; 408: 59–65.

¹² **Synthesis of Cu-In-S ternary nanocrystals with tunable structure and composition.** Pan, D.; An, L.; Sun, Z.; Hou, W.; Yang, Y.; Yang, Z.; Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 5620.

¹³ **Enhancing the Color Rendering Index for Phosphor-converted White LEDs Using Cadmium-Free CuInS₂/ZnS QDs** Po-Hsiang Chuang, a Chun Che Lin, a Heesun Yang b and Ru-Shi Liua *J. Chin. Chem. Soc.* 2013, 60, 801-806

Debido a la significativa no linealidad de tercer orden, también pueden tener aplicaciones en telecomunicaciones ópticas ultrarrápidas.¹⁴

Recientemente los CIS QDs han sido ampliamente aplicados en investigación bioquímica. Sus propiedades ópticas en cuanto a emisión sintonizable y difícilmente foto-blanqueada superan la inestabilidad de los colorantes orgánicos tradicionales. Además, estos QD semiconductores ternarios pueden ser de mucha ayuda para desarrollar trazadores o biomarcadores por la ausencia de cadmio u otros metales pesados en su composición.

Debido a la absorción y las propiedades de dispersión (scattering) que presentan los tejidos, la señal de fluorescencia de los quantum dots convencionales puede debilitarse. Además, la autofluorescencia de algunas macromoléculas en células vivas se solapa en la región visible del espectro. Sin embargo, los QD con emisión en el infrarrojo cercano (NIR, 650-900 nm) como los CIS QDs, tienen gran transparencia a tejidos biológicos en esta región, por lo que son prometedores como sondas fluorescentes para Imagen biomédica o cirugía ópticamente guiada.

15

A continuación se resumen las propiedades descritas en este apartado y las aplicaciones a las que dan lugar:

Propiedad	Aplicaciones
Ópticas y eléctricas Coeficiente absorción 10 ⁵ cm ⁻¹ Bandgap 1.54 eV Capa barrera sobre TiO ₂	Fotocatálisis Fotovoltaicas / Eficiencia células solares “thin film”
Banda ancha de emisión (> 100 nm)	Iluminación, rendimiento en LEDs
No linealidad de tercer orden	Telecomunicaciones ópticas ultrarrápidas
Ausencia de metales pesados (biocompatibilidad, no toxicidad) Buenas características ópticas Emisión sintonizable Resistencia a photobleaching Emisión en NIR (transparencia a tejidos)	Trazadores biomedicina Investigación bioquímica Sondas fluorescentes para bioimagen, cirugía ópticamente guiada. Desarrollo de sensores de fluorescencia NIR para biomoléculas (heparina, trombina...)

Tabla 1 Propiedades y aplicaciones de CuInS₂ Quantum Dots.

¹⁴A kernel support vector machine-based feature selection approach for recognizing Flying Apsaras' streamers in the Dunhuang Grotto Murals, China. Zhong Chena, Shengwu Xionga, Zhixiang Fangb. Pattern Recognition Letters Volume 49, 1 November 2014, Pages 107–113

¹⁵One-pot synthesis of ternary CuInS₂ quantum dots with near-infrared fluorescence in aqueous solution Siyu Liu, Hao Zhang, Yu Qiaob and Xingguang Su*. RSC Adv., 2012, 2, 819–825

1.2.2 Síntesis de CIS Quantum Dots

Existen dos categorías de síntesis para este tipo de QD:

- Descomposición de fuente molecular que permite obtener QD de pequeño tamaño y controlado, pero tiene las graves limitaciones de ser sensible a la atmósfera, requerir materiales caros de partida y pasos de síntesis de precursores engorrosos.
- Síntesis en disolución, que es un método más simple, con materiales fáciles de conseguir y sencillos en su preparación, y extensible en aplicación. Por ello es el método elegido para llevar a cabo este trabajo de investigación. Sin embargo no debe obviarse que suele dar lugar a nanopartículas de mayor tamaño, incluso mayor que el límite de efecto de cuantización.

La mayor parte de la literatura indica que preparar QD calcopiríticos terciarios de forma monodispersa en disolución con buenas propiedades cristalinas y control de tamaño presenta aún un importante reto.^{16,17}

Pocos estudios han reportado hasta la fecha síntesis coloidales, como puede observarse en la tabla recopilada por¹⁶ Tzung-Luen Li and Hsisheng Teng*:

Method	Precursor	Reaction condition	Particle size	Reference
<i>Molecular Precursor Decomposition Method</i>				
thermolysis	(PPh ₃) ₂ CuIn(SEt) ₄	200–300 °C for 1–2 h in dioctyl phthalate	3–30 nm	Castro <i>et al.</i> ⁴⁴
thermolysis	(PPh ₃) ₂ CuIn(SEt) ₄	200–250 °C for 2–5 h in dioctyl phthalate	2–4 nm	Castro <i>et al.</i> ⁴⁵
thermolysis	Cu–In–thiolate	heated to 200–260 °C in tri-n-octylamine	1.8–2.8 nm	Kino <i>et al.</i> ⁴⁶
thermolysis	Cu(S ₂ COEt) ₂ , In(S ₂ COEt) ₃	196 °C for 15 min in ethylene glycol	3–4 nm	Dutta and Sharma ⁴⁷
microwave irradiation	(PR ₃) ₂ CuIn(SEt) ₄ ; R = Ph or <i>i</i> -But	irradiation over 20 min in hexanethiol/dioctyl phthalate	3–5 nm	Gardner <i>et al.</i> ⁴⁸
photolysis	(TOP) ₂ CuIn(SR) ₄ ; R = <i>n</i> -Pr or <i>t</i> -But	irradiation for 0–218 h in dioctyl phthalate	~2 nm	Nairn <i>et al.</i> ⁴⁹
<i>Solution Synthesis Method</i>				
solvothermal synthesis	CuCl, In, S	200 °C for 12 h in benzene	20–25 nm	Lu <i>et al.</i> ⁵⁰
solvothermal synthesis	Cu, In, S	280 °C for 48 h in ethylenediamine	20 × 800 nm nanorods	Jiang <i>et al.</i> ^{51,52}
solvothermal synthesis	CuCl ₂ , InCl ₃ , S	180 °C for 15 h in ethylenediamine	~15 nm	Xiao <i>et al.</i> ⁵³
hydrothermal synthesis	CuCl ₂ , InCl ₃ , Na ₂ S	room temperature in mercaptoacetic acid/water for 25 h	~27 nm	Wei and Mu ⁵⁴
solvothermal synthesis	CuI, InI ₃ , S	160–240 °C for 60–300 s in TOP/oleylamine/octadecene	3.5–7.5 nm	Nakamura <i>et al.</i> ⁵⁵
solvothermal synthesis	Cu(ac) ₂ , InCl ₃ , CS ₂	200 °C for 12 h in hexadecylamine/anisole	13–17 nm	Du <i>et al.</i> ³⁹

Tabla 2: Nanopartículas CuInS₂ coloidales preparadas por diferentes métodos.

¹⁶Tzung-Luen Li and Hsisheng Teng* **Solution synthesis of high-quality CuInS₂ quantum dots as sensitizers for TiO₂ photoelectrodes** J. Mater. Chem., 2010, 20, 3656–3664

¹⁷**Size-controlled chalcopyrite CuInS₂ nanocrystals: One-potsynthesis and optical characterization** PENG ShengJie, LIANG YanLiang, CHENG FangYi & LIANG Jing. *Sci China Chem* July (2012) Vol.55 No.7

Dentro de las **síntesis en disolución**, son destacadas la Solvotermal (en disolvente orgánico) y la hidrotermal (en agua).

- Puesto que resulta arduo encontrar un agente reductor que reduzca el Cu (II) a Cu (I) en medio acuoso¹⁸, las síntesis hidrotermales de las partículas mencionadas son poco reportadas. Además, y debido a esto, requieren tiempos largos de reacción y previa preparación de precursores, por lo que resultan más trabajosas y duraderas. Sin embargo son más limpias y baratas, menos tóxicas y más “eco friendly”.
- En cuanto a síntesis solvotermales suelen incluir solventes poliólicos ya que permiten llevar a cabo esta reducción a temperaturas elevadas, pero son caros y trabajar con ellos es más difícil que con agua. Como ventajas incluyen que consumen una cantidad de tiempo mucho menor que las anteriores, generalmente pueden hacerse en un sólo paso (menos laboriosas), y se obtienen tamaños menores de partícula.

En el apartado 3 correspondiente a la parte experimental, se describen con detalle los métodos de síntesis empleados en el presente trabajo.

1.2.3 Toxicidad de CIS Quantum Dots

Se ha llevado a cabo diversos estudios para comprobar la baja toxicidad de este tipo de quantum dots con excelentes resultados.

Un ejemplo es el trabajo realizado por el departamento de química de la universidad de Taiwan¹⁹, donde se estudió la toxicidad de CuInS₂ modificados con un recubrimiento de chitosán mediante emulsión oil in water. Los tamaños que se determinaron por TEM para los mismos fueron: Sin recubrir, 2.5 ± 0.3 nm; Recubiertos con chitosán 150 ± 0.2 nm.

Mediante microscopio confocal en células cancerosas se estudió el “uptake” (incorporación) intracelular, mostrando que no causaron daño obvio o muerte celular una vez recubiertos.

También se estudió la citotoxicidad en *Caenorhabditis elegans* (c. elegans), viendo que los QD se introducen satisfactoriamente en el interior de las mismas.

Durante los tiempos de exposición se caracterizaron la acumulación y estado de oxidación de los elementos constitutivos de estos QD mediante espectroscopía XANES y caracterización XRD, viendo que no se producían cambios en estados de oxidación o estructura.

Mediante absorción de Rayos-X se comprobó su estabilidad química dentro de la bacteria, mostrando que los CIS-QD son químicamente estables en *C. elegans* para tiempos tanto cortos como largos de exposición, confirmando que éstos son muy estables en cuanto a digestión celular larga y por tanto pueden ser considerados como un material mejor que los tipos de Quantum dots tradicionales para bioimagen o “drug delivery” (dispensación de fármacos) en células.

¹⁸ M. Mousavi-Kamazani et al. *Facile hydrothermal synthesis, formation mechanism and solar cell application of CuInS₂ nanoparticles using novel starting reagents* /Materials Letters 142(2015)145–149 2014 Elsevier B.V.

¹⁹ *Evaluative Stability and Cytotoxicity of CuInS₂ Quantum Dots in Caenorhabditis Elegans by X-ray Absorption Near Edge Structure* Chieh-Wei Chen, Dai-Ying Wu, Ru-Shi Liu and Jyh-Fu Lee

En otro estudio procedente de china y publicado en 2013 en la revista Analyst ²⁰, se escogieron líneas celulares PC3M para incubación con quantum dots de CuInS₂ in vitro.

Los resultados mostraron alta viabilidad celular relativa a diferentes concentraciones de QD (ver imagen), comparadas con otro tipo de quantum dots recubiertos, comprobando que no existen efectos obvios en la viabilidad de las células a concentraciones de hasta $9.05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, lo que demuestra su **baja citotoxicidad y alta biocompatibilidad**.

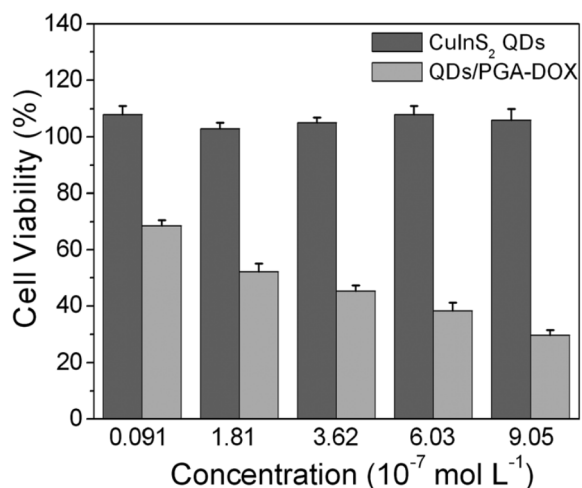


Fig. 6. Viabilidad celular in vitro de células PC3M tratados con concentraciones variables de CuInS₂ QD y QD/PGA-DOX durante 48 h., calculada en relación a la de las células no tratadas (con viabilidad arbitrariamente asignada del 100%).

1.3 ZNO QUANTUM DOTS

El óxido de zinc (ZnO) es uno de los óxidos funcionales más ampliamente utilizado y estudiado. Es un semiconductor biocompatible estable al aire que posee un bandgap directo UV de 3.37 eV. Tiene un bajo índice de refracción ($n < 2$) en comparación con la mayoría de los semiconductores, lo que facilita la extracción de la luz y la propagación.

El óxido de zinc forma fácilmente estructuras de nanocristales de Wurzita simétricas no centrales con superficies de cristal auto-polarizado. Las caras cristalográficas termodinámicamente estables de ZnO incluyen una cara polar (001) y una no polar (100).

Las superficies de simetría baja son más estables que la cara polar, que conduce a un crecimiento más rápido a lo largo de su superficie.

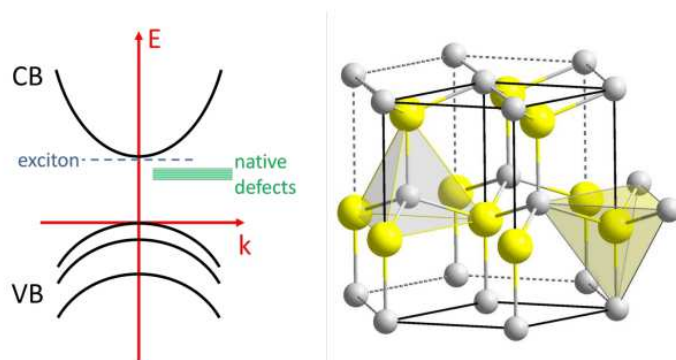


Fig 7. Estructura electrónica (izda.) y estructura cristalina hexagonal de wurzita (dcha.) de ZnO, donde el Oxígeno se muestra en amarillo y el Zinc en gris.

Como resultado, una variedad de nano-estructuras incluyendo nanocables, nanovarillas / nanocintas, nanoanillos y otras nanoestructuras jerárquicas pueden sintetizarse fácilmente y estos materiales han sido examinados para aplicaciones en la conversión de energía fotovoltaica, optoelectrónica, catálisis, sistemas piezoeléctricos, fotocatalizadores, sensores químicos y células solares²¹.

Las nanopartículas y quantum dots de ZnO tienen un futuro prometedor en una variedad de aplicaciones ópticas y biológicas, incluyendo la terapia fotodinámica (PDT) y nanoláseres UV.

También exhiben efectos antibacterianos contra microorganismos como *Staphylococcus* sp. Y *Escherichia coli*, incluyéndose en recubrimientos de medicamentos o protectores solares como agentes antimicrobianos y antifúngicos. Por tanto podrían ser efectivas para proteger alimentos y productos de agricultura de patógenos²².

Sin embargo la obtención de nanopartículas de óxido de zinc por debajo del tamaño de cuantización (de forma que puedan considerarse quantum dots), sigue siendo un reto según se ha comprobado en la bibliografía, por lo que se intentará llevar a cabo en este trabajo, esperando obtener tamaños de partícula por debajo de los 50 nm. Cabe destacar que la forma y tamaño de estas partículas depende del método de síntesis empleado, por lo que se probará una síntesis hidrotermal y otra solvotermal, esperando obtener estructura de wurzita hexagonal.

1.4 ZNS QUANTUM DOTS

Los ZnS QD son nanopartículas interesantes debido a su no toxicidad (ausencia de metales pesados), estabilidad y banda ancha de energía de semiconducción (3.5–3.7 eV para estructura cúbica de blenda de zinc y 3.7–3.8 eV para estructura hexagonal de wurzita).

En un reciente trabajo de nuestro departamento se estudió el efecto del dopaje de los mismos con la introducción de átomos de manganeso para mejorar sus propiedades³².

Sin embargo su estabilización y dispersión en agua (esenciales para aplicaciones biológicas) aún representan un gran desafío²³.

