



Universidad de Córdoba



Departamento de Química
Analítica

CONTRIBUCIONES METROLÓGICAS A LA NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICA

Tesis Doctoral

Raúl Herrera Basurto

Córdoba, 2016

TITULO: *Contribuciones metroológicas a las nanociencias y nanotecnologías analíticas.*

AUTOR: *Raul Herrera Basurto*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2016
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

**CONTRIBUCIONES METROLÓGICAS A LA NANOCIENCIA Y
NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICA**

LOS DIRECTORES,



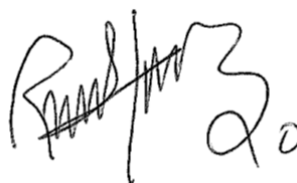
Fdo. **Prof. Miguel Valcárcel Cases**
Catedrático del Departamento
de Química Analítica de la
Universidad de Córdoba



Fdo. **Dra. Ángela I. López Lorente**
Grupo FQM-215 (PAIDI)
Investigadora Postdoctoral Humboldt en la
Universidad de Ulm (Alemania)

*Trabajo presentado para aspirar al
grado de Doctor en Ciencias*

EL DOCTORANDO,



Fdo. **Raúl Herrera Basurto**
Titulado en Ingeniería Metalúrgica

Miguel Valcárcel Cases, Catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba y **Ángela I. López Lorente**, perteneciente al Grupo FQM-215 (PAIDI) y miembro del equipo del proyecto CTQ2014-52939R, actualmente investigadora postdoctoral Humboldt en la Universidad de Ulm, en calidad de directores de la Tesis Doctoral presentada por el ingeniero Raúl Herrera Basurto,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral “CONTRIBUCIONES METROLÓGICAS A LA NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICA” ha sido desarrollada en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba, así como en el Laboratorio de Materiales Nanoestructurados de Cinvestav-Querétaro y el Laboratorio de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), ambos en México; y que, a nuestro juicio, reúne los requisitos mínimos exigidos a este tipo de trabajo.

Y para que conste y surta los efectos pertinentes, expiden el presente certificado en la ciudad de Córdoba, a 23 de Noviembre de 2015.



Miguel Valcárcel Cases



Ángela I. López Lorente



TÍTULO DE LA TESIS: CONTRIBUCIONES METROLÓGICAS A LA NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICAS

DOCTORANDO/A: RAÚL HERRERA BASURTO

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

La temática de la tesis se encuadra en la línea de investigación “Nanociencia y Nanotecnología Analíticas” (N&NA), que es puntera en el grupo FQM-215 de la Junta de Andalucía. Se aborda una temática de gran interés (la Metrología aplicada a la N&NA), pues su objetivo principal es garantizar la calidad de las medidas en el nanomundo, un reto que supone fundamentar las decisiones que se toman en el ámbito de la N&NA.

Tiene el mérito adicional de que ningún miembro del grupo de investigación ha trabajado en la temática de esta tesis, siendo el doctorando, por tanto, el que ha abierto camino en un tema de gran repercusión futura.

En la tesis se han abordado las dos líneas clásicas de la N&NA, es decir, la consideración de las nanopartículas como herramientas analíticas (capítulo 3) y como analitos (capítulo 4). Sus aportaciones más relevantes han sido el diseño de estrategias para la dispersión de nanomateriales de carbono, su caracterización y su empleo como herramientas analíticas.

La realización de la investigación recogida en esta Memoria ha permitido al doctorando adquirir una sólida formación científica adiestrándose en el manejo de una amplia serie de tecnologías analíticas, así como en la gestión de una gran variedad de problemáticas analíticas nanotecnológicas.

La Memoria se presenta en la modalidad clásica, que en el ámbito de las Ciencias Experimentales requiere la publicación de un artículo en una revista de impacto, de acuerdo con la Normativa de los Estudios de Doctorado de la UCO. En este caso, el artículo es: “*Scanning electron microscopy of carbon nanotubes dispersed in ionic liquid: solvent influence study*”, R. Herrera-Basurto, A.I. López-Lorente, M. Valcárcel. *Microchemical Journal (Elsevier)*, 2015, 122, 137-143.

Por todo ello, consideramos que la investigación desarrollada y recogida fielmente en esta Memoria reúne los requisitos científicos necesarios y, por tanto, autorizamos, pues, la presentación de la Tesis Doctoral de Raúl Herrera Basurto.

Córdoba, 16 de noviembre de 2015

Fdo.: Miguel Valcárcel Cases

Ángela I. López-Lorente

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) México, la concesión de una beca para realizar estudios de posgrado en el extranjero que ha hecho posible mi dedicación a este trabajo durante estos años.

A mis directores de Tesis, Prof. Miguel Valcárcel y, especialmente, a la Dra. Ángela López Lorente, gracias por su tiempo y conocimientos, también gracias por su complicidad al tenerme la confianza y paciencia que me permitieron abordar la tesis en este grupo de investigación donde entre muchas otras cosas he entiendo que la Química es Todo.

A mis compañeros del grupo y amigos gracias por todo.

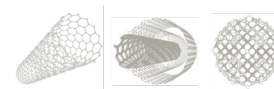
A mi familia por el gran apoyo y solidaridad. Esta Tesis también es de ustedes. Gracias.

Todo conocimiento tiene por sí mismo algún valor, no hay nada tan pequeño e insignificante que yo no prefiera conocer a ignorar.

Benjamin Jonson

Con cariño para: Flora, Mary Fer, Ana Pau, Raúl Emilio

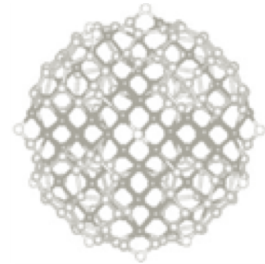
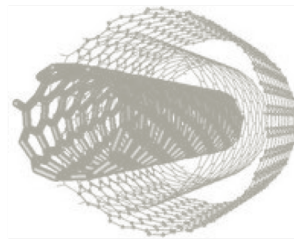
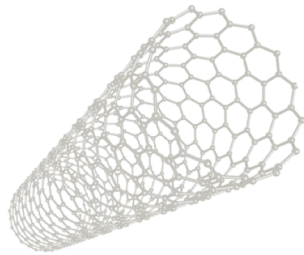
ÍNDICE



OBJETO	1
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	7
1.1. Nanociencia y nanotecnología analítica (N&NA).....	9
1.1.1. Introducción a la Nanociencia y Nanotecnología	
1.1.2. Facetas de los nanomateriales en N&NA	
1.2. Las nanoestructuras de carbono en N&NA.....	36
1.2.1. Nanotubos de carbono	
1.2.2. Nanodiamantes	
1.3. Nanometrología.....	53
CAPÍTULO 2. HERRAMIENTAS ANALÍTICAS	71
CAPÍTULO 3. LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO COMO HERAMIENTAS EN N&NA	83
3.1. Empleo de nanodiamantes oxidados como fase pseudoestacionaria en la separación electroforética de nitroimidazoles	91
CAPÍTULO 4. LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO COMO OBJETOS DE MEDIDA EN N&NA	109
4.1. Caracterización de dispersiones de nanotubos de carbono mediante dispersión de luz dinámica (DLS)	113
4.2. Microscopía de barrido electrónico de nanotubos de carbono dispersos en líquidos iónicos: estudio de la influencia del disolvente	131

4.3. Caracterización y estudios de estabilidad de suspensiones acuosas de nanotubos de carbono monocapa y multicapa	151
4.4. Preparación y caracterización de dispersiones acuosas de nanodiamantes	177
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	201
5.1. Estrategias para la dispersión de nanomateriales de carbono	205
5.2. Caracterización de nanomateriales de carbono	215
5.3. Nanoestructuras de carbono como herramientas analíticas	234
CONCLUSIONES	239
AUTOEVALUACIÓN CIENTÍFICA	247
ANEXOS	253

OBJETO



La metrología es la ciencia de las mediciones; se puede decir que es tan antigua como la humanidad. Al revisar su desarrollo la encontramos como parte esencial en la solución de los grandes problemas que han acechado a cada sociedad en su momento. Lo anterior, también señala que el progreso de la ciencia siempre ha estado íntimamente ligado a los avances de la capacidad de medición. La metrología, a menudo ignorada por la opinión pública, es una creación de la sociedad industrializada y afecta a todos los aspectos de la vida.

Los avances en las ciencias pilares tales como matemáticas, física, química o biología impacta en la metrología, debido a su carácter de ciencia transversal. De manera recíproca cualquier adelanto en la metrología influye en las ciencias pilares.

Las nanociencias y nanotecnologías (NyN) no escapan de este patrón continuo de desarrollo. Consideradas como emergentes, las NyN suponen una gran cantidad de nuevos retos en cuestiones de medida. La ciencia de la medida en la escala nanométrica es llamada nanometrología, y ésta deberá proporcionar las herramientas adecuadas para encontrar soluciones idóneas a los nuevos retos y requerimientos que surgen desde las NyN.

Las nanociencias y nanotecnologías analíticas (NyNA) son, sin duda, un sobresaliente aliado para los avances de la nanometrología y viceversa, ya que ambas tienen puntos convergentes en sus características y objetivos. Los nanomateriales con sus dos facetas como herramientas

analíticas o como objetos de análisis, son esenciales para el desarrollo de la nanometrología.

Por lo anterior, esta Tesis Doctoral tiene como principal objetivo el contribuir al desarrollo de la nanometrología, mediante la preparación y caracterización de suspensiones con diferentes nanopartículas de carbono que puedan ser candidatos a materiales de referencia; además del desarrollo de nuevas metodologías que permitan mejorar los métodos analíticos, evaluando el potencial analítico de los nanomateriales como herramientas de medida.

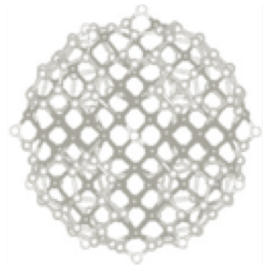
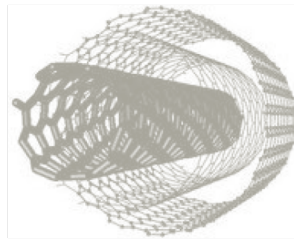
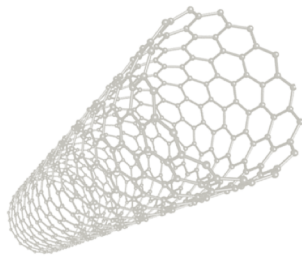
Con este marco se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- a) Revisar el estado actual de la nanometrología para la identificación de los retos actuales y futuros de las medidas en la nanoescala.
- b) Evaluar el uso de distintos disolventes (disolventes orgánicos, tensioactivos, líquidos iónicos) para la preparación de suspensiones estables de nanomateriales de carbono, así como el desarrollo de metodologías que permitan la caracterización y determinación del tamaño, distribución de tamaño de partícula, dispersidad y estabilidad de la suspensión.
- c) Innovar las metodologías de la preparación de muestra para la caracterización morfológica de nanotubos de carbono por microscopía electrónica.

- d) Evaluar el potencial de los nanodiamantes como herramientas analíticas para ciencias de la separación, en concreto en electroforesis capilar acoplada con espectrometría de masas.
- e) Evaluar la capacidad actual de las técnicas de medición (microscopía electrónica, dispersión dinámica de luz, nefelometría y Raman) para la determinación de tamaño y distribuciones de tamaño de nanopartículas con formas irregulares en medios acuosos.

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN



1.1. NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICA (N&NA)

1.1.1. INTRODUCCIÓN A LA NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA

La nanociencia y nanotecnología es un campo del conocimiento multidisciplinar en el cual la química analítica está fuertemente implicada convirtiéndose en una de las áreas de investigación más importantes e innovadoras ejerciendo un papel clave para el desarrollo y explotación de las ventajas que nos ofrece el nanomundo. Las nuevas aplicaciones que se esperan de la nanotecnología necesitan de herramientas y estrategias analíticas adecuadas para la correcta caracterización de nanopartículas y nanoestructuras. Asimismo, la utilización de estos nanomateriales puede beneficiar y mejorar el conocimiento adquirido llegando a resolver problemas que no tenían solución en ámbitos tan importantes como la biomedicina, el desarrollo de fármacos, nuevos materiales para las energías alternativas, la remediación del medioambiente o la industria agroalimentaria, entre otros.

1.1.1.1. Orígenes de la nanociencia y nanotecnología

El prefijo nano proviene del griego y significa ‘enano’, en ciencia y tecnología quiere decir 10^{-9} (0,000000001). Un nanómetro (nm) es una milmillonésima parte de un metro, es decir, decenas de miles de veces más pequeño que el diámetro de un cabello humano¹. En la figura 1, se pueden observar ejemplos

¹ BMRB International Ltd., Nanotechnology: Views of the General Public, Report, London, UK, 2004, www.nanotec.org.uk, (consultado Octubre 2015).

de productos en la escala nanométrica, la cual se define comúnmente como el intervalo de 1 a 100 nm. Los productos presentes en la figura pueden tener un origen natural o ser fabricados por el ser humano.

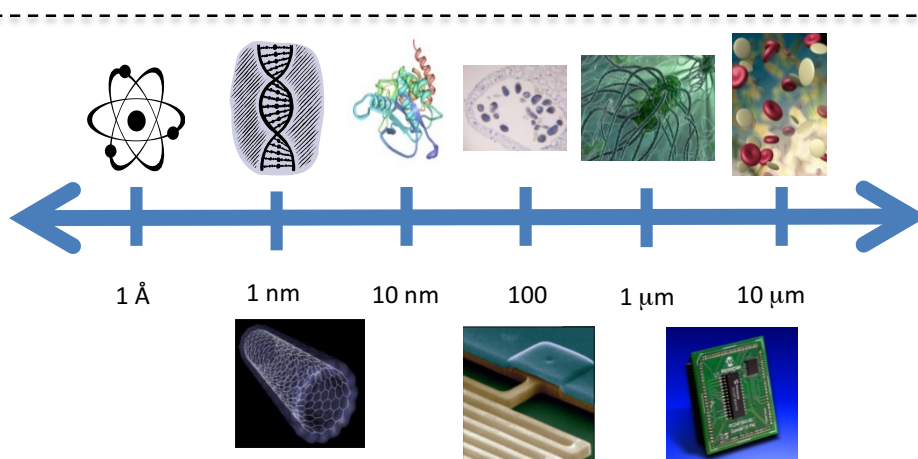


Figura 1. Ejemplos de elementos que se encuentran en la escala nanométrica.

En esta escala nanométrica se encuentran, por ejemplo, las nanopartículas metálicas o de sus óxidos, los puntos cuánticos, nanopartículas de carbono y los dendrímeros. En el ámbito biológico, se encuentran en esta escala la mayoría de los virus y proteínas, siendo de tamaño micrométrico las células y la mayoría de las bacterias.

En la publicación *Nanotecnología la revolución del siglo XXI*² se hace una breve descripción de los acontecimientos que han marcado el desarrollo de la Nanotecnología, a continuación se indican algunos de ellos.

En diciembre de 1959, Richard Feynman, en la conferencia que presentó en American Physical Society titulada “There’s Plenty of Room at the Bottom”³,

² Fundación de la Innovación Bankinter, 2006, <https://www.fundacionbankinter.org/>, (consultado Octubre 2015).

³ R. Feynman, (1959), www.its.caltech.edu/~feynman/plenty.html, (consultado Octubre 2015).

pronóstico los beneficios para la sociedad con la manipulación de átomos y moléculas para la fabricación de artefactos e instrumentos.

Después, en 1974, Norio Taniguchi fue el primero en usar el término nanotecnología⁴, para diferenciar entre las tecnologías de la escala micro (10^{-6}) y la “nueva tecnología” en la escala nano (10^{-9}). Tras la publicación del famoso libro “Engines of Creation”⁵, publicado en 1986 por Eric Drexler, este término se volvió muy popular.

En 1981 Binnig y Rohrer trabajando para IBM lograron crear un instrumento llamado “microscopio de barrido de efecto túnel” (STM)⁶ que permitía captar una imagen de la estructura atómica de la materia, siendo una de las mayores aportaciones para el desarrollo de la nanotecnología. Con el paso de los años y siguiendo las investigaciones sobre la misma línea estos investigadores desarrollaron el denominado microscopio de fuerza atómica⁷, que permite examinar y ver átomos de forma individual.

Por otro lado, un grupo de investigadores de la Universidad de Rice describió por primera vez la estructura de una molécula de carbono con forma de balón de fútbol (fullerene o buckyball). Esta estructura es capaz de conducir la electricidad y el calor, además de ser más dura que el acero y, a la vez, más ligera que el plástico.

En los años noventa tuvo lugar el descubrimiento accidental de los nanotubos de carbono. Éstos tienen propiedades similares a los fullerenos en cuanto a su extrema dureza, en combinación con un peso muy ligero. En la sección 1.2.1

⁴ Taniguchi, Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering, (1974).

⁵ K. E. Drexler, “Engines of Creation”, Anchor Books, 1986.

⁶ F. Ohnesorge, G. Binnig, Science, 260 (1993) 1451.

⁷ H. W. Kroto, R. F. Curl, J. R. Heath, S. O'Brien, R. E. Smalley, Nature, 318 (1985) 164.

de la introducción de esta Tesis se encuentra más información sobre estas nanoestructuras de carbono.

Actualmente se encuentran en el mercado más de 3000 productos de consumo con nanomateriales o nanoprodutos, lo que demuestra las grandes inversiones que se han realizado en estos sectores. Se estima que cada vez un mayor número de productos nanotecnológicos se incorporen a varios aspectos de la vida diaria⁸. En la figura 2, se presentan ejemplos de productos que se comercializan y que incorporan nanomateriales, como por ejemplo equipamiento deportivo, pasta dental, cosméticos, desodorantes, textiles, etc.



Figura 2. Ejemplos de productos de consumo que contienen nanomateriales.

1.1.1.2. Definiciones

La nanociencia y nanotecnología son nuevas áreas de investigación y desarrollo cuyo objetivo es el control tanto del comportamiento como de la estructura fundamental de la materia a escala atómica y molecular.

⁸ The Royal Society and The Royal Academy of Engineering, London, UK, 2004, www.nanotec.org.uk, (consultado Octubre 2015)

La **nanociencia** se puede definir⁹ como “*el conjunto de conocimientos y metodologías dirigidos a fabricar, estudiar y caracterizar estructuras funcionales dentro del rango de los nanómetros*”. Esto incluye el análisis de propiedades químicas, estructurales, mecánicas, eléctricas, ópticas o magnéticas, el estudio de las interacciones con otras nanoestructuras, su interacción con ondas electromagnéticas, etc. La nanociencia tiene su campo de acción más intenso cuando se explotan las características excepcionales de la nanomateria, mientras que la nanotecnología tiene una proyección más transversal.

En el informe de la Comisión Europea titulado “Hacia una estrategia europea para las nanotecnologías”¹⁰ se recoge la siguiente definición: “La **nanotecnología** es una ciencia multidisciplinar que se refiere a las actividades científicas y tecnológicas llevadas a cabo a escala atómica y molecular, así como a los principios científicos y a las nuevas propiedades que pueden ser comprendidos y controlados cuando se interviene a dicha escala”.

1.1.1.3. Clasificación de los nanomateriales

De acuerdo a la norma técnica de la “International Standards Organization” ISO/TC 80004-1 de 2010 “Vocabulary Core terms”¹¹, los nanomateriales pueden clasificarse como nano-objetos o como materiales nanoestructurados. Los nano-objetos son aquellos donde cualquiera de sus dimensiones externas cae dentro de la escala nanométrica, mientras que los nanoestructurados son aquellos donde su superficie o estructura interna se encuentra en la nanoescala (figura 3).

⁹ Véase http://ec.europa.eu/nanotechnology/pdf/nano_com_es.pdf, (consultado Septiembre 2015)

¹⁰ ISO TS 80004-1:2010 Nanotechnologies – Vocabulary – Part 1: Core terms.

¹¹ CEN ISO TS 27687:2009 Nanotechnologies – Terminology and definitions for nanoparticles.

La clasificación de las nanopartículas se puede realizar de acuerdo con alguna de sus características. Si se usa como criterio el tamaño, las nanopartículas se pueden clasificar en 3D. También podemos usar como criterio la naturaleza de las nanopartículas y clasificarlas como metálicas, óxidos u orgánicas. Existen clasificaciones con propiedades específicas como las electrónicas, de esta forma se pueden agrupar como: conductoras, semiconductoras o aislantes.

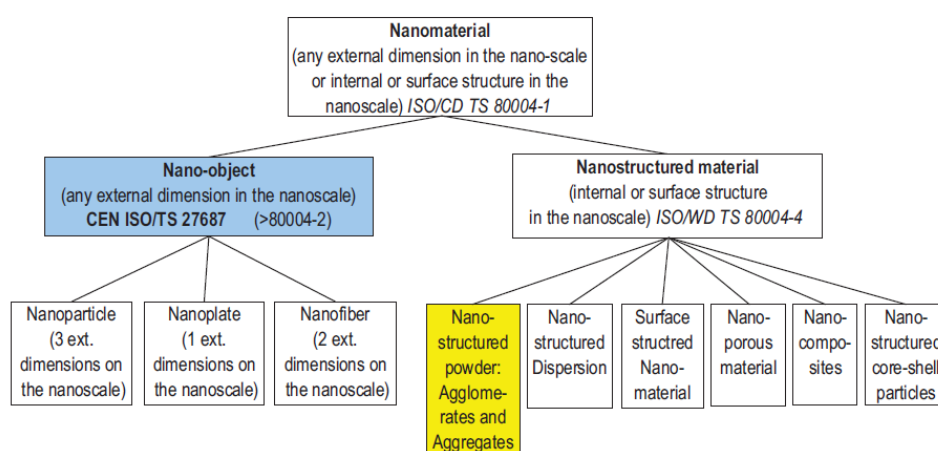


Figura 3. Definición y clasificación de Nanomaterial¹¹

1.1.1.4. Propiedades de los nanomateriales

En la escala nanométrica, las leyes clásicas de la física dejan paso a la física cuántica, que regula con diferentes leyes los comportamientos ópticos, eléctricos y magnéticos de los materiales¹². En la base misma de la nanociencia está el concepto de que la materia presenta nuevas propiedades si reducimos su tamaño, por debajo de una cierta longitud crítica¹³. El confinamiento electrónico produce la aparición de un conjunto nuevo de estados cuánticos discretos,

¹² T. Miller, A. Samsavar, G. E. Franklin, T. Chiang, Phys. Rev. Lett, 61 (1988) 1404.

¹³ M. Schlierkamp, R. Wille, K. Greipel, U. Rossler, W. Schlapp, G. Weimann, Phys. Rev. B Condens. Matter, 40 (1989) 3077-3080.

llamados estados de pozo cuántico, cuya ocupación secuencial por los electrones resulta en que muchas propiedades físicas oscilen con el tamaño del objeto¹⁴. Esto es lo que se conoce como efectos de tamaño cuántico¹⁵.

La estructura electrónica de un material depende de su tamaño y estructura cristalina¹⁶. Dado que la reactividad química depende de la estructura electrónica, la reactividad de una nanopartícula será, por tanto, función de su tamaño y estructura cristalina^{17,18}.

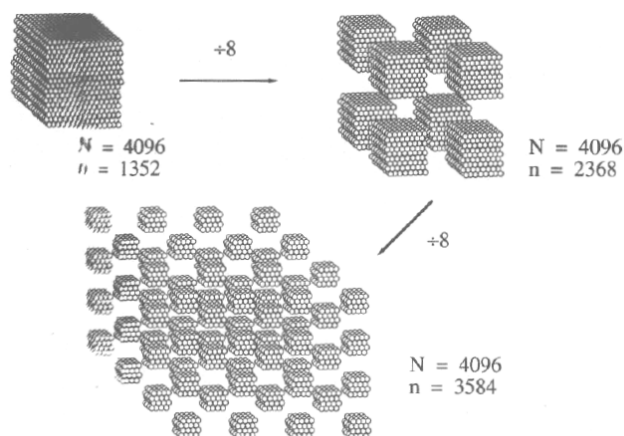


Figura 4. Esquema que representa la relación volumen/área en función de la disminución del tamaño de la partícula, el número de átomos superficiales es una fracción mayor del total de átomos, el volumen se mantiene constante pero el área cambia¹⁹.

¹⁴ D. M. Edwards, J. Mathon, R. B. Muniz, Phys. Rev. B Condens. Matter, 50 (1994) 16066-16069.

¹⁵ P. Segovia, E. G. Michel, J. E. Ortega, Phys. Rev. Lett, 77 (1996) 3455-3458.

¹⁶ L. Aballe, A. Barinov, A. Locatelli, S. Heun, M. Kiskinova, Phys. Rev. Lett, 93 (2004) 196103.

¹⁷ R. Otero, F. Calleja, V. M. García-Suárez, J. J. Hinarejos, J. De la Figuera, J. Ferrer, R. Miranda, Surface Sci, 550 (2004) 65.

¹⁸ G. Cheng, A. R. Hight Walker, Anal. Bioanal. Chem, 396 (2010) 1057-1069..

¹⁹ G. Cao, Nanotechnology. Nanosciences and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. Imperial College Press. 2004.

Otro aspecto a destacar es el incremento de la relación superficie/volumen. Las nanopartículas tienen una superficie específica muy grande, en donde los átomos superficiales son normalmente muy reactivos²⁰. Esta característica es una de las causas de muchas de las interesantes y, en ocasiones, inesperadas propiedades de las nanopartículas. Al disminuir el tamaño de la nanopartícula, el porcentaje de átomos en la superficie llega a ser significativo en relación con el número de átomos en el interior. La relación entre el número de átomos superficiales y el tamaño de la partícula es de tipo exponencial, como se observa en la Figura 4. A medida que disminuye el tamaño de la partícula, el área superficial por unidad de masa aumenta, lo que se traduce en un mayor número de átomos en la superficie.

1.1.1.5. Impactos en la salud y el medio ambiente

Las propiedades de los nanomateriales explotadas para ciertas aplicaciones - como alta reactividad superficial y la capacidad de atravesar las membranas celulares- están causando preocupación por los posibles efectos negativos para la salud y el impacto ambiental²¹. La mayoría de las preocupaciones se refieren a los impactos potenciales de las nanopartículas que no están fijadas o embebidas en o dentro de un material²². Sin embargo, existe la posibilidad de que nanomateriales embebidos puedan liberarse durante su ciclo de vida y generar nuevas fuentes de riesgo.

El impacto potencial de las nanopartículas sobre el medio ambiente y los seres vivos es un tema de amplia discusión. Se han descrito muchos estudios sobre el posible efecto de los nanomateriales en diversos campos, tales como

²⁰ M. A. Duncan, D. H. Rouvray, *Scientific American*, 261 (1989) 110-115.

²¹ The Royal Society and The Royal Academy of Engineering, London, UK, 2004, www.nanotec.org.uk, (consultado Octubre 2015).

²² R. J. Aitken, K. S. Creely, C. L. Tran, HSE Research Report 274, London: HSE Books. 2004.

agroalimentario²³, en su aplicación como agentes antimicrobianos^{24, 25}, en aplicaciones de eliminación de contaminantes^{26, 27}, uso clínico²⁸, etc. Estudios de ecotoxicología²⁹ señalan claramente que las NPs tienen un impacto sobre el medio ambiente, ya sea intencionado o no.

Por otro lado, se ha descrito que el entorno afecta las propiedades físico-químicas de los NPs, existiendo una interacción entre la superficie de las NPs y su entorno local, que afecta a las propiedades físico-químicas de ambos, como, por ejemplo, carga eléctrica e hidrofobicidad³⁰. Parak y colaboradores han realizado recientemente una revisión sobre el efecto del entorno local en las propiedades de las NPs y viceversa³¹.

En cuanto al impacto sobre los seres vivos, es probable que las nanopartículas penetren en las células más fácilmente que las partículas más grandes^{32, 33}. El creciente uso de nanomateriales en diferentes productos manufacturados hacen que dichos nanomateriales puedan entrar en contacto con los seres humanos. Además, algunos nanomateriales pueden ser inhalados en ciertos lugares de trabajo, debiendo tomarse medidas para minimizar la exposición. Se ha descrito que los nanotubos de carbono pueden tener propiedades tóxicas similares a las

²³ E. Corradini, M. R. de Moura, L. H. C. Mattoso, *Express. Polymer Lett*, 4 (2010) 509–515.

²⁴ I. Perelshtein, E. Ruderman, N. Perkas, T. Tzanov, J. Beddow, E. Joyce, A. Gedanken, *J. Mater. Chem. B*, 1 (2013) 1968–1976.

²⁵ S. Chernousova, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52 (2013) 1636–1653.

²⁶ Q. Zhu, F. Tao, Q. Pan, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2 (2010) 3141–3146.

²⁷ I. Ojea-Jimenez, X. Lopez, J. Arbiol, V. Puentes, *ACS Nano*, 6 (2012) 2253–2260.

²⁸ R. R. Arvizo, S. Bhattacharyya, R. A. Kudgus, K. Giri, R. Bhattacharya, P. Mukherjee, *Chem. Soc. Rev.*, 41 (2012) 2943–2970.

²⁹ R. D. Handy, R. Owen, E. Valsami-Jones, *Ecotoxicology*, 17 (2008) 315–325.

³⁰ P. Rivera Gil, D. Jimenez De Aberasturi, V. Wulf, B. Pelaz, P. Del Pino, Y. Zhao, W. J. Parak, *Acc. Chem. Res.*, 46 (2013) 743–749.

³¹ W. J. Parak, X. Jiang, S. Weise, M. Hafner, C. Röcker, F. Zhang, G.U. Nienhaus, *J. R. Soc. Interface*, 11 (2014) 20130931.

³² B. D. Chithrani, A. A. Ghazan, W. C. Chan, *Nano Lett.*, 6 (2006) 662–668.

³³ E. C. Cho, L. Au, Q. Zhang, Y. Xia, *Small*, 6 (2010) 517–522.

fibras de asbesto³⁴, aunque estudios preliminares sugieren que éstos no se liberan en el aire como fibras individuales³⁵. Sin embargo, aún existe controversia y los estudios realizados sobre toxicidad de diferentes nanomateriales son contradictorios. En cualquier caso, la posible toxicidad de los nanomateriales dependerá de su tamaño y de las características de la superficie de los mismos, en este sentido, se recurre comúnmente al recubrimiento de los mismos o a la búsqueda de materiales biocompatibles para el posible uso de nanomateriales en aplicaciones en nanomedicina.

1.1.1.6. Impactos sociales y éticos

Si es difícil de predecir la dirección futura de las nanociencias y las nanotecnologías y el calendario sobre el cual se producirán acontecimientos particulares, es incluso más difícil predecir lo que activará las preocupaciones sociales y éticas^{36, 37}. A corto y mediano plazo se espera que las preocupaciones se concentren en dos cuestiones básicas: ¿qué controles se usarán en las nanotecnologías? y ¿quién se beneficiará de los usos de las nanotecnologías?. Estas preguntas no son exclusivas para las nanotecnologías pero experiencias anteriores con otras tecnologías demuestra que deben abordarse³⁸.

La percepción de oportunidades y amenazas de las nanotecnologías se derivan de sus mismas características³⁹. Por ejemplo, la convergencia entre las nanotecnologías y la tecnología de la información puede tener un impacto

³⁴ M. Pacurari, V. Castranova, V. Vallyathan, *Toxicol. Environ. Health A*, 73 (2010) 378–395.

³⁵ A. Bianco, K. Kostarelos, M. Prato, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 9 (2005) 674–679.

³⁶ Economic & Social Research Council. *The Social and Economic Challenges of Nanotechnology*, United Kingdom. 2003.

³⁷ ETC Group. *Down on the Farm: The Impact of Nano-Scale Technologies on Food and Agriculture*. November. 2004.

³⁸ A. Mnyusiwalla, A. S. Daar, P. A. Singer, *Nanotechnology*, 14 (3) (2003) R9.

³⁹ Nanoforum. *Fourth Nanoforum Report: Benefits, Risks, Ethical, Legal and Social Aspects of Nanotechnology*. Second Edition, disponible en: <http://www.nanoforum.org>, (consultado Septiembre 2015).

positivo -podrían ser utilizadas para lograr mayor seguridad personal y asistencia sanitaria individualizada, y permitir a las empresas seguir y supervisar sus productos- o negativo –si son utilizadas para vigilancia encubierta o para la recolección y distribución de la información sin el consentimiento adecuado. En el contexto militar, también, las nanotecnologías son potenciales para defensa y ofensa y por lo tanto aumentarán una serie de cuestiones sociales y éticas⁴⁰.

1.1.2. FACETAS DE LOS NANOMATERIALES EN NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICA

En el ámbito de la nanociencia y nanotecnología analítica (N&NA) las dos facetas clásicas de los nanomateriales son:

- (i) Nanomateriales como herramientas en química analítica
- (ii) Nanomateriales como objetos de medida (analitos)

Recientemente, se ha descrito una tercera faceta en la que los nanomateriales están implicados de forma simultánea en una mismo proceso analítico como herramientas para la determinación/caracterización de otro nanomateriales de igual o diferente naturaleza⁴¹. En esta faceta se engloba, por ejemplo, el uso de nanopartículas de oro y plata como sustratos en espectroscopia Raman amplificada en superficie para la determinación de otros nanomateriales (por ejemplo, nanotubos de carbono) o el desarrollo de sensores basados en nanopartículas fluorescentes –puntos cuánticos de grafeno o de carbono- para la determinación de otras nanopartículas.

⁴⁰ E. Chaparro, Red Científica Ciencia, Tecnología y Pensamiento, disponible en <http://www.redcientifica.com/doc/doc200112220001.ht>, (consultado Septiembre 2015)

⁴¹ A. I. López-Lorente, M. Valcárcel, Trends Anal. Chem, (2015) DOI: 10.1016/j.trac.2015.06.011

Los procesos de medida analíticos que emplean nanomateriales pueden aprovechar sus propiedades excepcionales y el tamaño de los mismos nanomateriales. En este sentido, los sistemas analíticos basados en nanociencia y nanotecnología pueden clasificarse en tres tipos⁴²:

I. **Sistemas analíticos nanotecnológicos**, que explotan las excelentes propiedades físico-químicas de los nanomateriales.

II. **Sistemas analíticos nanométricos**, que se basan exclusivamente en el nanotamaño de los dispositivos involucrados.

III. **Nanosistemas analíticos**, que exploran tanto el tamaño como las propiedades del nanomundo.

Los sistemas analíticos nanotecnológicos se basan en las propiedades excepcionales de los nanomateriales, aunque el sistema de medida puede estar en otra escala mayor; por ejemplo, los microsistemas electro-mecánicos (MEMS) o nanosistemas electro-mecánicos (NEMS), sensores, electrodos. En estos sistemas sólo el elemento de reconocimiento presenta tamaño nanométrico. También hay herramientas nanotecnológicas que aprovechan las características morfológicas (tamaño, distribución de tamaño, estructura superficial y forma) de los nanomateriales, entre ellos podemos mencionar elementos como: membranas, fases estacionarias, pseudofases, o nanomateriales que se usan en la preparación de muestras, como en la etapa de preconcentración.

Los sistemas analíticos nanométricos se basan exclusivamente en el nanotamaño de los dispositivos involucrados, por ejemplo sistemas de cromatografía en nano-chip que explotan las ventajas de trabajar con flujos de nanolitros, o la nanopipeta. Los nanosistemas analíticos serían la situación ideal, integrando los dos tipos de sistemas. Ejemplos de estos últimos son nanotubos

⁴² M. Valcárcel, B. M. Simonet, Anal. Bioanal. Chem, 399 (2011) 1-2.

de carbono individuales usados como electrodo o el denominado “lab-on-a-particle”.

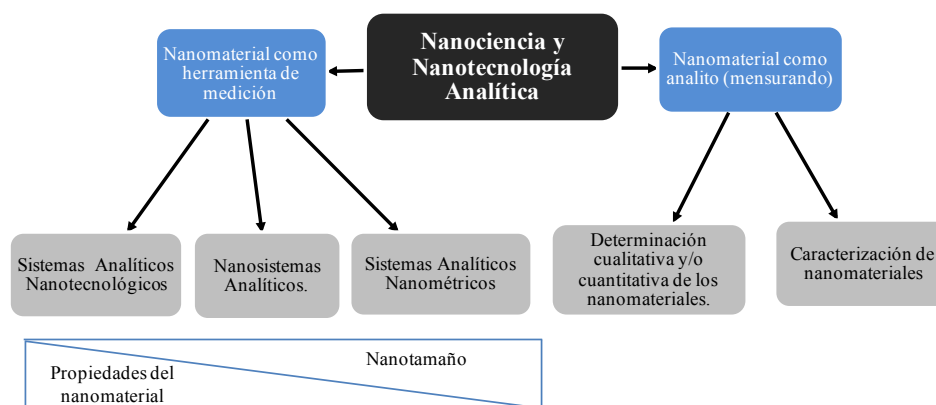


Figura 5. Clasificación de dos facetas clásicas de la N&NA.

En la figura 5 se representa esquemáticamente el panorama general de las nanociencias y nanotecnologías analíticas. Se observa la doble función de los nanomateriales. En la parte de la izquierda, se visualizan los sistemas encaminados a mejorar las propiedades de los procesos analíticos mediante el empleo de nanomateriales.

Por otro lado, como puede verse en la parte derecha de la figura 5, los nanomateriales pueden ser considerados el objeto de medida. El primer problema consiste en definir que propiedad se desea medir, en general las propiedades físicas de los nanomateriales se relacionan directamente con su morfología y tamaño, mientras que las propiedades químicas (por ejemplo, reactividad, quiralidad, cristalinidad) surgen de la estructura electrónica y/o superficie de los nanomateriales.

La manera más simple de caracterizar a los nanomateriales es con la determinación de su tamaño. Sin embargo, una caracterización del nanomaterial

más completa es un reto complejo, principalmente, por la falta de métodos y técnicas analíticas fiables en dicha escala. Esta necesidad intrínseca hace más evidente el desarrollo de la Nanometrología, la cual, sin duda tendrá una amplia y sólida aportación de la Química Analítica.

1.1.2.1. Nanomateriales como herramientas de medida en Química Analítica.

Como ya se ha mencionado anteriormente, los sistemas analíticos que emplean nanomateriales pueden clasificarse en función de que exploten el nanotamaño o las propiedades excepcionales del nanomundo. A continuación se muestran con más detalles algunos ejemplos.

Los sistemas analíticos que aprovechan el tamaño nanométrico tienen tendencia hacia la miniaturización. Aprovechan el hecho de que algunas de sus características técnicas tienen tamaño o flujo nanométricos, algunos autores no lo incluyen dentro del ámbito de la nanotecnología.