Por tanto, en el presente trabajo se intentará un recubrimiento con tiol que permita su estabilización en dispersión acuosa, basado en referencias bibliográficas con ciertas modificaciones.²⁴

²⁰*CuInS₂ quantum dots/ poly(L-glutamic acid)-drug conjugates for drug delivery and cell imaging*† Xue Gao,b Ziping Liu,a Zihan Lina and Xingguang Su*a Analyst, 2014, 139, 831–836

²¹*Hydrothermal Synthesis of Hydrated Zinc Oxide Nanoparticles and its Characterization* †K. SURESH BABU and V. NARAYANAN* Chem Sci Trans., 2013, 2(S1), S33-S36

²²*Synergistic Antibacterial Activity of Nanohybrid Materials: Synthesis, Characterization, and Comparative Analysis of Undoped and Doped ZnO Nanoparticles* Journal compilation CSIRO 201

³²*Influence of Mn²⁺ concentration on Mn²⁺-doped ZnS quantum dot synthesis: evaluation of the structural and photoluminescent properties*† Emma Sotelo-Gonzalez, Laura Roces, Santiago Garcia-Granda, Maria T. Fernandez-Arguelles, Jose M. Costa-Fernandez* and Alfredo Sanz-Medel*.

1.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN - FUNDAMENTOS

1.5.1 Difracción de Rayos X

La **crystalografía de rayos X** es una **técnica** experimental para el estudio y análisis de materiales, basada en el fenómeno de difracción de los rayos X por sólidos en estado cristalino.

Es una técnica de rutina empleada para obtener información de muestras cristalinas, así como identificar sustancias desconocidas mediante la comparación de los datos de difracción obtenidos con bases de datos del Centro Internacional de Datos de Difracción.

Así, proporciona información sobre la cristalinidad y estructura tridimensional, permitiendo la identificación y cuantificación de fases cristalinas, parámetros de red o tamaño de nanocristal.

Los rayos X son difractados por los electrones que rodean los átomos al ser su longitud de onda del mismo orden de magnitud que el radio atómico. El haz de rayos X emergente tras esta interacción contiene información sobre la posición y tipo de átomos encontrados en su camino.

Los cristales, gracias a su estructura periódica, dispersan elásticamente los haces de rayos X en ciertas direcciones y los amplifican por interferencia constructiva, originando un patrón de difracción.

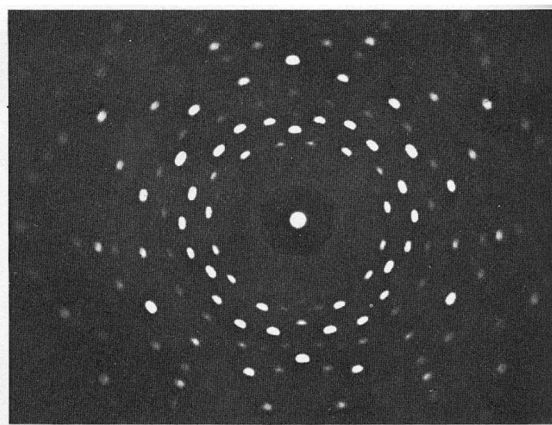


Fig.8 Patrón de difracción de rayos X para cuarzo (SiO₂)

Los sólidos cristalinos son redes de difracción tridimensionales.

A cada red le corresponde una radiación de longitud de onda (λ) adecuada.

Los rayos X tienen longitudes de onda en el rango de unos pocos Å (10-10 m) y los sólidos cristalinos son distribuciones moleculares con una periodicidad de Å.

Esto se puede lograr de varias maneras:

➤ **Difracción de monocristal:**

Esta técnica se basa en hacer incidir un haz de rayos-x sobre un monocristal de compuesto químico.

No es utilizada en este caso ya que los productos obtenidos en este trabajo no son monocristales.

²³ *Biological applications of quantum dots.* T. Jamieson, R. Bakhshi, D. Petrova, R. Pocock, M. Imani, A.M. Seifalian, Biomaterials 28 (2007) 4717–4732.

²⁴ *One-pot hydrothermal synthesis of water-dispersible ZnS quantum dots modified with mercaptoacetic acid* C. Liu et al. / Journal of Alloys and Compounds 570 (2013) 23–27

➤ **-Difracción de rayos X de polvo:**

La forma más sencilla de lograr lo anterior es hacer polvo la muestra a analizar, esto hace que haya pequeñísimos cristales del mismo mineral pero diferentemente orientados (en todas las posibles orientaciones de la red recíproca). Con esta geometría todas las reflexiones se pueden medir en un solo patrón de difracción, consistente en círculos, uno para cada reflexión.

Este método se usa mayoritariamente cuando no es necesario determinar la estructura; por ejemplo, en el análisis de minerales presentes en una muestra.

Los **difractogramas de polvo cristalino** tienen la siguiente apariencia:

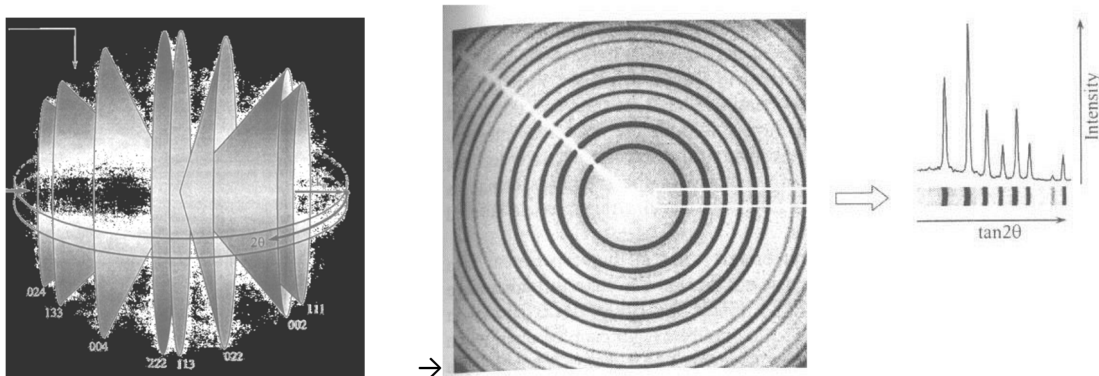
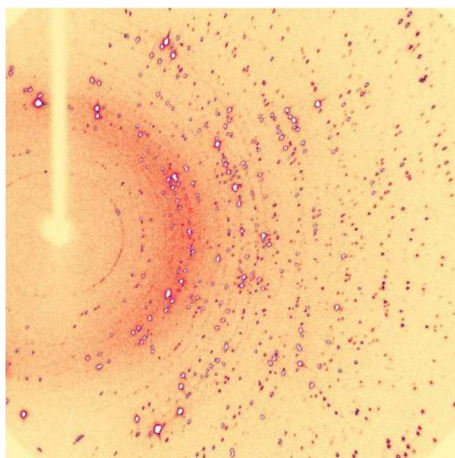


Fig. 9. Apariencia de un difractograma de polvo cristalino



El haz de rayos x incide en la muestra, y únicamente en los cristales con los que forma un ángulo concreto sale difractado un haz de rayos x. Por lo tanto como puede imaginarse hay cantidad de pequeños fragmentos de mineral (deben tener un tamaño inferior a 30 micras) que por su disposición en el espacio no cumplen la ley de Bragg, por lo que estos no ayudan a definir la estructura del mineral. **La difracción de polvo solo mide las propiedades de sistemas ordenados .**

Fig.10. Imagen tomada de un experimento de difracción

Cabe destacar que cuando esta técnica se emplea para el análisis de nanomateriales, se observa un ensanchamiento en los picos de difracción, que se atribuye al reducido tamaño de las nanopartículas, lo que complica en algunos casos, la obtención de información útil.

1.5.2 Microscopía SEM/TEM

El objeto de este conjunto de técnicas es la interacción de los electrones con la materia y la forma de obtener información tanto estructural como de caracterización de defectos. En muchos sentidos, el microscopio electrónico ME ofrece una solución ideal a los problemas que presentan los microscopios ópticos ($\lambda \sim 0.5 \mu\text{m}$) que no pueden obtener resolución atómica ya que la longitud de onda de la radiación incidente es demasiado grande. Con el ME se pueden obtener electrones acelerados con λ asociada bastante menor de 1 \AA , y por tanto se puede obtener, al menos teóricamente, resolución atómica.

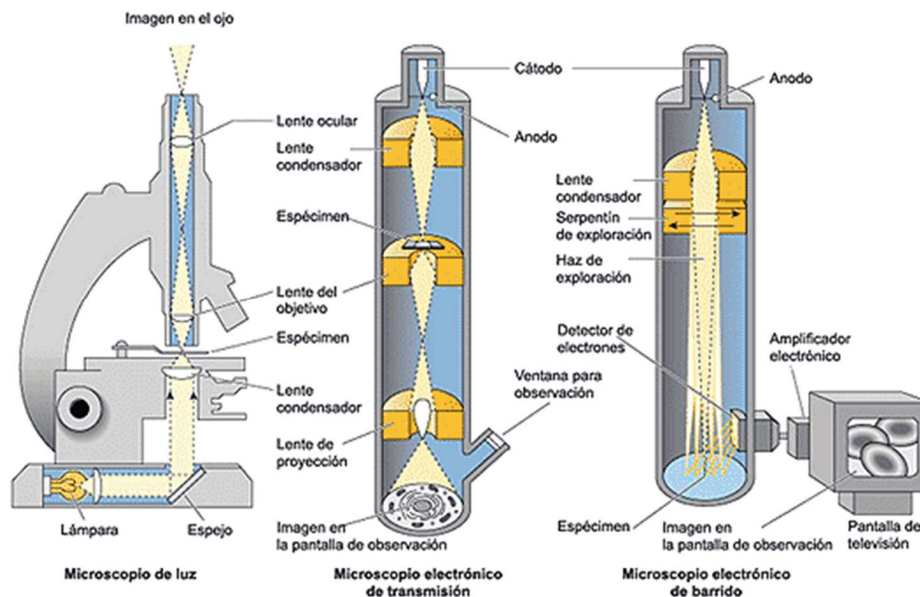


Fig 11. Comparación de los distintos tipos de microscopía

En la figura 12 se muestra las diferentes respuestas que da un material al ser estimulado con un haz de electrones paralelo. Estas interacciones originan algunas de las técnicas que se describen a continuación:

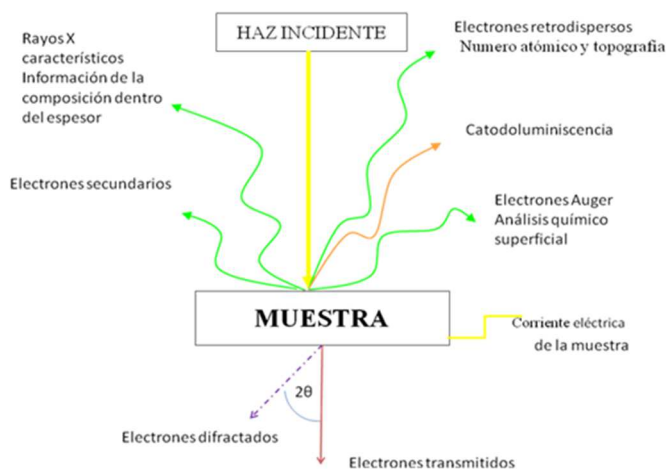


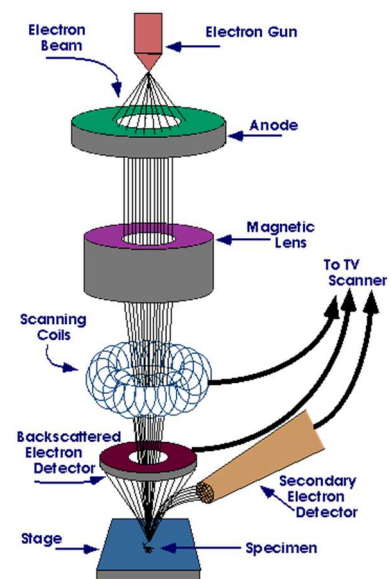
Fig.12. Interacción del haz de electrones con la muestra.

1.5.2.1 Microscopía electrónica de barrido. SEM del inglés "Scanning Electron Microscopy".

El fundamento de la microscopía electrónica de barrido, SEM, radica en que un haz de electrones emitidos por un cátodo de tungsteno pasa a través de una columna en la que se ha imprimido un vacío alrededor de 10^{-7} Torr. En ella el haz inicial es concentrado por una serie de lentes electromagnéticas que producen una disminución de su diámetro hasta hacerse casi puntual. Al mismo tiempo, la intensidad de corriente se disminuye desde unos 10^{-14} A hasta unos 10^{-10} A. Esta disminución en la intensidad implica una menor cantidad de electrones primarios. El haz de electrones con estas últimas características, es decir en forma puntual, es desplazado sobre toda la superficie de la muestra a modo de un pincel que va barriendo la muestra con continuas idas y venidas. Así, los electrones secundarios de baja energía emitidos de la superficie de la muestra se pueden emplear para obtener un tipo de imagen.

Para facilitar esta emisión de electrones se metaliza la muestra recubriéndola de una pequeña capa de un metal conductor como el Au. Los electrones secundarios se detectan por encima del espécimen y la imagen muestra la intensidad de los electrones secundarios emitidos por las diferentes partes de la muestra. El esquema de un microscopio SEM se da en la figura 13:

Por tratarse de electrones de baja energía (menos de 50 eV), que pueden ser desviados fácilmente de su trayectoria emergente inicial, permiten obtener información de zonas que no están a la vista del detector. Esta particularidad otorga a esta señal la posibilidad de aportar información "en relieve".



La emisión de electrones retrodispersados depende fuertemente del número atómico de la muestra. Esto implica que dos partes de la muestra que tengan distinta composición se revelan con distinta intensidad aunque no exista ninguna diferencia de topografía entre ellas.

Por tanto, los rayos X que se generan en una muestra sometida a bombardeo electrónico permiten identificar los elementos presentes y establecer su concentración.

1.5.2.2 Microscopía electrónica de transmisión. TEM del inglés "Transmission Electron Microscopy".

El microscopio electrónico utiliza un fino haz de electrones acelerados que, al impactar con la muestra, genera una serie de señales directamente relacionadas con la estructura atómica del objeto investigado. Estas señales se seleccionan por separado para generar distintos tipos de imágenes y obtener datos analíticos. En el TEM, los electrones transmitidos con y sin dispersión al pasar a través de la muestra generan un difractograma (que puede ser transformado directamente en imagen mediante lentes magnéticas) que es la proyección de la estructura cristalina a lo largo de la dirección de los electrones.

Por tanto, se utilizan para crear imágenes de transmisión convencionales, de campo oscuro y alta resolución, revelando la estructura interna de las muestras, tamaño y distribución de partículas, su red cristalina, interfaces y defectos puntuales de la red atómica, etc.

Los rayos X generados son utilizados para estudiar la composición química de la muestra, pudiendo analizar aisladamente zonas de muy pocas micras e incluso nanométricas. Así, es posible seleccionar un microcristal de la muestra y obtener el difractograma de ese microcristal embebido dentro de la muestra lo cual es una ventaja al estudiar muestras polifásicas ya que la difracción de neutrones y de R-X no permiten seleccionar la fase deseada sino que siempre se obtiene la superposición de los difractogramas de todas las fases presentes en la muestra.

También es posible obtener un espectro característico de la composición de la muestra observada. No obstante, este tipo de análisis tiene algunas limitaciones. El microscopio electrónico está diseñado para obtener imágenes de alta calidad. El analizador EDX acoplado es una herramienta fundamental para descubrir la presencia de determinados elementos químicos en la muestra y su proporción aproximada en zonas micro y submicrométricas, pero no está diseñado para realizar análisis químicos cuantitativos de toda la muestra.

Finalmente, mediante la difracción de electrones (electrones dispersados elásticamente) puede hacerse un detallado estudio cristalográfico del material investigado. Tanto el difractograma de electrones como la imagen reconstruida se pueden proyectar en una pantalla.

Los microscopios de transmisión tienen una capacidad de resolución de hasta 0.23 nanómetros entre puntos y 0.14 nanómetros entre líneas, lo que permite aplicarlo en múltiples campos de investigación: biología vegetal, nuevos materiales, medicina, farmacología, arqueología, control de calidad, investigación forense, catálisis, combustibles fósiles, energía solar, biodegradación de materiales, etc.

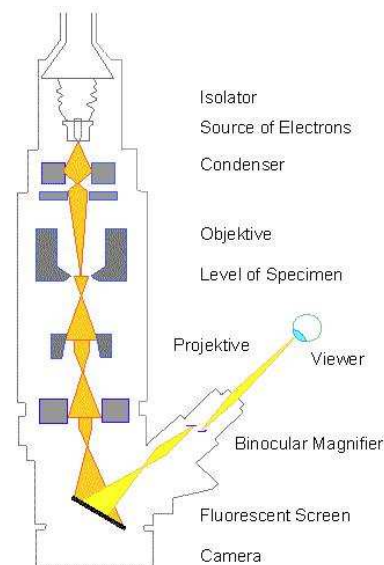


Fig.14. Esquema de un microscopio TEM

2 OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo consiste en la selección de un tipo novedoso, interesante y poco explorado de Quantum Dot, con especial interés a las alternativas a los constituídos por metales pesados, para proceder a su síntesis y caracterización.

Para ello se lleva a cabo una búsqueda bibliográfica previa, seleccionando el tipo **CIS Quantum Dots**, de composición **CuInS₂** como foco principal de estudio por su reciente exploración, prácticamente nula toxicidad, y excelentes propiedades ópticas y cristalinas, lo que conlleva prometedoras aplicaciones potenciales.

Se consideran también los tipos **ZnO** y **ZnS** por su baja toxicidad, como opciones alternativas.

Se seleccionan así mismo ciertas rutas sintéticas basándose en su reproducibilidad, disponibilidad de medios y costes, que se ponen en práctica en el laboratorio, explorando las condiciones que influyen en el tamaño y cristalinidad de los productos.

La caracterización estructural morfológica y de composición química se lleva a cabo mediante las técnicas SEM, TEM y Difracción de rayos X.

3 EXPERIMENTAL

3.1 SÍNTESIS DE QUANTUM DOTS

3.1.1 CuInS₂ QD

3.1.1.1 Ruta sintética A (hidrotermal)

- **Descripción**

Basada en el trabajo de *Ziping Liu et al.*²⁶ Publicado en la revista “Biosensors and Bioelectronics”, así como en otros trabajos similares^{15, 20, 24, 25}, donde se utilizó la misma síntesis, con ciertas modificaciones.

Esta ruta se ha seleccionado por sus potenciales **aplicaciones**, ya que al ser capados los QDs con MPA o L-cisteína, y dada su biocompatibilidad, pueden emplearse como sondas en ensayos, para la fabricación de biosensores (que permiten la detección de diversas macromoléculas de interés biomédico), así como para entregar drogas directamente (“drug delivery”) en células cancerosas:

Como sondas para biosensor de trombina²⁵

Al estar capados con **MPA** que contiene grupos carboxilo capaces de reaccionar con los aminos del fibrinógeno (precursor de la trombina), se da en sangre la Formación de aglutinados que quenchean la fluorescencia de los QD.

Como marcadores de células de cáncer hepático^{15,24}

Debido a su estabilidad en medio biológico (acuoso) provista por el recubrimiento con **MPA**, y a sus buenas propiedades de emisión fotoluminiscente y estrecha distribución de tamaños, se usaron para marcar células de cáncer de hígado detectadas por bioimagen.

Como medio para entregar doxorubicina directamente en células cancerosas y monitorizarlas²⁰

Mediante el recubrimiento con **L-cisteína** puede formarse un complejo electrostático entre los CIS así capados cargados positivamente y PGA (cargado negativamente) que al ser conjugado con doxorubicina (QDs/PGA-DOX), quenchea la fluorescencia de los QD hasta que se unen a las células cancerosas, hidrolizando la DOX y activando la fluorescencia.

Como base de un nano-sensor para la detección simultánea de heparina/ heparinasa²⁶

Los grupos amino de la **L-cisteína** forman un complejo con la heparina dando lugar al apagado/encendido de la fluorescencia del QD, que se aprovecha como señal de detección.

¹⁵ *One-pot synthesis of ternary CuInS₂ quantum dots with near-infrared fluorescence in aqueous solution* Siyu Liu, Hao Zhang, Yu Qiaob and Xingguang Su*. RSC Adv., 2012, 2, 819–825.

²⁰ *CuInS₂ quantum dots/ poly(L-glutamic acid)-drug conjugates for drug delivery and cell imaging†* Xue Gao,b Ziping Liu,a Zihan Lina and Xingguang Su*a Analyst, 2014, 139, 831–836

²⁴ *One-pot hydrothermal synthesis of water-dispersible ZnS quantum dots modified with mercaptoacetic acid* C. Liu et al. / Journal of Alloys and Compounds 570 (2013) 23–27

²⁵ *CuInS₂ quantum dots as a near-infrared fluorescent probe for detecting thrombin in human serum.* Xue Gao, et al. Analyst, 2012, 137, 5620

²⁶ *A novel fluorescent nanosensor for detection of heparin and heparinase based on CuInS₂ quantum dots* Ziping Liu et al. Biosensors and Bioelectronics 54 (2014)617–622

En cuanto a su ejecución, las **ventajas** de la síntesis **A** son:

- Uso de autoclave (comodidad, bajo nivel de elución de gases)
- Fácil de controlar, simple y económico.
- “Green chemistry”

En cuanto a la calidad de los quantum dots según la biografía consultada se espera:

- Alta cristalinidad del resultado (estructura tetragonal pura).
- Solubles en agua y estables por meses en disolución.
- Fluorescencia estable e intensa.
- Estrecha distribución de tamaños y partículas muy pequeñas.

- **Materiales:**

- Matraz Erlenmeyer
- Autoclave
- Calentador/agitador
- Centrifugadora.

- **Reactivos:**

- $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
- $\text{InCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$,
- $\text{CS}(\text{NH}_2)_2$ (sulfoarea)
- NaOH
- Agentes de recubrimiento: MPA (ácido mercaoptopropiónico) , L-cisteína

- **Síntesis A1y A2 (réplicas):**

- 0.4 mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 0.4 mmol de InCl_3 anhidro (muestra **A1**)/ $\text{InCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (muestra **A2**) se disolvieron en 28 ml de agua destilada.
- Se inyectó MPA (4.8 mmol) mediante pipeta Pasteur, observándose inmediatamente la producción de gránulos amarillos.
- Se ajustó el pH a aproximadamente 12 (mediante papel indicador) añadiendo gota a gota una disolución de NaOH 2M con agitación durante 10 minutos. Se observó un cambio a rosa claro.
- Se disolvió $\text{CS}(\text{NH}_2)_2$ (0.80 mmol) quedando por tanto los ratios Cu :In: S=1:1:2 y Cu: MPA=1:12.
- Se transfirió a autoclave de teflón de 40ml, se mantuvo a 180° durante 21hrs y se lleva a temperatura ambiente mediante hidrogenofriamiento.
- Se precipitó el producto mediante etanol y se aisló por centrifugación.
- Se lavó con etanol cinco veces y se secó el polvo negro obtenido a 60° por 6 horas.

- **Síntesis A3:**

Se empleó la misma síntesis antes mencionada sustituyendo simplemente el MPA por L-cisteína (9.6mmol) en ratio Cu: L-cisteína 1:24 como agente estabilizador, y con el uso de InCl_3 anhidro.

En vez de producirse gránulos amarillos como en el caso anterior, al añadir l-cisteína se produce una suspensión turbia de color morado oscuro, que al ir subiendo el pH con la adición de NaOH pasa a color blanco (pH neutro) hasta volverse transparente a pH 12. Tras las etapas de lavado y secado similares, se obtuvo de nuevo un precipitado de color negro.

- **Síntesis A4:**

Se llevó a cabo una variante de la síntesis anterior, donde la l-cisteína se disuelve en agua al principio de la reacción en vez de al final.

Ésta disolución que inicialmente presenta un color blanco turbio pasa a verde al añadir los cloruros de Cobre e indio, que torna marrón con el aumento del pH y finalmente a transparente al llegar a pH=12.

Para comprobar la influencia del tiempo de reacción (que según la literatura consultada nunca debe ser inferior a 20 horas), esta síntesis se mantuvo por 23 horas en lugar de 21 como en los casos anteriores. De nuevo se obtuvo una cantidad considerable de polvo de color negro.

- **Síntesis A5:**

Se empleó idénticamente la misma síntesis que para las réplicas A1 y A2, variando la temperatura de reacción de 180° a 150° C, de nuevo durante 21 horas para comprobar la influencia de dicho parámetro en el resultado final.

- **Síntesis A6 y A7:**

En este caso, para comprobar la influencia del tiempo de reacción, se replicó la síntesis A5 con tiempos de 20 y 23 horas respectivamente.

3.1.1.2 Ruta sintética B (hidrotermal)

- **Descripción**

Basada en el trabajo presentado en 2014 por *Salavati-Niasari et al.*¹⁸ con algunas modificaciones.

Esta ruta ha resultado llamativa por su actualidad (hace menos de un año) y originalidad al usar un nuevo precursor natural (por tanto limpio) a partir de **piel de granada**.

Ha sido comprobado que la piel de granada es una fuente rica en diferentes pigmentos como fenoles, proantocianidinas y flavonoides, que son fácilmente extraíbles, a diferencia de los tintes de rutenio que son caros y tóxicos.

Como se ha comentado en el apartado 1.2.2, no existen apenas reportes sobre síntesis solvotermal de las nanopartículas mencionadas pues es difícil encontrar un agente reductor que reduzca el Cu (II) a Cu (I) en medio acuoso, necesitándose condiciones extremas de reacción.

¹⁸ M. Mousavi-Kamazani et al. *Facile hydrothermal synthesis, formation mechanism and solar cell application of CuInS₂ nanoparticles using novel starting reagents* /Materials Letters 142 (2015)145–149 2014 Elsevier B.V

Sin embargo, en este caso se espera que se consigan separar los pigmentos naturales mediante la formación de complejos con el ion metálico Cu^{2+} , que tras ser complejado puede ser fácilmente reducido en disolución acuosa mediante la adición de sulfito de sodio en condiciones más suaves. Una vez formado este precursor, es susceptible de ser usado en una preparación en un sólo paso de los CIS QDs.

En cuanto a su ejecución, las ventajas de la síntesis **B** son:

- Uso de autoclave (comodidad y no emisión excesiva de vapores)
- Fácil de controlar y económica.
- No necesidad de surfactantes.

Así mismo, y según la citada biografía se espera obtener QDs solubles en agua, de alta cristalinidad, sin agregación de partículas, y sin adsorción de moléculas orgánicas.

Los Quantum Dots que se esperan obtener se muestran como ejemplo de la aplicación a células solares provocando una mayor conversión de energía dada la formación de una capa barrera, conllevando la posibilidad de producción de láminas solares de tres capas en un solo paso, según el esquema:

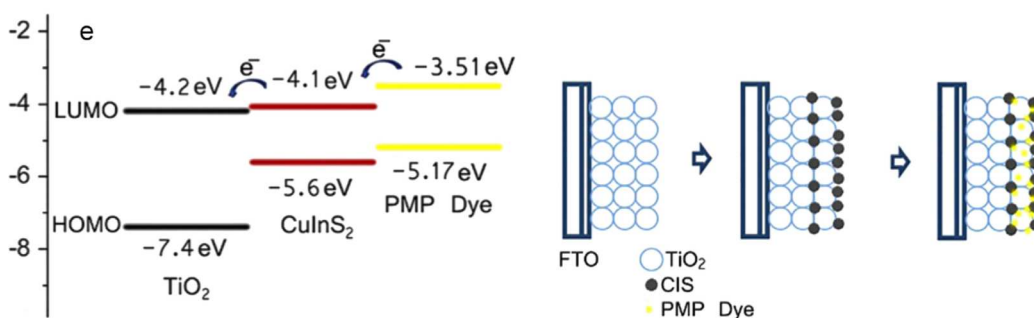


Fig. 15. Diagrama de energía del fotoánodo a cuya construcción se aplicarían los CuInS_2 QDs obtenidos a partir de polvo de granada.

- **Materiales:**

- Matraz Erlenmeyer
- Autoclave de 40 ml
- calentador/agitador
- Centrifugadora
- "Grinder" (se utiliza el molinillo eléctrico "FAGOR PRACTICA ML-300", estrenado para la ocasión, para eliminar riesgo de contaminación).
- Matraz de Kitasato, embudo de Büchner y bomba de vacío.

- **Reactivos:**

- Piel de granada (pelada y desecada)
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- InCl_3
- Na_2SO_3
- TAA (tioacetamida).



Fig. 16. Molinillo eléctrico utilizado para obtener polvo de piel de granada.

- HCl (37%)
- Agua destilada

- **Síntesis B**

- a) Preparación del complejo tintura de PMP-Cu(II)

- Se limpiaron las pieles de granada, se dejaron secar durante varios días en condiciones ambientales y se hicieron polvo con el molinillo eléctrico.
- Se disolvieron 2gr del citado polvo en 30ml de agua bajo agitación durante 30min y la mezcla se filtró por succión en embudo Büchner con papel de filtro, recogiendo el líquido obtenido de color rojo intenso.
- Se disolvieron 0.2gr de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 10ml de agua y se añadieron a la solución anterior, agitando por 2hrs a 60°C .
- Se dejó enfriar a T ambiente y se recogió el precipitado.



Fig. 17. Polvo de piel de granada empleado en la síntesis

En este paso se obtuvo la primera incidencia, ya que en las dos primeras muestras no se consiguió recoger precipitado por filtración al quedar adherido como una pasta al papel de filtro, que no conseguía recogerse por rascado.

Por tanto se optó por repetir el experimento en otras cuatro réplicas y recogerlo mediante centrifugado, tras lo cual se lavó varias veces con agua destilada y se dejó secar a 80° por 10 horas.

Sin embargo el precipitado obtenido no presentaba buenas condiciones al observarse aglomerado y pastoso.

- b) Síntesis CIS QDs:

- El complejo anterior junto con 0.15g de InCl_3 se disolvieron en 30ml de agua destilada bajo agitación 10min.

Se observó la incidencia de que este precipitado no se disolvía, sino que formaba una especie de suspensión.

- Se añadieron 0.1g Na_2SO_3 y 3ml (en dos de las réplicas **B1 y B2**)/ 3,5 y 4 ml (en las dos restantes, **B3 y B4**) de HCl (37%).

Nota: Según la citada biografía, con menor cantidad de ácido se forman partículas más pequeñas y con más ácido disminuye el ratio de nucleación por lo que se forman más gruesas; sin embargo la presencia de impurezas orgánicas en el producto final es mucho menor. Por esta razón se ha probado con distintas cantidades de ácido.

- Tras 5 minutos se añadió 0.1g de TAA.
- Se transfirió a autoclave y se dejó reaccionar a 190° por 10 horas.
- En las dos muestras que llevaban 3ml de HCl (**B1 y B2**) se obtuvo una pequeña cantidad de precipitado marrón que se lavó 5 veces con agua destilada, y en una de ellas (**B2**) se lavó además con etanol otras dos veces y se centrifugó.
- En las dos muestras con 3,5ml y 4 ml de HCl (**B3 y B4**) no se obtuvo precipitado, además de obtenerse poco líquido al abrir la autoclave y observarse cierta corrosión en la misma, lo que

sugiere que a esas altas temperaturas de reacción el ácido se evapora a pesar de estar prácticamente sellado.

El precipitado marrón obtenido en las dos primeras se seca en estufa a 110° por 10 horas.

Tras el secado, en la muestra lavada sólo con agua (**B1**) se obtuvo una cantidad mínima de precipitado negro imposible de analizar. En la muestra lavada con etanol (**B2**), se obtuvo algo más de cantidad, aunque insuficiente para análisis por rayos X. Por Tanto sólo fue analizada por SEM, mostrando los resultados en el apartado siguiente.

Finalmente se repitió la síntesis empleando del doble de cantidad de todos los reactivos para tratar de conseguir mayor cantidad de producto, obteniéndose la muestra **B5** en una cantidad ligeramente superior a las anteriores, que aún resulta insuficiente para realizar el total de análisis de caracterización.

3.1.1.3 Ruta sintética C (solvotermal)

- **Descripción**

Basada en el trabajo de *Nguyen Thi Minh Thuy et al*²⁷. del instituto de materiales de Vietnam y publicado en la revista "Optical Materials" en 2014, con algunas modificaciones.

Éste modelo de síntesis se seleccionó por sus innovación en cuanto a reactivos utilizados, empleando como **disolvente Diésel**, un combustible popular y de bajo coste, que puede servir como agente para llevar a cabo reacciones a alta temperatura ($\approx 200^\circ\text{C}$), reemplazando a otros disolventes mucho más caros, como el ODE o el óxido de trioctil-fosfina (TOPO) que venían usándose en síntesis solvotermales anteriores.