Ejemplos de estos sistemas son los siguientes:

(a) Nanofluido empleado en técnicas de separación (cromatografía⁴³ o electroforesis⁴⁴).

(b) Nanopipeta, el proceso se basa en las fuerzas de electromigración, creadas a altas densidades de corriente de electrones, es frecuente en los nanotubos de carbono, lo que permite el transporte de material dentro de las cavidades de este tipo de nanomaterial⁴⁵.

⁴³ E. Nägele, M. Vollmer, P. Hörth, J. Chromatogr. A, 1009 (2003) 197-205.

⁴⁴ M. A. Rodríguez, D. W. Armstrong. J. Chromatogr. B, 800.1 (2004) 7-25.

⁴⁵ K. Svensson, H. Olin, E. Olsson, Phys. Rev. Lett, 93.14 (2004)145901.

(c) Nanogotas, ofrecen nuevas rutas para bioanálisis y, de hecho, son atractivas para los sistemas convencionales debido a su tamaño pequeño, alta relación superficie-a-volumen y otras propiedades⁴⁶.

Por otro lado, los sistemas analíticos nanotecnológicos explotan plenamente las propiedades excepcionales del material nanométrico (nanopartículas y material nanoestructurado) con fines analíticos. Las nanopartículas más ampliamente utilizadas en la química analítica son, entre otras: (a) nanopartículas de sílice (b) nanopartículas metálicas, como puntos cuánticos, nanopartículas de oro y plata, (c) las nanopartículas de carbono (fullerenos, nanotubos de carbono, y más recientemente el grafeno y sus derivados así como los puntos de carbono), (d) nanopartículas orgánicas de polímero o (e) agregados supramoleculares (nanomicelas, nanovesículas). Las propiedades de las nanopartículas exploradas puede ser eléctricas, ópticas, térmicas, magnéticas o químicas. Es común que dos o más propiedades se exploten al mismo tiempo.

El último caso, el de los nanosistemas analíticos, explotan el tamaño y las propiedades excepcionales de los nanomateriales, se trata de la situación ideal que comprende a los dos sistemas anteriores. Una aproximación es la tecnología lab-on-chip⁴⁷, como los sistemas de electroforesis basados en tecnología on-a-chip, que han sido muy exitosos en las tecnologías para proteómica y genómica. Además, estos sistemas pueden integrarse totalmente, tienen la virtud de poder ser desmontables (portátiles), de tamaños pequeños lo que facilita que se usen como aparatos de monitoreo on-site. Otras ventajas de esta tecnología es que experimenta nuevas características de los fluidos en la escala micro o nano,

⁴⁶ S. Singh, J. Zack, D. Kumar, S. K. Srivastava, D. Saluja, M. A. Khan, P. K. Singh, *Solid Films*, 519 (3) (2010) 1151-1155.

⁴⁷ L. G. Carrascosa, M. Moreno, M. Álvarez, L. M. Lechuga, *TrAC Trends Anal. Chem*, 25(3) (2006) 196-206.

entre ellas, distancias de difusión cortas, alta relación en la interface volumen-área y baja capacidad calorífica⁴⁸.

Empleo de nanomateriales en los procesos de medida químicos

El desarrollo y avance de los nanomateriales impacta en los procesos de medida química y bioquímica principalmente en las siguientes etapas: (i) preparación de muestra, incluyendo las etapas de preconcentración, (ii) separaciones analíticas, y (iii) detección.

(i) Preparación de la muestra

Se ha observado un beneficio al incorporar nanomateriales en la preparación de la muestra, ya que en general ayuda a simplificarla e incrementa la efectividad⁴⁹. El uso de nanomateriales en los procedimientos de preparación para limpiar y preconcentrar los analitos de la muestra es un tema de creciente interés en química analítica. Las propiedades de los nanomateriales han sido explotadas extensivamente en diferentes técnicas de separación y enriquecimiento (por ejemplo, extracción fase sólida, microextracción y filtración). Los nanomateriales pueden utilizarse como partículas individuales, agregados o polvos o dispersos en una matriz.

Por ejemplo, los materiales sorbentes convencionales para extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida han sido reemplazados por nanomateriales. Las nanopartículas, según su participación y su papel en el tratamiento muestra pueden clasificarse como sigue⁵⁰: a) nanopartículas actuando como agentes adsorbentes, donde tiene lugar la interacción directa

⁴⁸ M. Mirasoli, M. Guardigli, E. Michelini, A. Roda, J. Pharm. Biomed. Anal, 87 (2014) 36-52.

⁴⁹ K. Scida, P. W. Stege, G. Haby, G. A. Messina, C. D. García, Crit. Rev. Anal. Chem, 691(1) (2011) 6-17.

⁵⁰ R. Lucena, B. M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, J. Chromatogr. A, 1218 (2011) 620-637.

entre el analito y la nanopartícula; b) nanopartículas actuando como un soporte inerte, como una nanopartícula de sílice funcionalizado con un agente de complejación; c) nanopartículas con propiedades magnéticas, que pueden ser funcionalizadas con grupos orgánicos, el uso de un campo magnético pueden simplificar el procedimiento analítico; d) nanopartículas actuando como agente de ionización para el análisis directo de muestras por espectrometría de masas de ion secundario.

Los nanomateriales y las nanoestructuras de carbono son muy atractivas por su singular configuración electrónica π - π , también las nanopartículas de óxidos metálicos en virtud de su alta área superficial. En este sentido, los nanotubos de carbono han sido ampliamente utilizados como adsorbentes para extracción en fase sólida⁵¹. Los nanotubos tienden a formar agregados en cierta medida, su inclusión como una aplicación de nanociencia requiere evitar la agregación y enriquecer las interacciones entre los analitos y nanopartículas aisladas⁵². Nanopartículas de carbono cónicas⁵³ así como nanocuernos de pared simple (SWNHs)⁵⁴ se han utilizado también en microextracción en fase sólida. Además de extracción en fase sólida, las nanopartículas se han utilizado en otros tratamientos de muestra como la filtración de membrana, por ejemplo con las membranas compuestas o modificado por los nanotubos de carbono⁵⁵.

Las nanopartículas de oro han presentado gran afinidad hacia los compuestos hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y otros contaminantes para la

⁵¹ B. Suárez, B. M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A*, 1159 (2007) 203- 207.

⁵² M. Valcárcel, S. Cárdenas, B. M. Simonet, Y. Moliner-Martínez, R. Lucena, *Trends Anal. Chem*, 27 (2008) 34-43.

⁵³ J. M. Jiménez-Soto, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A*, 1216 (2009) 5626-5633.

⁵⁴ J. M. Jiménez-Soto, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, 714 (2012) 76-81.

⁵⁵ A. I. López-Lorente, B. M. Simonet, M. Valcárcel, *Anal. Chem*, 82 (2010) 5399-5407.

extracción y enriquecimiento en muestras de agua⁵⁶. Por otro lado, nanoestructuras de oro han exhibido gran afinidad a especies disueltas de mercurio (Hg^{2+} , MeHg). El procedimiento propuesto ofrece ventajas significativas sobre los métodos existentes porque no son necesarios reactivos para la preparación de la muestra⁵⁷. Las nanopartículas de plata embebidas en matrices poliméricas han mostrado una alta capacidad de adsorción para uranio en muestras de agua de mar o activas⁵⁸.

Óxidos metálicos han mostrado alta absorción (debido a su tamaño, forma y defectos en la superficie) para iones tóxicos⁵⁹ y contaminantes orgánicos en muestras complejas ambientales⁶⁰.

(ii) Separaciones analíticas

Los nanomateriales se han utilizado en la etapa de separación como fases estacionarias en cromatografía de gases⁶¹ y de líquidos⁶², también se han empleado en electrocromatografía y como pseudofases estacionarias en cromatografía electrocinética. Como fases estacionarias y recubrimientos dinámicos novedales, las NPs incrementan el rendimiento de la separación con respecto a la resolución, la selectividad y eficiencia. Exhiben una relación área respecto al volumen superficial grande, que es ideal para los efectos de la transferencia de masa en cromatografía⁶³.

⁵⁶ H. Wang, A. D. Campiglia, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 8202.

⁵⁷ A. Zierhut, K. Leopold, L. Harward, P. Worsfold, M. Schuster, *J. Anal. At. Spectrom.*, 24 (2009) 767.

⁵⁸ S. Das, A. K. Pandey, A. A. Athawale, M. Subramanian, T. K. Seshagiri, P. K. Khanna, V.K. Manchanada, *J. Hazard. Mater.*, 186 (2011) 2051.

⁵⁹ H. Eskandari, M. R. Shariati, *Anal. Chim. Acta*, 704 (2011) 146.

⁶⁰ Q. Cheng, F. Qu, N. B. Li, H. Q. Luo, *Anal. Chim. Acta*, 715 (2012) 113.

⁶¹ T. Yamaguchi, Y. Azuma, K. Okuyama, *Part Part Syst Charact.*, 23 (2006) 188–192.

⁶² A.K. Brewer, A. M. Striegel, *Anal Bioanal Chem.*, 393 (2009) 295–302.

⁶³ C. Nilsson, S. Birnbaum, S. Nilsson, *J. Chromatogr. A*, 1168 (2007) 212.

Asimismo, las nanopartículas han encontrado un extenso uso en electroforesis capilar (CE), electrocromatografía capilar (CEC), CEC tubular y CE microchip⁶⁴. Varias nanopartículas han sido empleadas como pseudofase estacionaria en electroforesis capilar, por ejemplo, fullerenos⁶⁵ o grafeno⁶⁶. Una nueva modalidad electroforética designada como cromatografía electrocinética de dispersión de nanopartículas micelares (MiNDEKC) ha sido desarrollada demostrando su eficacia en la separación de compuestos aromáticos⁶⁷ o quirales⁶⁸.

(iii) Detección

El uso de micropartículas sintéticas en bioanálisis se originó a los mediados de los años 50, con la invención de las pruebas de aglutinación de látex por Singer et al.⁶⁹. En ellas se emplean suspensiones de micropartículas de látex (diámetro $\sim 1 \mu\text{m}$) que son químicamente derivatizadas con un anticuerpo específico. El analito es un antígeno para este anticuerpo y este enlace analito - antígeno une a más de una molécula de anticuerpo.

Las partículas con dimensiones nanoscópicas también se han utilizado por ejemplo en test de embarazo Carter-Wallace "First Response", utilizando partículas de látex de tamaño micrométrico convencionales junto con nanopartículas de oro (menores de 50 nm de diámetro). Las micro y nanopartículas son derivatizadas con los anticuerpos para la gonadotropina coriónica humana, una hormona liberada por las mujeres embarazadas.

⁶⁴ Y. Wang, J. Ouyang, W. R. Baeyens, J. R. Delanghe, *Expert review of proteomics*, 4(2) (2007) 287-298.

⁶⁵ Y. Moliner-Martínez, M. Barrios, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A*, 1194 (2008) 128-133.

⁶⁶ S. Benítez-Martínez, B. M. Simonet, M. Valcárcel, *Electrophoresis*, 34 (2013) 2561-2567.

⁶⁷ B. Suárez, B. M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis*, 28 (2007) 1714-1722.

⁶⁸ Y. Moliner-Martínez, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis*, 28 (2007) 2573-2579.

⁶⁹ S. Jacques, C. M. Plotz, *Am. J. Medicine*, (1956) 888-892.

Las propiedades de los nanomateriales han propiciado el desarrollo de biosensores electroquímicos⁷⁰. Las biomoléculas son estabilizadas con nanopartículas, que aumentan las superficies activas y facilitan la transferencia de electrones. Los nanotubos de carbono y nanopartículas de oro son los tipos de nanopartículas más ampliamente utilizados para el desarrollo de este tipo de sensores^{71, 72}. Los sensores basados en nanotubos de carbono pueden utilizarse para detectar cambios en sus propiedades electrónicas resultantes de la absorción de moléculas en su superficie. La combinación de nanopartículas de oro y nanotubos de carbono también se ha empleado para mejorar algunas propiedades electrocatalítica de electrodos⁷³.

Además, el desarrollo de los nanosensores se ha visto impulsado por las excepcionales propiedades ópticas de las nanopartículas metálicas, derivadas de su plasmón de resonancia superficial, así como las propiedades fluorescentes en el caso de las nanopartículas semiconductoras (quantum dots)⁷⁴, puntos de carbono (CDs)⁷⁵, y quantum dots de grafeno⁷⁶.

1.1.2.2. Nanomateriales como objeto de medida en Química Analítica

Los nanomateriales manufacturados o naturales necesitan caracterizarse de forma fiable, ya que muchas de las aplicaciones varían según las propiedades específicas de los nanomateriales, que dependen de factores como el tamaño,

⁷⁰ X. Ge, A. M. Asiri, D. Du, W. Wen, S. Wang, Y. Lin, *TrAC Trends in Anal Chem*, 58 (2014) 31-39.

⁷¹ E. J. Parra, F. X. Rius, P. Blondeau, *Analyst*, 138 (2013) 2698-2703.

⁷² G. A. Zelada-Guillén, A. Tweed-Kent, M. Niemann, H. U. Göringer, J. Riu, F. X. Rius, *Biosens. Bioelectron*, 41 (2013) 366-371.

⁷³ J. Manso, M. L. Mena, P. Yáñez-Sedeño, J. Pingarrón, *J. Electroanal. Chem*, 603 (2007) 1.

⁷⁴ L. Wang, W. Ma, L. Xu, W. Chen, Y. Zhu, C. Xu, N.A. Kotov, *Mater. Sci. Eng. R*, 70 (2010) 265-274.

⁷⁵ L. Cao, X. Wang, M. J. Meziani, F. Lu, H. Wang, P. G. Luo, Y. Lin, B. A. Harruff, L. M. Veca, D. Murray, S. Y. Xie, Y. P. Sun, *J. Am. Chem. Soc*, 129 (2007) 11318-11319

⁷⁶ S. Benítez-Martínez, A. I. López-Lorente, M. Valcárcel, *Anal. Chem*, 86 (2014) 12279-12284.

composición, propiedades eléctricas o quiralidad. Por otro lado, existe preocupación por conocer los impactos en la salud y medio ambiente del uso de nanomateriales, por lo que el desarrollo de métodos para la determinación de nanomateriales en distintas matrices (ambientales, biológicas, agroalimentarias, etc.) es uno de las prioridades actuales en N&NA.

En la figura 6 se representan los parámetros a determinar para una completa caracterización de los nanomateriales, que son producto de sus características físicas, químicas y biológicas.

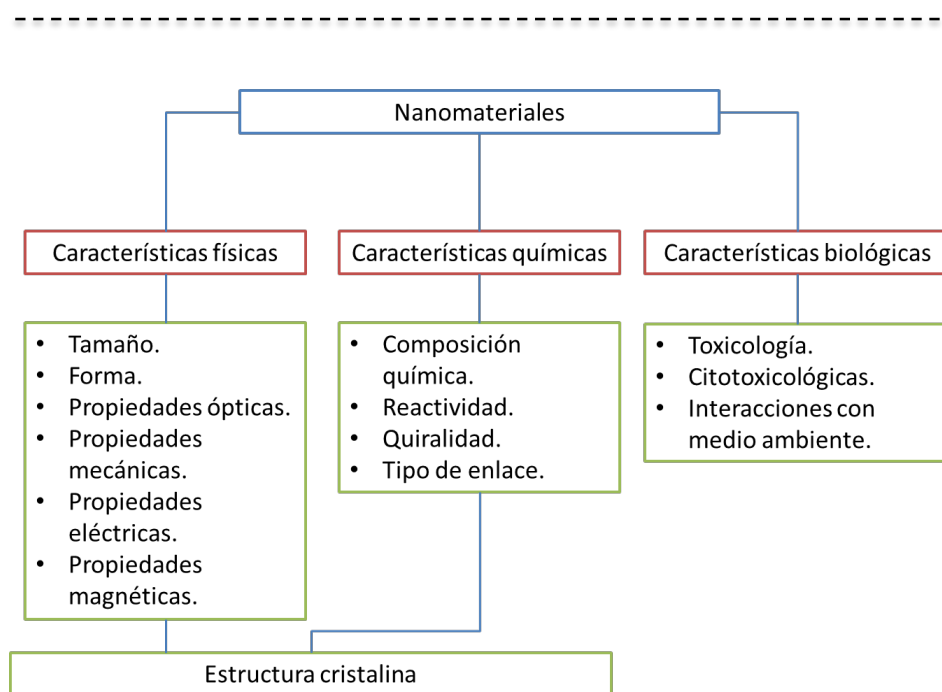


Figura 6. Esquema de las propiedades de los nanomateriales

La distribución de tamaño de partícula de una muestra se considera una característica básica, con este mínimo de información se puede distinguir una muestra de otra aún siendo del mismo material. Además, la distribución de tamaño de partícula puede utilizarse como un parámetro de control de calidad.

Otras magnitudes relevantes a determinar de los nanomateriales son el tamaño, forma y química de la superficie. Sin embargo, esta lista puede incrementarse, ya que hay nanomateriales que necesitan ser caracterizados en una propiedad específica o de interés^{77, 78}.

Entre las características a determinar para la caracterización de un nanomaterial cabe destacar las siguientes:

- (a) Morfología (topología/geometría): área y longitud características en proyecciones 2D, tales como diámetro de Feret, área de Legendre, partícula primaria; parámetros que describen los agregados/aglomerados; y parámetros de forma, como esfericidad, relación de aspecto, fractal.
- (b) Propiedades relacionadas con el tamaño basadas en la hidrodinámica o en la interacción con medios externos: coeficiente de difusión, diámetro hidrodinámico, velocidad de sedimentación, diámetro de Stokes, diámetro aerodinámico.
- (c) Área superficial de la fase dispersada: vía adsorción de gases, dispersión de rayos X en ángulos pequeños, experimentos de titulación con surfactantes, polielectrolitos, etc.
- (d) Composición química y fases: cristalinidad (fracción amorfa y cristalina), fracción de diferentes fases cristalográficas.
- (e) Concentración de partículas: masa, superficie, número, concentración.
- (f) Propiedades interfaciales (las cuales dependen de si el nanomaterial se encuentra en disolvente polar, no polar o gas): carga superficial,

⁷⁷M. Hassellöv, J. W. Readman, J. F. Ranville, K. Tiede, *Ecotoxicology*,17(5) (2008) 344-361.

⁷⁸V. Stone, B. Nowack, A. Baun, N. van den Brink, F. von der Kammer, M. Dusinska, T. F. Fernandes, *Sci. Total Environ*, 408 (7) (2010) 1745-1754.

potencial zeta, conductividad superficial, punto de carga cero y punto isoeléctrico.

(g) Interacción con solventes: solubilidad y cinética de disolución, potencial de especies radicales oxidativas (ROS), hidrofobicidad.

La tabla 1 resume alguna de las características a determinar para la caracterización de nanomateriales así como las técnicas más comúnmente empleadas para ello.

En cuanto al tamaño de nanopartícula, los métodos disponibles que permiten determinarlo pueden clasificarse como métodos de conteo o individuales, métodos de conjunto y métodos de fraccionamiento⁷⁹.

Los *métodos de conteo o individuales* estudian las partículas de modo individualizado. Incluyen las técnicas microscópicas, como las microscopías electrónicas y la microscopía de fuerza atómica (ATM) e híbridas como espectroscopia Raman acoplada a un microscopio de fuerza atómica o microscopio óptico de campo cercano (AFM-Raman-SNOM). La principal limitación es tener que analizar un número suficiente de nanopartículas para que el análisis sea representativo de la muestra. Además, existe la subjetividad al decidir qué parte analizar, así como limitaciones en la preparación de la muestra y durante el análisis, que puede conducir a la modificación, por ejemplo, del estado de agregación de la muestra.

⁷⁹ T. Linsiger, G. Roebben, D. Gilliland, L. Calzolari, F. Rossi, N. Gibson, C. Klein, Reference Report by the Joint Research centre of the European Comission. 2012, doi:10.2787/63490.

Tabla 1. Características de los nanomateriales y ejemplos de técnicas empleadas para su medida.

Características	Técnicas
Tamaño (diámetro)	Microscopía electrónica, Microscopia de sonda
	Dispersión de Luz dinámica (DLS), nefelometría
	FFF, SEC, HDC
Volumen	Fraccionamiento de flujo de campo (FFF)
Area	Microscopía electrónica, Microscopia de sonda
Carga superficial	Potencial Z
	Electroforesis
Estructura cristalina	Microscopia electrónica con técnica de SAED
	Difracción de rayos X
Composición química elemental	ICP -OES
	ICP-MS
	Microsonda (SEM o TEM con EDS o EDX)
	FFF-MS
Composición química molecular	UV-vis
	Espectroscopias IR y Raman
	Resonancia magnética nuclear
Estado de agregación	DLS
	Microscopías electrónicas y de sonda

Los *métodos de conjunto* miden un gran número de partículas simultáneamente, como por ejemplo la dispersión de luz dinámica (DLS) o la dispersión de rayos X de bajo ángulo (SAXS). Obtener una distribución de tamaños fiable es posible sólo para partículas esféricas monodispersas y cuando se tiene suficiente información sobre la forma de la nanopartícula. Otros métodos de conjunto, como la difracción de rayos X, sólo proporcionan un valor medio de tamaño sin información sobre la distribución de tamaños de la muestra.

Por último, los *métodos de fraccionamiento* como la sedimentación líquida centrífuga (CLS), el fraccionamiento de flujo de campo (FFF), la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) o la cromatografía hidrodinámica (HDC) separan la muestra en fracciones monodispersas previa a la cuantificación de las nanopartículas. De este modo se evitan problemas de polidispersidad de las muestras. Algunas estas técnicas se acoplan con los métodos individuales o de conjunto para obtener las medidas de tamaño.

Una gran variedad de técnicas analíticas se han utilizado para la caracterización de las diferentes características analíticas que podrían clasificarse generalmente como técnicas microscópicas, espectroscópicas y de separación.

Entre las *técnicas microscópicas* encontramos las microscopías electrónicas –de transmisión (TEM) y TEM de alta resolución y la de barrido (SEM)- y las microscopías de sonda, como la microscopía de fuerza atómica (AFM) y el microscopio de efecto túnel (STM). Cuando se combinan con métodos analíticos como espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDX) o espectroscopia de pérdida de energía de electrones (EELS) puede obtenerse información sobre la composición elemental, mientras que acoplamientos con difracción de electrones de área selectiva (SAED) proporciona información sobre las propiedades cristalinas⁸⁰. Otras técnicas microscópicas que se han

⁸⁰ D. Mavrocordatos W. Pronk, M. Boller, Water Sci Technol, 50 (2004) 9.

empleado son la microscopía de rayos X (XRM) o la microscopía óptica de barrido de campo cercano (NSOM).

En cuanto a las *técnicas espectroscópicas* y relacionadas, cabe destacar los métodos luminiscentes en el caso de nanomateriales con propiedades de emisión de luz, como los puntos cuánticos semiconductores, de carbono o grafeno⁸¹. En el caso de nanopartículas metálicas que poseen el plasmón de resonancia superficial, la espectroscopia UV-vis es muy útil para la caracterización de las mismas. Por otro lado, las espectroscopias vibracionales como la infrarroja o Raman⁸² permiten obtener información sobre los grupos funcionales presentes en los nanomateriales. Información sobre la composición química puede obtenerse con técnicas de absorción o emisión atómica acopladas a plasma de acoplamiento inductivo y/o espectrometría de masas (ICP-AES, ICP-OES⁸³, ICP-MS⁸⁴). Las técnicas de dispersión de luz, como la anteriormente mencionada DLS⁸⁵, permiten determinar el tamaño y la agregación del nanomateriales, así como la turbidimetría y nefelometría. Además la espectroscopias de resonancia magnética nuclear (NMR)⁸⁶ y de rayos X permiten obtener información sobre la estructura y cristalografía.

Por último, entre las *técnicas de separación* empleadas para la caracterización de nanomateriales cabe destacar las técnicas cromatográficas, como SEC, HDC, así como la electroforesis capilar (CE) y dielectroforesis (DEP)⁸⁷ y el FFF⁸⁸. Algunas de estas técnicas pueden acoplarse con técnicas de detección como MS,

⁸¹ D. Pan, J. Zhang, Z. Li, M. Wu, *Adv. Mater.*, 22 (2010) 734-738.

⁸² M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, A. Jorio, *J. Phys. Chem. C*, 111 (2007) 17887-17893.

⁸³ S. Elzey, D. H. Tsai, S. A. Rabb, L. L. Yu, M. R. Winchester, V. A. Hackley, *Anal. Bioanal. Chem.*, 403 (2012) 145-149.

⁸⁴ A. Helfrich, W. Brüchert, J. Bettmer, *J. Anal. At. Spectrom.*, 21 (2006) 431-434.

⁸⁵ A. Ledin, S. Karlsson, A. Ker, B. Allard, *Water Res.*, 28 (1994) 1539-1545.

⁸⁶ D. J. Nelson, C. N. Brammer, *Anal. Bioanal. Chem.*, 396 (2010) 1079-1086.

⁸⁷ A. I. López-Lorente, B. M. Simonet, M. Valcárcel, *Compr. Anal. Chem.*, 59 (2012) 33-89.

⁸⁸ F. von der Kammer, S. Legros, T. Hofmann, *Trends Anal. Chem.*, 30 (2011) 425-436.

voltametría o DLS. Otras técnicas de separación usadas en este ámbito son la centrifugación, extracción asistida con ligandos⁸⁹, extracción en fase sólida, microextracción con líquidos iónicos⁹⁰, microfiltración, diálisis⁹¹ o extracción en punto de nube⁹².

Además de estas técnicas, se han empleado también métodos electroquímicos⁹³ y termogravimétricos⁹⁴. Cabe destacar que una tendencia actual es el uso combinado de técnicas que proporcionan información complementaria sobre el tamaño y la composición química del material, como AFM-ATR-IR⁹⁵, AFM-Raman⁹⁶ o AFM-SECM⁹⁷.

⁸⁹ L. Li, K. Leopold, *Anal. Chem.*, 84 (2012) 4340-4349.

⁹⁰ A. I. López-Lorente, B. M. Simonet, M. Valcárcel, *Talanta*, 105 (2013) 75.

⁹¹ S. F. Sweeney, G. H. Woehrle, J. E. Hutchison, *J. Am. Chem. Soc.*, 128 (2006) 3190-3197.

⁹² J. B. Chao, J. F. Liu, S. J. Yu, Y. D. Feng, Z. Q. Tan, R. Liu, Y. G. Yin, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 6875-6882.

⁹³ Y. G. Zhou, N. V. Rees, R. G. Compton, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50 (2011) 4219-4221.

⁹⁴ E. Mansfield, A. Kar, S. A. Hooker, *Anal. Bioanal. Chem.*, 396 (2010) 1071-1077.

⁹⁵ M. Brucherseifer, C. Kranz, B. Mizaikoff, *Anal. Chem.*, 79 (2007) 8803-8806.

⁹⁶ C. E. Harvey, E. M. V. S. Lantman, A. J. G. Mank, B. M. Weckhuysen, *Chem. Commun.*, 48 (2012) 1742-1744.

⁹⁷ J. Wiedemair, J. S. Moon, D. E. Eaton, B. Mizaikoff, C. Kranz, *IFMBE Proceedings* 25, (2010) 372-375.

1.2. LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO EN NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICA

El carbono es el único elemento de la tabla periódica capaz de reunir las propiedades necesarias para la aparición de la vida sobre la Tierra. Su capacidad de hibridación de orbitales atómicos, generando carbonos de naturaleza sp^3 , sp^2 y sp , le confiere una situación única para la construcción de una amplia variedad de formas alotrópicas¹.

En 1990, solo dos alótropos de carbono, el diamante, constituido por carbonos sp^3 , y el grafito, constituido por carbonos sp^2 , eran conocidos por la comunidad científica. Al descubrimiento de los fullerenos², nanoestructuras cerradas constituidas exclusivamente por un número definido de átomos de carbono con elevada simetría; le siguieron los nanotubos de carbono³, que son una lámina enrollada con estructuras constituidas por átomos de carbono, los nanodimantes, y más recientemente, el grafeno⁴, láminas bidimensionales de átomos de carbono. En la figura 1 se presentan esquemas de un fullereno, un nanotubo de carbono, una lámina grafeno y un nanodiamante.

¹ P. Levi, *The Periodic Table*, Schocken Books, Random House Inc., New York, 1995, capítulo: Carbon, p. 224.

² H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, *Nature*, 318 (1985) 162.

³ S. Iijima, *Nature*, 354 (1991) 56.

⁴ K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, *Science*, 306 (2004) 666.

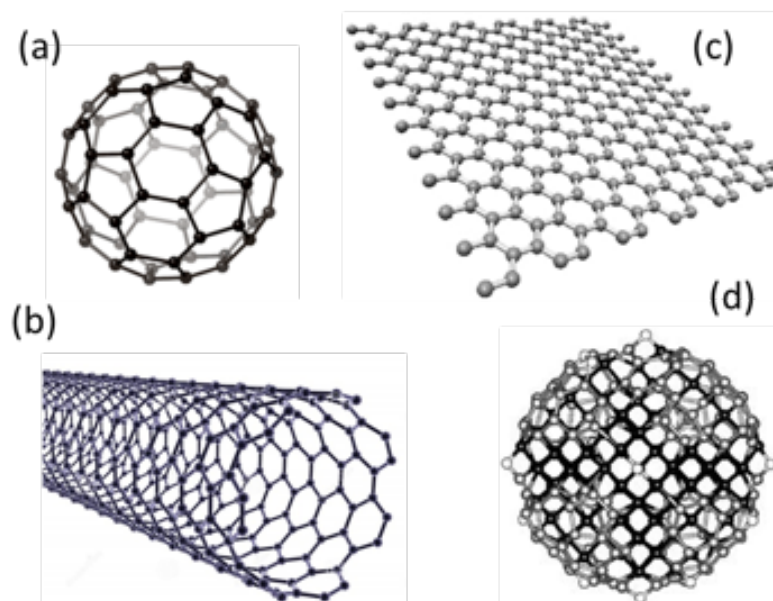


Figura 1. Representación esquemática de algunas de las nanoestructuras de carbono (a) fullereno con 60 átomos de carbono, (b) nanotubo de carbono de pared simple, (c) lámina de grafeno y (d) nanodiamante.

Actualmente se conocen un mayor número de nanoestructuras de carbono, tales como fullerenos endoédricos, nanocuernos, nanocebollas, nanoconos, “nanotorus” (nanotubos de carbono formando un anillo), nanovasos (a modo de una serie de vasos apilados), incluso los nanocapullos (formados por un fullereno que emerge de un nanotubo a modo de un capullo sobre un tallo) o los denominados guisantes (formados por un nanotubo de carbono conteniendo moléculas de fullerenos), configurando así toda una serie de nuevas formas de carbono⁵.

⁵ A. M. Cassell, C. L. Asplund, J. M. Tour, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38.16 (1999) 2403-2405.

Recientemente, han recibido mucha atención nuevos nanomateriales de carbono con propiedades luminiscentes, como los puntos cuánticos de carbono (en inglés, carbon (quantum) dots), y nanoestructuras de carbono derivadas del grafeno como el óxido de grafeno o los puntos cuánticos de grafeno.

En esta tesis doctoral se han empleado dos tipos de nanoestructuras de carbono: nanotubos de carbono y nanodiamantes, que se describen con más detalle a continuación.

1.2.1. NANOTUBOS DE CARBONO

Los nanotubos de carbono se pueden conceptualizar como una lámina de grafeno enrollada en un cilindro compuesta por átomos de carbono. Por tanto, su estructura es cilíndrica con dimensiones nanométricas en su diámetro (1-100 nm) y nano/micrométricas en su longitud, desde varios nanómetros hasta micrómetros o incluso centímetros. Los enlaces químicos de los CNTs están formados íntegramente por enlaces tipo sp^3 , similares a los del diamante⁶. Estos enlaces son más fuertes y más cerrados que los tipo sp^2 encontrados en el grafito, proporcionándole su alta resistencia.

Las excepcionales propiedades estructurales⁷, químicas⁸, mecánicas⁹, térmicas, ópticas, optoelectrónicas y electrónicas¹⁰ de los nanotubos de carbono ofrecen enormes oportunidades para el desarrollo de nuevas aplicaciones¹¹. En los últimos 20 años el número de artículos de investigación y patentes, en relación

⁶ J. W. Wilder, L. C. Venema, A. G. Rinzler, R. E. Smalley, C. Dekker, *Nature*, 391.6662 (1998) 59-62.

⁷ J. L. Delgado, M. A. Herranz, N. Martín, *J. Mater. Chem*, 18 (2008) 1417-1426.

⁸ H. Dai, *Acc. Chem. Res*, 35 (2002) 1035-1044.

⁹ J. P. Salvetat, S. Bhattacharyya, R. B. Pipes. *J. Nanosci. Nanotechnol*, 6 (2006) 1857-1882.

¹⁰ W. Wei, A. Sethuraman, C. Jin, N. A. Monteiro-Riviere, R. J. Narayan. *J. Nanosci. Nanotechnol*, 7 (2007) 1284-1297.

¹¹ R. H. Baughman, A. A. Zakhidov, W. A. de Heer. *Science*, 297 (2002) 787-792.

con la síntesis de CNTs, caracterización y aplicación ha aumentado sistemáticamente¹².

1.2.1.1. Clasificación de los nanotubos de carbono

La forma más común de clasificar a los nanotubos de carbono es en base al número de capas que conforman su estructura. De este modo existen nanotubos de carbono de pared simple (SWNTs), que se componen de un solo cilindro¹³ y de múltiples paredes (MWNTs), formados por varios cilindros de diferentes diámetros concéntricos y espacios entre ellos. En este grupo caben los de doble-pared (DWNTs)¹⁴, los cuales han sido aplicados en diferentes sectores. Formalmente, los nanotubos de pared sencilla están formados por una lámina de grafeno curvada y cerrada; mientras que los MWNTs contienen varias unidades de nanotubos de pared simple concéntricos. En la figura 2 se muestra un esquema de los distintos tipos de nanotubos en función del número de capas.

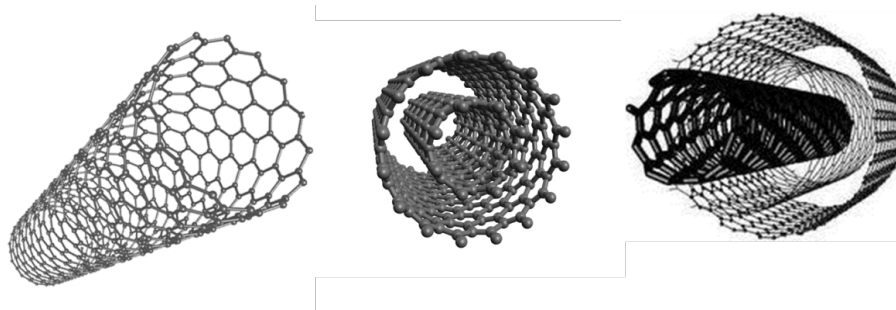


Figura 2. Tipos de CNTs. A la izquierda, nanotubos de carbono de pared simple; en el centro, nanotubos de doble pared; y a la derecha, nanotubos de múltiples paredes.

¹² A. Manzano-Ramirez, A. Moreno-Barcenas, M. Apatiga-Castro, E. Rivera-Munoz, R. Nava-Mendoza, R. Velázquez-Castillo, *Curr. Org. Chem*, 17.17 (2013) 1858-1866.

¹³ M. Terrones, *Annu. Rev. Mater. Res*, 33 (2003) 419-501.

¹⁴ S. Zhang, K.L. Wing and S. Rodney Ruoff. *Nano Lett*, 4.2 (2004) 293-297.

La estructura de los SWNTs viene determinada por la forma en que se enrolla sobre sí misma la red hexagonal de grafeno, dando lugar a diferentes tipos de nanotubos¹⁵. De acuerdo a los vectores de enrollamiento (índices m, n) de la red de hexágonos de carbono del grafeno, que determinan el diámetro y la quiralidad de la nanoestructura, se distinguen dos tipos generales de nanotubos de carbono (quirales y aquirales), cuya diferencia estructural se muestra en la figura 3.

Los nanotubos aquirales pueden ser de tipo “silla”, cuando la lámina de grafeno se enrolla con un ángulo quiral de 30°, o de tipo “zig-zag”, cuando la lámina de grafeno se enrolla con un ángulo quiral de 0°. Por tanto, los nanotubos “zig-zag” se caracterizan por tener n o m igual a cero. Por otro lado, los nanotubos quirales se obtienen cuando la lámina de grafeno se enrolla con un ángulo quiral que está comprendido entre 0 y 30°.

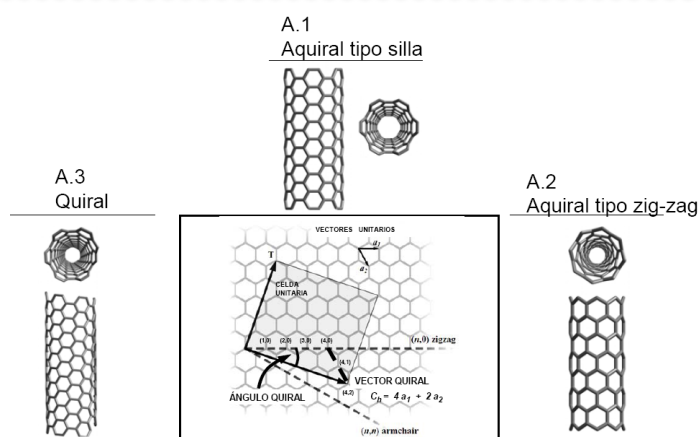


Figura 3. Tipos de nanotubos según la forma de enrollar la lámina de grafeno a través de los vectores básicos a_1 y a_2 . A) Nanotubos de carbono aquirales: A1 tipo “silla” y A2 tipo zig-zag; y B) Quirales, A.3¹⁶.

¹⁵ L. Jiao, L. Zhang, X. Wang, G. Diankov, H. Dai, Nature, 458.7240 (2009) 877-880.

¹⁶ M. Valcárcel, Discurso Leído en el acto de su recepción como académico de número, Real Academia de las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2010.