En cuanto a su ejecución, ofrece además otras ventajas como:

- posibilidad de fabricación a gran escala (prometedoras aplicaciones en alumbrado sólido o células fotovoltaicas)
- Gran rapidez de síntesis (15 min)
- **Materiales:**
 - Matraz Erlenmeyer
 - Calentador/agitador
 - Termómetro
 - Centrífuga
 - Micropipeta 1000 μL
- **Reactivos:**
 - CuI
 - DDT (docecantioI)
 - $\text{In}(\text{Ac})_3$
 - Ácido oleico
 - Diésel de gasolinera

²⁷ *Low-cost and large-scale synthesis of CuInS₂ and CuInS₂/ZnS quantum dots in diesel* Nguyen Thi Minh Thuy, Tran Thi Kim Chi, Ung Thi Dieu Thuy, Nguyen Quang Liem, *Optical Materials* 37 (2014) 823–827

- **Síntesis C**

- Se mezcló en matraz de 100 ml con agitación magnética $\text{In}(\text{Ac})_3$ (0.1 mmol), CuI (0.1 mmol), DDT 1.0 ml (4.175 mmol), 0.4 mmol de ácido oleico y 8 ml de diésel.
- Se calentó hasta 210° C comprobando con el termómetro
- Se mantuvo la reacción con agitación durante 15min a esa temperatura.
- Se lavó con acetona y se centrifugó.

De esta forma se obtuvieron cuatro muestras de un precipitado rojo sangre, cuya cantidad resultó insuficiente para su caracterización por las técnicas consideradas.

Por ello, y dado que el trabajo previo en que se basa este modelo de ruta sostiene que puede llevarse a cabo a gran escala, se realizó de nuevo la misma síntesis aumentando en 5 veces todas las cantidades, pero este intento condujo al problema de obtener grandes volúmenes de disolución, arduos de centrifugar y aislar con los materiales disponibles en el laboratorio, que dificultaban la precipitación al no poder añadir suficiente volumen de acetona en los tubos de centrifuga para que ésta se produjese.

Entonces, se intentó de nuevo la producción aumentando las cantidades de reactivos en 2,5 veces, y se trató también de observar la influencia del tiempo de reacción mediante la realización de tres réplicas que permanecieron a 210°C durante 15, 30 y 45 minutos, obteniendo tras los sucesivos lavados y centrifugados, 6 tubos de ensayo por muestra con precipitados cuyo color varía entre el rojo, el granate y el marrón oscuro respectivamente al aumentar el tiempo, lo que según la literatura²⁷ es atribuible al aumento del tamaño del nanocrystal (ver imagen 18).

Sin embargo, y como muestra dicha imagen, estos precipitados tienen consistencia pastosa y son demasiado pegajosos como para poder extraerse eficientemente de los tubos, a pesar de haberse mantenido secando en estufa repetidamente durante 4 días, lo que sugiere que la ni la acetona ni el etanol (probado como alternativa) son los disolventes idóneos para su precipitación, al no permitir el secado adecuado.



Fig. 18. Precipitados pastosos obtenidos por la ruta sintética C, imposibles de extraer del tubo de ensayo.

Este problema también puede ser debido al hecho de emplear un agente de recubrimiento orgánico de cadena carbonada relativamente larga como es el ácido oleico, que tiende a formar estructuras micelares tanto ordenadas como desordenadas que favorecen la formación de aglomerados y pueden almacenar humedad intersticial, difícil de extraer por evaporación.

3.1.2 ZnO Np

3.1.2.1 Ruta sintética D (hidrotermal)

Esta síntesis, basada en la referencia²¹ se escogió como alternativa a la producción satisfactoria de CIS QD (que provocaron molestias en los trabajadores y compañeros aledaños debido al desagradable olor a azufre que desprendía su fabricación) especialmente por su simplicidad ultra bajo coste y potenciales aplicaciones, detalladas en el apartado 1.3 de este documento.

²¹Hydrothermal Synthesis of Hydrated Zinc Oxide Nanoparticles and its Characterization †K. SURESH BABU and V. NARAYANAN* Chem Sci Trans., 2013, 2(S1), S33-S36

- **Materiales:**

- Vaso de precipitados
- Calentador/agitador
- Centrífuga
- Autoclave 40ml

- **Reactivos:**

- $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- NaOH
- Agua destilada

- **Síntesis D**

- 0.056 g de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 0.32 g de NaOH se disolvieron en 32 mL de agua destilada.
- La mezcla se agitó magnéticamente por 20 minutos, y se transfirió a autoclave de teflón y acero inoxidable de 40 ml, que se mantuvo a 180° C por 2 horas.
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se lavó dos veces con agua y tres con etanol.
- El precipitado se secó a 85° durante 8 horas.

Mediante esta ruta se obtuvo una cantidad significativa de un polvo blanco (**muestra D**)

3.1.2.2 Ruta sintética E (solvotermal)

Esta síntesis, basada en la referencia²² se eligió por las mismas razones que la anterior (dado que se trata del mismo producto) salvo que se lleva a cabo en otro tipo de solventes, de forma que se pretende comprobar empíricamente cuál de ellos resulta más ventajoso.

- **Materiales:**

- Vaso de precipitados
- Calentador/agitador
- Centrífuga
- Autoclave 40ml

- **Reactivos:**

- $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$
- Etanol absoluto
- Etilenglicol

- **Síntesis E**

- Se añadieron 3.0 mmoles de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ a una mezcla de 30ml de disolvente consistente en etanol y etilenglicol en proporción 2:1.

²²*Synergistic Antibacterial Activity of Nanohybrid Materials: Synthesis, Characterization, and Comparative Analysis of Undoped and Doped ZnO Nanoparticles* Journal compilation © CSIRO 2014

- La mezcla resultante se agitó vigorosamente por 20 minutos para formar una disolución homogénea, que posteriormente fue transferida a una autoclave de teflón de 40ml que se mantuvo a 150° por 8 horas.
- Posteriormente se lavó el precipitado obtenido con agua (como fue sugerido en la bibliografía), observando como incidencia que se redisuelve y es imposible de precipitar, lo que sugiere que el producto es soluble en agua.
- Por tanto se repite el experimento, procediendo a su lavado únicamente con etanol cinco veces y centrifugando. El precipitado blanquecino finalmente obtenido (**muestra E**) se secó a 120° por 6 horas en estufa.

3.1.3 ZnS QD

Esta síntesis se ha probado como una nueva alternativa a la obtención de los CIS QD, por tratarse de partículas también carentes de toxicidad, y con múltiples aplicaciones, a pesar de que su síntesis hidrotermal sigue considerándose un desafío importante.

Se basa en el trabajo de *Liu et al.* Publicado en 2013 por la revista "Journal of Alloys and Compounds" ²⁴, aunque con varias modificaciones, entre ellas la adición de MPA (ácido mercaptopropiónico) en vez de MAA (ácido mercaptoacético), por tratarse de recubrimientos tiólicos similares.

- **Reactivos:**

- Zn(CH₃COO)₂ · 2H₂O
- Na₂S_x · 9H₂O
- Urea
- MPA
- NH₃
- Etanol absoluto
- Agua destilada

- **Síntesis F (hidrotermal)**

- 0,528 g de Zn(CH₃COO)₂ · 2H₂O se disolvieron en 20 ml de agua, tras lo cual, 1,8 mL de MPA se añadieron lentamente a las dos disoluciones (muestras **F1** y **F2**) bajo agitación por 10 minutos.
- Entonces, una disolución de 0,864g de Na₂S_x · 9H₂O en 2 ml de agua destilada se añadió a dicha mezcla, continuando la agitación hasta observar un color claro.
- Posteriormente se fue añadiendo gota a gota 2ml de una disolución de urea 0,9 M.
- La muestra **F3** se conforma de idéntica forma que las anteriores salvo que se prescinde de la adición de MPA, para discernir mediante la caracterización entre las propiedades y estabilidad de los compuestos capados con tiol y sin capar.
- La alcalinidad de las disoluciones se ajustó mediante la adición de NH₃ hasta pH=10 (salvo en el caso de la tercera (**F3**), que al omitir la adición de ácido ya parte de un pH=11).

²⁴ *One-pot hydrothermal synthesis of water-dispersible ZnS quantum dots modified with mercaptoacetic acid* C. Liu et al. / Journal of Alloys and Compounds 570 (2013) 23–27

- Todas ellas se transfirieron a autoclaves de acero inoxidable y teflón de 40 ml.
- Las reacciones hidrotermales se mantuvieron en estufa a 150° durante **4 horas** para **F1** y **F3**, y **2 horas** para **F2**, con la intención de comprobar la importancia del tiempo de reacción.
- Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se lavaron con dos veces con agua destilada y otras dos con etanol.

Tras secar el precipitado en estufa a 110° C por 7 horas, se observó cómo incidencia que el precipitado era pastoso en vez de tener apariencia de polvo, lo que sugiere una pobre limpieza y desecación, así como higroscopicidad.

Por tanto, volvió a lavarse sólo con etanol hasta que se apreció un color menos amarillento y más blanquecino, y se secó finalmente en estufa por otras 7 horas a 90°C.

De esta forma se obtuvieron cantidades significativas (por encima de 2 mg) de las muestras **F1**, **F2** y **F3**, todas con apariencia de polvo de color blanco.

3.2 CARACTERIZACIÓN DE QUANTUM DOTS- INSTRUMENTACIÓN

3.2.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Los patrones de difracción de rayos X fueron recogidos mediante el difractómetro X'pert Philips con radiación CuK α disponible en los SCT's de la Universidad de Oviedo:

Se trata de un difractómetro de polvo multipropósito cuyas distintas plataformas y componentes ópticos "PreFix" permiten configurar, de manera simple, el sistema en poco tiempo permitiendo desarrollar un amplio conjunto de experimentos, como por ejemplo: identificación y/o cuantificación de fases cristalinas, alta resolución y análisis microestructural, estudio de láminas delgadas, reflectometría, análisis de texturas y tensiones residuales.



Fig 19: Difractómetro PANalytical X'Pert Pro, SCT's Universidad de Oviedo.

Todas las muestras fueron machacadas en un mortero de ágata para minimizar las orientaciones preferentes. Los datos se recogieron a temperatura ambiente sobre el rango angular 2 θ entre 4-60° con un paso de 0.01° y a un tiempo de cuenta de of 1.5 s/paso.

3.2.2 SEM

3.2.2.1 MEB JEOL-6610LV con microanálisis

Consiste en un microscopio Electrónico de Barrido con cañón de electrones de filamento de wolframio, con posibilidad de trabajo de 0,5 a 30 kV y una resolución máxima de 3.0 nm. Desde x5 hasta x50.000 aumentos. Puede trabajar en modos de alto vacío para máxima resolución y de bajo vacío para muestras con humedad o de superficie no conductora. Dotado de detectores de electrones secundarios y de electrones retrodispersados (composición, topografía y sombreado). Pletina eucéntrica mecánica asíncrona de 5 ejes con rotación e inclinación eucéntricas, que puede albergar muestras de hasta 20 cm de diámetro. Totalmente informatizado, se maneja a través de un PC, con auto archivo de imágenes en formatos BMP, TIFF o JPG.



Fig 20. Microscopio electrónico de barrido modelo JEOL-6610LV, SCTs de la Universidad de Oviedo

3.2.2.2 Microanálisis INCA Energy 350 - Xmax 50

Equipo de microanálisis integrado en el microscopio MEB JEOL-6610LV. Con detector SDD modelo Xmax 50 con resolución de energías inferior a 125 eV a 5,9 keV y a 20.000 cps, y área activa de 50 mm². Con ventana ultra fina que permite detección y análisis de ultraligeros (C, N, O...).

Un completo software de análisis de la señal del detector permite entre otras posibilidades seleccionar sobre la imagen microscópica puntos o áreas para análisis, rutinas para análisis cuantitativos, mapping's, linescan's, etc.

Este analizador permite determinar la composición de la muestra en cada área enfocada de la misma, ofreciendo los porcentajes elementales de cada componente.

3.2.2.3 Sputter coater BALZERS SCD 004

Se trata de un metalizador por pulverización catódica usado para la preparación de muestras, recubriéndolas con un “thin film” de partículas de oro que aumentan la conductividad, y aplicando un vacío de 0.05mbar y 3 tratamientos de 30s a 30mA y una distancia de 50mm.



Fig 21: Metalizador de muestras SCD 004 Sputter Coater, Universidad de Oviedo.

3.2.3 TEM

3.2.3.1 MET JEOL-2000 EX-II

Para las medidas de tamaño de partícula y la obtención de imágenes de alta resolución que permiten apreciar el estado de dispersión o agregación de los productos se utilizó este Microscopio Electrónico de Transmisión de kilovoltaje máximo 200 kV y poder de resolución 3,4 amstrong entre líneas. Incluye un sistema fotográfico: cámara de placas 6,5x9,5 y película 35 mm, e imagen digitalizada con salida a PC (sistema digital micrograph GATAN).



Fig 22. Microscopio de transmisión electrónica MET JEOL-2000 EX-II, SCTs, Universidad de Oviedo

3.2.3.2 Sistema digital de captación de imágenes GATAN para el MET JEOL-2000 EX-II

Permite la obtención de imágenes digitales para su almacenamiento en soporte CD y la visualización directa en monitor (On Line). Así mismo, incorpora en cada imagen captada una unidad de medida, pudiendo también medir áreas, contornos o zonas determinadas de la imagen. Admite diversos métodos de trabajo: captación directa de las imágenes, captación lenta con enfoque directo, rotación y ampliación directa, etc.

Para llevar a cabo estos análisis las muestras obtenidas fueron redispersadas en etanol con la ayuda de ultrasonidos.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CuInS₂ QD

4.1.1 Ruta sintética A (hidrotermal)

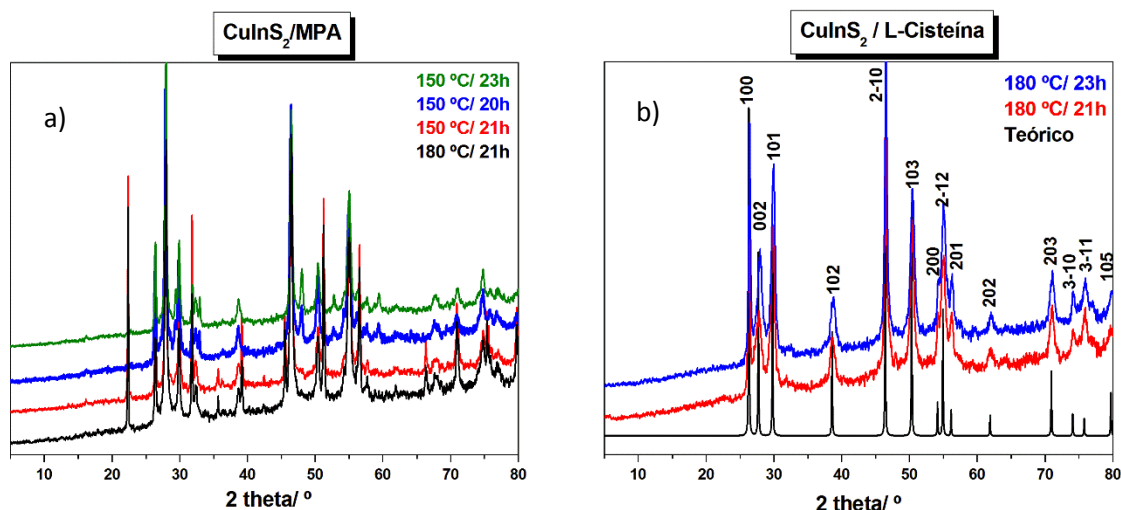
4.1.1.1 Difracción de Rayos X

La figura 23 a) muestra los patrones de difracción de rayos X de las nanopartículas recubiertas con MPA obtenidas por la ruta sintética A (muestras A1, A5, A6 y A7) a dos temperaturas diferentes de síntesis y a distintos tiempos de reacción. Los picos de difracción presentes se corresponden con el patrón de calcopirita tetragonal de CuInS₂ (JCPDS no. 38-0777), siendo similares en las distintas condiciones de reacción, lo que sugiere que en todos los casos se ha obtenido este tipo de cristal.

La figura 23 b) ilustra los patrones de difracción de las nanopartículas recubiertas con L-cisteína obtenidas por la misma ruta a diferentes tiempos de reacción, pudiendo verse que también son correspondientes al patrón tetragonal de calcopirita, ajustándose perfectamente al teórico.

Como puede verse en la superposición de estos gráficos, al aumentar el tiempo de reacción los picos aparecen más intensos, especialmente los correspondientes a los planos (100), (101) y (2-10) lo que podría estar relacionado con que esos planos de difracción se favorezcan por reareglo en esas direcciones de las nanopartículas, o con una mayor cristalinidad.

Todos los patrones exhiben picos ligeramente ensanchados, característicos de materiales de tamaño nanométrico.



Figs 23 a y b: Patrones XRD de NP's de CuInS₂ recubiertas con a) MPA ; b) L-cisteína

4.1.1.2 SEM

- **Análisis elemental**

En la figura 24 se muestran los resultados del análisis elemental obtenidos por microscopía electrónica de barrido en diversos puntos de cada muestra:

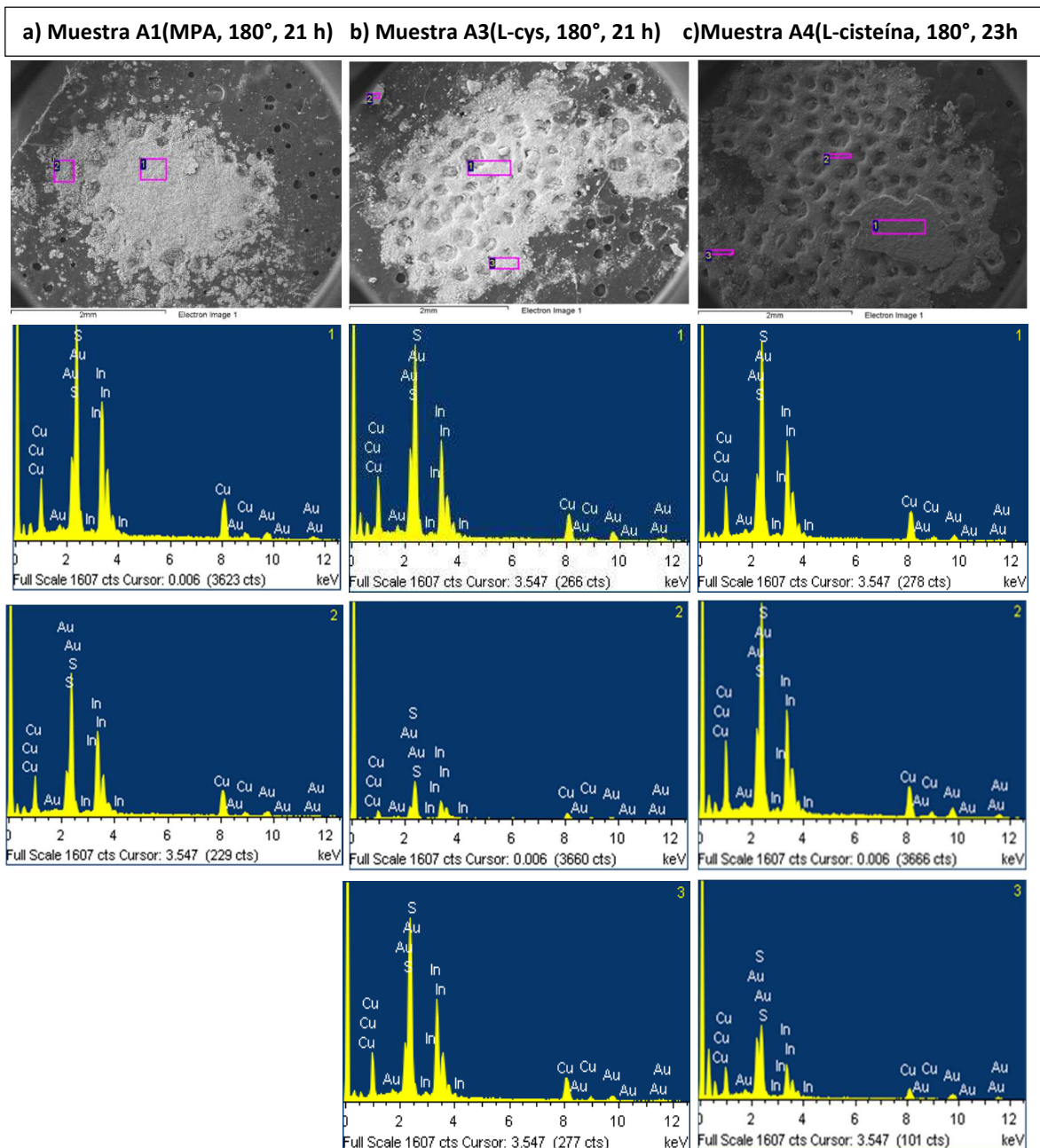


Figura 24: Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) A1, b) A3 y c) A4

Muestra	A1			A3			A4		
Espectro	S	Cu	In	S	Cu	In	S	Cu	In
1	51.95	22.84	25.20	54.87	20.67	24.47	53.44	22.74	23.82
2	50.27	24.43	25.30	53.56	22.54	23.91	53.52	23.46	23.02
3				53.62	20.18	26.20	54.46	22.93	22.61
Media	51.11	23.64	25.25	54.02	21.13	24.86	53.81	23.05	23.15
Desv Std.	1.19	1.12	0.07	0.74	1.24	1.19	0.57	0.37	0.61
Max.	51.95	24.43	25.30	54.87	22.54	26.20	54.46	23.46	23.82
Min.	50.27	22.84	25.20	53.56	20.18	23.91	53.44	22.74	22.61

Tabla 3 composición elemental cuantitativa de las muestras A1, A3 y A5

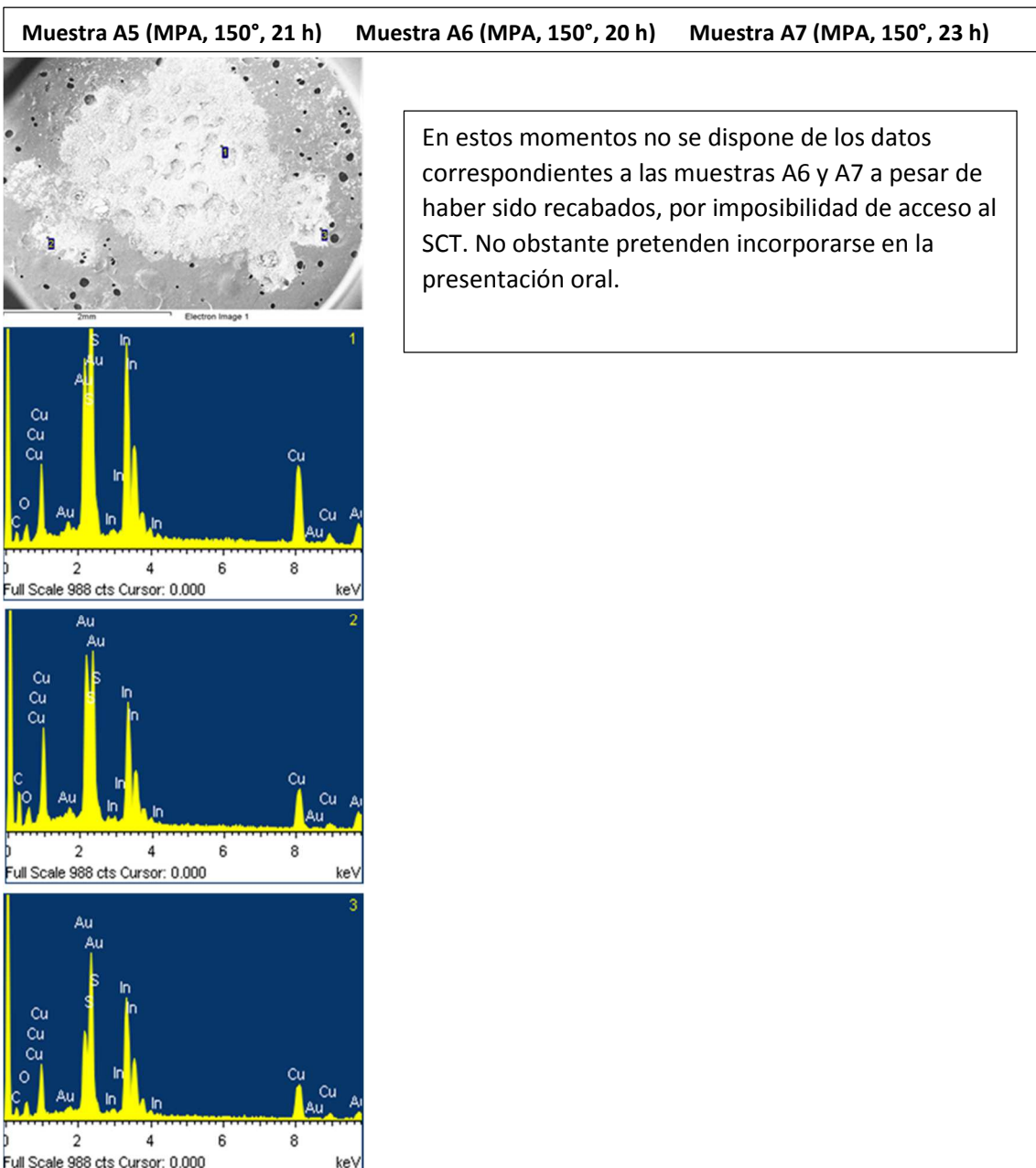


Figura 25: Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) A5, b) A6 y c) A7

Muestra	A5				
Espectro	C	O	S	Cu	In
1	13.78	9.67	18.69	24.71	33.14
2	34.65	13.77	11.02	16.11	24.45
3	16.41	15.46	14.82	19.86	33.46
Media	21.62	12.97	14.84	20.22	30.35
Desv Std.	11.37	2.97	3.84	4.31	5.11
Max.	34.65	15.46	18.69	24.71	33.46
Min.	13.78	9.67	11.02	16.11	24.45

Tabla 4 composición elemental cuantitativa de la muestra A5 (no se ha obtenido acceso a los resultados de A6 y A7)

La muestra A2 no se ha analizado por SEM, por ser una réplica de la primera y mostrar idénticos resultados en el análisis por difracción de Rayos X.

Como puede verse en la tabla 3, los resultados son los esperados en cuanto a composición, con unos contenidos de Cobre e Indio de alrededor de un 25%, y alrededor de un 50% de Azufre, lo que se corresponde con la fórmula CuInS_2 .

La bibliografía ¹⁵ sugiere que cuando los quantum dots están capados con ligandos que contienen tioles se obtiene un **exceso de azufre** en el análisis; Sin embargo este exceso es muy ligero en los capados con MPA (51%) y levemente superior en los capados con l-cisteína (54%), en condiciones óptimas (180°, 21hrs, muestras A1, A3 y A4).

En cambio al bajar la temperatura a 150° (la sugerida como óptima por la literatura) como se observa en la tabla 4, puede apreciarse un descenso en el contenido de azufre, sustituido por contaminación a base de carbono y oxígeno, lo que podría implicar que la reacción no llega a completarse a esa temperatura.

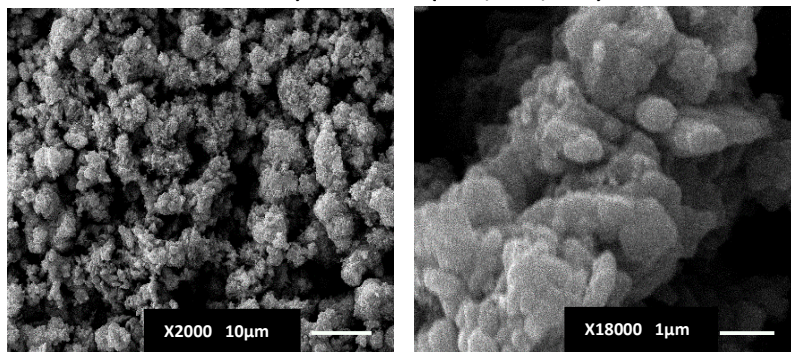
La **región de temperaturas** entre 150° y 180° se escogió para equilibrar la actividad del Cu^{2+} y del In^{3+} . Es sabido que en disolución acuosa el In^{3+} participa difícilmente en el crecimiento de los Quantum dots ternarios si la temperatura es menor, mientras a es común que se forme una nanofase de Cu_xS si ésta se excede.

Aun así no existe ninguna explicación lógica en la literatura a una falta de incorporación del azufre relacionada con el descenso de la temperatura, por lo que cabe considerar que el defecto pueda atribuirse a la gran **higroscopicidad del InCl_3** , al llevarse a cabo la síntesis de las tres últimas muestras un mes después de las primeras, lo que conllevaría adsorción de agua y probablemente CO_2 atmosférico, que explicarían la presencia de carbono y oxígeno.

- **Análisis morfológico**

A continuación se muestran las imágenes obtenidas por SEM a distintos niveles de ampliación para cada muestra:

a) Muestra A1 (MPA, 180°, 21 h)



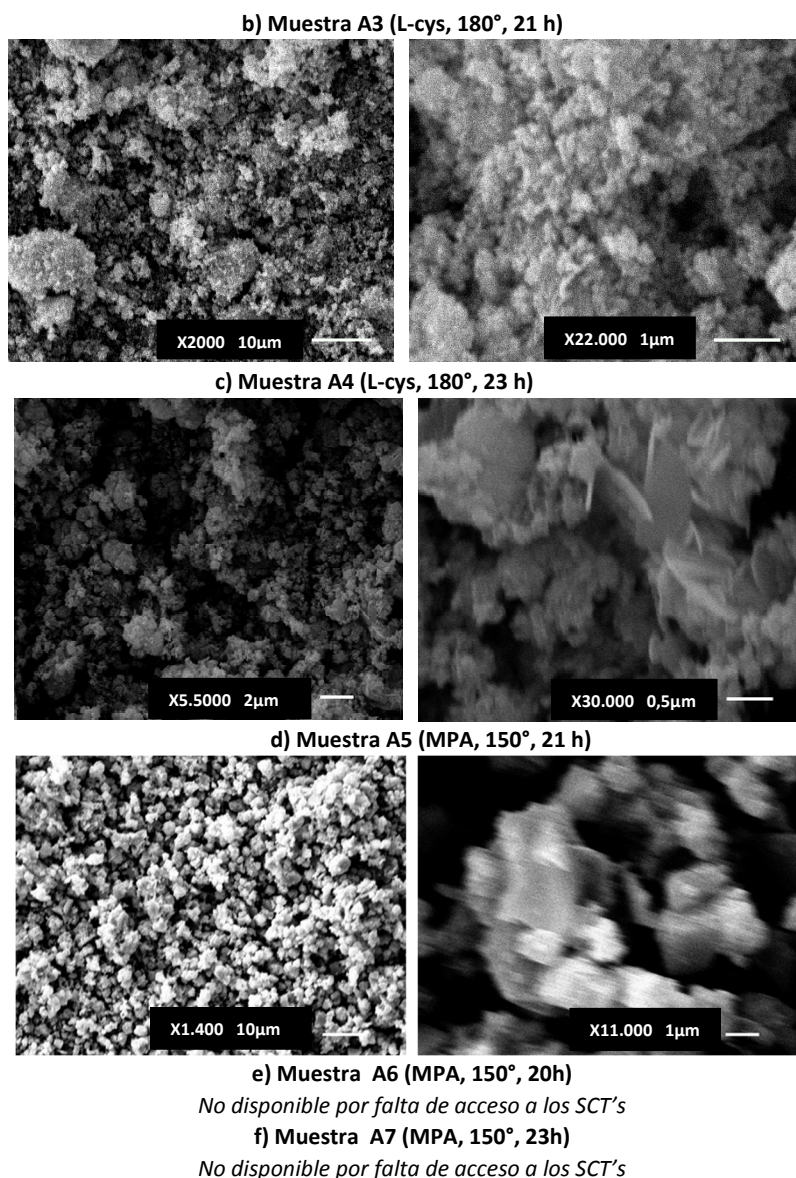


Figura 26: Imágenes tomadas por SEM de las muestras a) A1, b) A3, c) A4, d) A5.

Éstas imágenes muestran la obtención de partículas cristalinas de tamaño micrométrico que se encuentran agregadas en forma de “bulk” (parte masiva) por lo que su tamaño es difícil de estimar a través de esta técnica.

Cabe destacar que si el **pH de la disolución** sobrepasa el valor de 12, aparecen ciertos precipitados blancos que pueden corresponder a $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e $\text{In}(\text{OH})_3$. Sin embargo pH's por debajo de 10 desestabilizan el crecimiento de los quantum dots y su recubrimiento con el ligando ácido, favoreciendo la formación de aglomerados.