Asimismo, los nanotubos de carbono pueden clasificarse en base a otros criterios, como por ejemplo:

- (a) Según las propiedades eléctricas, que dependen mayoritariamente de su diámetro y quiralidad, pueden clasificarse en metálicos o semiconductores. Todos los nanotubos de tipo “silla” son metálicos, y aproximadamente una tercera parte de los “zigzag” también.
- (b) Según la estructura de los extremos del nanotubo, se pueden clasificar como nanotubos abiertos o cerrados. Los nanotubos abiertos pueden alojar moléculas en su interior. En este sentido, una de las aplicaciones de mayor interés es el empleo de nanotubos abiertos para el almacenaje de hidrógeno como combustible¹⁷.
- (c) Según la homogeneidad en su estructura, se distinguen nanotubos de carbono sin defectos (se mantiene íntegra la estructura primitiva de la pared de grafeno puro) o con defectos estructurales. Estos últimos son claves para la reactividad química de los nanotubos de carbono¹⁸.
- (d) Según se trate de nanoestructuras que sólo poseen carbonos estructurales o que tengan, además, derivados covalentes o no covalentes. Sus propiedades son también muy diferentes.
- (e) Según su interacción, los nanotubos de carbono pueden estar aislados o agregados formando racimos/paquetes, lo que también cambia sustancialmente su comportamiento físico-químico y constituye un factor limitante para sus aplicaciones.

¹⁷ J. W. Wilder, L. C. Venema, A. G. Rinzler, R. E. Smalley, C. Dekker, *Nature*, 391.6662 (1998) 59-62.

¹⁸ P. Harris, J. F. Peter, *Carbon nanotubes and related structures: new materials for the twenty-first century*. Cambridge University Press. 2001.

1.2.1.2. Síntesis de nanotubos de carbono

Desde que fueron descubiertos los nanotubos de carbono, se han desarrollado una gran variedad de técnicas para producirlos y no se ha detenido el avance, principalmente porque los procesos pioneros tenían poca reproducibilidad, debido a la gran cantidad de variables que se tenían que controlar y por las impurezas metálicas procedentes del mismo proceso. Métodos para la síntesis de nanotubos de carbono de ambos tipos (SWNTs y MWNTs) implican altas temperaturas y entre los métodos se incluyen descarga de arco eléctrico¹⁹, ablación láser²⁰, y deposición química de vapor (CVD)²¹.

Mientras que los dos primeros métodos utilizan grafito como material de partida, el método de CVD utiliza moléculas pequeñas tales como metano, acetileno, alcoholes y monóxido de carbono²². Sin embargo, común a todas estas técnicas es el uso de metales de transición como catalizadores (normalmente Fe, Ni, Co y sus aleaciones)²³. La razón es la creencia de que para el crecimiento del CNT es indispensable la formación de carburos metálicos²⁴. Sin embargo, la presencia de estos catalizadores metálicos resulta prácticamente imposible de eliminar completamente después de la producción del CNT, siendo una interferencia extremadamente perjudicial para las aplicaciones de los CNTs tanto en el ámbito de la ciencia de materiales como en las aplicaciones biológicas donde, las nanopartículas (NPs) metálicas formadas perturban, frecuentemente, los dispositivos fabricados o los análisis realizados.

¹⁹ C. Journet, W. K. Maser, P. Bernier, A. Loiseau, M. L. de la Chapelle, S. Lefrant, *Nature*, 388 (1997) 756-758.

²⁰ A. G. Rinzler, J. Liu, H. Dai, P. Nikolaev, C. B. Huffman, F. J. Rodriguez-Macias, *Appl. Phys. A*, 67 (1) (1998) 29- 37.

²¹ Z. Yao, H. W. C. Postma, L. Balents, C. Dekker, *Nature*, 402 (1999) 273-276.

²² Y. Zhang, T. Ichihashi, E. Landree, F. Nihey, S. Iijima, *Science*, 285.5434 (1999) 1719-1722.

²³ H. Dai, E. W. Wong, Y. Z. Lu, S. Fan, C. M. Lieber, *Nature*, 375.6534 (1995) 769-772.

²⁴ P. Nikolaev, M. J. Bronikowski, R. K. Bradley, F. Rohmund, D. T. Colbert, K. A. Smith R. E. Smalley, *Chem. Phys. Lett*, 313.1 (1999) 91-97.

Por otro lado, se han preparado CNTs en ausencia de metales^{25, 26} basándose en el uso de la técnica de CVD y una lámina de SiO₂ depositada sobre Si o Si/SiO₂ como sustrato, lo que permitió la formación homogénea de SWNTs utilizando un flujo de CH₄ y H₂ a 900°C. La formación de CNTs libres de metal es de importancia fundamental para resolver quizás el problema más grave para el uso generalizado de CNTs, abriendo así el camino a su aplicación en múltiples campos.

1.2.1.3. Propiedades de los CNTs

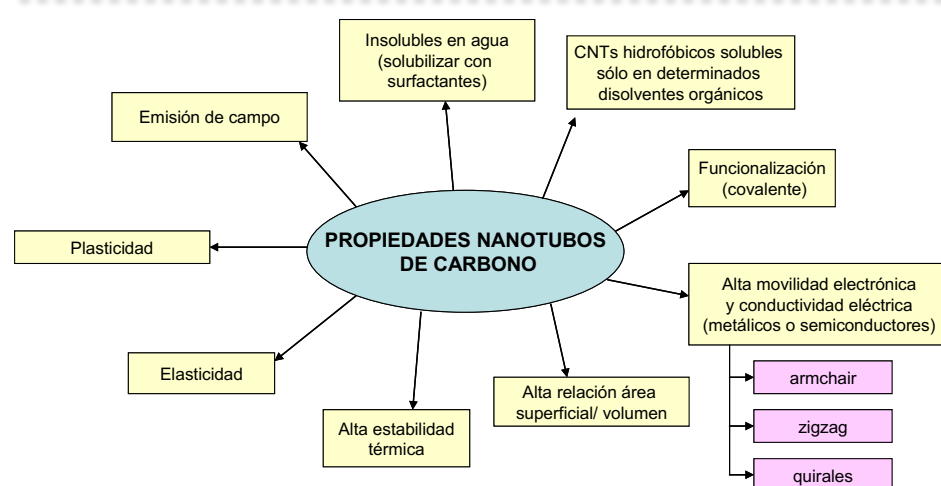


Figura 4. Principales propiedades de los nanotubos de carbono.

Las propiedades de los CNTs radican en sus características químicas, mecánicas, y eléctricas únicas. Una característica fundamental es el elevado valor de la relación superficie/volumen de los nanotubos lo que abre un sinfín de potenciales aplicaciones. Los nanotubos de carbono se caracterizan por tener excelentes propiedades eléctricas (conductoras) con una alta capacidad para

²⁵ B. Liu, W. Ren, L. Gao, S. Li, S. Pei, C. Liu, S. Jiang, H. M. Cheng, J. Am. Chem. Soc, 131 (2009) 2082.

²⁶ S. Huang, Q. Cai, J. Chen, Y. Qian, L. Zhang, J. Am. Chem. Soc, 131 (2009) 2094.

transportar la corriente (10^6 - 10^7 S·m⁻¹) siendo su conductividad eléctrica superior a la del cobre, y una gran conductividad térmica (>3000 W/m·k). Poseen una elevada fortaleza y flexibilidad y una excelente emisión de campo.

A continuación se comentarán con más detalle algunas de las propiedades de los nanotubos de carbono.

Solubilidad. Los nanotubos de carbono no funcionalizados son insolubles en agua y en disolventes orgánicos ordinarios. La solubilidad en agua puede mejorarse, por ejemplo, mediante el empleo de tensioactivos que los mantienen en suspensión y evitan la formación de agregados, así como mediante el empleo de líquidos iónicos.

Reactividad química. Los nanotubos de carbono son especies básicamente estables químicamente, aunque pueden funcionalizarse, mediante: (a) Formación de enlaces covalentes en las paredes cilíndricas o en los extremos cerrados del nanotubo²⁷. Se han descrito halogenaciones, hidrogenaciones, cicloadiciones, adiciones tanto radicálicas como electrofílicas y nucleofílicas, entre otras. (b) Funcionalización de los defectos estructurales, provocados o no, tales como curvaturas cóncavas o convexas producidas por la presencia de anillos pentagonales y heptagonales generados durante su síntesis o “daños” producidos por las condiciones fuertemente ácidas y oxidantes de los procesos de purificación, que originan tanto la apertura de los extremos cerrados por rotura oxidativa como la presencia de grupos carboxilo e hidróxilo en la pared y en los extremos abiertos²⁸. Los grupos carboxilo son utilizados para funcionalizar los nanotubos. (c) Interacciones no covalentes; es decir, la formación de complejos derivados de los nanotubos de carbono sin producir alteraciones en su estructura y preservando las propiedades electrónicas²⁹. (d) Confinamiento endoédrico, es decir, encapsulación de nanopartículas metálicas

²⁷ S. Banerjee, T. Hemraj-Benny, S. S. Wong, J. Adv. Mater, 17(1) (2005) 17-29.

²⁸ Y. P. Sun, K. Fu, Y. Lin, W. Huang, Acc. Chem. Res, 35(12) (2002) 1096-1104.

²⁹ D. A. Britz, A. N. Khlobystov. Chem. Soc. Rev, 35.7 (2006) 637-659.

como oro y plata, metallocenos, haluros metálicos, óxidos metálicos, pequeñas proteínas, etc.

Propiedades eléctricas. Un aspecto sustancial de los nanotubos de carbono es su configuración electrónica basada en una hibridación sp^2 . De los cuatro electrones de valencia, tres forman los enlaces σ hibridados con los átomos de carbono vecinos. El cuarto electrón (orbital p) está fuertemente deslocalizado en el enlace π y es compartido por todos los átomos formando la banda de conducción. Esta configuración electrónica condiciona tanto el transporte electrónico de corriente como su reactividad química³⁰. Así pues, los nanotubos de carbono son uno de los materiales más conductores conocidos, aunque la conductividad depende críticamente del tipo de nanotubo (quiralidad). Los nanotubos también ofrecen un marcado carácter de emisores de campo cuando se someten a un campo eléctrico.

Propiedades mecánicas. El comportamiento mecánico de los nanotubos de carbono, marcado por su gran resistencia a la presión y su elevada flexibilidad, va mucho más allá de todos los materiales conocidos.

Propiedades magnéticas. La pronunciada conductividad eléctrica de los nanotubos de carbono depende críticamente del campo magnético a que pueden estar sometidos. Se ha demostrado experimentalmente un aumento de la conductividad al incrementarse el campo magnético. Los cúmulos de nanotubos de carbono son diamagnéticos.

En la tabla 1 se muestran algunas de las propiedades de los CNTs y se comparan con las propiedades de otras fibras de carbono usadas en ingeniería.

³⁰ M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, P. C. Eklund, Science of fullerenes and Carbon Nanotubes: their Properties and Applications. Academic Press.1996.

Tabla 1. Comparación de las propiedades mecánicas de diferentes fibras³¹

Material de la fibra	Densidad Específica	Tenacidad (TPa)	Resistencia (GPa)	Esfuerzo a la rotura (%)
CNT	1.3 - 2	1	60	10
Acero HS	7.8	0.2	4.1	< 10
Fibra de C (PAN)	1.7 - 2	0.2 - 0.6	1.7 - 5	0.3 - 2.4
Fibra de C (Pitch)	2 - 2.2	0.4 - 0.96	2.2 - 3.3	0.27 - 0.6
Vidrio E/S	2.5	0.07 / 0.08	2.4 / 4.5	4.8
Kevlar* 49	1.4	0.13	3.6 - 4.1	2.8

1.2.1.4. Aplicaciones de los CNTs

Como ya se ha comentado anteriormente, los nanotubos de carbono se han empleado como herramientas de medición en las siguientes etapas del proceso analítico: tratamiento de muestra, técnicas analíticas de separación y detección, por ejemplo en columnas de extracción en fase sólida, columnas cromatográficas, separaciones electrocromatográficas, electrodos, transistores de campo eléctrico, entre otras.

Asimismo, los nanotubos de carbono presentan o cabe esperar que presenten importantes papeles en otras áreas de la ciencia. Los CNTs se han utilizados en diversas aplicaciones, tales como plásticos conductores, materiales compuestos estructurales, pantallas planas, dispositivo para el almacenamiento de gases, pintura autocorregibles y limpias, micro - y nano-electrónica, textiles técnicos, ultra-condensadores, elementos para microscopios (AFM, SNOM, MFM),

³¹ Véase, <http://www.nanocyl.com/CNT-Expertise-Centre/Carbon-Nanotubes>, (último acceso octubre 2015).

baterías con mayor vida, celdas solares, biosensores para gases nocivos y fibras extra fuertes^{32, 33}.

En biomedicina pueden resultar útiles como vehículos para el transporte y reparto selectivo de pequeños fármacos a determinados tipos de células, permitiendo transportar simultáneamente diferentes principios activos. Esto supondría un gran avance por ejemplo en la lucha contra el cáncer. Además, al ser estables y con poca reactividad, pueden emplearse para desarrollar prótesis, como promotores del crecimiento neuronal en ciertos procesos tumorales o desarrollo de músculos artificiales.

1.2.2. NANODIAMANTES

Los nanodiamantes son diamantes cuyo tamaño se encuentra en la escala de 4-5 nm. Las partículas de nanodiamante consisten básicamente en un núcleo de diamante (con átomos de carbono en hibridación sp^3) que puede estar recubierto parcialmente por una capa de carbono con hibridación sp^2 ³⁴. La superficie de los clusters sp^3 debe ser estabilizada a través de la terminación con grupos funcionales o reconstruida a carbono sp^2 . Por lo tanto, además de tamaño y forma, la estabilidad de las nanopartículas de carbono también depende de sus terminaciones superficiales. Una propiedad de los nanodiamantes es la estrecha distribución de tamaño de su núcleo. Por otra parte, el polvo de

³² M. F. De Volder, S. H. Tawfick, R. H. Baughman, A. J. Hart, *Science*, 339(6119) (2013) 535-539.

³³ Q. Zhang, J. Q. Huang, W. Z. Qian, Y. Y. Zhang, F. Wei, *Small*, 9.8 (2013) 1237-1265.

³⁴ A. Y. Vul, E. D. Eydelman, L. V. Sharonova, A. E. Aleksenskiy, S.V. Konyakhin, *Diamond Relat Mater*, 20 (2011) 279.

nanodiamante e hidrosoles, consisten en nanopartículas de mayor tamaño (100-200 nm), debido a la propia agregación del nanomaterial.

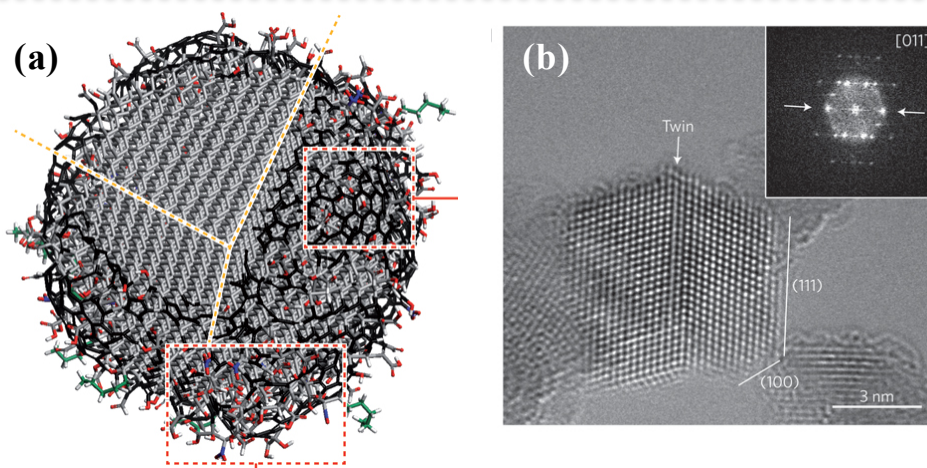


Figura 5. (a) Modelo esquemático que ilustra la estructura de una sola partícula de ND (~5 nm) después de una purificación oxidativa. El núcleo del diamante está cubierta por una capa de grupos funcionales superficiales, que estabilizan la partícula, así como por la conversión de carbono sp^3 a carbono sp^2 . (b) Un ND está constituido por facetas, como se observa en imagen de TEM. En el recuadro hay una imagen de la transformada de Fourier, que confirma que este nanodiamante tiene un núcleo de diamante muy ordenado³⁵.

Modelos atomísticos han demostrado que, para los tamaños por debajo de 3 a 6 nm, los hidrocarburos tetraédricos son más estables que los poliaromáticos³⁶. Más tarde se descubrió que la morfología³⁷ de estos elementos tiene un papel importante en la estabilidad del nano-diamante por influir en la reconstrucción de la superficie y la formación de carbono sp^2 . Mientras que las superficies

³⁵ V. N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi, Nat. Nanotechnol, 7 (2012)11-23.

³⁶ P. Badziag, W. S. Verwoerd, W. P. Ellis, N. R. Greiner, Nature 343, (1990) 244-245.

³⁷ A. S. Barnard, S. P. Russo, I. K. Snook, Diamond Relat. Mater, 12 (2003) 1867-1872.

naturales (no funcionalizados) de cristales cúbicos exhiben las estructuras similares al diamante, las superficies del octaedro, cubo-octaédricos y racimos esféricos muestran una transición de carbono sp^3 a sp^2 . Grandes clusters ($\sim 1\text{--}3.3$ nm) de diversas formas con menos del 76% de la superficie grafificada es probable que sean estables en la estructura del diamante, pero posee una fina capa de grafito (ya sea simple o doble capa)³⁸.

1.2.2.1. Síntesis de nanodiamantes

Hoy en día hay una enorme variedad de NDs disponibles para la investigación. Ellos han sido sintetizados mediante técnicas como detonación, ablación láser³⁹, molienda con bolas de alta energía a alta temperatura y presión (HPHT) de microcristales de diamante⁴⁰, deposición química de vapor asistida con plasma⁴¹, síntesis por autoclave desde fluidos supercríticos⁴², cloración de carburos, irradiación iónica de grafito, irradiación electrónica de cebollas de carbono⁴³ y cavitación ultrasónica⁴⁴. Los tres primeros métodos han empezado a ser usados comercialmente.

La técnica de detonación consiste, como su propio nombre indica, en la detonación de una mezcla deficiente en oxígeno, 60% en peso de trinitrotolueno (TNT) y 40% en peso de ciclotrimetilentrinitramina, conocida como hexógeno (RDX), en el interior de una cámara metálica cerrada llena de un gas inerte (N_2 , CO_2) o de H_2O sólida o líquida como

³⁸ A. S. Barnard, M. J. Sternberg, *Mater. Chem*, 17 (2007) 4811–4819.

³⁹ G. W. Yang, J. B. Wang, Q. X. Liu, *J. Phys. Condens. Mat*, 10 (1998) 7923–7927.

⁴⁰ J. P. Boudou, P. A. Curmi, F. Jelezko, J. Wrachtrup, P. Aubert, M. Sennour, E. Gaffet, *Nanotechnology*, 20 (2009) 235602.

⁴¹ M. Frenklach, W. Howard, D. Huang, J. Yuan, K. E. Spear, R. Koba, *Appl. Phys. Lett*, 59 (1991) 546–548.

⁴² Y. G. Gogotsi, K. G. Nickel, D. Bahloul-Hourlier, T. Merle-Mejean, G. E. Khomenko, K. Skjerlie, *J. Mater. Chem*, 6 (1996) 595–604.

⁴³ F. Banhart, P. M. Ajayan, *Nature*, 382 (1996) 433–435.

⁴⁴ E. Galimov, A. M. Kudin, V. N. Skorobogatskii, V. G. Plotnichenko, O. L. Bondarev, B. G. Zarubin, A. Y. Barinov, *Dokl. Phys*, 49 (2004) 150–153.

refrigerante (síntesis seca o húmeda respectivamente). Tras la recolección de los NDs, del fondo y las paredes de la cámara; estos tienen que ser purificados.

La purificación es un paso importante para eliminar las impurezas generadas durante el proceso de obtención. Existen varias técnicas de purificación, pero la que resulta más ecológica es la técnica basada en la oxidación por aire o aire enriquecido con ozono a altas temperaturas. Ésta técnica, al mismo tiempo, permite eliminar diversos grupos funcionales presentes en la superficie de los NDs, consiguiéndose así una unificación química de la superficie (se evita agregación de NDs).

El rendimiento en NDs depende de las condiciones de síntesis y, más concretamente, de la capacidad del medio refrigerante (agua, aire, CO₂) en el interior de la cámara.

1.2.2.2. Propiedades de los nanodiamantes

El diamante es un material excepcional en muchos aspectos, y los nanodiamantes heredan la mayoría de las características superiores de diamante. Estas propiedades incluyen dureza y módulo Young únicos, y además presentan las características de los nanomateriales como pequeño tamaño, gran relación área/superficie y alta capacidad de adsorción⁴⁵. Todo esto junto con la biocompatibilidad, debido a su gran estabilidad química, propiedades ópticas y fluorescencia, alta conductividad térmica y resistencia eléctrica y la resistencia a los ambientes ásperos hace que estos nanomateriales estén despertando un gran interés en biomedicina.

⁴⁵ O. A. Shenderova and, A.S. Ciftan Hens, Springer Handbook of Nanomaterials, Springer (2013) 263-300.

La estructura, solubilidad y propiedades electrónicas y magnéticas de los NDs varía dependiendo de cómo estén terminados los átomos superficiales⁴⁶. El nitrógeno es una *impureza* común en el cristal de diamante y uno de los elementos que más afectan a las propiedades de los nanodiamantes, relacionado con las propiedades luminiscentes de los mismos. Por otro lado, cabe destacar la baja solubilidad y mala dispersabilidad de los NDs, lo que limita parte de sus aplicaciones. Una de las opciones para mejorar su solubilidad es la funcionalización covalente.

La baja-nula toxicidad de los NDs ha sido comprobada mediante diversos estudios de citotoxicidad *in vitro* y de toxicidad *in vivo* llevados a cabo en ratones. Esta propiedad hace que los NDs se estén empleando en muchas aplicaciones en nanomedicina.

1.2.2.3. Aplicaciones de los nanodiamantes

Los nanodiamantes se han empleado en distintas áreas de aplicación, entre ellas en medicina, electroquímica y para la creación de nuevos materiales.

Nanopartículas de diamante fluorescentes se pueden producir por conjugación o adsorción de varios fluoróforos en los nanodiamantes, éstos conjugados pueden viajar a través de los compartimentos celulares de diferente pH sin degradación de la superficie de los conjugados fluoróforo o alteración de la viabilidad celular durante largos períodos de tiempo⁴⁷. Los NDs fluorescentes combinan las ventajas de puntos cuánticos semiconductores (morfología en la escala nano, alta fotoestabilidad, fluorescencia brillante multicolor) con

⁴⁶ B. I. Kharisov, O. V. Kharissova, L. Chávez-Guerrero, *Synth. React. Inorg. Metal-Org. Nano-metal Chem*, 40 (2010) 84.

⁴⁷ A. M. Schrand, J. B. Lin, S. C. Hens, S. M. Hussain, *Nanoscale*, 3 (2011) 435–445.

biocompatibilidad, no toxicidad y una rica química superficial, que significa que tienen el potencial para revolucionar las aplicaciones de imágenes en vivo y nanomedicina.

Otras aplicaciones de los nanodiamantes incluyen su uso como aditivos para recubrimientos metálicos. Más recientemente, se han utilizado en otras aplicaciones como las películas de diamante por deposición química de vapor⁴⁸, en imágenes de resonancia magnética⁴⁹, cromatografía⁵⁰ y proteómica y espectrometría de masas⁵¹. Las nanoestructuras en forma “cebollas” de carbono (son producidas por la grafitización de nanodiamantes) han demostrado potencial para aplicaciones de almacenamiento de energía⁵², materiales compuestos⁵³ y catálisis⁵⁴ (nanodiamantes por sí mismo también ha demostrado buena actividad catalítica⁵⁵); y nano-diamantes dopados con boro pueden ser utilizados en electroanálisis, condensadores electroquímicos de doble capa y baterías. Además, las lámparas no conductoras de nanodiamantes demuestran una actividad redox en sistemas electroquímicos⁵⁶.

⁴⁸ O. Shenderova, S. Hens, G. McGuire, *Diamond Relat. Mater.*, 19 (2010) 260–267.

⁴⁹ L. M. Manus, D. J. Mastarone, E. A. Waters, X. Q. Zhang, E. A. Schultz-Sikma, K. W. MacRenaris, T. J. Meade, *Nano Lett.*, 10 (2010) 484–489.

⁵⁰ G. Saini, D. S. Jensen, L. A. Wiest, M. A. Vail, A. Dadson, M. L. Lee, M. R. Linford, *Anal. Chem.*, 82 (2010) 4448–4456.

⁵¹ C. Wu, C. C. Han, H. C. Chang, *J. Chin. Chem. Soc.*, 57 (2010) 583–594.

⁵² D. Pech, M. Brunet, H. Durou, P. Huang, V. Mochalin, Y. Gogotsi, P. Simon, *Nature Nanotech.*, 5 (2010) 651–654.

⁵³ O. Shenderova, C. Jones, V. Borjanovic, S. Hens, G. Cunningham, S. Moseenkov, G. McGuire, *Phys. Status Solidi A*, 205 (2008) 2245–2251.

⁵⁴ D. S. Su, N. I. Maksimova, G. Mestl, V. L. Kuznetsov, V. Keller, R. Schlögl, N. Keller, *Carbon*, 45 (2007) 2145–2151.

⁵⁵ J. A. Zhang, D. S. Su, R. Blume, R. Schlögl, R. Wang, X. Yang, A. Gajović, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49 (2010) 8640–8644.

⁵⁶ K. B. Holt, *Phil. Trans. Roy. Soc. A*, 365 (2007) 2845–2861.

1.3. NANOMETROLOGÍA*

La Nanometrología puede ser definida como la ciencia que se dedica a las mediciones a nivel nanométrico. Las mediciones nanométricas incluyen no sólo longitud y tamaño (forma, relación de aspecto y distribución de forma) sino también la composición química, concentración de nanopartículas, propiedades ópticas, fuerza, masa, propiedades eléctricas y otros tipos de propiedades. Este artículo resalta la importancia de la nanometrología, con un énfasis principal en las mediciones de distribución de tamaño. Las nanopartículas son clasificadas y el rol que tienen los estándares es examinado. Finalmente, una selección de métodos nanometrológicos son discutidos en términos de ventajas y limitaciones.

1.3.1. Introducción

El rápido desarrollo de la nanotecnología ha planteado la necesidad de métodos eficaces para caracterizar las nanopartículas y los nanomateriales¹. Existe una gran necesidad de la nanometrología y normalización en el campo de los nanomateriales y nanopartículas para responder a la creciente demanda del uso de nanomateriales en una amplia gama de sectores industriales^{2,3}.

**Este capítulo corresponde a la publicación: R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, "Nanometrology", Encyclopedia Analytical Chemistry (2013) edited by Robert A. Meyers, John Wiley and Sons., ISBN: 9780470027318*

¹ N. Yao, Z. L. Wang, Kluwer Academic Publishers. 2005.

² R. J. Aitken, M. Q. Chaudhry, A. B. A. Boxall, M. Hull, Occupational Medicine, 56 (2006) 300–306.

³ D. J. Burleson, M. D. Driessen, L. P. Penn, J. Environ. Sci. Health, A39 (2004) 2707.

Se necesitan, por tanto, medios eficaces para correlacionar nanoestructuras con sus propiedades basados en métodos cuantitativos que permitan la caracterización de materiales nanométricos (especialmente, para las partículas con un tamaño en el rango de 10-100 nm)⁴. Para ser útiles en la fabricación de nanomateriales y en el desarrollo de aplicaciones⁵, tales métodos deben proporcionar resultados fiables y comparables en lo que respecta diversos tipos de información, incluyendo⁶:

- Densidad de partículas nanométricas y concentración de nanopartículas
- Distribución del tamaño de partículas (o tamaño de grano)
- Dimensiones características de materiales nanoestructurados
- Nanoporosidad de materiales sintetizados.

Según el Vocabulario de nanotecnología-nanociencia, la nanometrología es "la ciencia de la medición a nivel nanométrico"⁷. Como tal, desempeña un papel crucial en la producción de nanomateriales y dispositivos de tamaño nanométrico con alta precisión y fiabilidad (por ejemplo en nanomanufactura)⁸. Por lo tanto, la nanometrología incluye mediciones no sólo de la longitud y el tamaño (que suelen caer en el rango nanométrico y son a menudo sujetos a una incertidumbre menos de 1 nm), sino también de la composición química, concentración de nanopartículas, y la fuerza, masa, eléctrica, y varias otras

⁴ R. J. Aitken, S. M. Hankin, C. L. Tran, K. Donaldson, V. Stone, P. Cumpson, J. Johnstone, Q. Chaudhry, S. Cash, REFNANO: reference materials for engineered nanoparticle toxicology and metrology. 2007.

⁵ P. Chung, E. Perevedentseva, C. Cheng, Surf. Sci, 601(2007) 3866.

⁶ K. Carneiro, Nanometrology, Smart Materials, Danish Institute of Fundamental Metrology. Bulletin (1) 2002.

⁷ Committee ISO 229 Nanotechnologies ISO/TS 27887, Nanotechnologies – Terminology and definition of nanoobjects, nanoparticles, nanofibre and nanoplate, ISO. Geneva 20, Switzerland.

⁸ U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Nanotechnology white paper, , Washington, DC. Disponible <http://es.epa.gov/ncer/nano/>

propiedades. Desarrollos adicionales en el campo de la nanotecnología dependen enormemente del progreso de la nanometrología^{9,10}.

1.3.2. Definiciones

Los términos más usados en nanotecnología y nanometrología son definidos brevemente en la siguiente lista^{11,12}:

Nanoescala: la escala que abarca el rango nanométrico (aproximadamente 1-100 nm).

Nanotecnología y nanociencia: la tecnología y la ciencia, respectivamente, de las estructuras hechas con materiales o compuestos de naturaleza inorgánica, orgánica, o híbrida donde al menos una dimensión es inferior a 100 nm y nuevas propiedades surgen desde un tamaño tan pequeño.

Nanoestructura: estructura que contiene superficies, interfaces, límites de grano, precipitados, capas delgadas, o incluso partículas tan pequeñas como incluso unos pocos átomos o tan grande como 100 nm.

Materiales nanocristalinos: material con dimensiones geométricas características menores que 100 nm y que tiene distintas propiedades conferidas por su tamaño nanométrico.

Nanocristal: partícula monocristalina de dimensiones nanométricas.

Nanopartículas: una partícula, ya sea, amorfa, cristalina, o de naturaleza mixta, con dimensiones en el rango nanométrico.

⁹ B. Fernández, J. M. Costa-Fernández, R. Pereiro, A. Sanz-Medel, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009 (2009) 15.

¹⁰ ISO, IEC, KIST, and OCDE. International workshop on documentary standard for measurement and characterization for nanotechnologies, 2008.

¹¹ ISO/TS 80004-1:2010 Nanotechnologies – Vocabulary – Part 1: Core terms.

¹² ISO/TS 80004-3:2010 Nanotechnologies – Vocabulary – Part 3: Carbon nano-objects.

Nanometrología: la ciencia de las mediciones en el nivel de nanoescala, que incluyen no sólo las mediciones físicas de dimensiones nanométricas con una incertidumbre típicamente menor 1 nm si no también químicas y otros tipos de mediciones (por ejemplo toxicológica).

1.3.3. Importancia de la Nanometrología

La nanotecnología constituye un sector industrial importante y se espera que continúe creciendo a un ritmo muy rápido. Un desarrollo tan rápido ha planteado la necesidad de tener un control más exacto y preciso de las dimensiones de nano-objetos¹³. De hecho, esta es la cuestión clave en nanotecnología y en la ciencia de nano-objetos.

La complejidad de las mediciones nanométricas surge de las pequeñas dimensiones de los nano-objetos, que son por lo general menores de 100 nm de tamaño¹⁴. Las mediciones realizadas en esta escala requieren una alta precisión (frecuentemente alrededor de 0,1 nm) y por lo tanto métodos eficaces de medición ya que los métodos tradicionales para los materiales convencionales se quedan cortos respecto a nanoestructuras y nanomateriales¹⁵. La complejidad del nanomundo surge de la propia naturaleza de nanoestructuras. Por lo tanto, una nanoestructura puede interpretarse como una disposición de los átomos o partículas en nuevas formas tales como fullerenos, nanopartículas tipo *core-shell*, nanotubos enredados, metales nanoestructurados, o dendritas, todos los cuales desafían los principios de la estereología.

¹³ The Royal Society and The Royal Academy of Engineering, Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties; <http://alwww.nanatec.org.uk/finalReport.htm>. 2004. (consultado Septiembre 2015)

¹⁴ W. Lojkowski, R. Turan, A. Proykova, A. Aniszewska, Nanometrology, Nanoforum Org, 2006.

¹⁵ J. Goldstein, D. E. Newbury, P. Echlin, D. C. Coy, J. D. A. Mcoming, C. E. Lyman, C. Fiori, E. Lifshin, Scanning Electron Microscopy and X ray Microanalysis. Springer. 1992.

Una característica importante de los nanomateriales son las propiedades especiales que exhiben en virtud de su pequeño tamaño, que han despertado un gran interés entre los científicos e ingenieros¹⁶. Sin embargo, para explotar de manera eficiente tales propiedades se requiere un buen conocimiento de su naturaleza y la capacidad para caracterizar las características físicas o químicas de objetos muy pequeños; lo que es imposible con los métodos convencionales, por lo que se necesitan nuevas metodologías eficaces que permitan además la producción de nanoestructuras de forma reproducible como requisito previo para la comprensión de sus propiedades¹⁷.

Los nuevos métodos de preparación y caracterización de nanoestructuras deben complementarse con normas apropiadas desarrolladas con el concurso de la nanometrología¹⁸.

En general, la investigación orientada a la nanometrología está bien establecida en institutos de investigación y en el campo industrial. Sin embargo, la implementación de la nanometrología industrial aún está sujeta a una serie de limitaciones¹⁹. Las mayores diferencias entre estas dos corrientes de la nanometrología son la precisión, la rentabilidad, los parámetros medidos, y las condiciones de medición (Tabla 1)²⁰.

¹⁶ A. M. Chaka, Report on the Nist Cross-Industry Issues in Nanomanufacturing Workshop. In The Annual Meeting. 2008.

¹⁷ M. L. Schattenburg, H. I. Smith, In Proc. SPIE 4608 (2001) 116.).

¹⁸ D. Mavrocordatos, D. Perret , G. G. Leppard, Strategies and advances in the characterisation of environmental colloids by electron microscopy, IUPAC series on analytical and physical chemistry of environmental systems, 10.345. 2007.

¹⁹ W. Lojkowski, D. Kuzieriko, H. Fecht, K. J. Kurzydowski, A. Daniszewska, Solid State Phenom, (2000) 114.

²⁰ T. Linsinger, G. Roebben, C. Saians, R. Ramsch, Trends in Anal. Chem, 30 (2011) 18.

Tabla 1. Tendencias nanométrológicas: investigación e industrial.

Tendencias nanométrológicas		
Orientadas a la investigación		Orientadas a la industria
Mayor precisión posible	↔	Mayor efectividad posible
Énfasis equilibrado en aspectos cualitativos y cuantitativos	↔	Se favorecen parámetros cuantitativos
Medida del mayor número de parámetros posible	↔	Medida del mínimo aceptable de parámetros
Tiempo y coste de medida no importante	↔	Tiempo y coste de medida deben minimizarse
Condiciones ambiente muy importante	↔	Medidas hechas en condiciones industriales

1.3.4. Importancia de la dimensiones y distribución del tamaño en nanoestructuras

Como se dijo anteriormente, las dimensiones juegan un papel clave en las propiedades de los nanomateriales²¹. La importancia se puede ilustrar con los siguientes ejemplos de propiedades que surgen a partir del tamaño nanométrico de estos materiales:

²¹ A. D. Maynard, R. J. Aitken, T. Butz, V. Colvin, K. Donaldson, G. Oberdörster, M. A. Philbert, J. Ryan, A. Seaton, V. Stone, S. S. Tinkle, L. Tran, N. J. Walker, D. B. Warheit, Nature 444 (2006) 267–269.

- La difusión atómica a través de interfaces se convierte en un mecanismo eficiente de transferencia de materia en la nanoescala²². A diferencia de la materia convencional, la materia en forma de nanopartículas se puede transferir de manera eficiente a temperaturas bajas. Entre otras aplicaciones, esta propiedad ha sido utilizada para mejorar la cinética de la difusión del hidrógeno en dispositivos de almacenamiento de hidrógeno.
- Un tamaño de cristal que es menor que el recorrido medio libre de los electrones reduce la conductividad electrónica y el coeficiente de temperatura a través de dispersión de límite de grano.
- Los espectros de los fonones son modificados por efecto de nanopartículas y nanosuperficies²³.
- Cambios en el *band gap* en partículas nanométricas semiconductoras provocan un desplazamiento hacia el azul en las señales de luminiscencia.
- El control en la relajación de la luminiscencia inducida por el tamaño en nanopartículas de óxido conduce a cambios en las propiedades ópticas y se ha utilizado para desarrollar dispositivos optoelectrónicos interesantes.
- Puntos cuánticos muy pequeños han proporcionado la tecnología para la espintrónica y la han utilizado como agentes reductores.
- Efectos de superficie en materiales magnéticos gobiernan las propiedades magnéticas de las capas delgadas; además, han permitido el desarrollo de dispositivos de almacenamiento de datos más eficientes y sensores magnéticos más sensibles²⁴.

²² C. N. R. Rao, A. Müller, A. K. Cheetham, eds. *The Chemistry of Nanomaterials. Synthesis, Properties and Applications*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2004.

²³ M. Riskin, R. Tel-Vered, I. Willner, *Adv. Mater*, 22 (2010)1387.

²⁴ K. S. Lee, S. J. Yoo, D. Ahn, T. Jeon, K. H. Choi, I. S. Park, Y. E. Sung, *Langmuir*, 27(6) (2011) 3128-3137.

Capítulo 1

- Las propiedades mecánicas de los metales de menos de 100 nm de tamaño de grano son dictadas por la contribución de los límites de grano. Esto ha facilitado el desarrollo de materiales con mayor resistencia y ductilidad y, por tanto, mejores características²⁵.
- Las propiedades tribológicas son dramáticamente diferentes cuando los materiales que interactúan son de tamaño nanométrico. Esto reduce la fricción y el desgaste en los sistemas microelectromecánicos (MEMS).

La tabla 2 resume las propiedades de los nanomateriales explotadas para uso práctico.

Tabla 2. Propiedades de los nanomateriales y sus aplicaciones.

Propiedad	Aplicación
Alta relación superficie/volumen	Catálisis, sensores de gas
Bajo umbral de percolación	Materiales conductores y sensores
Aumento de la dureza /resistencia al desgaste con la disminución del tamaño de grano	Recubrimientos duros y capas protectoras
Aumento de la resistividad con la disminución de tamaño de grano	Electrónica, componentes pasivos y sensores
Mejora de la cinética de transporte atómico	Baterías y almacenamiento de hidrógeno
Punto de fusión y temperatura de sinterización bajas	Transformación de materiales y sinterización de materiales a baja temperatura

²⁵ M. C. Roco , J. Nanopart. Res., 7 (2005) 707–712.

Los nano-objetos en los sistemas de la vida real normalmente muestran una distribución de tamaño característica (tamaño de grano en materiales policristalinos y tamaño de partícula en materiales particulados). La distribución de tamaño puede suponer un serio problema cuando se estudian propiedades relacionadas con el nanotamaño²⁶. Por tanto, una distribución tamaño de partícula o tamaño de grano demasiado ancha puede ocultar efectos relacionados con la nanotecnología. Es por tanto importante caracterizar de forma precisa y controlar las distribuciones de tamaño de partícula y de grano durante la producción de los nanomateriales. Además, la caracterización nanométrica de nano-objetos requiere la determinación de su distribución de tamaño.

1.3.5. Clasificación de nanoestructuras

Se han propuesto una serie de definiciones sobre la dimensionalidad de las nanoestructuras. Por ejemplo, el informe sobre nanociencia y nanotecnología de la Royal Society y la Real Academia de Ingeniería de julio de 2004 establece tres clases de nanoestructuras de acuerdo al tamaño:

1. Nanomateriales en una dimensión (películas delgadas y superficies).
2. Nanomateriales en dos dimensiones (nanotubos de carbono, nanotubos inorgánicos, nanoalambres y biopolímeros).
3. Nanomateriales en tres dimensiones (nanopartículas, dendrímeros, fullerenos y los puntos cuánticos).

La siguiente clasificación se basa en el número de dimensiones que caen por encima de la nanoescala:

- Cero dimensiones (nanopartículas, puntos cuánticos, y nanopuntos).

²⁶ M. Hassellöv, J. W. Readman, J. Ranville, K. Tiede, *Ecotoxicology*, (2008) 344.

Capítulo 1

- Una dimensión (nanocables, nanovarillas y nanotubos).
- Tres dimensiones (recubrimientos y multicapas de película fina).
- Cuatro dimensiones (materiales a granel).

Por el contrario, las dimensiones pueden estar relacionadas con la nanoescala:

- Cero dimensiones: Nanopartículas. Esta categoría incluye los cristales metálicos de tamaños inferiores a 100 nm, ya sean aislados o en suspensión en un líquido o incrustado en otro material. La dimensión característica importante para aplicaciones especiales depende del fenómeno físico implicado.
- Una dimensión: Los nanocables. Esta categoría incluye los cables de menos de 100 nm de espesor, ya sean independiente o en suspensión en un líquido o incrustado en otro material.
- Dos dimensiones: Revestimientos y capas superficiales. Esta categoría incluye los revestimientos de metales nanocristalinos y nanocompuestos. El análisis estructural del revestimiento revelará granos de metal (cristales individuales) de tamaño nanométrico conectados por límites de grano.

Las capas superficiales más o menos de 1 nm de espesor, las películas de un solo cristal de metal sobre una superficie de cristal único, sándwiches de tales estructuras y matrices de partículas de metal sobre una superficie no se han incluido en esta categoría, ya que se considera que son nanoestructuras. En el futuro, surgirá la necesidad de distinguir entre capas nanoestructuradas, nanocables autoensamblados, nanocristales, películas delgadas individuales, y recubrimientos hechos de nanocristales.

1.3.6. Estándares

Las mediciones industriales típicamente incluyen aquellos parámetros que son importantes para asegurar que un material o producto cumple con sus especificaciones; algunos de estos parámetros se determinan a menudo en la nanoescala²⁷. Por lo tanto, surge la necesidad de elaborar patrones de medida nanometrológicos adecuados (muestras de referencia incluidas)^{28,29}.

Las siguientes son las áreas específicas donde se requieren patrones de medición prácticas según el informe nanometrología publicado en el Boletín de Materiales Inteligentes en abril de 2002:

- Patrones y normas escritas que se incluyan en formato ISO para Especificaciones Geométricas del Producto (GPS, Geometric Product Specification).
- Instrumentación científica incluyendo microscopios de sonda de barrido (SMP), [SNOM (microscopía óptica de campo cercano) incluido], microscopio de barrido con electrones (SEM), microscopio de transmisión con electrones (TEM), interferometría de rayos X, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS), litografías EUV y VUV, microscopía de interferencia de láser, haz de iones centrado (FIB), y equipamiento para mediciones de desplazamiento y medidas de textura de la superficie.
- Métodos de medición validados (en particular, de metrología de máscara y metrología en oblea) y software de calibración nanometrológica.

²⁷ M. J. Poster, J. Small and M. T. Postek, Final report on Material Standards for Environmental Health and Safety for Engineered Nanoscale Materials, NIST. 2007.

²⁸ E. Lin, R. Watters, Certificate of analysis of SRM 2483 single-walled Carbon nanotubes (raw soot), NIST. 2011.

²⁹ ISO REMCO, ISO Guide 34:2009, General requirements for the competence of reference material producers, Geneva 20, Switzerland.

Tabla 3. Materiales de referencia disponibles actualmente para nanoobjetos, nanopartículas y nanomateriales³⁰

Descripción	Valor	Nombre MR	Tipo de MR
Patrones de contaminación absoluta (PCA): diámetro de esferas de poliestireno látex de oblea de Si	40 nm	PCA	MR
Patrones para tamaño de partículas (diámetro y número de partículas) medidas en líquidos utilizados para el control del proceso de lavado de los semiconductores y los dispositivos electrónicos de precisión, y la prueba de la Farmacopea Japonesa (JP)	168 nm	CLINTEX 017-10K	MR
Tamaño de partícula de poliestireno como patrón de diámetro de esfera	948 nm	GBW 12009	MR
Tamaño de partícula de poliestireno como patrón de diámetro de esfera	352 nm	GBW 12010	MR
Tamaño de partícula de poliestireno como patrón de diámetro de esfera	61 nm	GBW 12011	MR
Tamaño de partícula de dióxido de silicio como patrón de diámetro de esfera	951 nm	GBW 12013	MR
Tamaño de partícula de dióxido de silicio como patrón de diámetro de esfera	458 nm	GBW 12014	MR
Tamaño de partícula de dióxido de silicio como patrón de diámetro de esfera	296 nm	GBW 12015	MR
Tamaño de partícula de dióxido de silicio como patrón de diámetro de esfera	143 nm	GBW 12016	MR
Nanopartículas de sílice; control de calidad (desarrollo de métodos, pruebas de aptitud, y gráficas de control)	40 nm	IRMM-304	MR
Diámetro de esfera de nanopartículas de oro	10 nm	RM8011, RM8012, RM8013	CMR
Patrones de contaminación de sílice, esferas de sílice sobre oblea de Si se utilizan para calibrar instrumentos de tamaño y detector de partículas en la superficie de las obleas de silicio	100 nm	Silica Contamination Standard	MR
Esferas de poliestireno para diámetro de esfera	60 nm	SRM 1964	CMR
SRM1691 Esferas de poliestireno para diámetro de esfera	300 nm	SRM1691	CMR
Esferas de poliestireno para diámetro de esfera	100 nm	SRM1963a	CMR
Partículas estándar pequeñas diámetro medio: 29-814nm, diámetro de la esfera > 25 productos	29 nm	STADDEX SC-0030-A, SC-0050D	MR
Partículas estándar pequeñas, diámetro medio: 29-814nm, diámetro de la esfera > 25 productos	70 nm	STADDEX SC-0070-A, SC-0075D	MR
NANOMAG ® D-50-partículas de 100 nm con unión covalente de proteínas por activación con bromuro de cianógeno	50 nm	TN 09001	MR
NANOMAG SPIO ®-D partículas 50-100nm unión covalente de las proteínas mediante la activación de carbodiimida	50 nm	TN 790201	MR
Sílice coloidal en agua diámetro de esfera	19 nm	ERM-FD100	CMR
Materiales de Nano-alúmina (área superficial específica para estándar de referencia)	445.4 m ² ·g ⁻¹	GBW 13901	CMR
Materiales de Nano-alúmina (área superficial específica para estándar de referencia)	359.4 m ² ·g ⁻¹	GBW 13906	MR
Materiales de Nano-alúmina (área superficial específica para estándar de referencia)	515.3 nm	GBW 13907	MR
Dióxido de titanio (anatasa) Parte de CCI NM Repositorio	267 nm	NM-100	MR

³⁰ R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, “Nanometrology”, Encyclopedia Analytical Chemistry (2013) ISBN: 9780470027318

- Estándares de medida.
- Protocolos especiales para eludir la falta de adaptación de los métodos de medición desarrolladas originalmente para los materiales convencionales con el fin de evitar errores graves en la interpretación de los resultados de las medidas.

Hay una necesidad de seguir desarrollando estándares para la determinación de propiedades físicas y químicas (por ejemplo, tamaño y distribución de partículas, morfología y grado de agregación, solubilidad, estructura, y carga superficial)³¹, que son típicamente requeridos para caracterizar materiales, su idoneidad para usos específicos, y su consistencia.

Los patrones de calibración (muestras de referencia) son elementos cruciales de todas las técnicas de medición. Un número de muestras de calibración o de referencia están actualmente disponibles en el mercado que se pueden utilizar para calibrar instrumentos ópticos. La tabla 3 enumera materiales de referencia para medidas (bio)químicas de nano-objetos, nanomateriales y nanopartículas. La lista es una selección de la base de datos compilada por el BAM que se puede acceder en <http://www.nano-refmat.bam.de/en/>. Bases de datos adicionales de materiales de referencia para la nanotecnología publicado por COMAR y REMCO se pueden consultar en el sitio web European Reference Materials. Tipo de materiales de referencia: MR, material de referencia; MRC, material de referencia certificado; y MCC, material de control de calidad.

³¹ J. J. Shi, Y. F. Zhu, X. R. Zhang, W. R. G. Baeyens, A. M. Garcia-Campaña, Trends in Anal. Chem, 233 (2004) 351–360.

1.3.7. Técnicas nanométricas

En las tablas 4-6 se muestran las principales técnicas de caracterización nanométrica junto con sus potencial uso y sus limitaciones^{32, 33, 34, 35}. Las técnicas disponibles se han clasificado en tres grupos en función de si se proporciona información acerca de la estructura atómica, morfología del objeto, o propiedades electro-ópticas de los nanomateriales.

³² V. I. Troyan, M. A. Pushkin, V. M. Tronin, Meas. Techn, 51(2008) 992.

³³ National Institute Standard and Technology, Report on Investigation Reference Material 8011 Gold Nanoparticles; Nominal 10 nm Diameter. 2007.

³⁴ R. Zenobi, Anal. Bioanal. Chem, (2010) 1.

³⁵ P. A. Tada, Meas. Tech, 51(2008) 462.

Tabla 4. Técnicas que proporcionan información sobre la estructura atómica de los nanomateriales³⁶.

Técnica/rango	Nanoobjetos medidos	Propiedades medidas	Limitaciones y necesidades
Difracción de electrones Rango: escala nanométrica	Nanotubos y nanopartículas metálicas y de óxido de metal	Estructura cristalina	<ul style="list-style-type: none"> - Las medidas se llevan a cabo normalmente con microscopía TEM y/o SEM con difracción de electrones retrodispersados - Preparación muestra cuidadosa, requiere tiempo - Técnica cualitativa para determinar la simetría, poco precisa para determinar parámetros de red y posiciones atómicas - Difracción de electrones en TEM requiere alta interacción del analista
Espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDX)	Películas delgadas; nanopartículas; nanotubos; y ZnSe, CdS, y nanocristales CdSe	Composición química elemental	<ul style="list-style-type: none"> - EDX se acopla con un TEM o un SEM - Límite de detección es de 0,5% en peso a elementos pesados $\geq 11Z$ y 2% o más en elementos de peso $\leq 11Z$ - La urgente necesidad de análisis EDX cuantitativa es la razón de los proyectos en curso para desarrollar la base metodológica de esta metodología. - La trazabilidad de los sistemas de detección de EDX y fuentes de luz y el desarrollo de referencias universales son importantes
Espectroscopia de absorción de rayos X (XAS) Rango: 0.1 Å	Nanocables de óxido de hierro, nanopartículas y nanodiamantes	Información estructural local sobre un elemento de interés (incluso en muestras como polvo o disoluciones)	<ul style="list-style-type: none"> - Imposibilidad de distinguir entre la dispersión de átomos que varían poco en número atómico (C, N, O, S, Cl, Mn, y Fe) - Debe tenerse cuidado al decidir entre átomos que difieren en Z, ya que es posible obtener similares ajustes usando átomos retrodispersados con diferente Z (como Mn o Cl) estando a distintas distancias del átomo que absorbe - En picos de Fourier a distancias grandes se agrava el problema. El centros multinúcleo, no siempre es posible asignar inequívocamente un pico de Fourier a $>3A$ - El parámetro más fiable calculado con EXAFS. Sin embargo, el rango de datos que datos que puede registrarse limita la resolución a 0.1-0.2 Å, a veces por razones prácticas como la presencia del borde K de otro metal. - Dificultad para determinar cuando un pico de Fourier puede ajustarse a una distancia con un parámetro de desorden relativamente grande o dos distancias cada una de ellas con un pequeño parámetro de desorden. - Determinación de los números de coordinación número de backscatters es difícil. El factor Debye-Waller está fuertemente correlacionado con el número de coordinación y hay que utilizar otra información para reducir el rango. Esto es posible a partir de la curva de ajuste de análisis. - Es útil comparar el espectro de una muestra desconocida con modelos complejos conocidos y usar los parámetros Debye-Waller obtenidos del modelo complejo para el ajuste. - Este método funciona razonablemente bien cuando la estructura del sistema está bien modelada por complejos inorgánicos.
Difracción de neutrones Rango: escala nanométrica	Dendrimeros, nanocables y nanotubos de carburo de titanio	Estructura atómica y propiedades magnéticas superficiales	<ul style="list-style-type: none"> - En particular para la difracción de neutrones, que requiere muestras más grandes que para difracción de rayos X debido a la relativamente débil sección transversal de dispersión, la capacidad de utilizar muestras grandes puede ser crítica, pero nuevas fuentes de neutrones más brillantes están siendo construidas que pueden cambiar este panorama

³⁶ R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, “Nanometrology”, Encyclopedia Analytical Chemistry (2013) ISBN: 9780470027318

Tabla 5. Técnicas nanométrológicas que proporcionan información morfológica de los nano-objetos³⁷.

Técnica/rango	Nanoobjetos medidos	Propiedades medidas	Limitaciones y necesidades
Microscopía de barrido electrónico (SEM) Rango: profundidad 3 mm, resolución lateral 1-24 nm	Nanopartículas, nanotubos, nanohilos, nanocristales y nanofibras	Topografía, morfología, composición química y cristalografía	<ul style="list-style-type: none"> - La resolución espacial depende del tamaño del haz de electrones, que depende de la longitud de onda. La resolución está también limitada por el tamaño del volumen y la cantidad de material que interactúa con el haz de electrones. - Microscopios SEM son caros, grandes y deben estar en una sala libre de vibraciones. - El mantenimiento implica vigilar el voltaje, corrientes de las bobinas de electromagnéticas y circulación de agua fría - La preparación de la muestra puede producir artefactos. Deben ser detectados por el usuario - SEM está limitado a muestras sólidas suficientemente pequeñas como para poder introducirse en la cámara de vacío - SEM conlleva un pequeño riesgo de exposición a la radiación asociada con electrones que se dispersan de debajo de la superficie de la muestra
Microscopía de fuerza atómica (AFM) y microscopía de barrido de fuerza (SFM) Rango dinámico: profundidad 0.5-5 nm, resolución lateral 0.2-130 nm	Nanotubos, nanodiamantes, nanopartículas metálicas y de óxido de metal, puntos cuánticos, nanocristales, nanohilos y dendrímeros	Grano o tamaño de partícula, topología, propiedades mecánicas de superficie y rugosidad, características de fricción, superficies estructuradas, interacciones moleculares específicas, características magnéticas, y la densidad total de (valencia) estados electrónicos	<ul style="list-style-type: none"> - El campo de barrido lateral del SPM necesita ser incrementado a varias decenas de milímetros para permitir mediciones de gran área en superficies estructuradas, obvias y óptica - Conceptos multidimensionales inteligentes con mejores algoritmos de fusión de datos y la detección automática de posibles regiones de interés, ayudarán a llenar el gran rango dinámico y mejorar la eficiencia
Microscopía de transmisión electrónica Rango: resolución 0.5 Å	Nanoobjetos (0D, 1D, 2D y 3D)	Tamaño de partícula y forma, la información cristalográfica, defectos a escala atómica, fases presentan, y la orientación de la muestra	<ul style="list-style-type: none"> - La investigación sigue siendo necesaria para aumentar su versatilidad, manteniendo el coste del instrumento abajo y en los métodos para la preparación de muestras (métodos de sondas, tales como la FIB y microscopía de iones de helio están empezando a ser ampliamente utilizados), pero las rutinas de trazabilidad se encuentran en su infancia y tales métodos se utilizan por lo general sólo en el modo de imagen. - Algunos materiales no son estables al haz de electrones
Microscopía de barrido de campo cercano (SNOM) Rango: resolución lateral 20 nm, resolución vertical 2-5 nm	Puntos cuánticos, nanocifras funcionalizadas, y nanohilos de ZnO	Índice de refracción, estructura química y estrés local, propiedades dinámicas	<ul style="list-style-type: none"> - SNOM es vulnerable a artefactos producidos por rotura de la punta durante el barrido, contraste óptico desplazado o artefactos topológicos - Distancias de trabajo muy pequeña y gran profundidad de campo - Limitada al estudio de superficies - Inconclusivo para materiales blandos - Largos tiempos de escaneo para grandes áreas de la muestra o de imágenes de alta resolución.
Dispersión de rayos X de ángulo pequeño (SAXS) Rango: 1 µm a 2 nm	Nanovarillas, nanopartículas de plata, y ZnS	Forma y tamaño de macromoléculas, distancias características de	<ul style="list-style-type: none"> - Este rango de ángulo contiene información acerca de la forma y tamaño de macromoléculas, distancias características de materiales parcialmente ordenados, tamaño de poro, y otras propiedades. - SAXS es capaz de proporcionar información sobre macromoléculas de tamaño 5-25 nm y de distancias en sistemas parcialmente ordenados de hasta 150 nm
Microscopía de efecto túnel (STM) Rango: Profundidad 0.01 nm y resolución lateral 0.1 nm	Nanotubos, nanopartículas	tamaño, topología de la superficie, forma, rugosidad, defectos, estructuras, equipos y densidad local de estados	<ul style="list-style-type: none"> - No mide la altura de las características superficiales - Pobre sensibilidad química - Información específica de elementos generalmente imposible de obtener como la formación del enlace químico que perturba en gran medida los estados de valencia

³⁷ R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, “Nanometrology”, Encyclopedia Analytical Chemistry (2013) ISBN: 9780470027318

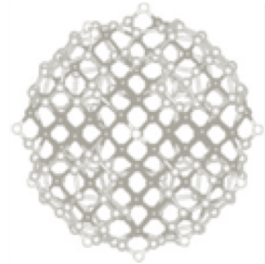
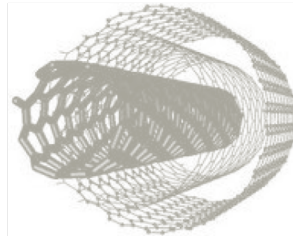
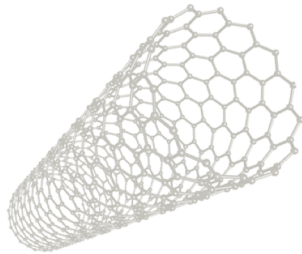
Tabla 6. Técnicas nanométricas que proporcionan información acerca de las propiedades electro-ópticas de nano-objetos³⁸.

Técnicas/rango	Nanoobjetos medidos	Propiedades medidas	Limitaciones y necesidades
Espectroscopia de electrones Auger Rango: Profundidad 0.3 nm, resolución lateral de 30 nm	Películas delgadas, óxido de indio, nanocables de ZnO, y carburo de silicio (SiC) nanopuntos	Composición química de las capas superficiales a niveles atómicos	<ul style="list-style-type: none"> - No puede detectar el hidrógeno o el helio, pero es sensible a todos los demás elementos, siendo más sensible a los elementos de bajo número atómico
Espectroscopia de polarización	Nanovarillas y nanocristales CdSe, nanocristales de PbS, NiO y nano poliacetileno	Orientación de excitación y emisión de transiciones y momentos dipolares	<ul style="list-style-type: none"> - Rango de frecuencia limitada. Respuesta no lineal (1 α N²) - Requiere, láseres rápidos de alta potencia
Espectroscopia de fotoluminiscencia (PL), espectroscopia de electroluminiscencia (EL), espectroscopia catodoluminiscencia (CL)	Puntos cuánticos, nanocables, nanopartículas, nanotubos	Defectos e impurezas	<ul style="list-style-type: none"> - Rango de frecuencia limitada. Respuesta no lineal (1 α N²) - Requiere, láseres rápidos de alta potencia
Volametría cíclica (CV) y voltametría de barrido lineal (LSV)	Nanovarillas, nanotubos de carbono, silicio, nanopartículas de Pt, fullerenos, y nanopartículas	Propiedades cinéticas y termodinámicas	<ul style="list-style-type: none"> - En voltametría cíclica, el potencial es barrido hacia atrás y adelante entre dos límites elegidos mientras que la corriente se registra continuamente y el potencial se cambia como una función lineal del tiempo. - En LSV, el rango de potencial se escanea a partir del potencial inicial y termina en el final

³⁸ R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, "Nanometrology", Encyclopedia Analytical Chemistry (2013) ISBN: 9780470027318

Capítulo 2

HERRAMIENTAS ANALÍTICAS



Para el desarrollo de la Tesis Doctoral se han empleado diferentes herramientas analíticas que se detallan a continuación, tal es el caso de nanomateriales, reactivos, la instrumentación y material de laboratorio empleado. Asimismo, se describen los procedimientos que se han empleado para la preparación de las muestras así como la funcionalización de las nanoestructuras.

2.1. Nanomateriales

Los nanomateriales empleados durante el desarrollo experimental de esta Tesis Doctoral se muestran a continuación.

Tabla 1. Características de los nanomateriales utilizados en la Tesis Doctoral.

Tipo de Nanoestructura	Dimensiones		Fabricante
	d (nm)	l (m)	
SWNTs	>2	5–15	Shenzhen Nanotech Port Co. Ltd (NTP)
MWNTs	110-170	2	Materials and Electrochemical Research Corporation (MER)
MWNTs	9.5	1.5	Nanocyl
MWNTs	5–20	1-10	Bayer
MWNTs	10-20	5–15	Shenzhen Nanotech Port Co. Ltd (NTP)
Nanodiamantes	4-6		NaBond Technologies Co., Ltd.

Las nanoestructuras de carbono que se emplearon fueron nanodiamantes (NDs) y nanotubos de una (SWNTs) y múltiples paredes (MWNTs). En la tabla 1, se describen las características de dichas nanoestructuras (d =diámetro, y l =longitud).

2.2. Reactivos

- Líquidos iónicos: 1-butil-3-metilimidazolio hexafluorofosfato (BMIM PF₆), de Sigma-Aldrich.
- Tensioactivos: Dodecil sulfato sódico (SDS), Tritón X-100, dodecil bencenosulfonato sódico (NaDBS), de Sigma-Aldrich y Brij (Riedel de Haen).
- Disolventes orgánicos: Metanol (Sigma-Aldrich y J.T. Baker), etanol (Fluka), tolueno, acetona y hexano (99.9%) de Sigma-Aldrich.
- Ácidos: ácido nítrico, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico, de Panreac;
- Bases: hidróxido sódico e hidróxido potásico, de Sigma-Aldrich.
- Agua ultrapura (MilliQ a través de un sistema Millipore).

2.3. Muestras

Las muestras para el desarrollo de la tesis fueron suspensiones de nanoestructuras, usando diferentes tecnologías y concentraciones. Se prepararon suspensiones en disolventes orgánicos, en líquidos iónicos y tensioactivos. Las suspensiones preparadas con diferentes agentes dispersantes se usaron para caracterizar o determinar alguna de las

propiedades de las suspensiones, o para explorar su potencial en el desarrollo de nuevos métodos de análisis.

2.4. Métodos de preparación de muestra.

Se utilizaron distintas tecnologías y métodos para la preparación de suspensiones de los nanomateriales empleados en esta Tesis Doctoral como objetos de estudio.

Los principales retos en la preparación de las suspensiones de nanomateriales son los siguientes:

- Obtener suspensiones homogéneas que permitan que cualquier muestra tomada de la suspensión sean representativa, para ello, es necesario que los nanomateriales se encuentren con un alto grado de dispersión. De esta manera, se obtienen medidas de nanomateriales individuales evitando la presencia de agregados.
- Obtener suspensiones con tiempos de estabilidad a largo plazo, de manera que las propiedades de la dispersión no cambien durante un tiempo suficiente para realizar una caracterización apropiada.

A continuación, se indican las tecnologías utilizadas para la preparación de las suspensiones:

- a) Suspensión en tensioactivos.
- b) Suspensión en líquidos iónicos.
- c) Suspensión en aceite mineral.
- d) Suspensión en disolventes orgánicos.

El desarrollo de las suspensiones fueron fabricadas usando un proceso de tres etapas de acuerdo a la figura 1.

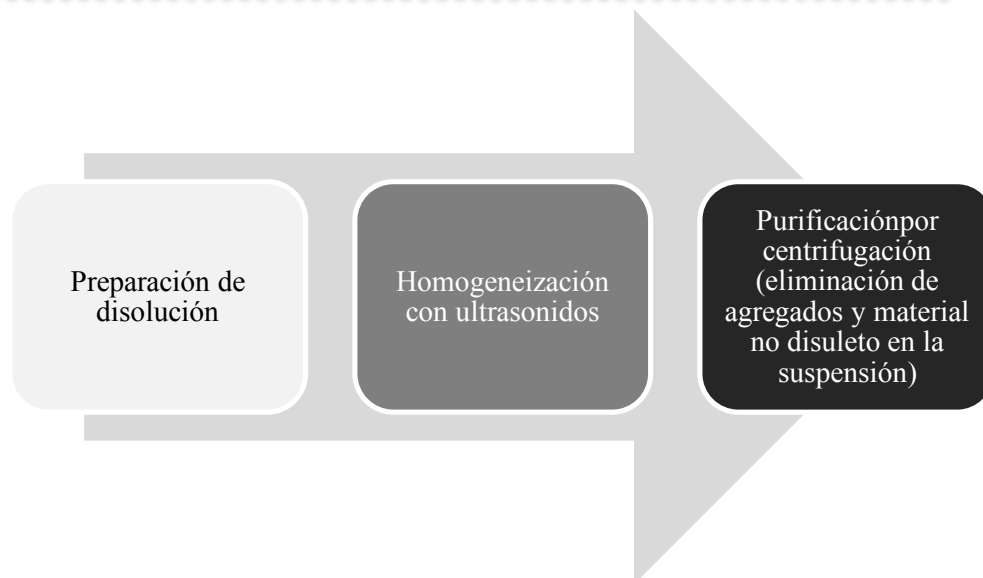


Figura 1. Esquema general para la preparación de la suspensión de nanomateriales.

2.5. Instrumentación

A continuación se describen los instrumentos empleados durante la Tesis Doctoral. Se han empleado tanto técnicas de separación, como la electroforesis capilar, así como técnicas microscópicas y espectroscópicas.

Electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas.

Sistema de electroforesis capilar de Agilent HP^{3D} (Waldbronn, Alemania) acoplada a un espectrómetro de masas Agilent 1100 Series LC/MSD mediante una interfaz API electrospray. Se empleó un capilar

de sílice fundido revestido (50 cm X 50 mm ID) de Beckman Coulter. El espectrómetro estaba equipado con un analizador de cuadrupolo. La configuración instrumental fue controlada, y los datos adquirieron y procesaron utilizando el software ChemStation de Agilent.

Microscopía electrónica de barrido (SEM).

Microscopía de barrido electrónico: (SEM) JEOL JSM 6300, acoplado con un espectrómetro de energía de rayos X (EDX), (Isaza, Alcobendas, España) con una capacidad de aumento de entre 70x y 300.000x y una resolución de 3~4 nm (a 30 Kv). Software Inca.

Este equipo se encuentra instalado en el SCAI de la Universidad de Córdoba.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Para el estudio del tamaño de la nanopartículas y nanoestructuras empleados en la Tesis Doctoral se empleó asimismo un microscopio de transmisión de baja resolución, modelo Philips CM-10, permitiendo aumentos de 18x a 450000x. Este equipo se encuentra instalado en el SCAI de la Universidad de Córdoba

Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HTEM).

Microscopio electrónico de transmisión de alta resolución JEOL JEM 2010 acoplado con un espectrómetro de energía de rayos X (EDX). Este equipo se encuentra instalado en el SCAI de la Universidad de Córdoba

Microscopio electrónico de transmisión de alta resolución FEI Tecnica E30 acoplado con un espectrómetro de energía de rayos x (EDX). Este

equipo se encuentra instalado en el Laboratorio Nacional de Investigaciones de Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) dentro del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) en México, el cual, fue utilizado durante la estancia técnica que se realizó en febrero del 2012.

Espectroscopia Raman

Se ha utilizado un microscopio Raman confocal (CRM) alpha500 de WITec GmbH, con opción para crear imágenes Raman de una superficie de la muestra.

Para la excitación se utilizó un láser de doble frecuencia de Nd:YAG de 532 nm (segundo armónico), que resulta en una profundidad de penetración en silicio de 0.5 μm . Los espectros Raman se registraron con una rejilla de difracción de 600 g/mm. El haz del láser se enfoca sobre la superficie de la muestra usando objetivos de 20x/0.4 de Zeiss y de 100x/0.95, 50x/0.80 en aire, y de 100x/1.25 de inmersión en aceite, de Nikon.

El microscopio confocal requiere una fuente de luz (láser), que se enfoca sobre la muestra. La luz reflejada (Raman) se recoge con el mismo objetivo y se enfoca hacia el detector. De esta manera sólo la señal procedente del plano focal llega al detector, lo que incrementa el contraste de la imagen y la resolución. El sistema combina la alta eficiencia del espectrómetro Raman con la alta resolución del microscopio óptico confocal, de manera que es posible combinar la información química con resolución lateral en el rango del sub-micrómetro.

Asimismo se ha empleado un espectrómetro MicroRaman DXR de Thermo Fisher, equipado con láser de 532 y 780 nm, 900 y 400 líneas/mm, 4 y 1 mW con lente objetivo de 10X. Se usó el accesorio muestreador microRaman LLC 208-9001-01 para mediciones directas en la suspensión. Este equipo se encuentra instalado en el Centro Nacional de Metrología, México. Este equipo fue usado para hacer la determinación del diámetro interno de los SWCNT, empleando los modos vibracionales obtenidos por Raman.

Analizador de tamaño de partícula y distribución de tamaño de partícula por dispersión de luz.

La técnica de luz dispersiva dinámica (DLS) es una técnica común para las mediciones de la distribución de tamaño de nano-objetos con 3 dimensiones externas, como los fullerenos, nanopartículas metálicas esféricas, etc. Esta técnica es de análisis global. Sus ventajas son el análisis de una gran población de nanopartículas, la preparación de la muestra es simple y un breve análisis del tiempo. Esta técnica se usó para la determinación del tamaño y distribución de tamaño de nanopartículas.

Se usó un Zetasizer Nano ZS90. El sistema DLS equipado con un láser rojo (633 nm) y un detector de fotodiodo de avalancha (APD) (quantum eficiencia > 50% al 633 nm, Malvern Instruments Ltd., Inglaterra). El software de aplicaciones 4.0 DTS se utilizó para analizar los datos.

Espectroscopia de fluorescencia en modo de nefelometría.

La intensidad de la dispersión de la luz es fuertemente dependiente del tamaño de partícula y de otros parámetros tales como la diferencia del índice de refracción entre las partículas y los medios de suspensión. La

nefelometría utiliza la luz dispersada a 90° o 180° , con respecto a la fuente de luz. La fuente de luz puede ser láser o luz monocromática.

El sistema utilizado fue un Espectrofluorímetro PT1 Quanta Master TM, de Photon Technology International, equipado con un 75 W xenón lámpara de arco corto y un detector PTM modelo 814 utilizado en modo de nefelometría. El software FeliX32 fue utilizado para fluorescencia adquirida y de proceso de datos y también para gobernar el espectrómetro.

2.6. Material de Laboratorio

- Rejillas de cobre (grid) como portamuestras del tipo Formvar y Lancey para la caracterización de las nanopartículas y nanoestructuras por técnicas de microscopía.
- Papel filtro de fibras de celulosa con tamaño de poro de 5 a 2 μm (Análisis vínicos, España).
- Membranas de acetato de celulosa de tamaño de poro de 0.2 μm (Sartorius Stedim Biotech, Alemania).
- Membranas de nylon de tamaño de poro de 0.45 μm (Supelco, USA).
- Microjeringa Hamilton de 250 μL (Análisis Vínicos, España).
- Micropipetas.
- Cubeta ultramicro de Hellma con un paso óptico de 10 mm.
- Material de vidrio de laboratorio, clase A.

- Cubetas desechables de poliestireno (DTS0012) 10 mm fue utilizado como contenedor de muestras.

2.7. Aparatos

- Ultracentrífuga controlada por microprocesador (Centronic BL-II, J.P.Selecta, Barcelona, España).
- Baño de ultrasonidos 50 W, 60 Hz (J.P. Selecta, Barcelona, España).
- Sonda ultrasonidos (disruptor) Vibracell™ 75041(750 W, 20 KHz, Bioblock Scientific, Illkirch, Francia), equipada con una sonda de 3 mm.
- pH-metro (Crison, modelo micropH 2000).
- Balanza analítica Cobos AI-220CB (Cobos, Barcelona, España).
- Balanza analítica de precisión OHAUS Explorer (OHAUS, Nänikon, Suiza).
- Equipo de agua Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EEUU).
- Sistema de microfiltración
- Agitador magnético (Velp Científica, Milán, Italia).
- Placa calefactora con agitación magnética Agimatic-N (J.P. Selecta, Barcelona, España).

2.8. Funcionalización de nanoestructuras

La funcionalización de los nanodiamantes (NDs) se llevó a cabo basándose en el método de carboxilación descrito por Cui¹.

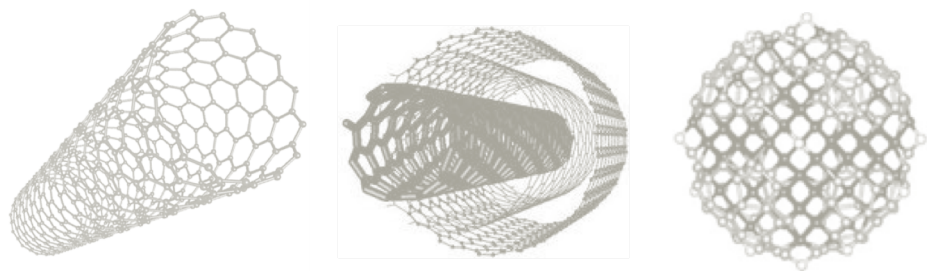
El tratamiento consistió en añadir 1 mg de NDs en una mezcla, 3:1, de ácido nítrico y ácido sulfúrico, seguido de tratamiento con ultrasonidos durante 6 horas. Después, la solución se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min para la separación de la solución de ácido residual. Enseguida, se aplicaron dos limpiezas por ultrasonidos y centrifugación con agua ultrapura. Los NDs sufrieron en la superficie una modificación por oxidación. El resultado del tratamiento de los NDs generó una superficie con grupos carboxilos que permitió que los ND permanecieran en suspensión.

Los nanodiamantes (NDs) funcionalizados se usaron como fase pseudo estacionaria en el proceso de separación e identificación de los nitroimidazoles por electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas.

¹ W. Xue, T. Cui, *Nanotechnology*, 18 (2007) 145709/1-145709/7

Capítulo 3

LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO COMO HERRAMIENTAS EN N&NA



El crecimiento y desarrollo de la nanociencia y nanotecnología también ha impactado a la Química Analítica. En Química Analítica se han explotado las propiedades de los nanomateriales, incluyendo el tamaño, para mejorar las características de los métodos analíticos o para desarrollar nuevos métodos que impliquen resultados más rápidos y con mayor exactitud.

Para lograr el beneficio completo de los nanomateriales es esencial eliminar el problema de la agregación, de esta forma las interacciones entre los analitos y las nanopartículas individuales se verán favorecidas¹.

Como ya se ha comentado previamente en la introducción, los nanomateriales han sido utilizados en diferentes etapas del proceso analítico: preparación de muestra, procesos de separación y en la detección (figura 1).

Preparación de muestra

Los nanomateriales usados en esta etapa han contribuido a la simplificación del proceso de preparación de la muestra y en el incremento de la selectividad. De entre los diferentes tipos de nanomateriales, las nanoestructuras de carbono son muy atractivas debido a sus excelentes propiedades, como su singular configuración

¹ M. Valcárcel, S. Cárdenas, B.M. Simonet, Y. Moliner-Martínez, R. Lucena, Trends Anal. Chem. 27 (2008) 34-43.

electrónica, la elevada densidad electrónica superficial (aromaticidad) y su alta área superficial.

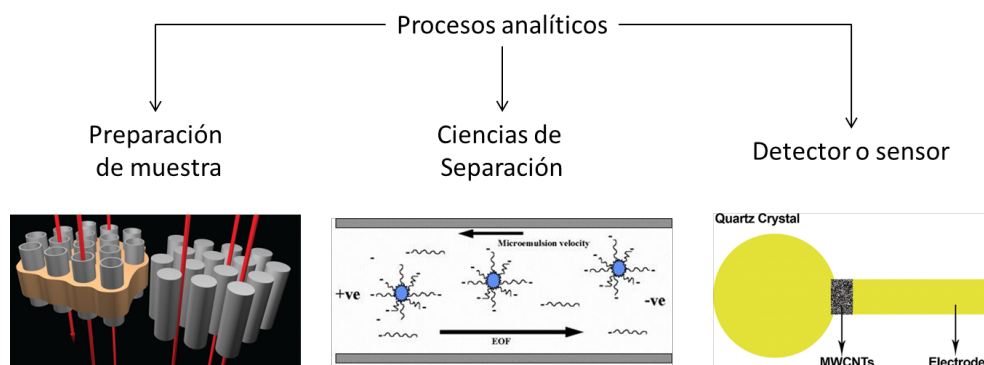


Figura 1. Etapas de los procesos analíticos donde se han empleado nanomateriales para mejorar los parámetros de los métodos de medida.