Teniendo esto en cuenta, se escogió para la síntesis un pH de 11,3 por ser el referido como idóneo en las fuentes consultadas, pero al encontrarse inutilizable el pH-metro del laboratorio, el pH debió ser forzosamente medido con papel indicador, que por ser un método más subjetivo y sujeto a mayor margen de error, no garantiza que el ajuste haya sido el adecuado, lo que justificaría la obtención de agregados en todas las variantes de esta síntesis, como muestran las figuras 26 y 27.

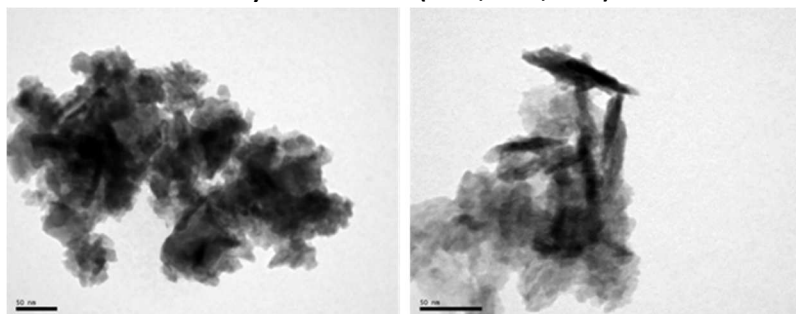
Aunque se puede afirmar que las técnicas basadas en el empleo de la microscopía resultan fundamentales a la hora de caracterizar nanomateriales, ha de tenerse en cuenta que la **preparación de las muestras** puede resultar laboriosa y afectar a la morfología original de los mismos.

Para SEM la preparación de la muestra hace necesario depositar la muestra en un soporte sólido, por lo que debe ser secada y pulverizada previamente, lo que puede alterar la estructura nativa que presentan las nanopartículas dispersas en medio acuoso, y favorecer la producción de agregados durante el proceso de preparación.

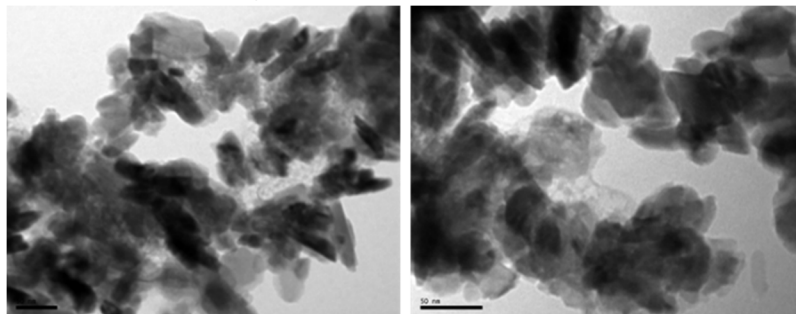
4.1.1.3 TEM

La figura 27 presenta las imágenes adquiridas por TEM para las muestras sintetizadas por esta ruta, a diferentes temperaturas, tiempos y con distintos agentes de recubrimiento:

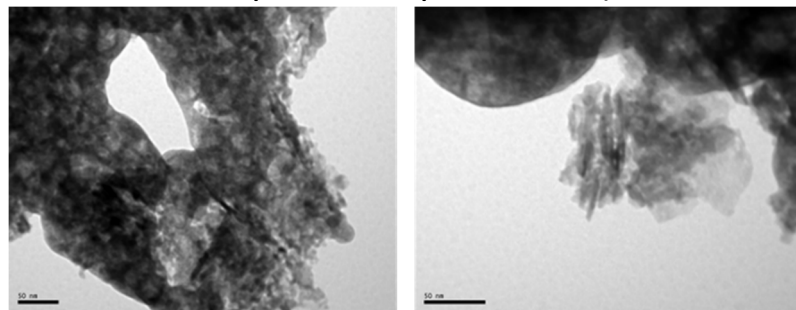
a) Muestra A1 (MPA, 180°, 21 h)



b) Muestra A3 (L-cys, 180°, 21 h)



d) Muestra A5 (MPA, 150°, 21 h)



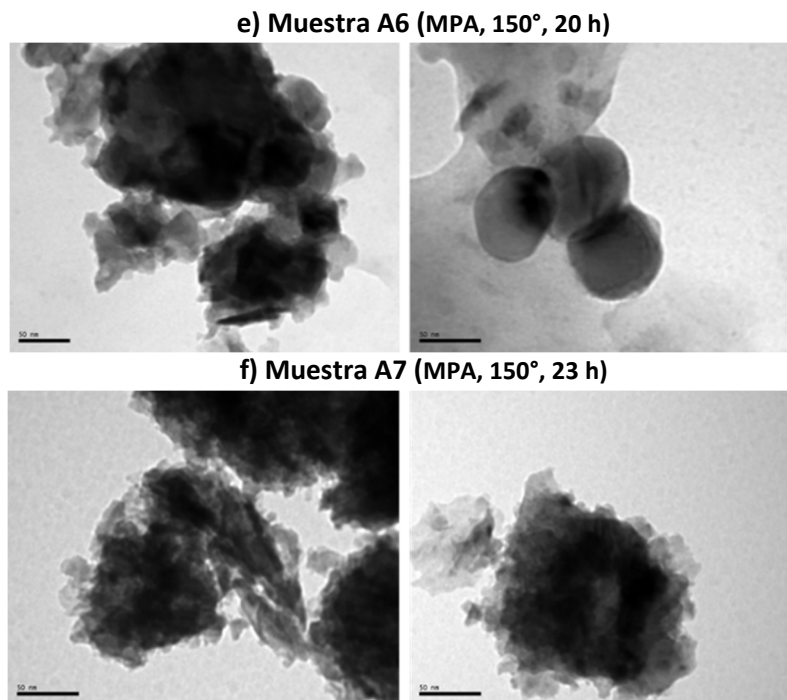


Figura 27: Imágenes tomadas por TEM de las muestras a) A1, b) A3, c) A4, d) A5, e) A6 y f) A7

El **tiempo de reacción** también constituye un parámetro significativo en el crecimiento de este tipo de QDs. Si el tiempo es inadecuado, la cristalinidad de las nanopartículas es pobre; mientras que si es demasiado largo se agregan en conglomerados. No se recomiendan tiempos menores de 20 horas según las fuentes, pero como se observa en la imagen 27 d),e) y f), tanto a 21, 20 y 23 h los agregados aparecen.

De nuevo se aprecia la influencia de la temperatura en los resultados, provocando mayor cristalinidad en las muestras cuya reacción transcurrió a 180° frente a las que transcurrieron a 150°.

El parámetro clave para controlar el crecimiento de los nanocristales coloidales es la presencia de una o más moléculas que actúen como **agentes coordinantes o surfactantes**. Éstos se adsorben de forma dinámica sobre la superficie del QD en crecimiento bajo las condiciones de reacción, y deben ser lo suficientemente móviles como para permitir el acceso de numerosas unidades de monómero y lo suficientemente estables para prevenir la agregación de los nanocristales.

Generalmente una explicación para que se formen agregados es que el enlace del coordinante a la nanopartícula sea demasiado débil.

Sin embargo, al disminuir la temperatura se interrumpe el crecimiento de la nanopartícula y la molécula coordinante se une con más fuerza a la superficie del nanocrystal, con lo que la solubilidad queda determinada en función del disolvente empleado.

Tanto el MPA como la l-cys se incluyen entre los agentes coordinantes más adecuados en cuanto a síntesis de nanopartículas y en este caso actúan en principio regulando la tasa de liberación del Cu^{2+} y el In^{3+} al inicio de la reacción, así como contribuyendo a la estabilización de los QDs.

No se denotan diferencias morfológicas significativas respecto al empleo de uno u otro estabilizador, y su elección está más bien relacionada con la aplicación que se pretende dar a las partículas obtenidas.

Puesto que el problema de la agregación no ha logrado solventarse con ninguno de ellos, puede pensarse en que su enlace a la nanopartícula se haya visto debilitado probablemente por una **defectuosa regulación del pH**.

Aun así, como muestra la figura 27, el tamaño de partícula que puede estimarse a raíz de los resultados arrojados por TEM rondaría los 20-25 nm.

El hecho de que el tamaño sea mucho mayor de lo esperado (6-12nm) puede atribuirse entre otros factores (como los mencionados hasta el momento), al efecto "**Ostwald ripening**"²⁸. Consiste en el engrosamiento que se produce cuando las partículas más pequeñas se sacrifican para el crecimiento de las partículas más grandes (ver Figura 28). Las partículas más pequeñas tienen una gran proporción de superficie respecto al volumen en relación con las partículas más grandes y por tanto una mayor energía superficial.

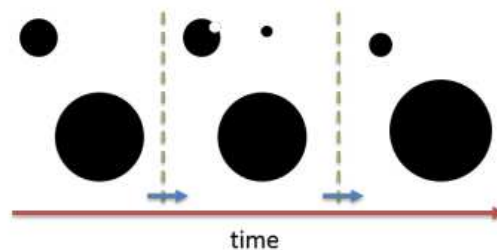


Fig 28. Esquema del efecto de maduración de Ostwald, por el que con el tiempo las partículas más pequeñas se disuelven y las mayores aumentan de tamaño.

Esto suele minimizarse con los mencionados agentes de recubrimiento que pueden tener un profundo efecto en las propiedades del cristal debido a la gran tasa de superficie a volumen. Aunque el recubrimiento puede detener el crecimiento del cristal proporcionando una barrera física para bloquear la infiltración de moléculas adicionales, no significa necesariamente que las partículas resulten más estable en solución ya que es común que las partículas capadas puedan seguir formando agregados. Esto es particularmente importante para los ligandos orgánicos estructuras micelares ordenadas y desordenadas pueden formarse.

²⁸ E. M. Wong, J. E. Bonevich, and P. C. Searson, "Growth Kinetics of Nanocrystalline Particles from Colloidal Suspensions," *J. Phys. Chem. B* 102, 7770–7775 (1998).

²⁹ J. Singh, J. Im, J. E. Whitten, J. W. Soares, and D. M. Steeves, "Encapsulation of zinc oxide nanorods and nanoparticles," *Langmuir* 25, 9947–53 (2009).

4.1.2 Ruta sintética B (hidrotermal)

4.1.2.1 SEM

• Análisis elemental

A continuación se muestran los resultados obtenidos por SEM en cuanto análisis elemental para las muestras B2 y B5, las únicas resultantes de la ruta sintética a partir de polvo de granada:

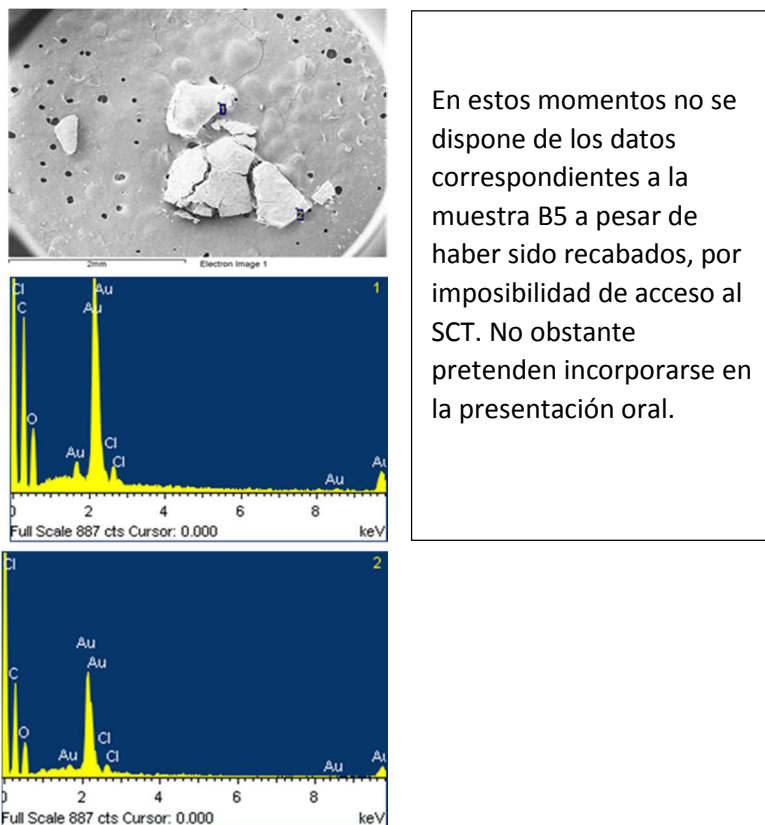


Figura 29: Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) B2 y b) B5

Como se muestra en la tabla 6, no se ha obtenido el resultado esperado, al no existir Cobre, Indio ni Azufre en la muestra B2. En cambio, se obtienen Carbono y Oxígeno como constituyentes de la práctica totalidad de la muestra que podrían atribuirse a restos de materia orgánica quemada; así como una pequeña cantidad de Cloro, que probablemente procede del HCl añadido al final de la síntesis. Para la muestra B5 sí aparece cierta cantidad de Indio pero no Cobre, además de las mismas impurezas que en el caso adyacente, por lo que de nuevo la obtención de CIS QD ha resultado fallida.

Muestra	B2			B5
Espectro	C	O	Cl	
1	64.25	34.59	1.17	No disponible por imposibilidad de acceso a los SCT's.
2	63.64	35.18	1.18	
Media	63.94	34.88	1.18	
Desv Std.	0.43	0.42	0.01	
Max.	64.25	35.18	1.18	
Min	63.64	34.59	1.17	

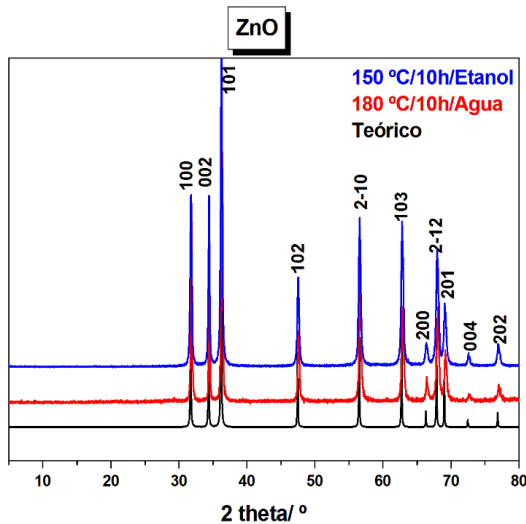
Tabla 6: Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras B2 y B5

Debido al repetido fracaso en cuanto a la obtención de quantum dots de la composición esperada a través de esta ruta, no se realiza el análisis morfológico ni tampoco por microscopía electrónica de transmisión (TEM), ya que el producto recolectado no se corresponde con el esperado.

4.2 ZNO QUANTUM DOTS

4.2.1.1 Difracción de Rayos X

En la figura 30 se muestran los patrones XRD de las muestras obtenidas por síntesis hidrotérmal (agua) y solvotérmal (etanol), que se corresponden en ambos casos con el patrón teórico de ZnO



El espectro típico de difracción de nanopartículas de ZnO muestra tres picos de difracción pronunciados correspondientes a los planos (100), (002), y (101) a 2θ : 31.72° , 34.38° y 36.22° , respectivamente.

La presencia de pequeños picos adicionales (102), (2-10), (103) y (200) confirma que dichas nanopartículas se encuentran en fase estructural cristalina hexagonal de wurzita con grupo espacial P63mc

No se observan picos relativos a la presencia de impurezas.

Figura 30: Patrones XRD de NP's de ZnO obtenidas mediante síntesis hidrotérmal (rojo) y solvotérmal (azul)

El hecho de que los picos sean más intensos en la muestra sintetizada en etanol sugiere una mayor cristalinidad de la fase hexagonal de wurzita para la misma.

Sin embargo, la similar estrechez de los picos de ambas muestras respecto a la teórica para polvo de ZnO sugiere que las partículas obtenidas podrían no estar dentro de la nanoescala, lo que se comprobará mediante microscopía.