Por lo anterior, los nanotubos de carbono (CNTs) han sido de las nanoestructuras más utilizadas como materiales sorbentes, de hecho, han mostrado un comportamiento extraordinario en la extracción en fase sólida². Las características anteriores también favorecen la reactividad covalente (formación de derivados) y la no covalente (proceso de adsorción). Las nanopartículas cónicas de carbono, los nanocuernos de una capa³ o nanodiscos⁴ también han sido utilizados en (micro) extracción de fase sólida.

Además de la extracción en fase sólida, las nanoestructuras también se han utilizado en otros métodos de preparación de la muestra, entre ellos,

² B. Suárez, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, J. Chromatogr. A 1159 (2007) 203-207.

³ J.M. Jiménez-Soto, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Anal. Chim. Acta 714 (2012) 76-81.

⁴ J.M. Jiménez-Soto, S. Cárdenas, M. Valcárcel, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 5626-5633.

se encuentra la filtración con membrana, por ejemplo, las membranas compuestas o modificadas con CNTs^{5,6}. Su gran ventaja es que actúan como canales iónicos artificiales que proporcionan una gran selectividad. Otra ventaja sustancial es su gran permeabilidad; el flujo puede ser de 4 a 5 veces más rápido que el que se predice en la teoría general de fluidos⁷. Además, el carácter superconductor de los nanotubos de carbono permite el empleo de un diferencial de potencial, que puede facilitar tanto el flujo como las separaciones.

Los fullerenos⁸ han sido empleados como elementos de adsorción principalmente para muestras en estado gaseoso. Los nanodiamantes^{9,10} han sido usados en la preparación de muestras biológicas o en aplicaciones médicas.

Técnicas de Separación

Las técnicas de cromatografía por exclusión de tamaño y electroforesis capilar han usado exitosamente las nanoestructuras de carbono como medios de separación. Los mecanismos fundamentales de separación se basan en los diferentes coeficientes de partición del analito entre la fase pseudo-estacionaria y el fluido electroforético.

Las nanopartículas más empleadas en este contexto sin duda son los nanotubos de carbono de una pared o de múltiples paredes (SWNTs y

⁵ A.I. López-Lorente, M.L. Polo-Luque, M. Valcárcel, *Anal. Chem.* 85 (2013) 10338-10343.

⁶ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Anal. Chem.* 82 (2010) 5399-5407.

⁷ M. Majumder, N. Chopra, R. Andrews, B.T. Hinds. *Nature*, 438, (2005) 44.

⁸ E. Ballesteros, M. Gallego, M. Valcárcel. *J. Chromatogr. A.*, 869 (2000) 101-110.

⁹ Pozdnyakova, I. O. *Physics of the Solid State*, 46(4) (2004), 758-760.

¹⁰ Fu, Chi-Cheng, et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.3 (2007): 727-732.

MWNTs) funcionalizados o no. También se han empleado los fullerenos C_{60} , pero en menor proporción¹¹. Ambos pueden actuar tanto como verdaderas fases estacionarias o como fases pseudo-estacionarias en las diversas modalidades de las ciencias de separación.

Las modalidades electroforéticas denominadas cromatografía electrocinética capilar (EKC) y cromatografía electrocinética micelar (MEKC) se han revelado como una alternativa muy útil a la electroforesis capilar (CE) convencional, ya que, además de explotar las diferencias en la migración de las especies dentro de un campo eléctrico, aprovecha las interacciones diferenciales adicionales entre las especies y la fase pseudoestacionaria presente en la fase móvil electroforética, tanto acuosa como orgánica. En este sentido, la inclusión de nanomateriales en la fase pseudoestacionaria ha sido un campo de investigación muy activo, introduciéndose nanopartículas de carbono tales como CNTs, fullerenos o grafeno. Esta modalidad se ha denominado en la literatura como cromatografía electrocinética micelar con dispersión de nanopartículas (MiNDECK), ya que en la mayoría de los casos los nanomateriales se dispersan con ayuda de tensioactivo por lo que micelas de los mismos estarán presentes en el buffer electroforético y contribuirán junto con las nanopartículas a una mejora de la resolución electroforética.

Sistemas de detección

La detección es la etapa del proceso analítico donde se han usado más extensamente las nanoestructuras de carbono.

¹¹ Pyrzyńska, K. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(7), (2010) 718-727.

Los sensores basados en CNTs se pueden utilizar para detectar cambios en sus propiedades electrónicas resultante de la absorción de moléculas en su superficie. Las propiedades electrónicas de los nanotubos de carbono han fomentado su uso como electrodos para medir reacciones de transferencia de electrones entre especies electroactivas en disolución¹². La combinación entre nanopartículas de oro y nanotubos de carbono puede mejorar las propiedades electrocatalíticas de los electrodos¹³.

Los CNTs también han sido utilizados como componentes en instrumentos de medida¹⁴. En estos casos, se han explotado principalmente sus propiedades físicas, entre las que se incluyen, sus propiedades eléctricas, térmicas y mecánicas.

En este capítulo, en el apartado 3.1., se presenta una investigación sobre la capacidad de la fase pseudo estacionaria creada con nanodiamantes oxidados y micelas de tensioactivo para la separación de analitos mediante electroforesis capilar acoplada con espectrometría de masas.

¹² M. Trojanowicz, Trends Anal. Chem. 25 (2006) 480-489.

¹³ J. Manso, M.L. Mena, P. Yáñez-Sedeño, J. Pingarrón, J. Electroanal. Chem. 603 (2007) 1-7.

¹⁴ Vaseashta, A., and D. Dimova-Malinovska. Science and Technology of Advanced Materials 6, no. 3 (2005): 312-318.

3.1. Empleo de nanodiamantes oxidados como fase pseudoestacionaria en la separación electroforética de nitroimidazoles

Las excepcionales propiedades de los nanodiamantes (NDs) han permitido el desarrollo de métodos de separación de biomoléculas y medicamentos. En este trabajo se ha desarrollado un método electroforético para la separación de nitroimidazoles (NDZ) usando NDs oxidados (o-NDs) con diámetros de 2-4 nm como fase pseudoestacionaria (FPE) en un sistema de electroforesis acoplado mediante una interfaz de electrospray con espectrometría de masas (CE-ESI-MS). Los NDs usados como FPE fueron funcionalizados mediante tratamiento en medio ácido. Los analitos fueron una mezcla de metronidazol (MNZ), dimetridazol (DZN) y ronidazol (RZN). Se observaron buenos tiempos de migración y una mejora en la separación utilizando un buffer electroforético (BGE) modificado con o-NDs así como el tensioactivo dodecil sulfato sódico (SDS). Con esta combinación se desarrolló un método de cromatografía electrocinética micelar con dispersión de nanopartículas (MiNDECK). Se observó buena compatibilidad entre CE y MS ya que los o-NDs no causaron perturbación en el electrospray, que se mantuvo estable. Este trabajo supone el empleo por primera vez de o-NDs como FPE en CE-ESI-MS.

1. Introducción

El diamante es uno de los alótropos del carbono con una estructura cristalina cúbica centrada en las caras (FCC), también conocida como la red diamante. Consiste en un tetraedro de átomos de carbono con una configuración sp^3 en contraste con otro alótropo del carbono, grafito, cuya configuración es sp^2 .

Recientemente, los nanodiamantes han atraído la atención por sus maravillosas propiedades heredadas del diamante en combinación con su carácter nanométrico^{1,2}. Los nanodiamantes se han utilizado como fase estacionaria, por ejemplo, en cromatografía de líquidos^{3,4}, dada su gran estabilidad mecánica a altas presiones, su estabilidad hidrolítica en un amplio rango de pH así como su estabilidad térmica. Las propiedades de adsorción de los materiales son cruciales para la creación de fases pseudoestacionarias (FPE), y dadas las excelentes propiedades adsorbentes de los nanodiamantes, se postulan como candidatos para el desarrollo de las mismas. Otros nanomateriales de carbono, como los nanotubos de carbono⁵, fullerenos⁶ o grafeno⁷, también se han empleado como fases pseudoestacionarias en electroforesis generalmente combinados con tensioactivos, lo que se ha denominado como

¹ V. N. Mochalin, O. henderova, H. D. O., Y. Gogotsi, *Nature Nanotechnol.* 2 (2012) 11.

² J. Houska, N. R. Panyala, E. M. Pena-Mendez, J. Havel, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 1125.

³ P.N. Nesterenko, O.N. Fedyanina, Y.V. Volgin, *Analyst* 132 (2007) 403

⁴ P. N. Nesterenko, O. N. Fedyanina, *J Chromatogr. A* 1217 (2010) 498.

⁵ B. Suárez, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 28 (2007) 1714.

⁶ Y. Moliner-Martínez, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J Chromatogr A* 1167 (2007) 210.

⁷ S. Benítez-Martínez, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 34 (2013) 2561.

cromatografía electrocinética micelar con nanopartículas dispersas (MiNDECK), observándose una mejora en la resolución electroforética.

Con el fin de explotar al máximo la interacción de los nanodiamantes con los analitos es deseable que éstos se encuentren dispersados de forma individual. Una propiedad interesante de los NDs es la posibilidad de unir grupos funcionales en la superficie, como grupos carboxílicos, evitando la agregación de los mismos^{8, 9, 10}.

Por otro lado, desde los años 90, el uso de nitroimidazoles (NDZ) en la producción de alimentos de origen animal está prohibido por la Unión Europea, ya que dichos compuestos y sus metabolitos han demostrado ser genotóxicos¹¹ con propiedades cancerígenas y mutagénicas¹². En este sentido, la Comisión Regulatoria 37/2010 establece que ningún residuo de cualquiera de los nitroimidazoles debe encontrarse en los productos animales destinados al consumo humano en la Unión Europea¹³. Sin embargo, todavía se utilizan como medicamentos veterinarios antimicrobianos en algunos países según el portal de alertas públicas para alimentos en el Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos (RASFF). Además, los NDZ y sus metabolitos son muy solubles en agua

⁸ C. H. Hung, L. A. Wiest, B. Singh, A. Diwan, M. J. Valentim, J. M. Christensen, R. C. Davis, A. J. Miles, D. S. Jensen, M. A. Vail, A. E. Dadson, M. R. Linford, *J Sep. Sci.* 36 (2013) 3821.

⁹ S. Rojas, J. D. Gispert, R. Martin, S. Abad, C. Menchon, D. Pareto, V. M. Victor, M. Alvaro, H. Garcia, J. R. Herance, *ACS Nano* 5 (2011) 5552.

¹⁰ Y. Liang, T. Meinhardt, G. Jarre, M. Ozawa, P. Vrdoljak, A. Scholl, F. Reinert, A. Krueger, *J Colloid Interface Sci.* 354 (2011) 23.

¹¹ M. Ikbal, G. Yilmaz, H. Dogan, M.Y. Alp, A.H. Cebi, *Drug. Chem. Toxicol.* 34 (2011) 162.

¹² M. De Méo, P. VAnelle, E. Bernadini, M. Laget, J. Maldonado, O. Jentzer, M.P. Crozet, G. Duménil, *Environ. Mol. Mutagenesis* 19 (2006) 167.

¹³ EU (2010) Commission Regulation (EU) No. 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off J Eur Union* L15:1–72

y su biodegradación es baja, de modo que su presencia en los efluentes en granjas de peces y de la industria cárnica pueden producir su bioacumulación¹⁴, lo que supone un problema ambiental.

La determinación de este tipo de compuestos se ha llevado a cabo mediante cromatografía de líquidos (LC) acoplado a espectrometría de masas^{15, 16} o UV¹⁷. Asimismo, se han usado también la cromatografía de gases (GC)¹⁸, técnicas de inmunoensayo ELISA¹⁹ y sensores ópticos²⁰ para este propósito. Se han descrito también el uso de la electroforesis capilar de zona (CZE)²¹ así como la cromatografía electrocinética micelar (MEKC)^{22, 23}, la cromatografía electrocinética en microemulsión (MEEKC)²⁴ y CE-ESI-MS en dos dimensiones²⁵ para la determinación de algunos compuestos del grupo de los nitroimidazoles en distintas matrices.

¹⁴ M. Hernández-Mesa, D. Airado-Rodríguez, C. Cruces-Blanco, A. M. García-Campaña, *J. Chromatogr. A* 1341 (2014) 65.

¹⁵ L.F. Capitán-Vallvey, A. Ariza, R. Checa, N. Navas, *J Chromatogr A* 978 (2002) 243.

¹⁶ X. Xia, X. Li, S. Ding, S. Zhang, H. Jiang, J. Li, J. Shen, *Anal Chim Acta* 637 (2009) 79.

¹⁷ M.J. Sams, P.R. Strutt, K.A. Barnes, A.P. Damant, M.D. Rose, *Analyst* 123 (1998) 2545.

¹⁸ J. Polzer, C. Stachel, P. Gowik, *Anal Chim Acta* 521 (2004) 189.

¹⁹ A. Huet, L. Mortier, E. Daeseleire, T. Fodey, C. Elliott, P. Delahaut, *Anal Chim Acta* 534 (2005) 157.

²⁰ C.S. Thompson, I.M. Traynor, T.L. Fodey, S.R.H. Crooks, *Anal Chim Acta* 637 (2009) 259.

²¹ W. Jin, W. Li, Q. Xu, Q. Dong, *Electrophoresis* 21 (2000) 1409.

²² M. Hernández-Mesa, C. Cruces-Blanco, A.M. García-Campaña, *Anal. Bioanal. Chem.* 404 (2012) 297.

²³ L. Nozal, L. Arce, B.M. Simonet, A. Ríos, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 27 (2006) 3075.

²⁴ L. Nozal, L. Arce, B.M. Simonet, A. Ríos, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 27 (2006) 4439.

²⁵ B. Santos, B.M. Simonet, A. Ríos, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 28 (2007) 1345.

El dimetridazol (DNZ), metronidazol (MNZ) y ronidazol (RNZ) son conocidos como medicamentos antibacteriales sintéticos del grupo de los nitroimidazoles. Las moléculas de los diferentes nitroimidazoles tienen características muy similares, por lo que surge la necesidad de desarrollar procesos de separación eficientes^{26, 27}. La figura 1 muestra la estructura de los tres analitos. En este trabajo se ha investigado el uso de nanodiamantes oxidados como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas para la separación de dichos compuestos.

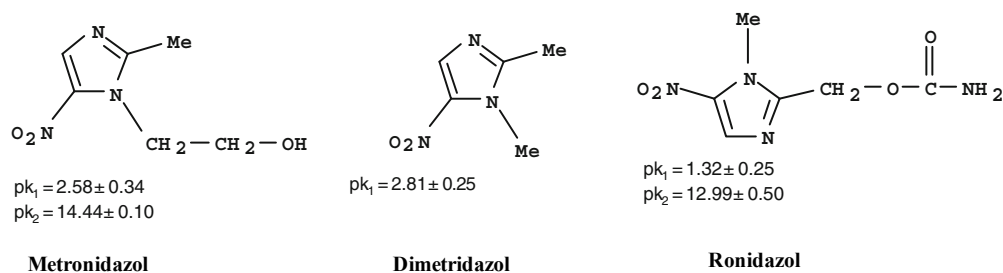


Figura 1. Estructura y valores de pK (logaritmo de las constantes de disociación ácidas) de los distintos nitroimidazoles estudiados: metronidazol, dimetridazol y ronidazol²².

2. Experimental

2.1. Reactivos

Nanodiamantes con propiedades hidrofílicas (diámetro 3.2 nm) fueron suministrados por NaBond (Shenzhen, China). Los nitroimidazoles

²⁶ S.A.A. Rizvi, J. Zheng, R.P. Apkarian, S.N. Dublin, S.A. Shamsi, Anal. Chem. 79 (2007) 879.

²⁷ M. Sánchez-Polo, J. Rivera-Utrilla, G. Prados-Joya, M. A. Ferro-García, I. Bautista-Toledo, Water Res. 42 (2008) 4163.

metronidazol MNZ, dimetridazol DNZ y ronidazol RNZ se compraron a Panreac (Barcelona, España). Ácido sulfúrico (95%) y ácido nítrico (69%) se obtuvieron también de Panreac (Barcelona, España). Metanol de grado HPLC, acetato de amonio, hidróxido de sodio, y dodecil sulfato de sodio se compraron a Sigma (Barcelona, España). El ácido fórmico se obtuvo de Fluka Analytical.

Las disoluciones individuales y la mezcla de nitroimidazoles fueron preparadas a una concentración de 1 g/L en metanol y almacenada a 4°C.

El agua usada en la preparación de las disoluciones, buffer y líquido de arrastre fue agua purificada en el sistema Milli-Q (EEUU).

2.2. Instrumentación

Se ha utilizado para este trabajo un sistema de electroforesis capilar acoplado a un espectrómetro de masas a través de una interface de electrospray de la marca Agilent serie 1100. El espectrómetro de masas es un cuadrupolo y la interface es del modelo G1607 de Agilent. Los programas CE-MSD y ChemStation fueron empleados para controlar el instrumento y para el registro y análisis de datos. El líquido de arrastre (*sheath liquid*) fue liberado usando una bomba isocrática de la serie Agilent 1100 del tipo HPLC, equipada con un divisor de flujo 1:100. Se utilizó nitrógeno como gas de nebulización y de secado.

La caracterización de los nanodiamantes se llevó a cabo con un Raman portátil de la marca B&W Tek Inc., (Lübeck, Alemania), conocido como Inno-Ram con una longitud de onda de 785 nm y una potencia máxima de salida del láser en el puerto de excitación del sistema de 348 mW y 285 mW en la sonda. Asimismo se ha utilizado un microscopio de

barrido electrónico JEOL JSM 6300 acoplado con detector de energía dispersiva de rayos X (EDX) controlado con el software INCA Oxford.

2.3. Modificación química de la superficie de los nanodiamantes

Los NDs adquiridos comercialmente se sometieron a un tratamiento ácido para generar en su superficie grupos carboxilos, potenciando así las interacciones con los analitos. El tratamiento ácido consistió en la adición de 1 mg de NDs en una mezcla 3:1 de ácido nítrico y ácido sulfúrico. La mezcla fue sometida a ultrasonidos durante 6 h. Posteriormente la suspensión se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min. El sobrenadante fue eliminado y el depósito se limpió dos veces con agua purificada mediante ultrasonidos y centrifugado.

2.4. Condiciones electroforéticas

Se empleó capilar de sílice fundida recubierto con una longitud total de 50 cm (longitud efectiva 40 cm) y un diámetro interno de 50 μm , que se mantuvo a 20°C. El capilar fue acondicionado por primera vez haciendo pasar una disolución 1 M de HCl (5 min), disolución 0.1 M de NaOH (10 min) y agua ultrapura (5 min). Antes de cada medida, el capilar se limpió con 0.1 M NaOH (5 min), agua ultrapura (10 min) y buffer de separación (10 min). Al final del día el sistema se limpió con agua ultrapura durante 10 min a 2 bar.

La muestra fue agregada al buffer modificado (BGE 3.2) y se inyectó a 50 mbar durante 2 s, enseguida se inyectó buffer (BGE 2) (5 s a 50 mbar). La separación se llevó a cabo a 20 kV y a una temperatura de 20°C. La corriente se mantuvo a 50 μA . Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente dentro del automuestreador.

La separación electroforética se realizó en el polo positivo y la detección en el espectrómetro de masas se realizó bajo las siguientes condiciones: voltaje de fragmentación 70V, presión del nebulizador 10 psi, flujo del gas de secado 5 L/min, temperatura del gas de secado 100 °C y voltaje del capilar de 4 kV.

2.5. Preparación del buffer electroforético

El electrolito de arrastre o fondo (BGE-1) se preparó con una disolución 15 mM de acetato de amonio (NH_4OAc). Estas disoluciones se ajustaron a pH de 4 y 8, con disoluciones de HCl y con NaOH respectivamente.

La primera modificación que se realizó al BGE fue la adición del tensioactivo dodecil sulfato sódico (SDS) (BGE-2). Las concentraciones de SDS que se probaron fueron 50 y 100 mM, ambas a un pH=8.

La segunda modificación del BGE consistió en adicionar NDs como nanopartículas dispersas en el BGE-2. Se probaron nanodiamantes con y sin tratamiento ácido de oxidación. Los NDs sin tratamiento fueron agregados directamente en el BGE-2 en una concentración de 10 mg/L (BGE-3.1) y se homogenizó mediante ultrasonidos (Bransonic 3510, 100W, 42 kHz, EEUU).

Asimismo se adicionaron o-NDs dentro del denominado BGE-2, la preparación consistió en lo siguiente: adición de o-NDs en una concentración de 13 mg/L en una disolución 100 mM SDS y 15 mM NH_4OAc (BGE-3.2.). Dicho buffer se ajustó a un pH 8 y se sometió a un baño de ultrasonidos en proceso similar al llevado a cabo con los nanodiamantes sin modificar (Bransonic 3510, 100W, 42 kHz, EEUU). El buffer electroforético se remplazaba cada 10 análisis.

2.6. Preparación del líquido envolvente

Se preparó una disolución de proporción 1:1 entre agua ultrapura y metanol grado HPLC, después se agregó ácido fórmico hasta alcanzar una concentración de 1% vol. La disolución fue inyectada a un flujo de 0.4 mL/min. La disolución de líquido envolvente se preparó semanalmente para evitar bloqueos y asegurar que la interface y fuente de ionización (ESI) estuviera en condiciones óptimas.

3. Resultados y discusión

En este trabajo se ha investigado la utilidad de o-NDs como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas para la separación de nitroimidazoles. Para ello se ha estudiado el proceso de separación utilizando *buffers* electroforéticos (BGE) sin modificar y modificados con tensioactivos (MEKC) y/o nanopartículas (MiNDECK).

En cromatografía electrocinética micelar (MEKC) los analitos se separan en base a su diferente partición entre micelas (fase pseudoestacionaria) y el buffer acuoso. Para ello se introducen micelas de tensioactivo a una concentración superior a su concentración micelar crítica en el buffer electroforético. Normalmente en MEKC se usan medios básicos para generar un mayor flujo electroosmótico. El tensioactivo sodio dodecilsulfato, SDS, es el que se emplea más comúnmente en esta modalidad electroforética. El carácter aniónico de los grupos sulfato del tensioactivo provocan que la movilidad electroforética de las micelas sea contraria a la dirección del grupo electroosmótico, migrando de forma más lenta. Los analitos se distribuyen entre el interior hidrofóbico de la micela y la disolución hidrofílica del buffer.

Por otro lado, en MiNDECK, se usa una fase pseudoestacionaria compuesta por un medio micelar combinado con nanopartículas dispersadas en el mismo. Esta modalidad permite una mejora de la resolución debido a las interacciones entre los analitos y las nanopartículas. En nuestro caso pueden producirse interacciones hidrofóbicas de tipo π - π o de van der Waals entre el analito y los nanodiamantes dispersados en el buffer.

3.1. Caracterización de los nanodiamantes

Se ha llevado a cabo la caracterización de los nanodiamantes usados como fase pseudoestacionaria antes y después del tratamiento ácido mediante microscopía de barrido electrónico (SEM) acoplada con un analizador de energía dispersiva de rayos X (EDX) así como mediante espectroscopia Raman.

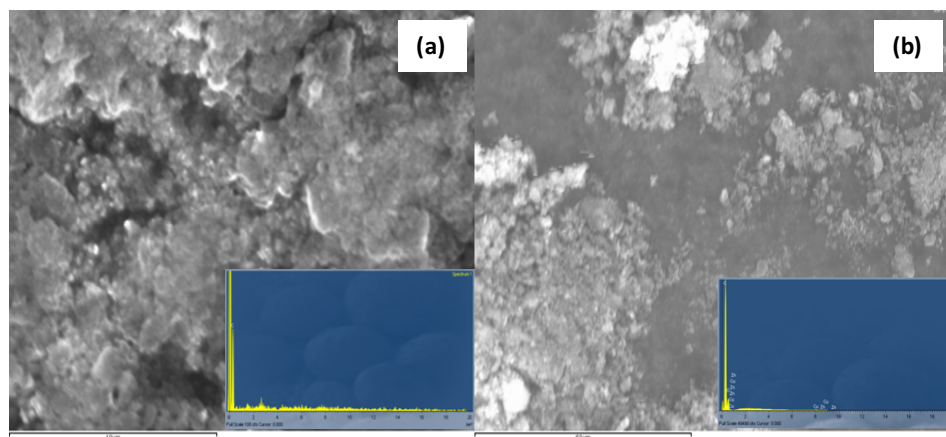


Figura 2. Imágenes SEM y análisis EDX de polvo de nanodiamantes (a) con tratamiento ácido, (b) sin tratamiento.

La figura 2 muestra las imágenes SEM obtenidas para las dos muestras así como el resultado del análisis de EDX. Los NDs funcionalizados presentan un alto contenido de oxígeno como resultado del tratamiento ácido, que genera grupos carboxílicos en la superficie de los mismos. Los NDs presentaron niveles de agregación elevados ya que se trataba de muestra en polvo y no una dispersión de los mismos.

Los espectros Raman de los NDs con y sin tratamiento ácido se muestran en la figura 3. La espectroscopia Raman proporciona información sobre la estructura, composición y homogeneidad del material, así como de la presencia de grupos funcionales. Se ha asociado el pico a $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ en el espectro de nanodiamantes a vibraciones de grupos O-H²⁸. El espectro de polvo de nanodiamante con un alto contenido en carbono sp^2 está dominado por la presencia de las bandas D (1350 cm^{-1}) y G del carbono grafítico²⁹ y la señal del diamante ($\sim 1332\text{ cm}^{-1}$) es débil. Al aumentar el contenido de carbono sp^3 , la intensidad de la banda del diamante aumenta, mientras que la banda D disminuye¹⁴. Como puede observarse en la figura 3, el espectro Raman de los nanodiamantes oxidados mostró una mayor intensidad en la banda O-H a 1640 cm^{-1} respecto a los nanodiamantes sin tratamiento ácido.

²⁸ V. N. Mochalin, O. henderova, H. D. O., Y. Gogotsi, Nature Nanotechnol.2 (2012) 11.

²⁹ A.C. Ferrari, J. Robertson, Phil. Trans. R. Soc. Lond. A 362 (2004) 2477.

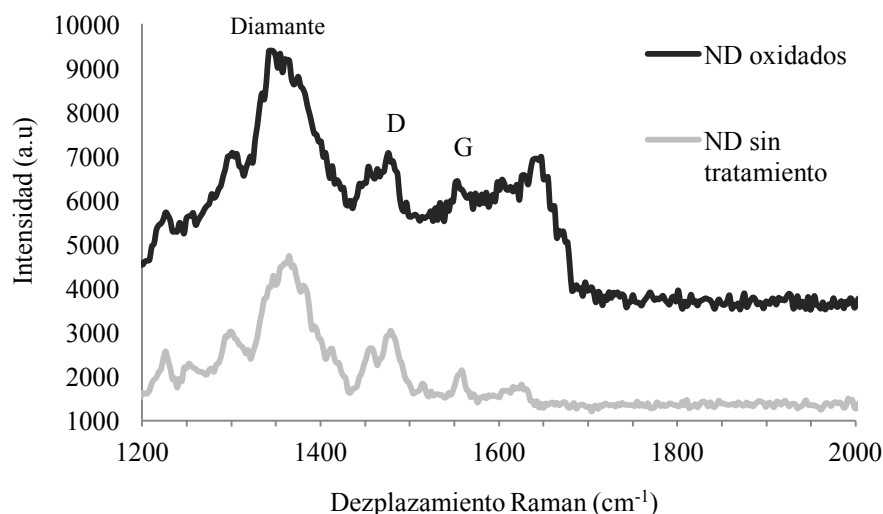


Figura 3. Espectros Raman de nanodiamantes en polvo, en azul NDs tras ser sometidos a tratamiento ácido y en verde NDs sin tratamiento.

3.2. Efecto del pH en el BGE

El pH del BGE es clave en la separación ya que determina el grado de ionización y por lo tanto la movilidad relativa de los diferentes analitos y debe poseer una buena capacidad tamponante al pH de trabajo. La magnitud del flujo electroosmótico (EOF) es otro parámetro clave que depende del pH del buffer usado. La modificación del pH del BGE es el modo más eficaz de variar la velocidad del EOF pero hay que tener en cuenta que también afecta a la carga del analito y por tanto a su movilidad.

Basándonos en los valores de pK_a de los analitos estudiados (figura 1), los nitroimidazoles son neutros en un amplio rango de pH a partir de valores alrededor de 4, por lo migrarán con el flujo electroosmótico.

Se partió de un buffer acetato de amonio (NH_4OAc) 15 mM (BGE-1) y se estudió el pH a valores entre 4 y 8. A pH ácidos sólo se observó un pico, de modo que no se produjo la separación de los tres compuestos, mientras que a pH básico se observó una separación parcial de los tres compuestos presentes en la muestra, como puede verse en la figura 4. Valores bajos de pH resultan en un flujo electroosmótico bajo, y por lo tanto, un mayor tiempo de análisis. En cambio, a pH muy básicos se obtiene un gran EOF, que no es deseable para posteriores estudios que implican en uso de micelas de tensioactivo, ya que se corre el riesgo de que éstas lleguen al detector del espectrómetro de masas. Por tanto, se seleccionó pH 8 como óptimo para posteriores estudios.

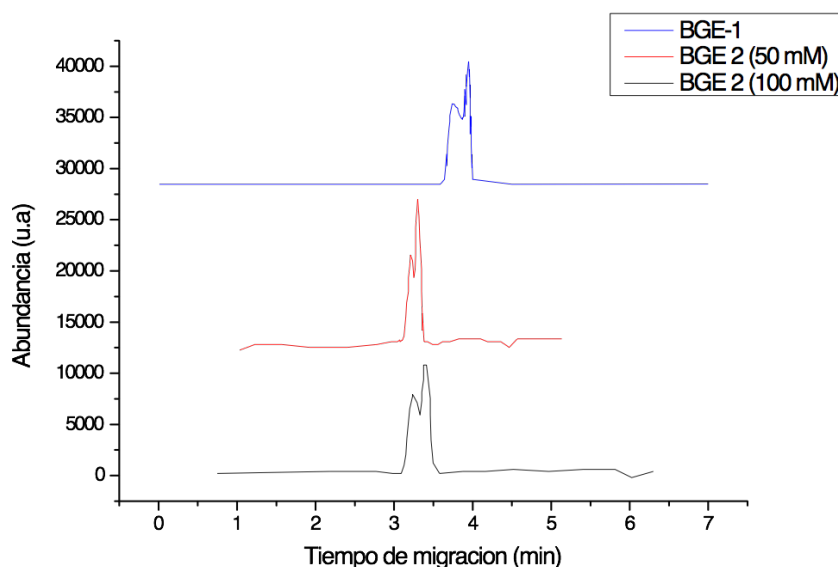


Figura 4. Electroferogramas obtenidos con los BGE-1 y BGE-2, donde se alcanza una separación parcial de los tres analitos presentes en la muestra. BGE-1: NH_4OAc 15 mM a pH 8. BGE-2: NH_4OAc 15 mM con 50 mM y 100 mM de SDS, respectivamente, a pH 8.

3.3. Efecto de adición de tensioactivo

La primera modificación que se hizo al buffer electroforético fue la adición de tensioactivo. La adición de micelas de tensioactivo –dodecil sulfato sódico (SDS) en este caso- en el BGE cuando se utiliza un espectrómetro de masas como detector puede conducir a un mal funcionamiento de la interface por exceso de residuos del SDS (ensuciamiento), por tanto se seleccionaron unas condiciones en las que se evitó la llegada de las micelas al detector. En este sentido no es aconsejable usar concentraciones de SDS muy elevadas (>150 mM) para evitar problemas con el detector del MS y no alargar en exceso el tiempo de análisis.

Las concentraciones de SDS que se probaron fueron las siguientes: 50 y 100 mM, ambas a un pH=8 (BGE-2). En ambos casos, como puede verse en la figura 4, no se logró la separación completa de los tres analitos, observándose únicamente una banda desdoblada. En este caso, los analitos interaccionan con las micelas de tensioactivo, lo que implica diferencias en la migración electroforética.

El objetivo de este estudio era evaluar el efecto del uso de nanodiamantes como fase pseudoestacionaria en la separación electroforética de los tres nitroimidazoles, por lo que no se estudiaron concentraciones diferentes de electrolito que pudieran conllevar a la separación de los analitos mediante MEKC, como previamente se había descrito en la literatura³⁰. De este modo, se observa un mayor efecto en la separación. No obstante, la optimización de la concentración del electrolito (acetato amónico) así

³⁰ B. Santos, B.M. Simonet, A. Ríos, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 28 (2007) 1345.

como la concentración de micelas en la fase pseudoestacionaria permitiría la separación de los analitos mediante esta modalidad.

3.4. Efecto de la adición de nanodiamantes

El buffer electroforético fue de nuevo modificado con dos tipos de nanodiamantes -con y sin tratamiento ácido- a una concentración de 13 y 10 mg/L, respectivamente. De este modo, además de las interacciones con las micelas de tensioactivo, se producirán interacciones de los analitos con los nanodiamantes presentes en la fase pseudoestacionaria. Así, la adición de nanopartículas de carbono al buffer electroforético permite la interacción de los analitos mediante interacciones hidrofóbicas (π - π *stacking* o fuerzas de van der Waals), que ocurren en la superficie de la nanopartícula, o interacciones con los grupos polares de las nanopartículas funcionalizadas³¹.

Los NDs sin tratamiento ácido lograron sólo la separación parcial de los analitos. Además, generaron bloqueos dentro del capilar y caídas de voltaje. Esto sugiere que los NDs sin funcionalizar no se dispersaron de manera adecuada, formándose agregados. Los resultados obtenidos con este tipo de nanopartículas se pueden ver en la figura 5. Se observa un efecto en la detección de los analitos, principalmente para MNZ y RNZ.

Por otro lado, los o-NDs mostraron su eficiencia en la separación de los tres compuestos, como puede observarse en la figura 5. La presencia de grupos carboxilos en la superficie de los nanodiamantes ayudó a la dispersión de los mismos en el buffer electroforético evitando bloqueos del capilar e incompatibilidades con la detección. Asimismo, la presencia

³¹ Y. Moliner-Martínez, S. Cárdenas, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Electrophoresis* 30 (2009) 169.

de SDS en el buffer electroforético contribuye a la dispersión de los o-NDs ayudando a eliminar los agregados, por lo que los analitos tendrán más puntos de interacción con los nanodiamantes presentes en la FPE.

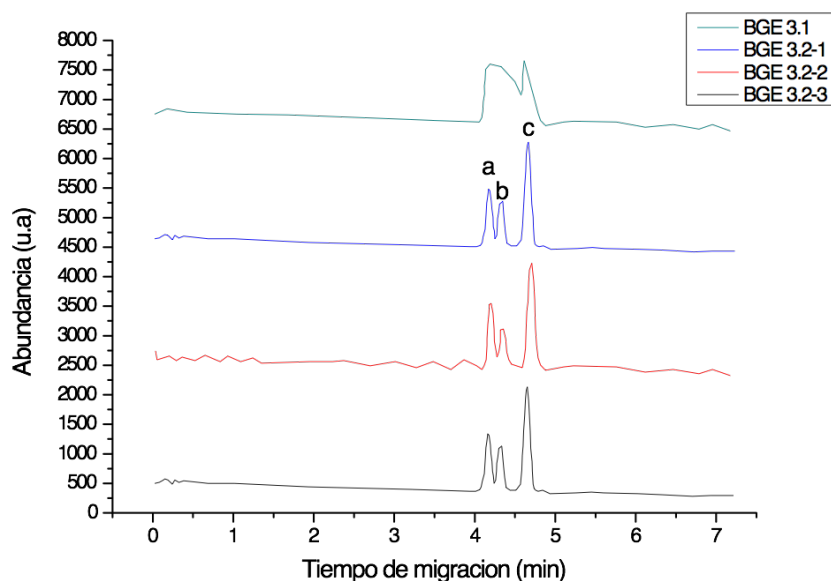


Figura 5. Electroferogramas obtenidos con los BGE 3.1 (NDs sin tratamiento ácido) y tres análisis diferentes llevados a cabo con el BGE 3.2 (o-NDs). Identificación de los picos: (a) MNZ, (b) RNZ y (c) DZN.

Cabe destacar que los o-NDs no causaron una degradación de la interfaz del espectrómetro de masas por electrospray incluso después de varias semanas de uso, ni problemas en la detección.

En la figura 5 la masa para cada pico fue confirmada en el espectrómetro de masas. El pico molecular $[M + H]^+$ que se midió para cada analito fue MNZ 142, RNZ 172 y NDZ 201.

Se evaluó la reproducibilidad de la separación en presencia de los nanodiamantes en la fase pseudoestacionaria. Como puede observarse en la figura 5 los tiempos de migración obtenidos fueron bastante reproducibles encontrándose valores de coeficiente de variación entre 2-6%.

En la tabla 1 se resumen las combinaciones de los diferentes BGE que se probaron durante este trabajo y los tiempos de migración que se obtuvieron para cada analito en dichas condiciones.

Tabla 1. Composición y tiempos de migración obtenidos con los diferentes BGE ensayados.

Buffer	NH ₄ OAc (mM)	SDS (mM)	NDs (mg/L)	pH	Tiempo de migración		
					MZN	RNZ	DNZ
1	15	-	-	8	3.7 ± 0.58		3.94 ± 0.4
2	15	50	-	8	3.25 ± 0.53		3.4 ± 0.51
2	15	100	-	8	3.21 ± 0.55		3.3 ± 0.57
3.1	15	100	10	8	4.22 ± 0.51		4.6 ± 0.44
3.2	15	100	13(o-NDs)	8	4.07± 0.25	4.22± 0.28	4.6± 0.33

3.5. Efecto de los parámetros de la cámara de electrospray

En los sistemas CE-ESI-MS puede presentarse efecto de sifón en la salida del capilar debido a la presión del gas de nebulización. Se ha observado que la resolución electroforética y el tiempo de migración se ven fuertemente influenciados por este efecto. Por lo anterior, y después de varias pruebas se determinó que la presión del gas nebulizador a 689.5 mbar (10 psi) y el flujo a 5 L/min proporcionaron las mejores respuestas para nuestro sistema.

4. Conclusiones

Por primera vez se ha descrito el uso de o-NDs como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas. El uso de o-NDs mejoró la identificación y separación electrocinética de los nitroimidazoles estudiados (MNZ, RNZ y RNZ).

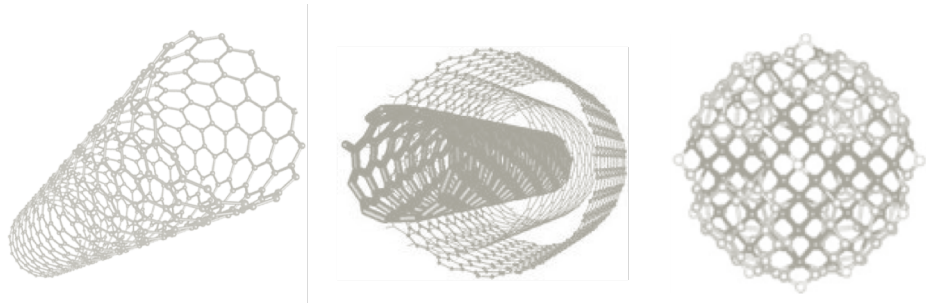
Se ha investigado el efecto que producen sobre la separación de los nitroimidazoles la adición en el buffer electroforético de tensioactivos aniónicos así como la adición de nanodiamantes modificados con tratamiento ácido y sin modificar. Se obtuvieron los mejores resultados en términos de separación de picos con el buffer que combina nanodiamantes oxidados y moléculas de SDS.

Estos resultados dan una idea del potencial de los nanodiamantes para su uso como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar, de forma análoga a como se han usado anteriormente por ejemplo en cromatografía líquida de alta resolución.

El siguiente paso consistiría en demostrar la posibilidad de llevar a cabo análisis cuantitativo de los nitroimidazoles en presencia de los nanodiamantes como fase pseudoestacionaria, aunque en este trabajo nos hemos centrado principalmente en mejorar la separación de los mismos. Es de esperar que combinando distintas modalidades de inyección en electroforesis con la presencia de los nanodiamantes se pueda producir no sólo una mejora en la resolución electroforética, sino que pueda incrementarse la sensibilidad del método analítico.

Capítulo 4

LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO COMO OBJETOS DE MEDIDA EN N&NA



Actualmente existe poca información sobre el nanomundo^{1,2,3}. Para poder caracterizar y determinar nanomateriales es necesario el uso de técnicas analíticas⁴ que pueden ser del tipo individual (técnicas con la capacidad de caracterización o determinación de nanomateriales individuales) o globales (técnicas analíticas que pueden medir los nanomateriales en su conjunto)⁵.

Por un lado existe la necesidad por obtener información de las dimensiones y morfología (propiedades físicas)⁶, sin embargo, cada vez hay mayor demanda de información relacionada con la reactividad, química de la superficie, tipo de enlaces, contenido de nanomaterial, composición química del nanomaterial (propiedades químicas)⁷ y/o toxicología, biotransformación, interacción celular (propiedades biológicas)^{8,9}.

¹ C. Gerber, P. Hans, *Nat. Nanotech*, 1 (2006) 3-5.

² H. Rohrer, *Microelectron. Eng*, 32 (1996) 5-14.

³ M.R. Winchester, R.E. Sturgeon, J.M. Costa-Fernández, *Anal. Bioanal. Chem*, 396 (2010) 951-952.

⁴ R. Zenobi, *Anal. Bioanal. Chem*, 390 (2008) 215-221.

⁵ Requirements on Measurements for the Implementation of the European Commission Definition of the Term 'nanomaterial'. Publications Office, 2012.

⁶ H. Yang, C. Liu, D. Yang, H. Zhang, Z. Xi, *J. App. Toxicol*, 29 (2009) 69-78.

⁷ Z. Zhi-You, N. Tian, J. Tao Li, I. Broadwell, S. Shi-Gang, *Chem. Soc. Rev*, 40 (2011) 4167-4185.

⁸ V. Dhawan, S. Vyom, *Anal. Bioanal. Chem*, 398 (2010) 589-605.

⁹ A. Magrez, K. Sandor, V. Salicio, N. Pasquier, J. Won Seo, M. Celio, S. Catsicas, B. Schwaller, L. Forró. *Nano Lett.* 6 (2006) 1121-1125.

Aunque existen gran variedad de técnicas analíticas que pueden utilizarse para caracterizar los nanomateriales, ninguna técnica es capaz de hacer una análisis integral de todas las propiedades de los nanomateriales, por ello, es fundamental hacer estudios estratégicos entre varias técnicas analíticas para aprovechar las ventajas que cada técnica ofrece¹⁰.

Un problema de origen para obtener la información del nanomundo es la dificultad a la hora de definir el mensurando (propiedad) o de encontrar las técnicas que permitan medidas directas de la propiedad de interés. Además, la mayoría de las teorías y estimaciones se basan en distribuciones de tamaño para partículas de formas regulares (tendencia a esféricas), lo cual es poco frecuente en la naturaleza¹¹.

En este capítulo en el apartado 4.1. se ha estudiado la capacidad del DLS para evaluar dispersiones de CNTs, evaluándose las limitaciones de dicha técnica para el caso de estos nanomateriales con una relación de aspecto alta. Por otro lado, en la sección 4.2. se ha propuesto el uso de líquidos iónicos para la preparación de muestra de nanotubos de carbono previa a su caracterización por microscopia de barrido con electrones. Por último, en los apartados 4.3. y 4.4. se describe la caracterización de dispersiones de tensioactivos de nanotubos de carbono y nanodiamantes, respectivamente, evaluándose distintos métodos de preparación de las dispersiones con el uso de distintos disolventes y estudiándose la estabilidad de las mismas.

¹⁰ B. C. Englert, J. Environ. Monit, 9 (2007) 1154-1161.

¹¹ G. Roebben, K. Rasmussen, V. Kestens, T. P. J. Linsinger, H. Rauscher, H. Emons, H. Stamm, J. Nanopart. Res, 15 (2013) 1-13.

4.1. Caracterización de dispersiones de nanotubos de carbono mediante dispersión de luz dinámica (DLS)

En este capítulo se ha evaluado el potencial de la técnica dispersión de luz dinámica (DLS) para la caracterización de dispersiones de nanotubos de carbono de pared simple y múltiple (SWNTs y MWNTs, respectivamente). Las dispersiones se prepararon con ayuda del tensioactivo aniónico sodio dodecylbencenosulfonato (NaDBS) y se caracterizaron mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HTEM) para calcular sus dimensiones. Los estudios de DLS llevados a cabo de las dispersiones demostraron que es posible estimar el diámetro hidrodinámico o las dimensiones de los nanotubos. No obstante, DLS es una técnica que proporciona valores exactos para partículas con una relación de aspecto en torno a 1, mientras que el alto valor de relación de aspecto de los CNTs impide que se obtengan valores precisos de sus dimensiones mediante esta técnica. Por último, se utilizó DLS para evaluar el efecto del incremento de la fuerza iónica de la disolución en la estabilidad de la dispersión de los CNTs, encontrándose que un aumento de la misma conducía a la formación de algunos agregados de nanomaterial.

1. Introducción

Los nanotubos de carbono (CNTs), descubiertos por Iijima¹ son similares en estructura al fullereno C60 pero son alargados formando estructuras tubulares, con diámetros de 1-2 nm y longitud de hasta 1 mm. En su forma más simple, los nanotubos están formados por una capa de átomos de carbono ordenados en un cilindro, conocido como los nanotubos de carbono de pared simple (SWNTs). También pueden formarse con varios tubos concéntricos (nanotubos de carbono de múltiples paredes, MWNTs) con diámetros de hasta 40 nm.

Los CNTs son muy hidrofóbicos y tienden a la agregación en disolución acuosa debido a las fuertes interacciones de Van der Waals entre ellos. Por tanto, obtener dispersiones de CNTs estables en medio acuoso no es sencillo, siendo un prerequisite para su aplicación, por ejemplo, como aditivos de refuerzo en materiales composite². Para la preparación de dispersiones de CNTs a menudo se utilizan tensioactivos como aditivos en la disolución para promover la dispersión de los mismos³. Durante el proceso de dispersión el surfactante se adsorbe en la superficie de los nanotubos y en las grietas o poros dentro de los aglomerados facilitando la adsorción en los nanotubos. Finalmente, los aglomerados idealmente se dividen en nanotubos individuales y se mantienen en suspensión homogénea y estable. Se ha descrito que el tensioactivo, por ejemplo sodio dodecil benceno sulfonato (NaDBS), se sitúa cubriendo a los

¹ S. Iijima, Nature 354 (1991) 56.

² L. Jiang, L. Gao, J. Sun, J. Colloids Interface Sci. 260 (2003) 89.

³ L. Vaisman, H. Wagner, G. Marom, Adv. Colloid Interface Sci. 128 (2006) 37.

nanotubos con una micela cilíndrica teniendo al nanotubo en el centro^{4,5,6}.

La dispersión de luz dinámica (DLS) es una técnica común para evaluar el tamaño, distribución de tamaño y forma de nanomateriales^{7,8}. Esta técnica presenta ventajas tales como el análisis de una gran población de nanopartículas simultáneamente, la preparación de la muestra es simple y el tiempo de análisis son unos pocos minutos⁹. Generalmente, DLS se ha utilizado para medir el diámetro hidrodinámico de partículas esféricas. Aunque el uso de DLS para determinar el tamaño de partículas no esféricas (como nanotubos) presenta múltiples retos, se han descrito métodos para extraer información de estos datos. Por ejemplo, DLS se ha utilizado para medir la distribución de tamaño de los nanotubos metálicos de titanio o de hierro y para nanomateriales rígidos de forma no esférica, aunque los resultados han sido satisfactorios aun hay muchas cuestiones por resolver^{10,11}. Asimismo se han llevado a cabo estudios para caracterizar la distribución de tamaño de dispersiones acuosas de CNTs^{12,13} mediante DLS y DLS depolarizada¹⁴, siendo posible evaluar

⁴ A. C. Sabuncu, B. S. Kalluri, S. Qian, M. W. Stacey, A. Beskok, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 78 (2010) 36.

⁵ L. Vaisman, G. Marom, H. D. Wagner, *Adv. Funct. Mater.* 16 (2006) 357.

⁶ Q. Zaib, I. A. Khan, Y. Yoon, J. R. Flora, Y. G. Park, N. B. Saleh, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 12 (2012) 3909.

⁷ G. M. Wilkins, P. T. Spicer, M. J. Solomon, *Langmuir* 25 (2009) 8951.

⁸ M. T. Cabeen, C. Jacobs-Wagner, *Nat. Rev. Microbiol.* 3 (2005) 601.

⁹ J. B. Falabella, T. J. Cho, D. C. Ripple, V. A. Hackley, M. J. Tarlov, *Langmuir* 26 (2010) 12740.

¹⁰ M. X. Fernandes, M. L. Huertas, M. A. Castanho, D. L. T. Garcia, *Biochim. Biophys. Acta* 1463 (2000) 131.

¹¹ D. L. T. Garcia, M. L. Huertas, B. Carrasco, *Biophys. J.* 78 (2000) 719.

¹² X. Cheng, J. Zhong, J. Meng, M. Yang, F. Jia, Z. Xu, H. Kong, H. Xu, *J. Nanomaterials* 2011 (2011) 938491.

¹³ R.C. Murdock, L. Braydich-Stolle, A.M. Schrand, J.J. Schlager, S.M. Hussain, *Toxicol. Sci.* 101 (2008) 239.

mediante esta técnica el efecto del tratamiento de ultrasonidos en suspensiones de CNTs en tensioactivos sobre las dimensiones de los mismos¹⁵.

Por otro lado, DLS es una técnica útil para estudiar la estabilidad de dispersiones de nanomateriales¹⁶. En el caso de los nanotubos de carbono, es importante evaluar la estabilidad de dispersiones de CNTs en aguas ambientales, por ejemplo, ya que de ellos dependerá la posible exposición al nanomaterial, determinado por el tiempo de residencia de los CNTs en la columna de agua antes de sedimentar. Cuanto mejor dispersos estén más tiempo permanecerán y mayor probabilidad existe de que estén accesibles para microorganismos. La aglomeración de CNTs promueve la eliminación de las partículas por sedimentación. Se ha descrito que la estabilidad de dispersiones de CNTs se ve reducida al aumentar la fuerza iónica del medio, formándose agregados¹⁷. Lin et al.¹⁸ investigaron el efecto de cationes como el Ca^{2+} en la estabilidad de dispersiones de CNTs estabilizadas con tensioactivo, observándose que se producía una desestabilización de las mismas. Asimismo se ha estudiado el efecto producido por los cationes Na^+ , Mg^{2+} y La^{3+} en suspensiones de MWNTs¹⁹, observándose que pueden desestabilizar las suspensiones de CNTs.

En este trabajo se han preparado dispersiones de SWNTs y MWNTs con ayuda del tensioactivo aniónico NaDBS. Dichas dispersiones se han

¹⁴ A.M. Shetty, G.M.H. Wilkins, J. Nanda, M.J. Solomon, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 7129.

¹⁵ S. Badaire, P. Poulin, M. Maugey, C. Zakri, *Langmuir* 20 (2004) 10367.

¹⁶ I. Schwyzer, R. Kaegi, L. Sigg, B. Nowack, *Water Res.* 47 (2013) 3910.

¹⁷ M. Sano, J. Okamura, S. Shinkai, *Langmuir* 17 (2001) 7172.

¹⁸ D. Lin, N. Liu, K. Yang, B. Xing, F. Wu, *Environ. Pollut.* 158 (2010) 1270.

¹⁹ D. Lin, N. Liu, K. Yang, L. Zhu, Y. Xu, B. Xing, *Carbon* 47 (2009) 2875.

evaluado mediante microscopía electrónica (HTEM) y DLS. Asimismo se ha investigado el efecto del aumento de la fuerza iónica mediante la sal KCl sobre las dispersiones de CNTs preparadas y estabilizadas con ayuda de tensioactivos usando la técnica de dispersión de luz dinámica.

2. Experimental

2.1. Materiales y reactivos

Se usaron nanotubos de carbono de pared simple (SWNTs) comerciales para preparar las suspensiones. Los SWNTs fueron adquiridos en Nanotech Port, Shenzhen, China. Las especificaciones técnicas de los SWNTs fueron diámetro < 2 nm, longitud 5-15 μm , pureza $> 90\%$, ceniza $< 10\%$. Para la muestra de nanotubos de carbono de múltiples paredes (MWNTs) se usaron nanotubos comerciales comprados en Bayer Material Science AG, los cuales tienen un diámetro dentro del intervalo 5-20 nm, la longitud se encuentra en un rango de 1-10 μm , con una pureza $\geq 95\%$.

El sodio dodecil benceno sulfonato (NaDBS) fue utilizado como surfactante aniónico para incrementar la concentración micelar en la suspensión y cloruro de potasio (KCl) fue utilizado para aumentar la fuerza iónica, ambos eran de grado analítico (Sigma-Aldrich Chemie GmbH Munich, Alemania).

2.2. Preparación de las suspensiones

La disolución de nanotubos se preparó a una concentración inicial de un $0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en una solución NaDBS al 0.5%. Luego, esta disolución se homogeneizó usando un proceso de ultrasonidos por ciclos: 50/30 s ON/OFF durante 15 minutos. Este proceso se realizó con una sonda

ultrasonica. Como los nanotubos no fueron disueltos al 100%, se llevó a cabo una centrifugación para eliminar las partículas no disueltas y para evitar interferencias de agregados durante la medición por DLS. La solución se purificó por ultracentrifugación durante 20 min a una fuerza centrífuga de 13416 g. Finalmente, el sobrenadante se recuperó y se tomó una alícuota, que fue definida como muestra madre, la cual fue utilizada como base en los experimentos realizados.

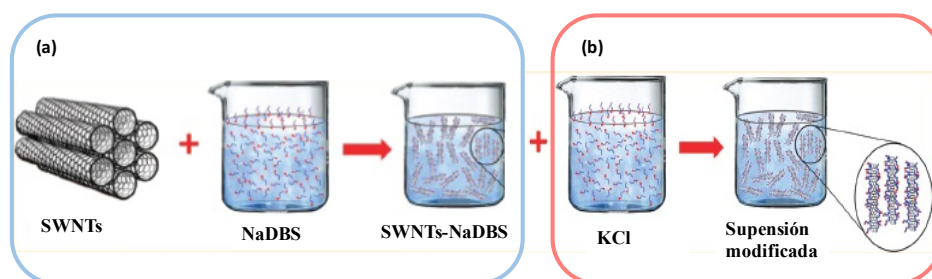


Figura 1. (a) Esquema del procedimiento de dispersión de los CNTs (a modo de ejemplo con SWNTs), (b) modificación llevada a cabo en las disoluciones aumentando la fuerza iónica del medio.

Se llevaron a cabo estudios de estabilidad de las dispersiones en un medio con una mayor fuerza iónica. Para ello se añadieron diferentes volúmenes de una disolución de KCl 250 mM a la denominada disolución madre.

2.3. Medidas de dispersión dinámica de luz (DLS)

Los diámetros hidrodinámicos de los CNTs investigados fueron medidos usando un sistema Zetasizer Nano ZS90 DLS (Malvern Instruments Ltd., Inglaterra) equipado con un láser rojo (633 nm) y un detector de fotodiodos de avalancha (APD) (eficiencia cuántica > 50% a 633 nm). La muestra se depositó en una cubeta desechable de poliestireno de un

tamaño de 10 mm. El software de aplicaciones 4.0 DTS se utilizó para analizar los datos. El tamaño promedio de partícula a través de la intensidad de señal fue obtenido usando un método de análisis de mínimos cuadrados no negativos (NNLS). Se realizaron dos mediciones, cada medición tenía 10 barridos y cada barrido duró 10 s, el ángulo de detección fue de 90°. El volumen mínimo de la muestra fue de 6 mL.

Para cada muestra se usó una celda nueva para eliminar interferencias o contaminación. Previamente la cubeta era limpiada con agua tipo I y secado con aire limpio para quitar las partículas de polvo u otro agente externo.

De manera automática el software realiza un procedimiento de rutina para encontrar las condiciones óptimas de medición considerando los parámetros de entrada para cada disolución. Los parámetros de entrada solicitados son: índice de refracción del soluto, índice de refracción del solvente, viscosidad y absorción del material. Luego se realiza una medición de la muestra para optimizar el ajuste de la potencia del láser (atenuador), conteos por segundo (cps) y medición de posición. El parámetro de la temperatura es fijado por el operador.

Adicionalmente se hicieron medidas a patrones de nanoesferas de poliestireno con valor de 60 ± 4 nm como control. El patrón de medida empleado fue el Duke 3060A.

2.4. Análisis por microscopía electrónica

La técnica de microscopía de transmisión electrónica de alta resolución (HTEM FEI-Tecnai 30) fue usada para determinar el diámetro y longitud de los CNTs. Las muestras se prepararon de la siguiente manera: una

gota de la muestra dispersada se colocó sobre una rejilla (grid) tipo-Lancey. Después, se dejó secar dentro de la campana. Posteriormente se colocó dentro del HTEM, se optimizó la corriente del haz de electrones, hasta encontrar el contraste adecuado para la toma de las imágenes.

3. Resultados y discusión

Se han preparado dispersiones de SWNTs y MWNTs en disoluciones de tensioactivo, empleando en este caso el tensioactivo aniónico sodio dodecylbencenosulfonato (NaDBS). Se seleccionó una concentración de tensioactivo de 0.5%, que permitió obtener dispersiones estables de nanotubos de carbono. Un análisis en profundidad de la estabilidad de dispersiones de CNTs preparadas con ayuda del tensioactivo se describe posteriormente en el capítulo 4.3. de esta Tesis Doctoral. Se ha descrito que para el caso del tensioactivo aniónico sodio docecilsulfato (SDS) la dispersión de CNTs es óptima en un rango entre 0.5-2%, ya que cantidades mayores de tensioactivo tienen un efecto negativo sobre la dispersión del nanomaterial, produciendo la agregación del mismo. Una cantidad insuficiente de tensioactivo no es capaz de producir un recubrimiento eficiente del CNT que produzca repulsiones electrostáticas que contraresten a las atracciones de van der Waals. Sin embargo, a concentraciones elevadas de tensioactivo, los clusters se vuelven mayores, lo que puede ascribirse al aumento de micelas en la disolución así como a un incremento de la fuerza iónica²⁰.

Como se describe a continuación, las dispersiones de CNTs con ayuda de tensioactivo se han caracterizado mediante microscopía electrónica, calculándose las dimensiones del nanomaterial. Dichas dispersiones se

²⁰ L. Jiang, L. Gao, J. Sun, J. Colloids Interface Sci. 260 (2003) 89.

han caracterizado también mediante dispersión de luz dinámica observándose que el volumen hidrodinámico obtenido concuerda con el que cabía esperar en base a las dimensiones calculadas por HTEM. Por último, se ha investigado el efecto sobre la estabilidad de las dispersiones de un aumento en la fuerza iónica del medio.

3.1. Caracterización de las dispersiones de SWNTs y MWNTs mediante HTEM

Se caracterizaron al menos 100 nanotubos de cada tipo. Se usó el software ImageJ de análisis de imágenes para calcular las dimensiones de los nanotubos dispersados. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 1. Medidas de longitud y diámetro de los CNTs en las dispersiones de tensioactivo calculados mediante HTEM.

Muestra	Longitud (μm)	Diámetro (nm)
SWNTs	0.3-1	1.5-5
MWNTs	0.5-10	20-35

Los estudios realizados por HTEM se presentan en la figura 2. Las imágenes de HTEM mostraron una combinación de CNTs independientes (aislados) así como agregados de los mismos. Las muestras de MWNTs presentaron mayor cantidad de agregados que en el caso de los SWNTs. Las imágenes de HTEM permitieron la caracterización de las dimensiones de los CNTs.

La medición de la longitud por HTEM fue complicada ya que se tenía que realizar a muy bajos aumentos para tener nanotubos enteros dentro de la imagen. Además los CNTs toman formas caprichosas que complican la medición, en algunos casos se usaron proyecciones de las determinaciones, con la finalidad de obtener una estimación más confiable. Como puede observarse, se calcularon valores de longitud de los CNTs menores a los descritos por el fabricante, lo que puede deberse, en parte, a la dificultad de las medidas, como ya se ha comentado, pero también a un posible efecto de acortamiento de los CNTS durante el intenso proceso de ultrasonidos llevado a cabo para dispersarlos²¹.

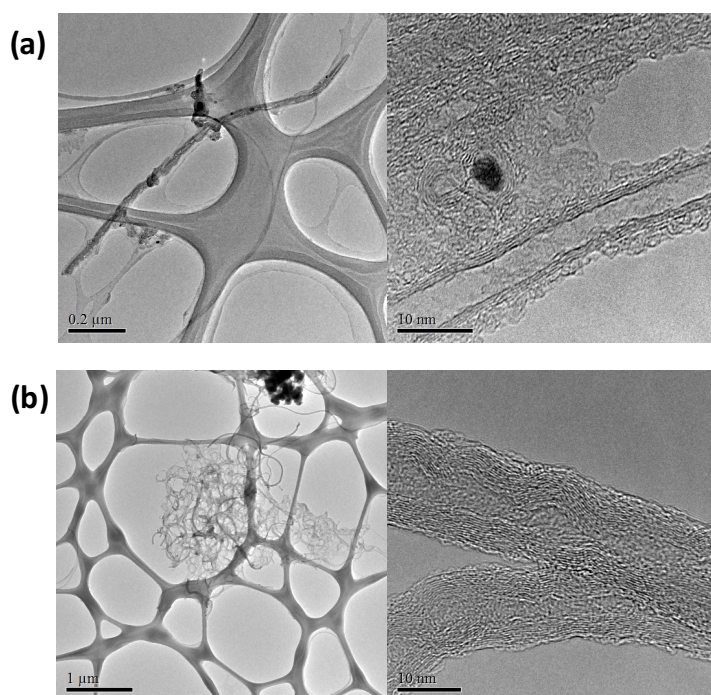


Figura 2. Imágenes HTEM de (a) SWNTs dispersos en tensioactivo NaDBS y (b) MWNTs dispersos en tensioactivo.

²¹ J.Y. Lee, J.S. Kim, K.H. An, K. Lee, D.Y. Kim, D.J. Bae, Y.H. Lee, J. Nanosci. Nanotechnol. 5 (2005) 1045.

3.2. Caracterización de las dispersiones mediante dispersión dinámica de luz (DLS)

Las partículas suspendidas en un líquido están en constante movimiento debido al movimiento browniano²². El movimiento browniano es el movimiento de las partículas debido a la colisión aleatoria con las moléculas del líquido que rodea la partícula. Una característica importante del movimiento browniano para DLS es que las partículas pequeñas se mueven rápidamente y las partículas grandes se mueven más lentamente. La relación entre el tamaño de una partícula esférica y su velocidad debido al movimiento browniano se define en la ecuación de Stokes-Einstein²³.

Los datos obtenidos mediante DLS se relacionan con la distribución de tamaño media de un conjunto de partículas en disolución. Se asume que se trata de una partícula esférica con una relación de aspecto de 1. DLS proporciona información sobre el diámetro de una esfera que se mueve (difunde) del mismo modo que nuestra muestra. Este tamaño, por tanto, incluye a los estabilizantes unidos a la partícula (por ejemplo tensioactivos, moléculas de estabilizantes como citrato unidos a la superficie de la nanopartícula, etc.), aunque éstos no sean observados por TEM.

²² K. Ishii, T. Iwai, H. Xia, *Opt. Express* 18 (2010) 7390.

²³ A. Bayat, B. Larijani, S. Ahmadian, H. E. Junginger, M. Rafiee-Tehrani, *Nanomedicine*. 4 (2008) 115.

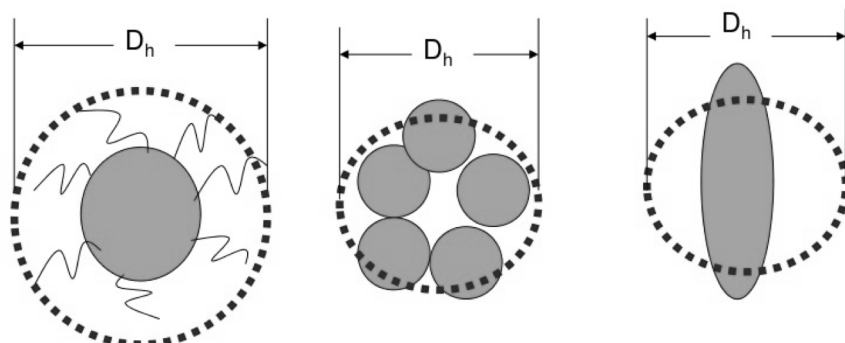


Figura 3. Esquema del diámetro hidrodinámico proporcionado mediante DLS, que corresponde con el diámetro de una esfera que se mueve de la misma manera que la muestra²⁴.

En el caso de los nanotubos de carbono, dada su naturaleza cilíndrica, la relación de aspecto de los mismos puede llegar a ser de 1000. A pesar de esta limitación, se han desarrollado algunos cálculos que permiten obtener una estimación del diámetro hidrodinámico de nanotubos mediante DLS²⁵. Si partimos de las ecuaciones que describen los coeficientes de difusión (la segunda es la ecuación de Stokes-Einstein):

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta L} \left[\ln\left(\frac{L}{d}\right) + 0.32 \right]$$

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta D_h}$$

donde D es el coeficiente de difusión, k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura, η la viscosidad, D_h el diámetro hidrodinámico, y L y d

²⁴ <http://www.slideshare.net/HORIBA/characterizing-carbon-nanotubes> (último acceso Noviembre 2015).

²⁵ N. Nair, W. Kim, R. D. Braatz, M. S. Strano. *Langmuir* 24 (2008) 1790.

son la longitud y el diámetro del nanotubo, respectivamente. Combinando las ecuaciones se puede obtener información del diámetro hidrodinámico de los nanotubos en función de la longitud y el diámetro de los mismos.

$$D_h = \frac{L}{\ln\left(\frac{L}{d}\right) + 0.32}$$

En nuestro caso, previamente se habían caracterizado los CNTs dispersados mediante HTEM calculándose el intervalo de diámetros y longitud de los mismos. Teniendo en cuenta esta dichas dimensiones, y considerando que los nanotubos se encuentren bien dispersos, se puede estimar el diámetro hidrodinámico que cabría esperar usando la ecuación anterior, en ningún caso se puede equiparar directamente el diámetro hidrodinámico obtenido mediante DLS con la longitud del nanotubo. Con los datos obtenidos mediante HTEM, el diámetro hidrodinámico que cabe esperar obtener para los SWNTs es en el intervalo 53-178 nm, mientras que para los MWNTs en el intervalo 140-1600 nm. Sin embargo, dado la gran relación de aspecto (hasta 1000:1) inherente a los nanotubos, es importante recalcar que una pequeña imprecisión en las medidas de DLS de tamaño hidrodinámico resultarían en una gran variación en la longitud calculada, por lo que éstas deben ser consideradas únicamente como una aproximación.

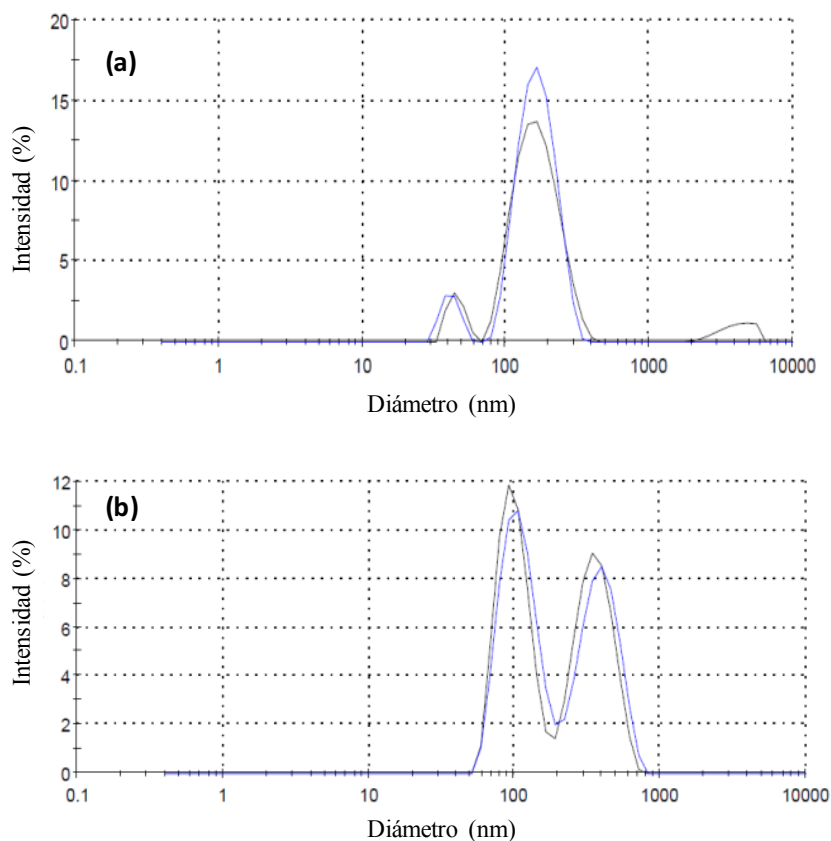


Figura 4. Distribuciones de diámetro hidrodinámico obtenidas por DLS para las muestras (a) SWNTs y (b) MWNTs.

Los resultados obtenidos mediante DLS para las dispersiones de SWNTs y MWNTs dispersos en tensioactivo NaDBS se muestran en la figura 4. Las distribuciones fueron tratadas con el algoritmo multimodal. La solución SWNTs presentó los mayores picos en torno a 65 y 175 nm. En el caso de los MWNTs se observan una distribución con diámetros en torno a 100 y 600 nm. Dichos valores se encuentran dentro o cercano al intervalo estimado anteriormente usando la ecuaciones del diámetro

hidrodinámico a partir de los valores de longitud y diámetro calculados por HTEM.

No obstante, no podemos obviar que estamos trabajando con disoluciones de nanomaterial en tensioactivo por lo que hay que tener en cuenta la influencia de éste sobre la señal obtenida, ya que las propias micelas de tensioactivo pueden originar señales, si bien con menor intensidad que las que se obtienen en presencia de los nanotubos de carbono. En otros trabajos se han descritos distribuciones de tamaño por DLS de CNTs similares en presencia de tensioactivo (por ejemplo SDS). Aunque las posiciones de los picos del tensioactivo y los SWNTs se superponen a aquellas obtenidas para dispersiones puras del tensioactivo, las distribuciones de tamaño de los agregados de SWNTs son prácticamente independientes de la concentración de tensioactivo, por lo que puede deducirse que la presencia del mismo no afecta a la distribución de tamaño observada, por ejemplo formando una cadena en las paredes del SWNTs lo que aumentaría los valores observados de diámetro hidrodinámico²⁶.

3.3. Influencia de la fuerza iónica de la disolución en la estabilidad de la dispersión de CNTs

Se investigó el efecto que produce la fuerza iónica del medio sobre la estabilidad de las dispersiones de CNTs. Aunque si bien hemos comentado anteriormente que las medidas de DLS no permiten obtener unos valores exactos de las dimensiones de los nanotubos de carbono, sí

²⁶ J.Y. Lee, J.S. Kim, K.H. An, K. Lee, D.Y. Kim, D.J. Bae, Y.H. Lee, J. Nanosci. Nanotechnol. 5 (2005) 1045.

que pueden servir para evaluar procesos de agregación del nanomaterial que afectará al diámetro hidrodinámico observado mediante esta técnica.

Se añadieron diferentes volúmenes de una disolución de KCl 250 mM, de manera que aumenta la fuerza iónica del medio y se registró la señal obtenida por DLS.

Como se comentó anteriormente, se ha descrito que la estabilidad de dispersiones de CNTs se ve reducida al aumentar la fuerza iónica del medio, formándose agregados²⁷. En la figura 5, puede observarse cómo al aumentar la fuerza iónica del medio el diámetro hidrodinámico observado mediante DLS aumenta, lo que puede relacionarse con la formación de agregados de nanomaterial²⁸. Además, se evidenció un aumento en la polidispersidad de la muestra debido a la presencia de la sal. La precipitación puede atribuirse a la disminución de doble-capa eléctrica por la adición de los iones, que puede reducir la repulsión electrostática entre los CNTs y, por tanto, conducir a la agregación de los mismos.

²⁷ M. Sano, J. Okamura, S. Shinkai, *Langmuir* 17 (2001) 7172.

²⁸ I. Schwyzer, R. Kaegi, L. Sigg, R. Smajda, A. Magrez, B. Nowack, *Environ. Pollut.* 169 (2012) 64.

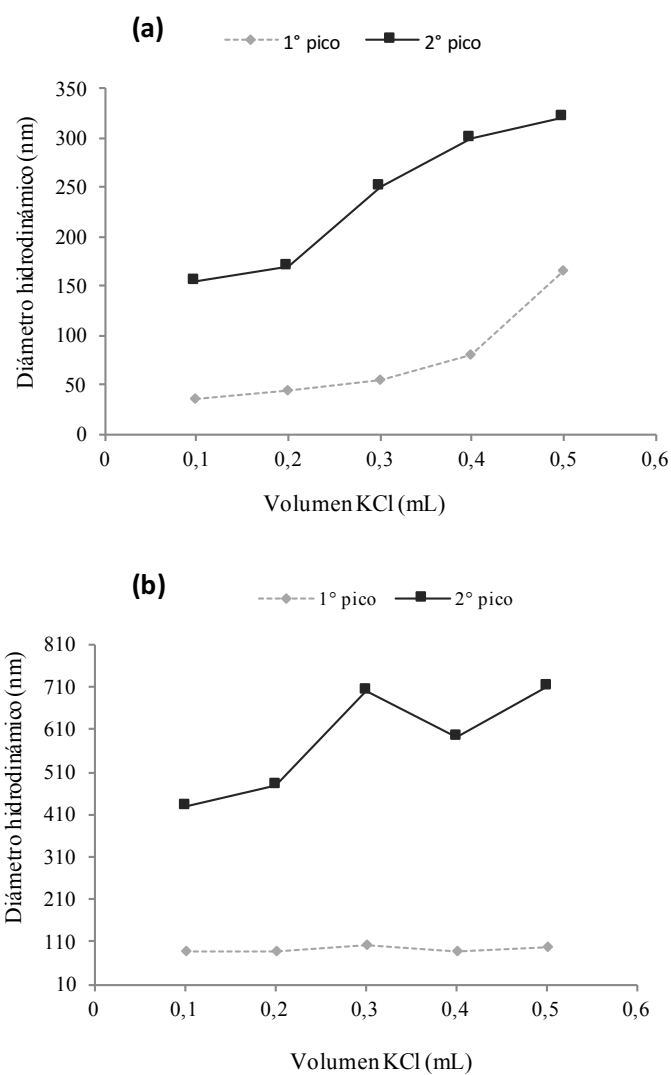


Figura 5. *Diámetro hidrodinámico medido por DLS para dispersiones en NaDBS de (a) SWNTs y (b) MWNTs en presencia de distintas cantidades de KCl en la disolución.*

4. Conclusiones

En este capítulo se han preparado dispersiones de CNTs con ayuda de tensioactivo. Se confirmó que el uso del tensioactivo aniónico NaDBS facilita la obtención de suspensiones uniformes, estables y sin modificación química de las superficies, debido a que el tensioactivo se coloca uniformemente en la superficie de los CNTs promoviendo las fuerzas de repulsión entre nanotubos evitando la agregación de los mismos debido a interacciones de van der Waals.

Las dispersiones fueron analizadas mediante HTEM, calculándose el tamaño de los CNTs. Basándonos en los valores obtenidos por microscopía se compararon con los diámetros hidrodinámicos obtenidos en DLS, observándose que la distribución de tamaño proporcionada por la técnica dispersiva se encontraba en el rango que cabría esperar. No obstante, se trata de nanotubos, en los que la relación de aspecto es muy elevada, por lo que los valores proporcionados mediante DLS no pueden extrapolarse sencillamente a las dimensiones de los mismos. Sin embargo, sí que se ha demostrado que la técnica de DLS puede proporcionar información sobre la formación de agregados en las dispersiones. En nuestro caso, se aumentó la fuerza iónica de las dispersiones mediante la adición de KCl, observándose que se obtenían valores mayores de diámetro hidrodinámico, debido a que la presencia de los iones puede reducir la repulsión electrostática de los nanotubos.

4.2. Microscopía de barrido electrónico de nanotubos de carbono dispersos en líquidos iónicos: estudio de la influencia del disolvente*

En este trabajo se presentan los resultados del uso de líquidos iónicos (LIs) en la preparación de muestras de nanotubos de carbono (CNTs) para su caracterización por microscopía de barrido con electrones (SEM). Los LIs presentan algunas ventajas tales como no dañar la superficie de los CNTs, disminuir la agregación de nanopartículas, ya que se incrementa el número de CNTs dispersos de manera individual, favoreciendo que se tenga una muestra más representativa. Debido a la conductividad de los líquidos iónicos su uso evita el recubrimiento de oro en la muestra antes de analizarla y se favorece el contraste y brillo de la imagen. Se realizó un estudio comparativo sobre la utilidad de tres disolventes diferentes –metanol, una disolución de tensioactivo Triton X-100 y líquido iónico con presencia del grupo imidazolio- para la dispersión de nanotubos de carbono de múltiples capas (MWNTs).