4.2.1.2 SEM

- **Análisis elemental**

Muestra E:

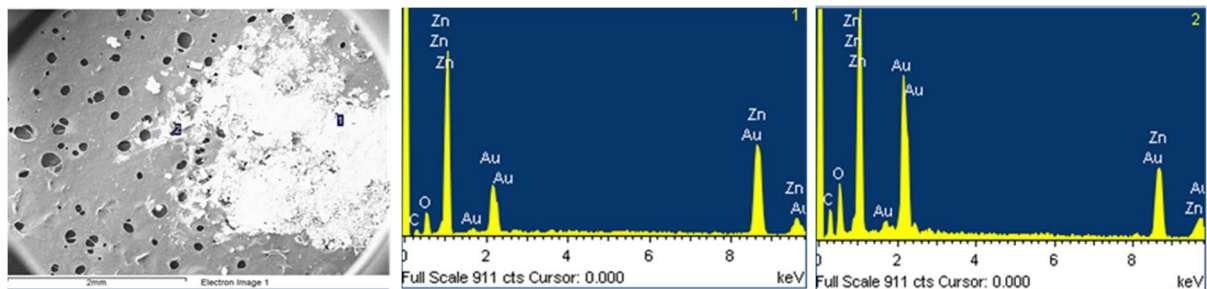


Figura 31: Resultados del análisis elemental por SEM de la muestra E (ZnO)

Muestra	E		
	C	O	Zn
1	14.62	11.37	74.01
2	32.94	23.74	43.33
Media	23.78	17.55	58.67
Desv Std.	12.96	8.74	21.70
Max.	32.94	23.74	74.01
Min	14.62	11.37	43.33

Tabla 7 Resultados del análisis elemental cuantitativo por SEM de la muestra E (ZnO)

Al llevar a cabo el análisis elemental en dos puntos del polvo muestreado, se confirma la presencia de la composición esperada, que resulta en el primero de ellos muy similar a la teórica³⁰ para este tipo de nanopartículas, que implicaría en la estructura de wurzita un 80.25% de Zn y un 19,75% de Oxígeno. La diferencia es ligeramente superior en la composición arrojada para el segundo punto, disminuyendo el contenido en oxígeno y aumentando el de carbono; pero podría explicarse por la escasez de material recubriendo la placa en ese punto del muestreado (ver figura 31, a).

La presencia de carbono en ambos casos (a pesar de ser muy común) podría deberse no obstante a restos de etilenglicol procedentes de la síntesis que no se hubieran eliminado correctamente con el lavado y secado.

También cabe destacar que generalmente la cuantificación de oxígeno mediante este método resulta difícil por la acumulación del mismo en los espacios intersticiales entre nanopartículas.

- **Análisis morfológico**

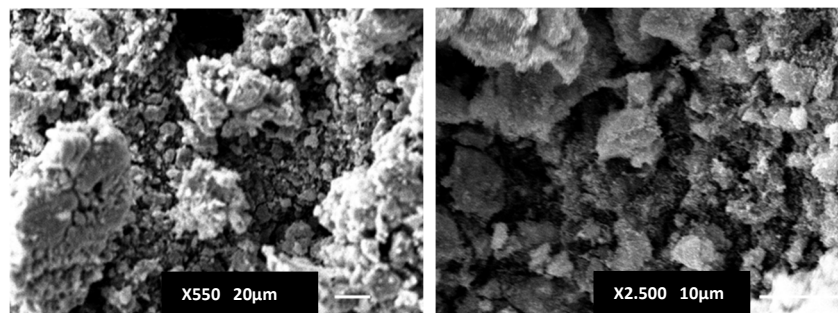


Figura 32: Imágenes tomadas por SEM de la muestra E (ZnO)

Como muestra la figura 32, de nuevo aparece el problema de la agregación, encontrándose partículas aparentemente micrométricas formando parte de estructuras mayores en una agrupación coralina.

Se realiza por tanto un análisis mediante TEM para ver si se consigue hallar un resultado nanométrico.

³⁰ E. Vasile, R. Plugaru, S. Mihaiu, A. Toader, "Study of microstructure and elemental micro-composition of ZnO:Al thin films by scanning and high resolution transmission electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy", *Rom. J. Inf. Sci. Tech.* 2011, 14, 346.

³¹ "Characterization of ZnO and ZnO:Al films deposited by MOCVD on oriented and amorphous substrates" M. E. Fragala, G. Malandrino, *Microelectron. J.* 2009, 40, 381. doi:10.1016/J.MEJO.2008.09.003

4.2.1.3 TEM

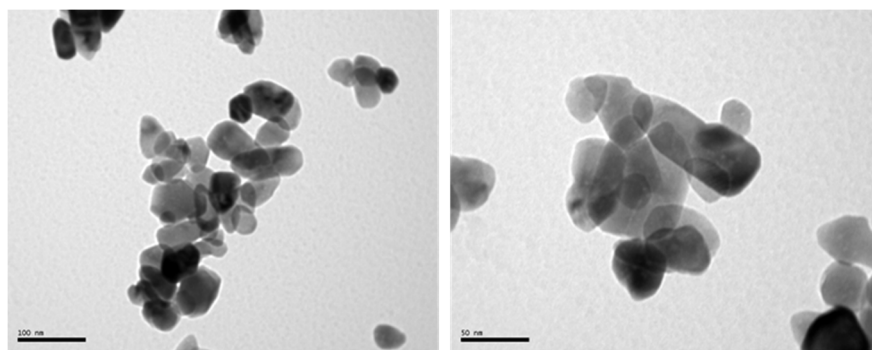


Figura 33: Imágenes tomadas por TEM de la muestra E (ZnO) a distintas ampliaciones, tomando como referencia 100 y 50 nm respectivamente.

Al contrario de lo sugerido por el resultado aparente de SEM, al poder observar las muestras con mayor amplitud y potencia (figura 33), las nanopartículas de ZnO presentan una cierta monodispersión, constando de un tamaño medio menor de 50 nm y con una forma relativamente uniforme.

4.3 ZNS QUANTUM DOTS

4.3.1.1 Difracción de Rayos X

La figura 34 muestra los patrones de las nanopartículas de ZnS obtenidas, así como de las mismas recubiertas con MPA (muestras F1 y F3)

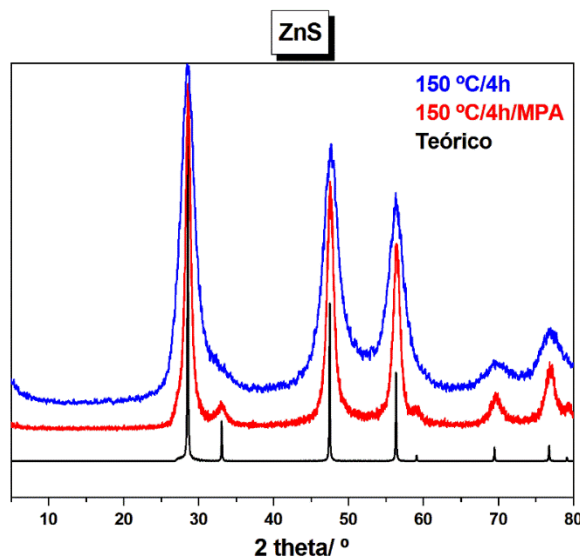


Figura 34: Patrones XRD de NP's de ZnO obtenidas mediante síntesis hidrotermal (rojo) y solvotermal (azul)

En ambos casos los picos de difracción corresponden a los planos cristalinos (111), (220), (311), (400) (331) y (422) de la b-esfalerita ZnS (grupo espacial: F43m (216), JCPDS file: 05-0566). No se han detectado picos atribuibles a impurezas.

Con un tiempo de reacción de 2 horas (muestra F2) el patrón era exacto al obtenido durante cuatro horas, por lo que se ha omitido.

Sin embargo, se aprecia que el recubrimiento con MPA conlleva la aparición de picos mucho más estrechos, que podrían traducirse en un tamaño de partícula mayor.

4.3.1.2 SEM

- Análisis elemental**

La figura 34 a) y b) muestra los resultados del análisis elemental de las muestras, F1 y F2, ambas recubiertas por MPA con tiempos de reacción de 4 y 2 horas respectivamente.

A diferencia del análisis por rayos X donde la fase ZnS aparecía pura en todos los casos, este análisis arroja información sobre contenidos importantes de oxígeno y carbono, que probablemente proceden del ácido mercaptopropiónico que se usa como recubrimiento, aunque no se descarta que pueda tratarse de algún tipo de contaminación en la preparación de las muestras para su caracterización, dado que el contenido en carbono difiere con cierta significación en las distintas zonas del polvo analizado.

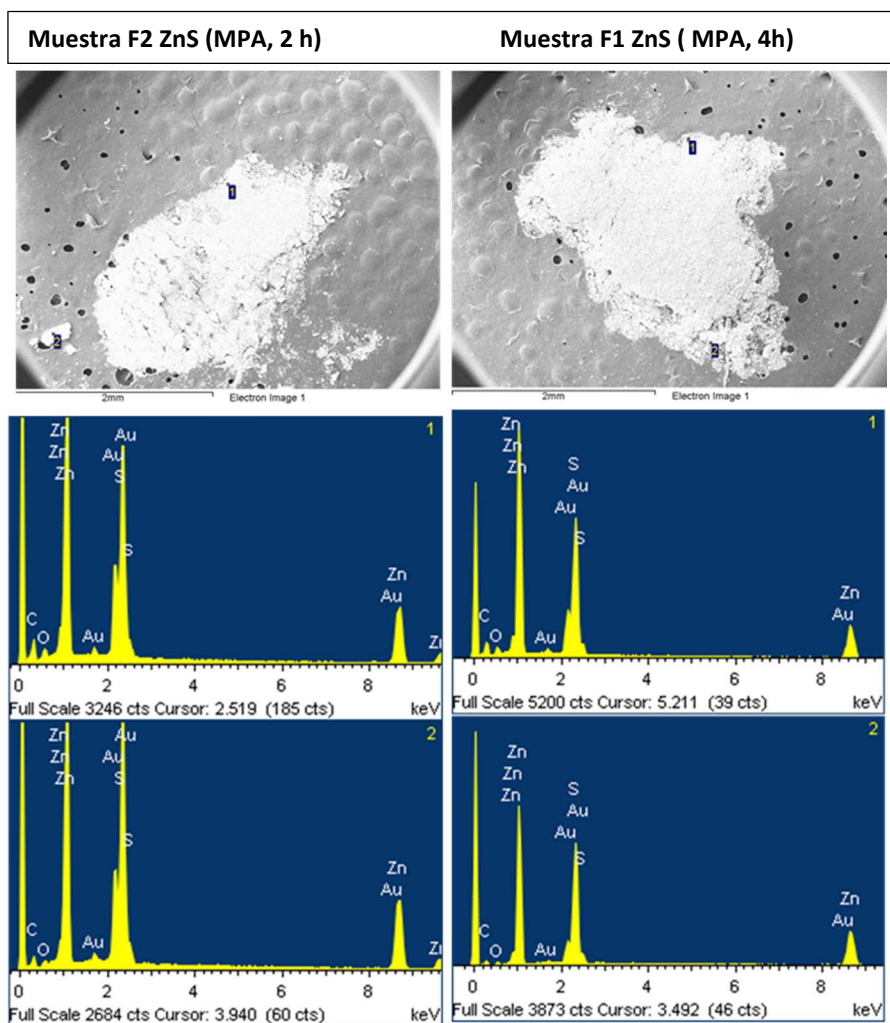


Figura 35: Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras a) F2, b) F1

Muestra	F2				F1			
Espectro	C	O	S	Zn	C	O	S	Zn
1	41.84	5.08	17.83	35.25	43.90	6.66	18.12	31.32
2	30.18	2.85	22.60	44.38	25.04	3.40	24.21	47.35
Media	36.01	3.96	20.22	39.81	34.47	5.03	21.17	39.34
Desv Std.	8.25	1.58	3.37	6.45	13.33	2.31	4.31	11.33
Max.	41.84	5.08	22.60	44.38	43.90	6.66	24.21	47.35
Min	30.18	2.85	17.83	35.25	25.04	3.40	18.12	31.32

Tabla 8: Resultados del análisis elemental por SEM de las muestras F2 y F1

• **Análisis morfológico:**

Las figuras 36 a) y b) ilustran las imágenes tomadas por SEM para las mismas muestras.

Puede apreciarse que al aumentar el tiempo de reacción se favorece la formación de agregados y de cristales desiguales.

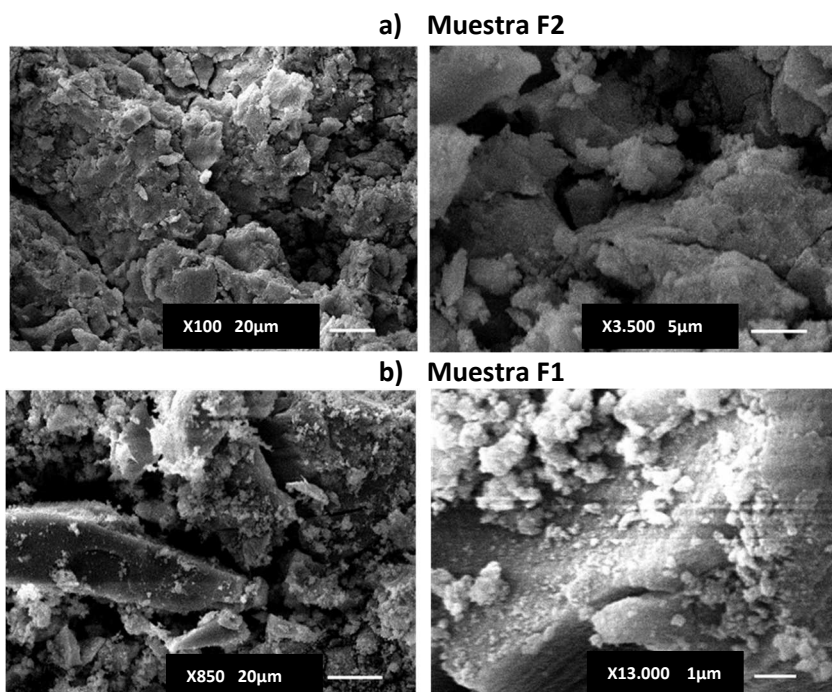


Figura 36: Imágenes tomadas por SEM de las muestras a) F2, b) F1

4.3.1.3 TEM

En la figura 37 se ilustran las imágenes recabadas mediante microscopía TEM de los ZnS Quantum Dots sintetizados:

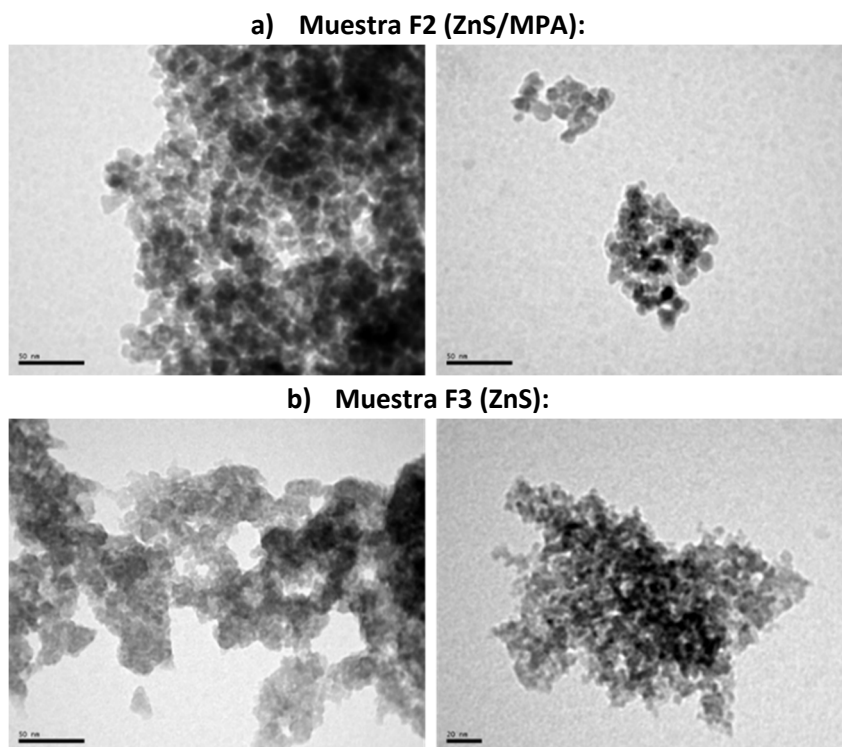


Figura 37: Imágenes tomadas por TEM de las muestras a) F2, b) F3 (referencia= 50nm)

En ella puede verse claramente que el hecho de no recubrir las partículas con MPA favorece que estas se agreguen, a pesar de aparentar tener menos tamaño individualmente que las recubiertas (unos 5 nm en F3 frente a unos 8 nm en F2), lo que corroboraría las conclusiones obtenidas por difracción de rayos X.