**El contenido del capítulo 4.2. corresponde a la publicación: R. Herrera-Basurto, A.I. López-Lorente, M. Valcárcel, “Scanning electron microscopy of carbon nanotubes dispersed in ionic liquid: Solvent influence study”, Microchemical Journal 122 (2015) 137-143.*

De manera complementaria, se usó la espectroscopia Raman para evaluar la solubilidad de los nanotubos de carbono en la suspensión de LI, demostrando las excelentes características de los LI como disolventes de CNTs.

1. Introducción

Los nanotubos de carbono han despertado gran atención en muchos campos debido a sus excepcionales propiedades eléctricas, ópticas y mecánicas. Uno de los obstáculos para tener aplicaciones industriales más amplias, es la caracterización exacta de sus propiedades. Las dispersiones de CNTs se han caracterizado por espectroscopia de absorción UV-Visible¹ y espectroscopia de fluorescencia de infrarrojo cercano (NIR)². Se han utilizado técnicas de separación (por ejemplo electroforesis capilar) para la separación de nanotubos de carbono de capa simple (SWNTs), basándose en la longitud del nanotubo o en el diámetro³. La espectroscopia Raman también se ha convertido en una técnica poderosa para la caracterización de nanotubos de carbono^{4,5,6}.

El tamaño de partícula es una propiedad física importante de los nanomateriales^{7,8,9,10} así como la distribución del tamaño. Una medición

¹ M.J. O'Connell, S.M. Bachilo, C.B. Huffman, V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, R.E. Smalley, *Science* 297 (2002) 593-596.

² R.B. Weisman, *Anal. Bioanal. Chem.* 396 (2010) 1015-1023.

³ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Trends Anal. Chem. (TrAC)* 30 (2011) 58-71.

⁴ A. Jorio, M.A. Pimenta, A.G. Souza Filho, R. Saito, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus, *New J. Phys.* 5 (2003) 139.

⁵ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Talanta* 105 (2013) 75-79.

⁶ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Analyst* 139 (2014) 290-298.

⁷ T. Linsinger, G. Roebben, C. Solans, R. Ramsch, *Trends Anal. Chem. (TrAC)* 30 (2011) 18-27.

esencial es la determinación de la relación de aspecto, basada en la medición de la longitud y diámetro externo de los MWNTs por SEM. La microscopía de barrido con electrones es una de las técnicas más comúnmente empleadas para este propósito^{11, 12, 13}.

Las técnicas basadas en microscopía dan información exacta acerca del tipo y características de los nanomateriales (forma, tamaño, etc.), sin embargo, presentan desventajas en la preparación de muestras tales como la agregación de las nanopartículas¹⁴. Por lo tanto, la preparación de la muestra antes de su análisis por microscopía es crucial para poder alcanzar resultados representativos. Algunos procedimientos para la preparación de la muestra tienen problemas tales como, por ejemplo, daño o modificación de la superficie de los MWNTs, debido al recubrimiento metálico, ataque químico o agregación^{15, 16, 17}.

En la década pasada, se han ideado una gran cantidad de estrategias para mejorar la solubilidad y dispersión de los CNTs, principalmente en

⁸ W. Lojkowski, R. Turan, A. Proykova, A. Daniszewska, Eight Nanoforum Report: Nanometrology, European Nanotechnology Gateway, Nanoforum. org, (2006) 1-127.

⁹ F. Meli, T. Klein, E. Buhr, C.G. Frase, G. Gleber, M. Krumrey, A. Duta, S. Duta, V. Korpelainen, R. Bellotti, G.B. Picotto, R.D. Boyd, A. Cuenat, Meas. Sci. Technol. 23 (2012) 125005.

¹⁰ M. Valcárcel, S. Cárdenas, B.M. Simonet, Anal. Chem. 79 (2007) 4788-4797.

¹¹ S. Bibi, R. Kaur, M. Henriksen-Lacey, S.E. McNeil, J. Wilkhu, E. Lattmann, D. Christensen, A.R. Mohammed, Y. Perrie, Int. J. Pharm. 417 (2011) 138-150.

¹² K.H. Guenther, Appl. Opt. 20 (1981) 3487-3502.

¹³ S. Kuwahara, T. Sugai, H. Shinohara, Nanotechnology 20 (2009) 225702.

¹⁴ A.L. Porter, P. Shapira, D.J. Schoeneck, Nanopart. Res. 10 (2008) 715-728.

¹⁵ V. Datsyuk, M. Kalyva, K. Papagelis, J. Parthenios, D. Tasis, A. Siokou, C. Galiotis, Carbon 46 (2008) 833-840.

¹⁶ M.T. Martinez, M.A. Callejas, A.M. Benito, M. Cochet, T. Seeger, A. Anson, Carbon 2003 (2003) 2247-2256.

¹⁷ M. Monthieux, B.W. Smith, B. Burteaux, A. Claye, J.E. Fischer, D.E. Luzzi, Carbon 39 (2001) 1251-1272.

ácidos fuertes o disolventes orgánicos volátiles^{18,19} así como la dispersión con ayuda de tensioactivos^{20,21,22}. Recientemente, los LIs han surgido como alternativas “verdes” sustituyendo a los disolventes orgánicos volátiles para este propósito. En la literatura, los LIs se han usado como medio para llevar a cabo reacciones de funcionalización o como agentes funcionalizantes para el enlace covalente de los CNTs²³. Además, ya ha sido probada la compatibilidad de los líquidos iónicos con la SEM puesto que ya han sido analizados por esta técnica²⁴ y su presión de vapor insignificante permite su introducción en el aparato, que requiere condiciones de vacío²⁵. Los LIs se han utilizado también para mejorar la observación de especímenes biológicos húmedos por SEM^{26,27}.

En este trabajo, se ha desarrollado un procedimiento para la dispersión nanotubos de carbono antes de analizarlos por SEM, basado en el uso de líquidos iónicos, en este caso del 1-butil-3 metil imidazolio hexafluorofosfato (BMIM PF₆). Este procedimiento para la dispersión de CNTs ha sido comparado con otros métodos de preparación tales como la

¹⁸ K.D. Ausman, R. Piner, O. Lourie, R.S. Ruoff, M. Korobov, *J. Phys. Chem. B* 104 (2000) 8911-8915.

¹⁹ Y.P. Sun, K. Fu, Y. Lin, W. Huang, *Accounts Chem. Res.* 35 (2002) 1096-1104.

²⁰ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Talanta* 105 (2013) 75-79.

²¹ R. Rastogi, R. Kaushal, S.K. Tripathi, A.L. Sharma, I. Kaur, L.M. Bharadwaj, *J. Colloid Interf. Sci.* 328 (2008) 421-428

²² A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Analyst* 138 (2013) 2378-2385.

²³ Y. Zhang, Y. Shen, J. Li, L. Niu, S. Dong, A. Ivaska, *Langmuir* 21 (2005) 4797-4800.

²⁴ S. Kuwabata, T. Torimoto, *Surface Science* 28 (2007) 322.

²⁵ T. Kameyama, Y. Ohno, T. Kurimoto, K. Okazaki, T. Uematsu, S. Kuwabata, T. Torimoto, *Phys.Chem.Chem.Phys.* 12 (2010) 1804-1811.

²⁶ T. Tsuda, N. Nemoto, K. Kawakami, E. Mochizuki, S. Kishida, T. Tajiri, T. Kushibiki, S. Kuwabata, *Chembiochem.* 12 (2011) 2547-2550.

²⁷ S. Arimoto, M. Sugimura, H. Kageyama, T. Torimoto, S. Kuwabata, *Electrochim. Acta* 53 (2008) 6228-6234.

dispersión en disolvente orgánico –metanol- y dispersión con ayuda de un tensioactivo –Triton X-100. Los líquidos iónicos permiten una mejor dispersión de los MWNTs, facilitando la caracterización del nanomaterial, como por ejemplo medidas del diámetro y longitud. Para demostrar la dispersión efectiva de los nanotubos de carbono en el medio compuesto de líquido iónico, se utilizó la espectroscopia Raman para visualizar el proceso y corroborar que los nanotubos de carbono están homogéneamente distribuidos dentro del medio y que el exceso de líquido iónico ha sido eliminado efectivamente antes de su análisis por SEM.

2. Experimental

2.1 Materiales

Los nanotubos de carbono de múltiples paredes (MWNTs) fueron adquiridos en Bayer Material Science (Alemania), con las siguientes especificaciones: diámetro exterior medio de 25 a 70 nm y una longitud entre 1 a 10 μm . El líquido iónico empleado para la dispersión de los MWNTs fue el 1-butil-3-metil-imidazolio hexafluorofosfato (BMIM PF₆), el cual, se compró en Sigma Aldrich (Alemania). El Triton X-100 fue proporcionado por Fluka (Buchs, Suiza). El metanol fue comprado en Sigma – Aldrich.

El filtro de membrana fue adquirido de Millipore, Alemania (membrana Isopore de policarbonato, hidrofílica, con tamaño de poro de 0.22 micrómetros y 25 mm de diámetro). El baño de ultrasonidos es del modelo Branson CPX952319R.

2.2 Preparación de la muestra de CNTs previa a su análisis por microscopía de barrido con electrones

Las suspensiones de CNTs se prepararon usando tres procedimientos diferentes: dispersión en un disolvente orgánico, en una disolución de tensioactivo y en líquido iónico, a la misma concentración de $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Después las disoluciones fueron homogeneizadas mediante un baño de ultrasonidos durante 15 min a 1800 J/mL . Finalmente se tomó una gota de la suspensión y se colocó en un filtro de celulosa o de policarbonato, dependiendo del tipo de dispersante.

Los MWNTs dispersados en disolvente orgánico o disolución de tensioactivo fueron sometidas a un proceso convencional de preparación de muestra para análisis por SEM (Figura 1a), el cual comprende cuatro etapas: dispersión, separación, secado y recubrimiento metálico. Una gota de la suspensión se coloca en primer lugar sobre una membrana de celulosa y se seca dentro de una campana de extracción bajo un flujo laminar. Después, se realiza un recubrimiento metálico de oro por deposición iónica con plasma (sputtering). En este procedimiento el entorno de la muestra cambia continuamente (líquido-aire-vacío), ya que la separación se realiza en un medio líquido, luego el secado es en un ambiente de aire, y finalmente el análisis, una vez recubierta la muestra, se realiza en un ambiente al vacío.

Por otro lado, la figura 1b representa esquemáticamente el procedimiento propuesto empleado para la dispersión de la muestra en LI, el cual consiste en dos etapas: dispersión de los MWNTs en el LI y eliminación del exceso de LI. Una gota de la suspensión se depositó sobre una membrana de policarbonato en un cartucho de extracción. Es importante

que el filtro tenga un tamaño de poro que permita la eliminación del exceso de líquido iónico, y, al mismo tiempo, evite pérdidas de los MWNTs durante el proceso. La filtración para eliminar el exceso de LI se realizó en un sistema de extracción de fase sólida (modelo Whatman). En este caso, la superficie de la muestra aún posee una delgada capa de LI que incrementa la conductividad de la muestra por lo que no es necesario el recubrimiento metálico con oro. Esta capa de LI no daña o modifica la superficie o características de la muestra. La muestra permanece húmeda dentro del microscopio en un ambiente de vacío.

2.3 Análisis de las muestras de MWNTs por SEM

Las imágenes de las muestras de MWNTs fueron obtenidas usando un microscopio de barrido electrónico JEOL, modelo JSM-6300, el cual, está equipado con un espectrómetro de energía dispersiva de rayos X (EDS) y que usa el software para control y registro de datos Oxford INCA. Este equipo se encuentra instalado dentro del S.C.A.I de la Universidad de Córdoba.

Para obtener imágenes de calidad se debe evitar la descomposición de cualquiera de los componentes de la muestra y asegurar una buena conductividad eléctrica entre muestra y portamuestras del microscopio. Se prepararon al menos 20 muestras para cada suspensión, lo que permitió analizar alrededor de 500 MWNTs para cada procedimiento. Las medidas se realizaron con ayuda del software ImageJ.

2.4 Medidas de espectroscopia Raman

Las medidas de espectroscopia Raman se realizaron en un equipo Raman confocal de la marca WITec GmbH y modelo alpha500. Para la

excitación se usó un láser de doble frecuencia Nd:YAG a 532 nm (generación del segundo armónico), el cual alcanza una profundidad de penetración de 0.5 μm en silicio. Los espectros Raman se midieron usando una rejilla de difracción de 600 $\text{g}\cdot\text{mm}^{-1}$. El haz del láser se enfocó sobre la muestra usando un objetivo de 20x/0.4 de la marca Zeiss. La potencia del láser se midió directamente sobre la muestra y fue entre 0.5 a 1.5 mW. Los espectros Raman se midieron con un tiempo de integración de 1 s acumulando un total de 10 espectros.

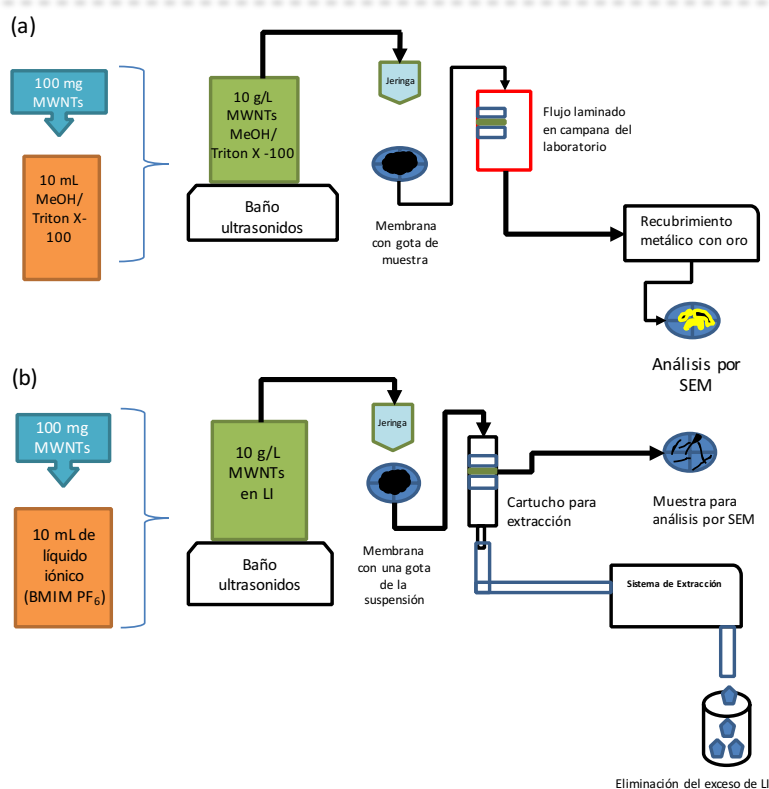


Figura 1. Esquemas de los procesos de preparación de la muestra previo al análisis por microscopía de barrido electrónico: (a) usando disoluciones de metanol y Tritón X-100 como agentes disgregantes, (b) MWNTs dispersados con ayuda del líquido iónico BMIM PF₆.

3. Resultados y discusión

Típicamente, las muestras de nanopartículas se encuentran en forma de polvo o suspensiones líquidas. Las muestras en polvo a menudo se dispersan en líquidos antes de su deposición sobre un sustrato para su evaluación por microscopía electrónica. Hay dos factores claves para el éxito de la preparación de una muestra cuyo objetivo es evaluar el tamaño de los nanomateriales. Uno es que la muestra a analizar sea representativa de todo el nanomaterial, esto es que el tamaño y la distribución de tamaño de las nanopartículas de una porción de la muestra no difieran significativamente de las características de la población total del nanomaterial. El segundo es que el nanomaterial esté dispersado de modo que permita que las partículas sean claramente visibles y no se toquen entre sí para lograr imágenes con límites fácilmente discernibles. También es deseable que las nanopartículas se encuentren en el mismo campo de visión de las imágenes adquiridas.

3.1. Estabilidad de las suspensiones

Se compararon tres estrategias diferentes de dispersión de CNTs para la preparación de muestras previa a su análisis por SEM. El método 1 (M1) consiste en la dispersión de los MWNTs en metanol, el método 2 (M2) emplea una disolución del tensioactivo Triton X-100 como agente dispersante y el método 3 (M3) consiste en la dispersión con ayuda del líquido iónico BMIM-PF₆. En la tabla 1 se presenta un resumen de las características de las suspensiones preparadas con cada uno de los agentes dispersantes.

Tabla 1. Evaluación cualitativa de las características de las dispersiones de MWNTs obtenida con los agentes dispersantes evaluados.

Característica	M1 Metanol	M2 Triton X-100	M3 BMIM-PF ₆
Dispersión de MWNTs	Baja	Media	Alta
Representatividad de la muestra	Baja/media	Baja/media	Alta
Tiempo de preparación	minutos	minutos	Minutos
Coste de preparación	Bajo	medio	Alto
Cantidad MWNTs individuales	bajo	alto	Alto
Homogeneidad de la suspensión	Baja	Alta	Media/alta
Entorno de la muestra	líquido-sólido-vacío	líquido-sólido-vacío	Embebido en líquido
Estabilidad de las dispersiones	minutos	Días	Días
Cantidad de agregados	Alta	Alta/media	Media/baja
Daño en la superficie	No detectado	No detectado	No detectado

El método denominado M1 usó etanol como agente dispersante, el cual, se emplea comúnmente para la preparación de muestras para microscopía electrónica de transmisión (TEM) o para SEM. El metanol permite la adhesión de las nanopartículas al grid (rejilla). Es un buen agente dispersante para suspensiones diluidas; sin embargo, en suspensiones con un alto contenido de nanomaterial –como en el presente estudio- la

estabilidad de la suspensión es corta y muchas nanopartículas precipitan rápidamente. Además, el metanol no es capaz de dispersar nanopartículas de manera efectiva, por lo que, agregados están presentes en la suspensión.

El segundo método (M2) implica el uso de disoluciones de tensioactivo para la dispersión de los nanotubos de carbono. Los MWNTs se dispersaron mejor en la disolución de Triton X-100 que en la suspensión de metanol, mostrando una estabilidad mayor, como puede verse en la figura 2. El mecanismo de dispersión se asocia a la orientación que toman las moléculas de surfactante de modo que los grupos hidrófobos (colas) se dirigen a la superficie de los nanotubos, mientras que los grupos de las cabezas hidrófilas se orientan hacia la fase acuosa, produciendo una disminución en la tensión interfacial entre los MWNTs y el agua²⁸.

El Triton X-100 fue seleccionado porque tiene un alto poder de dispersión en virtud de su aromaticidad²⁸. Las moléculas que tienen una estructura de anillo de benceno se adsorben más fuertemente a las superficie de grafito debido a la interacción del tipo π - π (*stacking*). La cantidad de tensioactivo adsorbido depende de las interacciones grafito – tensioactivo, de la estructura superficial y de la longitud de la cadena alquílica y el tamaño de los grupos de la cabeza del tensioactivo, afectando a su poder dispersante²⁹. Los grupos hidrófobos (colas) se colocan generalmente de manera plana sobre la superficie del grafito, ya que las unidades de metileno de las cadenas del hidrocarburo están bien

²⁸ R. Rastogi, R. Kaushal, S.K. Tripathi, A.L. Sharma, I. Kaur, L.M. Bharadwaj, J. Colloid Interf. Sci. 328 (2008) 421-428.

²⁹ V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, R.H. Hauge, R.E. Smalley, Nano Lett. 3 (2003) 1379-1382.

coordinadas con las celdas unitarias del grafito. Las colas largas significan un volumen espacial alto y más impedimento estérico, proporcionando así mayores fuerzas de repulsión entre los CNTs individuales²².

El método 3, que consiste en la dispersión de MWNTs con la ayuda de líquido iónico, permitió obtener una dispersión eficaz. La interacción del LI de base imidazolio con los nanotubos de carbono de una pared (SWNTs) se ha descrito como una interacción débil del tipo Van der Waals. El LI puede evitar efectivamente la fuerte interacción de apilamiento $\pi - \pi$ entre SWNTs y dispersarlos³⁰. Fukushima y colaboradores³¹ usaron por primera vez LIs con grupo imidazolio como una nueva clase de agentes dispersantes de nanotubos de carbono. Desde entonces, varios trabajos han descrito el uso de líquidos iónicos para la dispersión de CNTs³². Los CNTs podrían ser dispersados directamente en el LI, pero en algunas ocasiones es necesaria una disolución acuosa u orgánica estable de LI para lograr una dispersión total de los CNTs³³. Por otra parte, la combinación de CNTs con LIs ha sido explotada ampliamente para el desarrollo de los llamados materiales blandos^{34, 35}. Una ventaja del método propuesto es que la estabilidad de la suspensión es muy alta en comparación con M1 y M2, incluso para concentraciones altas. Sin embargo, la eliminación completa de agregados no se logra, ya

³⁰ J. Wang, H. Chu, Y. Li, ACS Nano 2 (2008) 2540-2546.

³¹ T. Fukushima, A. Kosaka, Y. Ishimura, T. Yamamoto, T. Takigawa, N. Ishii, T. Aida, Science 300 (2003) 2072-2074.

³² P. Yu, H. Zhou, N. Zhu, Y. Lin, L. Mao, Electrochem. Commun. 11 (2009) 1393-1396.

³³ M.L. Polo-Luque, B.M. Simonet, M. Valcárcel, Trends Anal. Chem. (TrAC) 47 (2013) 99-110.

³⁴ M.L. Polo-Luque, B.M. Simonet, M. Valcárcel, Anal. Bioanal. Chem. 404 (2012) 903-907.

³⁵ M.L. Polo-Luque, B.M. Simonet, M. Valcárcel, Talanta 104 (2013) 169-172.

que aún existen algunos de tamaño y cantidad menor en comparación con los que se presentan en los otros métodos de preparación.

La figura 2 presenta imágenes de las tres suspensiones a diferentes tiempos. Como puede verse con M3 se alcanzan mejores resultados en términos de estabilidad, seguido por M2 y al final, M1, como se describió anteriormente. A tiempos largos, M1 y M2 presentaron precipitados de CNTs. En este estudio se prepararon suspensiones a concentraciones altas; sin embargo, dispersiones con tensioactivos de CNTs a concentraciones bajas mostraron una mejor estabilidad.

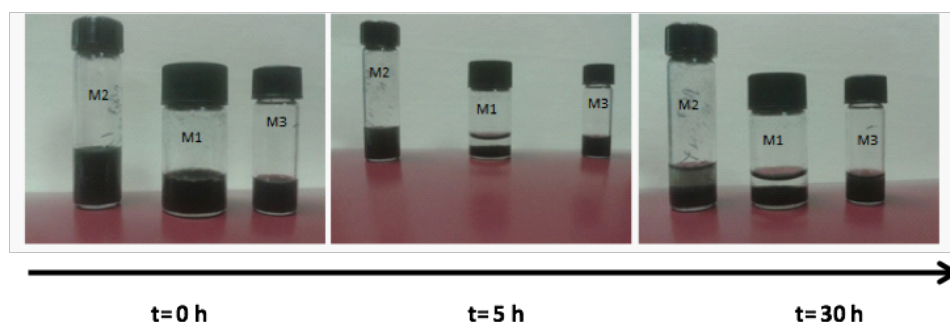


Figura 2. Fotografías de las tres dispersiones en función de tiempo, donde se aprecia la estabilidad de cada una de ellas.

3.2. Imágenes de microscopía de barrido electrónico

Como se ha descrito anteriormente, no todas las suspensiones presentaron un tiempo de estabilidad deseado, por lo tanto, las imágenes por SEM se adquirieron inmediatamente después de la preparación de la suspensión, con el fin de asegurar la mejor dispersión de los MWNTs en cada disolvente.

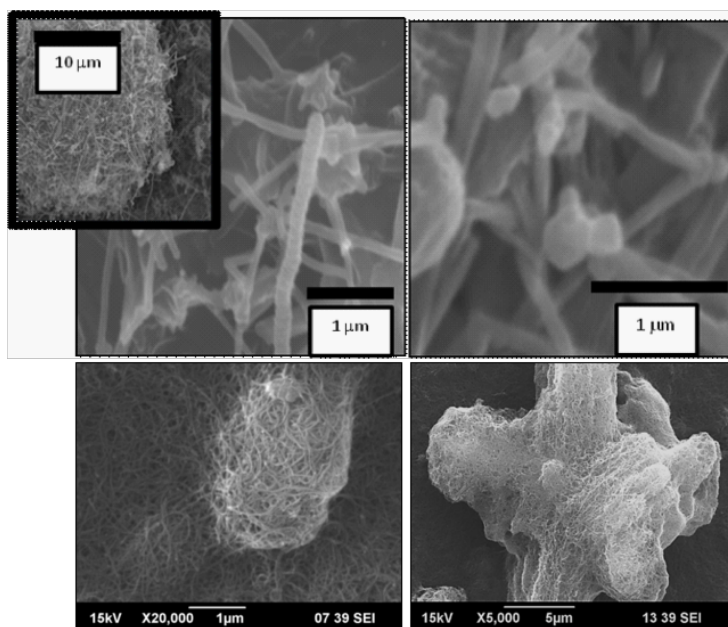


Figura 3. *Imágenes obtenidas por SEM de MWNTs preparados dispersándolos en una disolución de metanol siguiendo el método 1, que comprende la dispersión, filtración sobre una membrana de celulosa, secado y recubrimiento con oro por sputtering.*

En la figura 3 se encuentran imágenes de MWNTs suspendidos en metanol obtenidas por SEM. Como puede observarse, la dispersión de los MWNTs obtenida con este método es pobre, ya que se observa una gran cantidad de agregados. Hay una cantidad mínima de MWNTs individuales. Por lo tanto, las medidas de longitud y diámetro exterior de los MWNTs son complejas y se requiere de un analista entrenado.

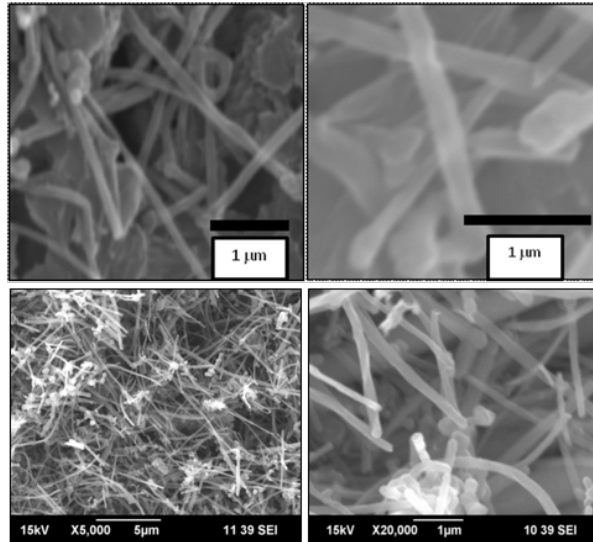


Figura 4. Imágenes de SEM de MWNTs dispersados en Triton X-100 siguiendo el método 2, que comprende la dispersión, filtración sobre una membrana de celulosa, secado y recubriendo con oro por sputtering.

La dispersión con ayuda del tensioactivo mejora la estabilidad y la homogeneidad de la suspensión, como puede verse en la figura 4. El Triton X-100 permite una buena dispersión de MWNTs. Sin embargo, debido a la alta concentración de CNTs en la suspensión, también se observan agregados de nanomaterial.

Por otro lado, la suspensión de MWNTs dentro del líquido iónico resultó estable durante días. Las imágenes de SEM (véase la figura 5) muestran muchos MWNTs individuales o aislados, lo que mejora la caracterización del nanomaterial, por ejemplo las medidas de longitud y diámetro exterior, ya que se pueden identificar claramente los límites de cada MWNT. Cabe señalar que los residuos de líquido iónico no interfieren con la calidad de la imagen. Una ventaja es que la muestra permanece suspendida en el mismo medio en el que se prepara durante el

análisis, por lo tanto, no hay ningún cambio en el entorno debido al proceso de preparación de la muestra. Además, como se mencionó anteriormente, se evita el recubrimiento de oro con el método de plasma catódico, obteniéndose imágenes de buena calidad con excelente contraste y brillo.

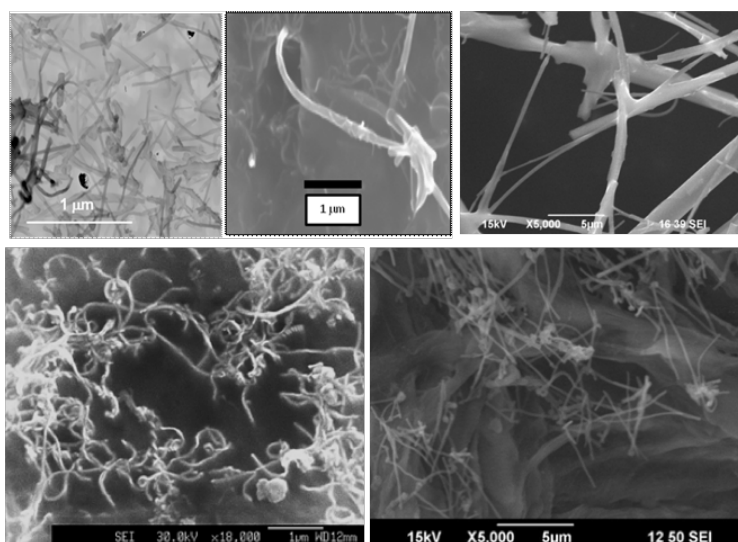


Figura 5. Imágenes de SEM de MWNTs dispersos con el líquido iónico BMIM PF₆ (método 3). Una gota de la suspensión fue colocada en una membrana de policarbonato y el exceso de LI se eliminó.

Se ha calculado la distribución del tamaño –en términos del diámetro exterior- para los MWNTs dispersos en LI, véase la figura 6. Como puede observarse, la mayoría de los MWNTs tienen un tamaño dentro del intervalo que proporcionó el fabricante, por lo que el LI tampoco interfiere en las medidas de las dimensiones de los MWNTs.

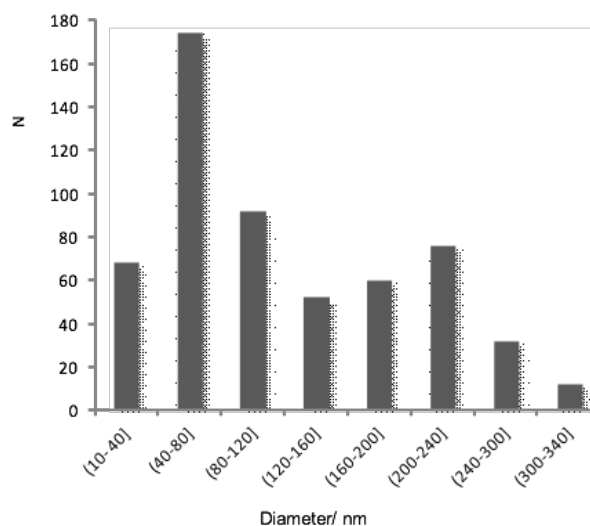


Figura 6. Distribución del diámetro calculado a partir de las imágenes de SEM de los MWNTs dispersos en el líquido iónico BMIM PF₆.

3.3. Caracterización Raman de la dispersión en líquido iónico

Se midieron espectros Raman de los MWNTs durante las distintas etapas de preparación y dispersión previa a la caracterización por SEM con el fin de corroborar que los MWNTs estaban dispersos de forma efectiva dentro del LI y que el exceso de líquido iónico había sido eliminado antes de las medidas de microscopía. La bandas más significativas en el espectro Raman de nanotubos de carbono de múltiples capas son el pico de desorden (banda D $\sim 1350 \text{ cm}^{-1}$), el modo tangencial (banda G, $1400\text{-}1700 \text{ cm}^{-1}$), y el sobretono de segundo orden de la banda D (G', $2500\text{-}2800 \text{ cm}^{-1}$)³⁶.

³⁶ M. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, A. Jorio, Phys. Rep. 409 (2005) 47-99.

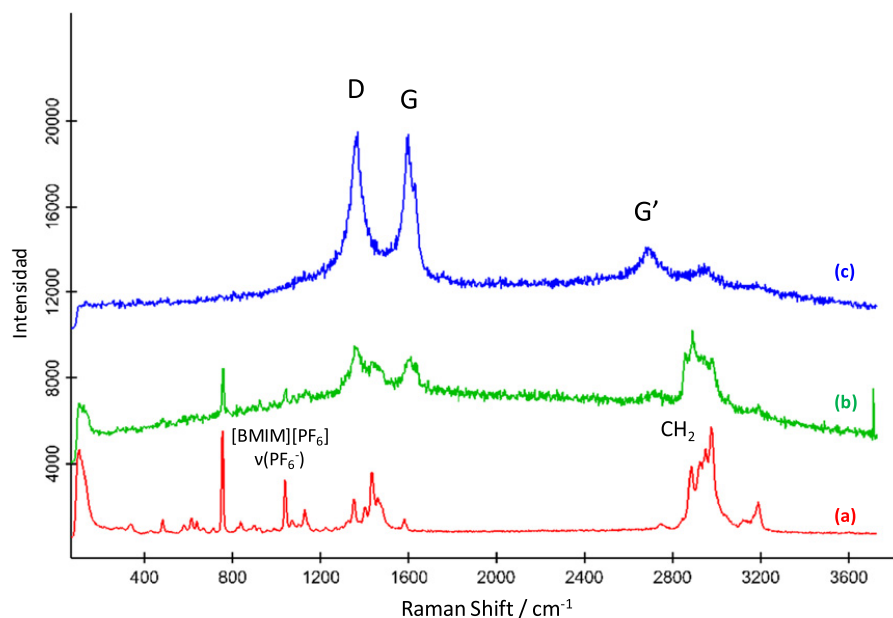


Figura 7. Espectro Raman de (a) líquido iónico BMIM PF_6 , (b) MWNTs dispersos en BMIM PF_6 y (c) MWNTs después de la deposición en membrana y eliminación del exceso de LI, antes del análisis por SEM.

La figura 7 muestra los espectros del LI BMIM PF_6 (a), la suspensión de MWNTs en el LI (b) y el espectro de MWNTs depositados sobre una membrana donde se ha eliminado el exceso de LI (c), que fue la forma en que se preparó la muestra para su análisis por SEM. El espectro del LI presenta bandas correspondientes a los enlaces CH_2 , mientras que la banda más predominante aparece a 739 cm^{-1} generada por el tensión simétrica del anión PF_6 . En el espectro de la dispersión de los MWNTs en el líquido iónico, se observan las bandas correspondientes a los MWNTs (D y G) junto con las bandas correspondientes al LI del medio.

Una vez que los MWNTs se depositan en la membrana y se elimina el exceso de LI, el espectro Raman correspondiente presenta todas las

características de los MWNTs. Por lo tanto, la dispersión en líquido iónico no altera las propiedades de los MWNTs, permitiendo su caracterización por SEM y espectroscopia Raman.

4. Conclusiones

En este trabajo, se ha evaluado la capacidad de tres disolventes -metanol, Triton X-100 y el líquido iónico BMIM PF₆⁻ para la preparación de dispersiones de nanotubos de carbono previa a su análisis por microscopía de barrido electrónico. El líquido iónico resultó ser el más eficiente en términos de estabilidad de la dispersión. Además permitió obtener imágenes por SEM sin necesidad de un recubrimiento metálico, lo que reduce el costo y el tiempo de análisis.

La espectroscopia Raman se empleó para evaluar la dispersión de los MWNTs dentro del líquido iónico. En el espectro de la suspensión se pueden observar las bandas correspondientes a los MWNTs junto con las del anión hexafluorofosfato. La dispersión de los MWNTs en el líquido iónico permite su caracterización a través de SEM y espectroscopia Raman. Por tanto, el líquido iónico se propone como el mejor candidato, ya que no presenta interferencias en las medidas por SEM y espectroscopia Raman permitiendo medidas rápidas.

4.3. Caracterización y estudios de estabilidad de suspensiones acuosas de nanotubos de carbono monocapa y multicapa

En este capítulo se ha investigado la estabilidad de dispersiones de nanotubos de carbono monocapa (SWNTs) y multicapa (MWNTs) suspendidos en una disolución acuosa de tensioactivo dodecil bencenosulfonato sódico (NaDBS). Se prepararon dispersiones usando distintos tipos de nanotubos y siguientes diferentes métodos que difieren en la cantidad de nanomaterial dispersado y en la etapa de ultrasonidos empleada para conseguir la dispersión de la muestra. Las dispersiones obtenidas se han caracterizado mediante diversas técnicas complementarias, como microscopía electrónica de transmisión, espectroscopia Raman, y nefelometría, de modo que se obtiene información de diferentes características de las muestras. Por último, se ha evaluado la estabilidad a tiempos elevados de las dispersiones, para evaluar el potencial uso de dispersiones de este tipo como materiales de referencia de nanotubos de carbono.

1. Introducción

La producción de nanoestructuras de carbono está aumentando muy rápidamente¹ en respuesta a la demanda de productos nuevos o mejorados, tales como revestimientos, microestructuras, materiales compuestos o polímeros modificados. Dichas demandas necesitan de medidas de alta calidad en sus procesos para la caracterización efectiva de los nanomateriales producidos.

Los materiales de referencia constituyen una opción necesaria y eficaz para hacer buenas medidas. Sin embargo, actualmente existe poca disponibilidad de materiales de referencia para muestras de CNTs en suspensión. Una búsqueda bibliográfica sobre la disponibilidad de materiales de referencia certificados (CRM) para medidas de nanoestructuras de carbono dio como resultado una lista de materiales de referencia (RM) y CRM para nanotecnología. La base de datos ha sido producida por un grupo de trabajo conjunto entre el BAM (*Federal Institute for Materials Research and Testing*)² y el ISO/TC 229 “Nanotechnologies”³. Un total de 46 materiales referencia están disponibles de los cuales 7 son los CRMs. Además, solo después de marzo del 2012 se tuvo un RMs de nanoestructuras de carbono⁴, en concreto, el material RM 2483⁵, del NIST, que consiste en nanotubos de

¹ R. J. Aitken, M. Q. Chaudhry, A. B. A. Boxall, M. Hull, *Occup Med-Oxford* 56, (2006) 300.

² T. Linsinger, G. Roebben, C. Solans, R. Ramsch, *Trends in Analytical Chemistry*, 30 (2011) 18.