En ambos casos se han obtenido por tanto Quantum Dots de tamaño adecuado.

Durante la síntesis se observó también que el recubrimiento con MPA, además de prevenir la agregación, resulta en una buena dispersibilidad en agua de las partículas, que de otro modo forman un precipitado en dicho solvente.

5 CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se extraen del presente trabajo de fin de master pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. A pesar de lo prometedor en cuanto a sus propiedades y aplicaciones, el mayor inconveniente de los Quantum Dots es su potencial toxicidad por estar compuestos en muchos casos de metales pesados y tóxicos. Por tanto, existe un gran interés investigador en la síntesis de quantum dots con baja-nula citotoxicidad de cara a futuras aplicaciones en bioanálisis así como fotovoltaicas. Una de las estrategias que se está investigando actualmente como alternativa al empleo de quantum dots de Cadmio consiste en la búsqueda de nuevos nanomateriales menos tóxicos como los óxidos y sulfuros de Zinc (**ZnS** y **ZnO**) y especialmente los CIS QD (**CuInS₂**). Estos tres tipos han conseguido sintetizarse a través de diferentes rutas en el presente trabajo.
2. En lo respectivo a **CIS QD** (CuInS₂), cuyas perspectivas de aplicación son especialmente interesantes a pesar de ser compuestos de muy reciente exploración, se han investigado tres rutas diferentes de las cuales una de ellas ha tenido éxito. Ésta consiste en una síntesis hidrotermal con prometedoras aplicaciones, a partir de la cual se han obtenido 7 muestras a diferentes temperaturas, tiempos y agentes de recubrimiento (MPA y l-Cys), con cantidades significativas de entre 0.5 y 0.8 mg de polvo que presentan la composición y picos de difracción adecuados a la estructura buscada. Sin embargo, los análisis de caracterización morfológica arrojaron unos resultados poco satisfactorios, con formación de aglomerados en todos los casos y condiciones, donde el tamaño de las nanopartículas (aunque difícil de determinar debido a la agregación) se estimó en unos 20-25 nm frente a la esperada (6-12 nm). Las causas de la agregación y el aumento de tamaño pueden atribuirse a deficiencias en el ajuste del pH, que podría causar una debilitación de la unión del agente estabilizador a la nanopartícula, así como al efecto "Ostwald Ripening".

Las dos síntesis restantes consistieron en una ruta hidrotermal a partir de granada de la cual se obtuvo cierta cantidad de producto para dos muestras de composición errónea (principalmente consistentes en carbono y oxígeno atribuibles a combustión de restos de materia orgánica); Y otra solvotermal con disolvente diésel y recubrimiento por ácido oleico, cuyos 3 precipitados resultantes, a pesar de obtenerse en cantidades suficientes a distintas temperaturas y tiempos, no consiguieron desecarse correctamente para lograr su transformación en polvo (necesaria para las técnicas de caracterización aplicadas), lo que se atribuye a la tendencia a la formación de estructuras micelares de los agentes de recubrimiento hidrocarbonados.

Así se confirma el hecho -señalado por la literatura de referencia- de que preparar QD calcopíricos terciarios de forma monodispersa en disolución con buenas propiedades cristalinas y control de tamaño presenta aún un importante reto^{16,17}, siendo necesario explorar nuevos modelos de síntesis y condiciones.

3. Las Nanopartículas de **ZnO** han sido, a diferencia de las anteriores, ampliamente utilizadas y estudiadas por sus prometedoras aplicaciones ópticas, biológicas y antibacterianas. Mediante dos rutas distintas (solvothermal e hidrothermal) se han sintetizado satisfactoriamente 4 muestras en el presente trabajo, con productos similares de las que se han caracterizado las más representativas, arrojando resultados acordes a la composición y estructura teóricas así como a su tamaño (menor de 50 nm) y forma regular, adecuadas al efecto de cuantización.
4. Los Quantum Dots de sulfuro de Zinc (**ZnS**) también han sido ampliamente investigados y empleados a pesar de que su dispersión y estabilización en agua aun representan cierto desafío. En el presente trabajo se ha conseguido exitosamente su síntesis y dispersión en agua mediante el recubrimiento con ácido mercaptopropiónico, y tres muestras obtenidas con y sin recubrimiento, y a distintos tiempos de reacción fueron recolectadas y caracterizadas con resultados acordes a los teóricos en cuanto a estructura, con ligeros desajustes de composición debido al aporte de carbono y oxígeno del agente de recubrimiento. Éste último agente ha demostrado además provocar la ventaja de obtención de nanopartículas sin apenas agregados, aunque con un tamaño ligeramente superior al de las partículas sin recubrir (85nm vs 8nm).
5. Se ha llevado a cabo un análisis exhaustivo de las diferentes nanopartículas sintetizadas en el presente TFM. Con el fin de controlar y optimizar los procesos de síntesis de las nanopartículas y su posterior caracterización (indispensable para poder ser utilizados en aplicaciones bioanalíticas y ópticas posteriores) se han empleado diferentes técnicas analíticas complementarias.

La información obtenida mediante dichas técnicas permite conocer el rendimiento de la reacción de síntesis de las nanopartículas, la cuantificación composicional y distribución de los elementos (análisis elemental mediante SEM), la morfología, dispersión, agregamiento y tamaño de las partículas obtenidas (análisis morfológico mediante SEM y TEM) así como la estructura, simetría y grupo espacial del nanocrystal (mediante difracción de Rayos X).

Toda esta información resulta de valor esencial para el posterior empleo de dichos nanocrystalos en cuanto a sus múltiples aplicaciones que se encuentran en perspectiva (bioanálisis, antibacterianas, ópticas, eficiencia de células solares, etc.), lo que implica que las nombradas técnicas de las que se ha hecho uso en este trabajo demuestran ser una potente e indispensable herramienta para la caracterización y evaluación de diversos semiconductores nanocrystalinos.

6 BIBLIOGRAFÍA

- **Introducción a la nanotecnología.** Charles P. Poole, Frank J. Owens
- **Física cuántica y realidad.** Carmen Mataix, Andrés Rivadulla
- **Colloidal Quantum Dot Optoelectronics and Photovoltaics.** Gerasimos Konstantatos, Edward H. Sargent (Cambridge)
- **Nanomaterials for Biosensors.** Edited by Challa S. S. R. Kumar. 2007. WILEY-VCH ISBN: 978-3-527-31388-4
- CUEVAS, L., HERRERA, M.I. & SANTA MARÍA, I. (1991). **Métodos de microscopía electrónica de barrido.** In: *Técnicas de inmunocitoquímica en microscopía electrónica.* (Durfort M., Vilaró S., Renau J. & Serratosa J., eds.). pp: 253-267. Barcelona, Universitat de Barcelona.
- -DE HARVEN, E. & SOLIGO, D. (1989). **Backscattered electron imaging of the colloidal gold marker on cell surfaces.** In: *Colloidal Gold.* Principles, methods and applications. (Hayat M.A. ed.). Vol1, pp: 229-249. San Diego, Academic Press.
- JOY, D.C. (1992). **Resolution limit of the SEM.** In: *Electron Microscopy.* EUREM 92 (Megías-Megías L., Rodríguez-Grada M.I., Rios A., & Arias JM). Vol.3. pp: 735-739. Granada, Universidad de Granada.
- Uned.es/cristamine/mineral/metodos/tem.htm
- **In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots,** Gao, X. H., Cui, Y. Y., Levenson, R. M., Chung, L. W. K., Nie, S. M., *Nat. Biotechnol.* 2004, 22, 969–976.
- **Biological applications of colloidal nanocrystals. Nanotechnology. 14: 15-27.** Parak, W.J.; Gerion, D.; Pellegrino, T.; Zanchet, D.; Micheel, C.; Williams, S. C.; Boudreau, R.; LeGros, M.A.; Larabell, C.A. and Alivisatos, A.P. (2003):
- **Water soluble QDs for multiphoton fluorescence imaging in Vivo.** *Science.* 300: 1434-1436.
- **Quantum Dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection.** Chan, W. C. and Nie, S. *Science.* 281: 2016-2018
- **Quantum dots are powerful multipurpose vital labeling agents in zebrafish embryos.** Rieger S, Kulkarni, RP, Darcy D, Fraser SE, Köster RW. *Dev Dyn* 2005;234(3):670-681.
- ¹Chen, N., He, Y., Su, Y., Li, X., Huang, Q., Wang, H., Zhang, X. Tai, Fan, C., 2012. **The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots.** *Biomaterials* 1238–1244.
- ²Su, Y., He, Y., Lu, H., Sai, L., Li, Q., Li, W., Wang, L., Shen, P., Huang, Q., Fan, C., 2009. **The cytotoxicity of cadmium based, aqueous phase-synthesized, quantum dots and its modulation by surface coating.** *Biomaterials* 19–25.
- ³Su, Y., Hu, M., Fan, C., He, Y., Li, Q., Li, W., Wang, L.H., Shen, P., Huang, Q., 2010. **The cytotoxicity of CdTe quantum dots and the relative contributions from released cadmium ions and nanoparticle properties.** *Biomaterials* 4829–4834

- ⁴Kirchner, C., Liedl, T., Kudera, S., Pellegrino, T., Muñoz Javier, A., Gaub, H.E., Stölzle, S., Fertig, N., Parak, W.J., 2005. **Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles**. Nano Letters 5, 331–338
- ⁵Wang, Q., Fang, T., Liu, P., Min, X., Li, X., 2011. **Study of the bioeffects of CdTe quantum dots on Escherichia coli cells**. Journal of Colloid and Interface Science 363, 476–480.
- ⁶Rieger S, Kulkarni, RP, Darcy D, Fraser SE, Köster RW. **Quantum dots are powerful multipurpose vital labeling agents in zebrafish embryos**. Dev Dyn 2005;234(3):670-681.
- ⁷**Synthesis and characterization of quantum dots designed for biomedical use** W. Kuzyniak et al. / International Journal of Pharmaceutics 466 (2014) 382–389
- ⁸Ballou, B; Lagerholm, Bc; Ernst, La; Bruchez, Mp; Waggoner, As (2004). **"Noninvasive imaging of quantum dots in mice"**. Bioconjugate chemistry 15 (1): 79–86.
- ⁹Pelley JL, Daar AS, Saner MA. Toxicol Sci. 2009 Dec;112(2):276-96 (2009). **"State of academic knowledge on toxicity and biological fate of quantum dots"**. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology 112 (2): 276–96.
- ¹⁰Zhou J,LiS,GongX,YangY,GuoY. **Preparation of CuInS₂ microspheres via a facile solution-chemical method**.MaterLett2011;65:2001–3.
- ¹¹Guo F,He J, Li J, Wu W, Hang Y, Jianli H. **Photovoltaic performance of bithiazole- bridged dyes-sensitized solar cells employing semiconducting quantum dot CuInS₂ as barrier layer material**. J Colloid Interf Sci 2013;408:59–65.
- ¹²**Synthesis of Cu-In-S ternary nanocrystals with tunable structure and composition**. Pan, D.; An, L.; Sun, Z.; Hou, W.; Yang, Y.; Yang, Z.; Lu, Y. J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 5620.
- ¹³ **Enhancing the Color Rendering Index for Phosphor-converted White LEDs Using Cadmium-Free CuInS₂/ZnS QDs** Po-Hsiang Chuang,a Chun Che Lin,a Heesun Yangb and Ru-Shi Liua *J. Chin. Chem. Soc.* **2013**, 60, 801-806
- ¹⁴**A kernel support vector machine-based feature selection approach for recognizing Flying Apsaras' streamers in the Dunhuang Grotto Murals, China**. Zhong Chena, Shengwu Xionga, Zhixiang Fangb. Pattern Recognition Letters Volume 49, 1 November 2014, Pages 107–113
- ¹⁵ **One-pot synthesis of ternary CuInS₂ quantum dots with near-infrared fluorescence in aqueous solution** Siyu Liu, Hao Zhang, Yu Qiaob and Xingguang Su*. RSC Adv., 2012, 2, 819–825.
- ¹⁶ **Solution synthesis of high-quality CuInS₂ quantum dots as sensitizers forTiO₂ photoelectrodes** Tzung-Luen Li and Hsisheng Teng* J. Mater. Chem., 2010, 20, 3656–3664.
- ¹⁷ **Size-controlled chalcopyrite CuInS₂ nanocrystals: One-potsynthesis and optical characterization** PENG ShengJie, LIANG YanLiang, CHENG FangYi & LIANG Jing. Sci China Chem July (2012) Vol.55 No.7
- ¹⁸ M. Mousavi-Kamazanietal. **Facile hydrothermal synthesis, formation mechanism and solar cell application of CuInS₂ nanoparticles using novel starting reagents** /Materials Letters 142 (2015)145–149 2014 ElsevierB.V.

- ¹⁹***Evaluative Stability and Cytotoxicity of CuInS₂ Quantum Dots in Caenorhabditis Elegans by X-ray Absorption Near Edge Structure*** Chieh-Wei Chen, Dai-Ying Wu, Ru-Shi Liu and Jyh-Fu Lee
- ²⁰***CuInS₂ quantum dots/ poly(L-glutamic acid)–drug conjugates for drug delivery and cell imaging†*** Xue Gao,^b Ziping Liu,^a Zihan Lina and Xingguang Su^{*a} Analyst, 2014, 139, 831–836
- ²¹***Hydrothermal Synthesis of Hydrated Zinc Oxide Nanoparticles and its Characterization*** †K. SURESH BABU and V. NARAYANAN* Chem Sci Trans., 2013, 2(S1), S33-S36
- ²²***Synergistic Antibacterial Activity of Nanohybrid Materials: Synthesis, Characterization, and Comparative Analysis of Undoped and Doped ZnO Nanoparticles*** Journal compilation CSIRO 2014
- ²³***Biological applications of quantum dots.***T. Jamieson, R. Bakhshi, D. Petrova, R. Pocock, M. Imani, A.M. Seifalian, Biomaterials 28 (2007) 4717–4732.
- ²⁴***One-pot hydrothermal synthesis of water-dispersible ZnS quantum dots modified with mercaptoacetic acid*** C. Liu et al. / Journal of Alloys and Compounds 570 (2013) 23–27
- ²⁵***CuInS₂ quantum dots as a near-infrared fluorescent probe for detecting thrombin in human serum.*** Xue Gao, Xingcen Liu, Zihan Lin, Siyu Liu and Xingguang Su, Analyst, 2012, 137, 5620
- ²⁶***A novel fluorescent nanosensor for detection of heparin and heparinase based on CuInS₂ quantum dots*** Ziping Liu a, QiangMaa, XinyanWang b, ZihanLin a, HaoZhang a, LinlinLiu a, Xingguang Su, Biosensors and Bioelectronics 54 (2014)617–622
- ²⁷***Low-cost and large-scale synthesis of CuInS₂ and CuInS₂/ZnS quantum dots in diesel*** Nguyen Thi Minh Thuy a,^b Tran Thi Kim Chi a,[†] Ung Thi Dieu Thuy a, Nguyen Quang Liem, Optical Materials 37 (2014) 823–827
- ²⁸ E. M. Wong, J. E. Bonevich, and P. C. Searson, "Growth Kinetics of Nanocrystalline Particles from Colloidal Suspensions," J. Phys. Chem. B 102, 7770–7775 (1998).
- ²⁹ J. Singh, J. Im, J. E. Whitten, J. W. Soares, and D. M. Steeves, "Encapsulation of zinc oxide nanorods and nanoparticles," Langmuir 25, 9947–53 (2009).
- ³⁰ E. Vasile, R. Plugaru, S. Mihaiu, A. Toader, "Study of microstructure and elemental micro-composition of ZnO:Al thin films by scanning and high resolution transmission electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy", Rom. J. Inf. Sci. Tech. 2011, 14, 346.
- ³¹ "Characterization of ZnO and ZnO:Al films deposited by MOCVD on oriented and amorphous substrates" M. E. Fragala, G. Malandrino, Microelectron. J. 2009, 40, 381. doi:10.1016/J.MEJO.2008.09.003
- ³²"Influence of Mn²⁺ concentration on Mn²⁺-doped ZnS quantum dot synthesis: evaluation of the structural and photoluminescent properties†" Emma Sotelo-Gonzalez, Laura Roces, Santiago Garcia-Granda, Maria T. Fernandez-Arguelles, Jose M. Costa-Fernandez* and Alfredo Sanz-Medel*.