³ <http://www.nano-refmat.bam.de> (último acceso Noviembre 2015)

⁴ D. Rejeski, *Project on Emerging Nanotechnologies* (2009) http://www.nanotechproject.org/process/assets/files/8278/pen_submission_cpssc.pdf (último acceso Noviembre 2015)

⁵ R. Zeisler, R. L. Paul, S. R. Oflaz, L. L. Yu, J. L. Mann, W. R. Kelly, B. E. Lang, S. D. Leigh, J. Fagan, *Anal. Bioanal. Chem*, 399 (2011) 509.

carbono de pared simple en polvo con los valores certificados para composición química y varios valores informativos para otras propiedades incluyendo el tamaño de los nanotubos. En caso necesario, éste puede ser dispersado en una solución de desoxicolato de sodio mediante ultrasonidos seguido de centrifugación para su purificación previa a mediciones de absorbancia.

La certificación de materiales de referencia para nanoestructuras de carbono en disolución plantea varios problemas que surgen desde la hidrofobicidad de las nanoestructuras de carbono, la baja estabilidad acuosa de este tipo de nanomateriales, su tendencia a agregarse, su pureza típicamente baja y la ausencia de protocolos para medir sus propiedades^{6,7,8}. Los nanotubos tienden a formar agregados, y la exfoliación de los mismos se ha llevado a cabo mediante ultrasonificación en presencia de disolventes orgánicos⁹, o en disoluciones acuosas de tensioactivos¹⁰, copolímeros¹¹, polielectrolitos¹² y moléculas de ADN¹³. Algunos de los tensioactivos más comúnmente empleados son dodecilmecanosulfonato sódico (NaDBS), deoxicolato sódico (DOC),

⁶ Q. Chen, C. Saltiel, S. Manickavasagam, L. S. Schadler, R. W. Siegel, H. Yang, J. Colloid Interface Sci, 280 (2004) 91.

⁷ J. H. Leman, M. Terrones, E. Mansfield, K. E. Hurst, V. Meunier, Carbon, 4 (2011) 2581.

⁸ M. Valcárcel, Y. Cárdenas, B. Simonet, Anal Chem, 79 (2007) 4788.

⁹ K.R. Moonosawmy and P. Kruse, J. Phys. Chem. C 113 (2009) 5133.

¹⁰ V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, R.H. Hauge, R.E. Smalley, Nano Lett. 3 (2003) 1379.

¹¹ I. Cotiuga, F. Picchioni, U.S. Agarwal, D. Wouters, J. Loos, P.J. Lemstra, Macromol. Rapid Commun. 27 (2006) 1073.

¹² Y. Liu, L. Gao, S. Zheng, Y. Wang, J. Sun, H. Kajiura, Y. Li, K. Noda, Nanotechnology 18 (2007) 365702.

¹³ M. Zheng, A. Jagota, E. D. Semke, B. A. Diner, R. S. Mclean, S. R. Lustig, R. E. Richardson, N. G. Tassi, Nat. Mater. 2 (2003) 338.

colato sódico (SC), dodecilsulfato sódico (SDS) y Tritón X-100¹⁴.

Dispersiones de nanotubos de carbono se han caracterizado mediante espectroscopia UV-vis¹⁵, fluorescencia NIR¹⁶, o mediante la inspección visual de la opacidad de las dispersiones¹⁷. La espectroscopia UV-vis se ha usado para cuantificar dispersiones de SWNTs, sin embargo es difícil separar las contribuciones de SWNTs y de otras especies como impurezas de carbono presentes en la muestra o agentes dispersantes. Los estudios de luminiscencia NIR están limitados a SWNTs dispersados individualmente, y además se produce un *quenching* de la fluorescencia en el caso de CNTs metálicos. Por otro lado, las técnicas microscópicas proporcionan información exacta sobre las características de los CNTs (forma, tamaño, etc.), pero tienen la limitación de que pueden producirse procesos de agregación durante la preparación de la muestra, así como la incertidumbre estadística relacionada con la subjetividad implícita cuando se decide qué parte del *grid* se fotografía¹⁸. La espectroscopia Raman ha emergido como una herramienta poderosa para la caracterización de nanotubos de carbono, ya que las medidas son simples y rápidas, pueden llevarse a cabo a temperatura y presión ambiente¹⁹.

En este trabajo, se han preparado dispersiones de CNTs de distinta naturaleza: SWNTs y MWNTs en una disolución de NaDBS y se ha

¹⁴ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Analyst* 138 (2013) 2378.

¹⁵ M. J. O'Connell, S. M. Bachilo, C. B. Huffman, V. C. Moore, M. S. Strano, et al. *Science* 297 (2002) 593.

¹⁶ R. B. Weisman, *Anal. Bioanal. Chem.*, 396 (2010) 1015.

¹⁷ C. G. Salzmann, B. T. T. Chu, G. Tobias, S. A. Llewellyn, M. L. H. Green, *Carbon*, 45 (2007) 907.

¹⁸ A. E. Porter, M. Gass, K. Muller, J. N. Skepper, P. A. Midgley and M. Welland, *Nat. Nanotechnol.* 2 (2007) 713.

¹⁹ A. Jorio, M. A. Pimenta, A. G. Souza Filho, R. Saito, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus, *New J. Phys.*, 5 (2003) 1.1.

caracterizado el tamaño, la distribución de tamaño y dispersión de las nanoestructuras de carbono con el objetivo de desarrollar un posible candidato a material de referencia para mediciones químicas. Se evaluaron la estabilidad y los efectos del tensioactivo en las suspensiones.

2. Experimental

2.1. Material y reactivos

La muestra 1 fue preparada usando nanotubos de carbono de pared simple (SWNTs) suministrados por NTP (Nanotech Port, Shenzhen, China). Las especificaciones técnicas de los SWNTs son: < 2 nm de diámetro, longitud 5-15 μm , > 90% de pureza y contenido de cenizas < 10%. La muestra 2 fue preparada con nanotubos de carbono multicapa (MWNTs) comprados en MER (Materials and Electrochemical Research Corporation, Tucson, AZ, USA), los nanotubos tiene las siguientes especificaciones: 2 μm de longitud y 110-170 nm de diámetro exterior. El producto contiene más del 95% MWNTs en relación con el metal. La muestra 3 fue preparada con MWNTs de Nanocyl S.A. (Sambreville, Bélgica); los nanotubos son típicamente 1.5 μm de largo, 9.5 nm de diámetro exterior y 95% de pureza. Los MWNTs de la muestra 4 fueron de la marca Baytubes de Bayer Material Science AG (Leverkusen, Alemania), que son 1-10 μm de largo, 5 a 20 nm de diámetro exterior y al menos 95% de pureza. Las características de los nanotubos utilizados se resumen en la Tabla 1.

La disolución de surfactante aniónico fue preparada con dodecil benceno sulfonato de sodio (NaDBS) que fue adquirido en Aldrich GmbH (Berlín, Alemania). Todas las suspensiones fueron elaboradas con agua Milli-Q.

Tabla 1. Características de los distintos tipos de nanotubos de carbono empleados para la preparación de las dispersiones.

Muestra	Tipo de CNTs	Dimensiones: d (nm), l (μm)	Proveedor
1	SWNTs	d > 2, l = 5–15	NTP
2	MWNTs	d = 110-170, l = 2	MER
3	MWNTs	d = 9.5, l = 1.5	Nanocyl
4	MWNTs	d = 5–20, l = 1 - 10	Bayer

2.2. Preparación de las dispersiones

Se prepararon dispersiones acuosas de tensioactivo NaDBS a una concentración 0.5% empleando los nanotubos de carbono descritos anteriormente usando tres métodos de preparación diferentes (A, B y C). Los parámetros experimentales de cada método se resumen en la tabla 2. Todos los métodos de preparación incluyeron una etapa de homogeneización de la suspensión. La homogenización se realizó con una sonda de ultrasonidos (alta energía) o con baño de ultrasonidos (baja energía), y posteriormente se llevó a cabo una etapa de separación (purificación) por ultracentrifugación.

Las variables estudiadas fueron la cantidad de energía suministrada y la concentración de CNTs en la suspensión. Los métodos A y B, usaron la misma concentración de CNTs. El método A utiliza la menor cantidad de energía para la dispersión de los nanotubos ($135\,000\text{ J}\cdot\text{ml}^{-1}$), mientras que los métodos B y C emplearon una energía mayor ($163\,500\text{ J}\cdot\text{ml}^{-1}$). Sin embargo, en el método C la concentración de CNTs (1 mg L^{-1}) fue la

mitad que para los métodos anteriores. En todos los casos se llevó a cabo el mismo proceso de centrifugación.

Se prepararon dispersiones con los cuatro tipos de CNTs usando los tres métodos descritos. Las muestras 1 y 4 (SWNTs y MWNTs, respectivamente) obtenidas con los métodos A y C fueron las más estables con el tiempo, y por lo tanto, se seleccionaron para los estudios de estabilidad y caracterización que se describen a continuación.

Tabla 2. Condiciones para la preparación de las dispersiones de CNTs en tensioactivo.

Parámetro	Método A	Método B	Método C
Concentración de CNTs ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	2	2	1
Energía homogeneización ($\text{J}\cdot\text{ml}^{-1}$)	135000	163500	163500
Energía separación (g)	11800	11800	11800

2.3. Caracterización y estudios de estabilidad

Para la caracterización y estudios de estabilidad de las suspensiones preparadas se utilizaron diversas técnicas analíticas. Las técnicas microscópicas fueron utilizadas para evaluar el estado de agregación de las dispersiones así como la distribución de tamaños. Se evaluaron tamaño y distribución de tamaño por mediciones directas sobre micrografías con la ayuda del software de análisis de imagen Imagen J. Se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM) M10 Phillips y un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución (HTEM) FEI Tecnai 30. Ambos se encuentran en el Servicio Central de Apoyo a la Investigación (SCAI) de la Universidad de Córdoba.

La espectroscopia Raman se utilizó para identificar las nanoestructuras en suspensión. Para los estudios por espectroscopia Raman se colocó una gota de la muestra sobre la superficie de una placa de cristal de cuarzo. Los espectros Raman se registraron con un espectrómetro Raman confocal modelo WITec alpha500 equipado con un detector CCD. Las muestras fueron excitadas en la longitud de onda del segundo armónico del láser verde Nd:YAG (532 nm). Una lente de 50x fue utilizada en el microscopio para enfocar la muestra.

El estado de agregación de CNTs en la suspensión se evaluó usando técnicas de dispersión de luz, en este caso nefelometría. Los espectros de nefelometría se registraron con un espectrofluorímetro QuantaMasterTM PTI del Photon Technology International equipado con una lámpara de xenón de arco corto de 75 W y un detector modelo PTM 814. El software FeliX32 fue utilizado para adquirir y procesar datos de fluorescencia y también para controlar el espectrómetro. Las ranuras de excitación y emisión fueron ambas de 2.5 nm de ancho. El espectrofluorímetro trabajó en condiciones para medidas nefelométricas en el modo de excitación. Se usaron cubetas de cuarzo para las medidas.

3. Resultados y discusión

En este trabajo se ha estudiado la estabilidad de dispersiones de nanotubos de carbono preparadas en un disolución de tensioactivo, que promueve una alta estabilidad y dispersión de los nanomateriales^{20, 21, 22}. Previamente se ha investigado el uso de diferentes disolventes para la

²⁰ S. López-Feria, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (2009) 737.

²¹ V. C. Moore, M. S. Strano, E. H. Haroz, R. H. Hauge, R. E. Smalley, J. Schmidt, Y. Talmon, *Nano Lett.* 3 (2003) 1379.

²² W. Zhou, S. Lv, W. Shi, *Eur. Polym. J.* 44 (2008) 587.

dispersión de nanotubos de carbono: disolventes orgánicos (acetona, metanol, 2-propanol, 2-butanol), tensioactivos (Triton-X100, dodecil sulfato de sodio (SDS) o sodio dodecil benzenosulfonato (NaDBS)) y líquido iónico (1-Butil-3-metilimidazolio hexafluorofosfato (BMIM-PF₆)). En el capítulo 4.2. de esta Tesis se seleccionó el líquido iónico como el mejor disolvente para llevar a cabo medidas posteriores de microscopía de barrido electrónico.

En este caso se ha optado por utilizar tensioactivos para obtener dispersiones de nanotubos de carbono estables en el tiempo. El uso de tensioactivos para la dispersión de nanotubos ha sido ampliamente descrito en la bibliografía, empleándose tensioactivos de naturaleza catiónica, aniónica o neutra²³. En nuestro caso se ha seleccionado el sodio dodecilbenzenosulfonato (NaDBS) por la alta estabilidad de las suspensiones obtenidas a concentraciones no muy elevadas de tensioactivo^{24, 25, 26}. Se ha descrito que los tensioactivos con grupos aromáticos, como el Triton X-100 o el NaDBS, tienen una mayor capacidad para dispersar los CNTs en virtud a su aromaticidad. Las moléculas que tienen una estructura de anillo de benceno se adsorben más fuertemente a las superficie de grafito debido a la interacción del tipo π - π (*stacking*). Se ha descrito que el NaDBS dispersa mejor los

²³ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Analyst* 138 (2013) 2378.

²⁴ M. T. Martínez, M. A. Callejas, A. M. Benito, Cochet M, Seeger T, Anson A, *Carbon* 2003 (2003) 2247.

²⁵ R. Rastogi, R. Kaushal, S. K. Tripathi, A. L. Sharma, I. Kaur, L. M. Bharadwaj, *J. Colloid Interface Sci.* 328 (2008) 421.

²⁶ Y. P. Sun, K. Fu, Y. Lin, W. Huang, *Acc. Chem. Res.* 35 (2002) 1096.

CNTs que el Triton X-100 debido a su grupo de cabeza y la ligeramente más larga cadena alquílica²⁷.

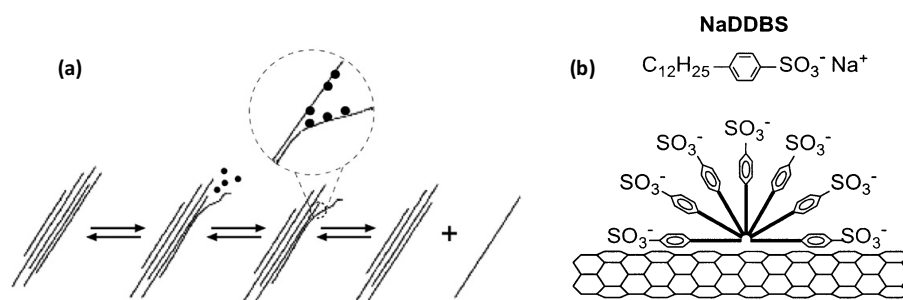


Figura 1. (a) Mecanismo de dispersión de agregados de nanotubos en presencia de tensioactivo sometido a un proceso de ultrasonidos, (b) representación esquemática de cómo el tensioactivo NaDBS se adsorbe en la superficie del CNT. Figura adaptada de las ref^{27, 28}.

Durante el proceso de dispersión el surfactante se adsorbe en la superficie de los nanotubos y en las grietas o poros dentro de los paquetes o aglomerados primarios, a través de estos defectos se propaga el surfactante que facilita la adsorción en los nanotubos. Finalmente, los paquetes o aglomerados idealmente se dividen en nanotubos individuales y se mantienen en suspensión homogénea y estable. La configuración final de sodio dodecil benceno sulfonato (NaDBS) cubre los nanotubos con una micela cilíndrica con el nanotubo en el centro. El espacio entre los anillos de benceno en los tensioactivos y el nanotubo es suficientemente grande como para acomodar los grupos SO_3^- cargados. La figura 1 muestra un esquema del proceso de dispersión de los CNTs

²⁷ M.F. Islam, E. Rojas, D.M. Bergey, A.T. Johnson, A.G. Yodh, Nano Lett. 3 (2003) 269.

²⁸ L. Vaisman, H.D. Wagner, G. Marom, Adv. Colloid Interface Sci. 128-130 (2006) 37.

así como de la adsorción del tensioactivo NaDBS sobre la superficie de los nanotubos.

La tabla 3 resume las características de los métodos de preparación examinados.

Tabla 3. Características cualitativas de las suspensiones en función del agente usado en la preparación.

Característica	Disolvente orgánico	Líquido iónico	Tensioactivo
Efecto contra agregados	Débil	Fuerte	Medio
Impacto ambiental	Alto	Bajo	Moderado
Grado de dispersión	Bajo	Alto	Alto
Estabilidad largo plazo	Baja	Media	Alta

Se prepararon un total de cuatro suspensiones. La muestra 1 contiene nanotubos de carbono de una capa (SWNTs) y las muestras identificadas como 2, 3 y 4 contienen nanotubos de carbono múltiples capas (MWNTs). Las suspensiones de MWNTs difieren en longitud, diámetro y fabricante.

Todas las suspensiones fueron sometidas a una etapa de homogeneización y otra de separación y los sobrenadantes fueron sometidos a un estudio de estabilidad con el tiempo.

Para la caracterización de los CNTs en términos de tamaño y distribución de tamaños así como los estudios de estabilidad se han empleado

diversas técnicas analíticas, entre ellas la microscopía electrónica, la espectroscopia Raman así como nefelometría. El uso de diversas técnicas proporciona información complementaria sobre las propiedades de disoluciones objeto de estudio. Asimismo se ha comparado los resultados proporcionados por las distintas técnicas empleadas.

3.3. Análisis visual

En primer lugar se llevó a cabo un análisis visual de las dispersiones preparadas con los diferentes nanotubos de carbono. La inspección visual de las suspensiones es una medida subjetiva, pero proporciona información rápida sobre la estabilidad y homogeneidad de las suspensiones, ya que al observar una separación de fases, se puede determinar la baja estabilidad de la suspensión.

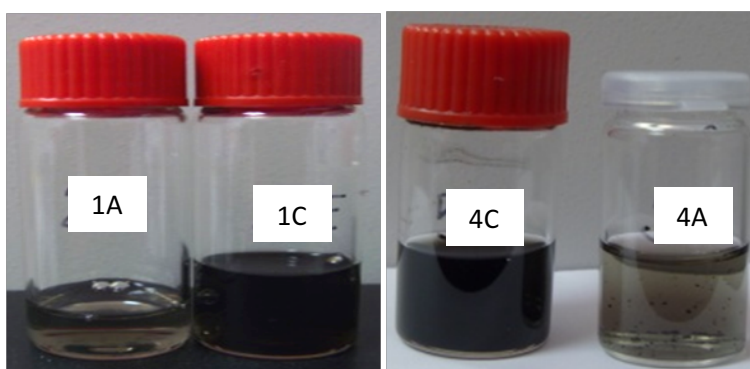


Figura 2. Inspección visual del sobrenadante de las suspensiones preparadas con los CNTs 1 y 4, SWNTs y MWNTs respectivamente, utilizando los métodos de preparación A y C a los 3 días desde su preparación.

Teniendo en cuenta que la transmitancia de la luz por un medio disminuye en función de las propiedades del mismo (densidad, viscosidad, etc.) se puede establecer que una suspensión con un alto contenido en nanotubos de carbono tendrá una apariencia opaca debido a que la luz será absorbida, reflectada o desviada al pasar por la suspensión. En cambio, con una baja concentración de nanomaterial en la suspensión la apariencia puede ser transparente, ya que la mayor cantidad de la luz saliente de la suspensión será casi igual a la cantidad de luz incidente.

Las inspecciones visuales se basan en observar un cambio de color o separación de fases. Como puede verse en la figura 2, el color de la suspensión varía en función de la concentración de CNTs. El color fue inspeccionado semanalmente registrándose cambios de color o la aparición de precipitados. Las suspensiones que permanecieron estables durante un mayor tiempo -al menos 6 meses- fueron las siguientes: muestra 1 usando el método A; y las muestras 1, 2 y 4 utilizando el método C. En la Figura 2 se muestra un fotografía de las disoluciones obtenidas con NaDBS utilizando SWNTs (muestra 1) y MWNTs (muestra 4) preparadas utilizando los métodos A y C.

Para la caracterización posterior usando diferentes técnicas analíticas se seleccionaron las dispersiones preparadas con SWNTs (muestra 1) y MWNTs (muestra 4) obtenidas con los métodos A y C. Ambos métodos difieren en la energía suministrada para la dispersión de los nanomateriales, así como en la concentración de los mismos en la dispersión. Dado que el método C emplea mayor energía para una menor cantidad de CNTs –en ambos casos la concentración de NaDBS fue la misma (0.5%)- cabe esperar, a priori, que la estabilidad de las

dispersiones obtenidas con el método C sea mayor. De hecho, como puede verse en la Figura 2, tras el proceso de centrifugación, las disoluciones preparadas con el método C presentaron un tono más oscuro, revelando la presencia de una mayor cantidad de CNTs, pese al menor contenido de los mismos, lo que revela un mejor proceso de dispersión en la etapa previa de ultrasonidos.

3.2. Microscopía electrónica

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) convencional se utilizó para estudiar el tamaño y la dispersión de tamaños de los CNTs así como evaluar la presencia de agregados en las dispersiones.

En la figura 3 se muestran imágenes típicas de TEM convencional obtenidas de los SWNTs en suspensión. En estas imágenes podemos observar la forma y dimensión de los mismos (longitud y diámetro), de tal modo que esta técnica nos permite estimar la forma de nanotubos. En este caso no se encontraron grandes agregados de CNTs.

Cabe destacar que es necesario tomar imágenes para caracterizar el diámetro y otras imágenes a menores aumentos para la longitud. Las mediciones de longitud fueron grandes retos, ya que los CNTs tienen dimensiones de longitud un orden de magnitud mayor que el diámetro externo, lo que obligó a tener condiciones diferentes para adquirir la imagen para cada una de las dimensiones. Además, los nanotubos tienen formas no lineales y el software utilizado no pueden procesar las formas irregulares o caprichosas para una medición más precisa. Una opción con mayor precisión es suponer una forma cilíndrica rígida de los CNT, y usando los datos obtenidos desde las imágenes TEM se puede realizar una estimación de sus dimensiones.

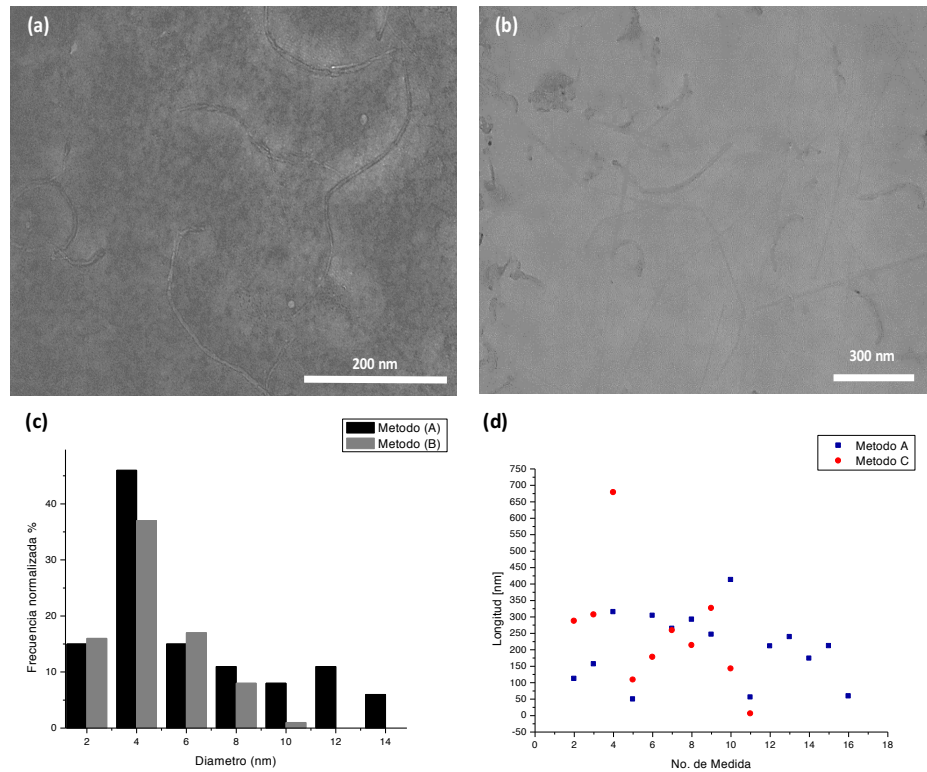


Figura 3. Imágenes TEM de (a) SWNTs preparados con el método A y (b) método C. (c) Distribución de tamaño de los SWNTs en función del diámetro medido a partir de las imágenes de TEM, (d) longitud de los SWNTs.

Los diámetros calculados para SWNTs a partir de las imágenes de TEM oscilaron entre 2-10 nm, lo que coincide con los valores indicados por el fabricante.

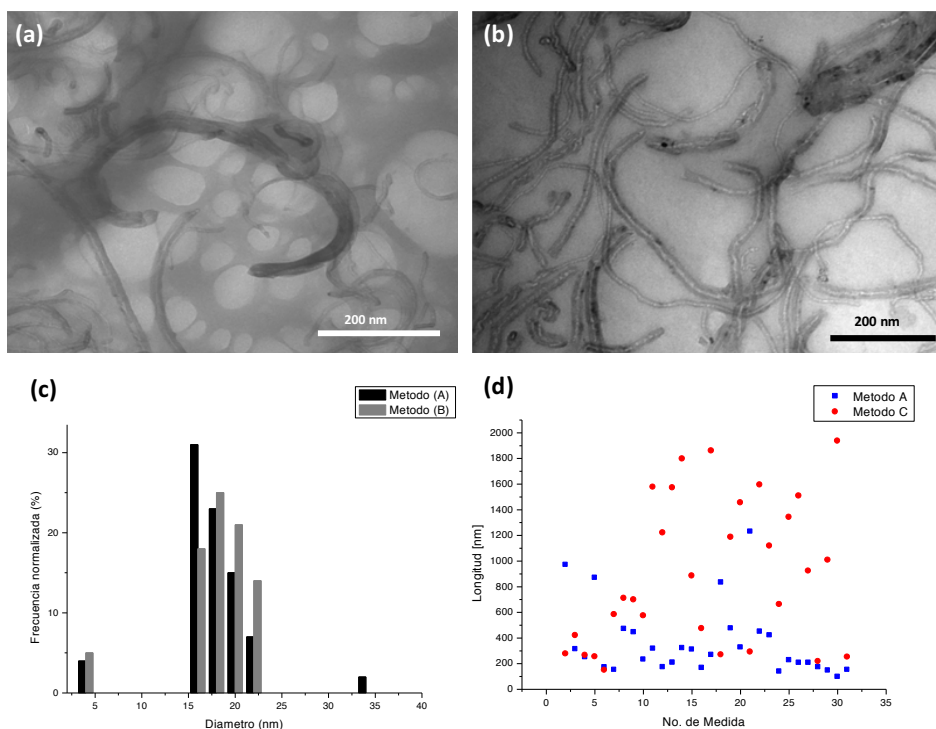


Figura 4. Imágenes de TEM de MWNTs (a) preparados con el método A, (b) método C; y (c) Distribución de tamaños de los MWNTs en función del diámetro calculado a partir de las imágenes TEM, (d) longitud de los MWNTs.

Por otro lado, las imágenes de las suspensiones que contienen MWNTs tuvieron un mayor contraste por efecto de las nanoestructuras presentes y las mayores dimensiones de los mismos. En las imágenes no se detectaron de nuevo grandes agregados de MWNTs (figura 4).

Los diámetros de nanotubos fueron medidos directamente en imágenes de campo claro con la ayuda del software ImageJ. El software fue calibrado directamente por la escala de cada fotografía. Los diámetros MWNTs exhibieron valores centrados en el rango 13-19 nm. El método

C condujo a una distribución mejor definida con un valor central de 18.5 nm. Estos resultados caen dentro del rango especificado del fabricante.

Las imágenes de microscopía de transmisión electrónica de alta resolución (HTEM) nos permitieron caracterizar los tipos específicos de nanoestructuras presentes en cada suspensión además de analizar efectos por el tensioactivo e impurezas.

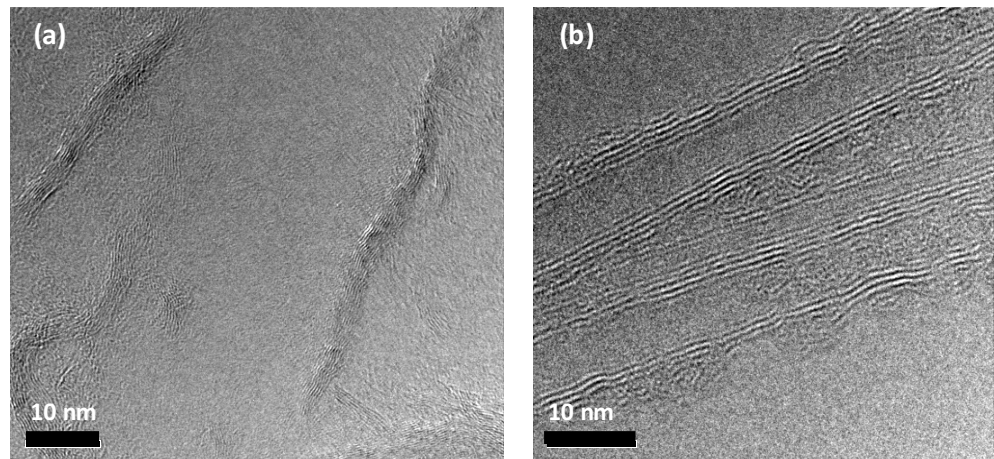


Figura 5. Imágenes HTEM de SWNTs preparados (a) con el método A, y (b) con el método C.

En la figura 5 se muestran imágenes HTEM de SWNTs. Se observaron diámetros de SWNTs para el método A entre 1.5 y 2.8 nm y para el método C de 1.4 a 3.8 nm. El método A, presenta buenos resultados en cuanto a la dispersión de los nanotubos aun cuando la cantidad de energía utilizada era menor para separar los agregados.

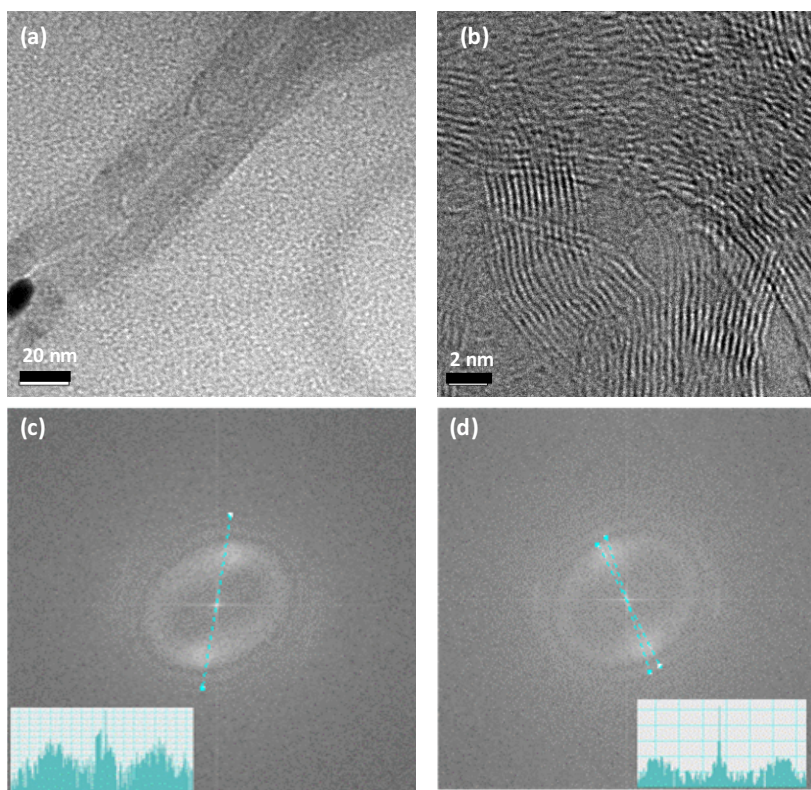


Figura 6. *Imágenes HTEM de MWNTs preparados (a) con el método A, y (b) con el método C. Transformada de Fourier (FFT) correspondiente a las imágenes HTEM anteriores de MWNTs dispersados (c) método A y (d) método C.*

En cuanto a los MWNTs preparados por los métodos A y C, se evaluaron también mediante HTEM (figura 6) calculándose el diámetro observado. Los valores obtenidos para el método A fueron 24.5 ± 9 nm y para el método C 21.9 ± 7 nm.

La cristalinidad de los nanotubos de carbono se evaluó mediante la transformada de Fourier (FFT) de las imágenes de HTEM, analizando la naturaleza y el contraste de los puntos en la imagen de FFT. Si la imagen

FFT consiste en puntos estrechos el material tiene una alta cristalinidad²⁹. En las imágenes de FFT (figura 6 c y d) puede observarse un punto con mayor intensidad en el centro y un barrido lineal a lo largo del nanotubo (como puede verse en el gráfico del interior de la imagen FFT) confirma la presencia de picos afilados correspondientes a carbono altamente ordenado.

3.3. Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman proporciona información útil sobre pureza, defectos y estructura de CNTs y es de ayuda para diferenciar entre SWNTs, MWNTs y otros alótopos del carbono. Además de proporcionar información detallada sobre la estructura geométrica, electrónica y vibracional de los diferentes CNTs presentes en la muestra³⁰, otras ventajas que han impulsado su uso extendido son que se trata de una técnica no invasiva, que no requiere preparación de la muestra y que permite una gran versatilidad de condiciones de medida.

Los principales modos de vibración en el espectro Raman de CNTs son las bandas de respiración radiales (RBM, 100-300 cm^{-1}), características de SWNTs, cuya energía (o número de onda) depende del diámetro de los nanotubos. En algunas ocasiones, si se establecen condiciones muy buenas de resonancia, pueden observarse en MWNTs. El modo tangencial (banda G, 1400-1700 cm^{-1}) es el de mayor energía en el caso de SWNTs, pudiéndose emplear asimismo para la caracterización del diámetro de los CNTs o de su carácter metálico. Dicha banda tiende a dividirse en dos (G^+ y G^-) en el caso de SWNTs, mientras que en

²⁹ J.H. Lehman, M. Terrones, E. Mansfield, K.E. Hurst, V. Meunier, Carbon 49 (2011) 2581.

³⁰ M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, A. Jorio, Phys. Rep. 409 (2005) 47.

MWNTs el efecto es menos pronunciado. La banda D, asociada al desorden, se observa entre 1300-1400 cm^{-1} , pudiéndose observar su sobretono, conocido como banda G', a 2600-2800 cm^{-1} .

3.3.1. Espectros Raman de SWNTs

En la Figura 7 se muestran los espectros Raman obtenidos para las muestras de SWNTs preparadas con los métodos A y C. Como puede verse aparecen los modos de respiración radiales (bandas RBM) a 258 y 305 cm^{-1} . Estas bandas se relacionan con el diámetro del nanotubo³¹. Dado de a frecuencia de las bandas RBM es inversamente proporcional al diámetro del nanotubo, normalmente no es posible detectar las bandas para diámetros mayores de 2 nm.

Asimismo se observa la aparición de la banda D (1342 cm^{-1}), que se asocia a la presencia de desorden en los materiales grafiticos, así como su sobretono de segundo orden, la banda G' a 2628 cm^{-1} . El hecho de que la banda D sea débil en los espectros registrados sugiere la ausencia de abundantes defectos en la estructura atómica de los nanotubos.

Por otro lado, se puede observar la banda G (1581 cm^{-1}), que es la que presenta una mayor intensidad en el espectro Raman de SWNTs. Esta banda es una buena media de la grafitización de la muestra. En este caso es aguda y estrecha, lo que sugiere un alto nivel de grafitización.

³¹ A. M. Rao, E. Richter, S. Bandow, B. Chase, P. C. Eklund, K. A. Williams, S. Fang, K. R. Subbaswamy, M. Menon, A. Thess, R. E. Smalley, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus, Science 275 (1997) 187.

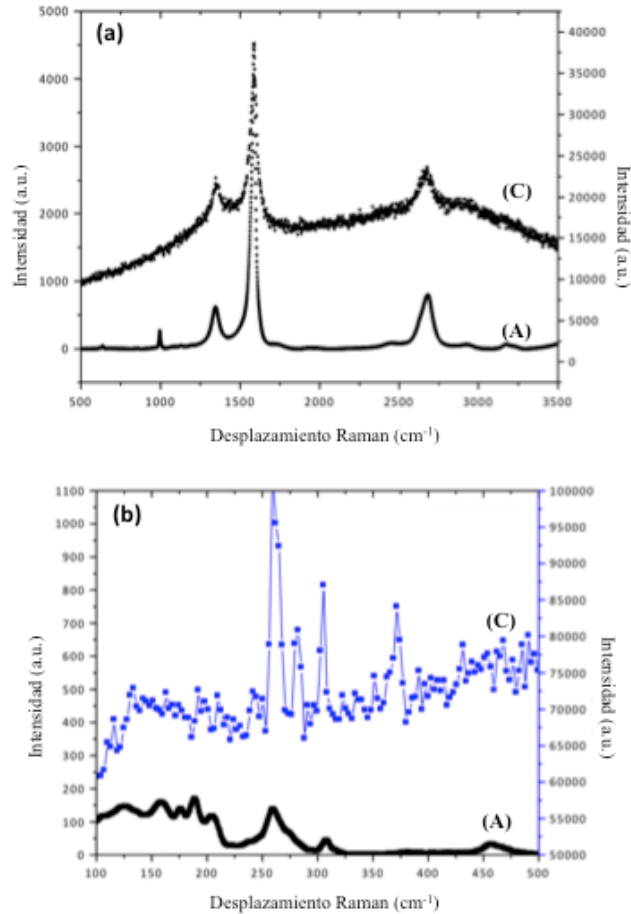


Figura 7. Espectros Raman de las dispersiones de SWNTs preparadas con los métodos A y C. (a) Espectro Raman en el rango 500-3500 cm^{-1} y (b) rango 100-500 cm^{-1} , de manera que se muestran con más detalles las bandas RBM. La escala de la izquierda es para el método (A) mientras que la de la derecha es para los espectros con el método (C).

Como se ha mencionado anteriormente la bandas RBM están relacionadas con el diámetro del SWNT, y se observan normalmente entre 100-250 cm^{-1} . Para el caso de un SWNT aislado puede estimarse el diámetro del mismo a partir de la frecuencia de las bandas RBM

siguiendo la siguiente ecuación establecida para SWNTs semiconductores en una disolución acuosa de SDS³²:

$$d_t = \frac{223}{\omega_{\text{RBM}} - 10} \quad (1)$$

donde d_t es el diámetro del SWNT en nm, y ω_{RBM} el desplazamiento (shift) Raman para los modos RBM en cm^{-1} .

En el caso de SWNTs que no están completamente aislados se producen interacciones inter-tubo que incrementan la frecuencia de las bandas RBM, de ahí que en nuestro caso se observen las bandas a un desplazamiento Raman de 258 y 305 cm^{-1} . Asumiendo que los nanotubos estuvieran aislados y que fueran semiconductores, se puede hacer una estimación del diámetro de los SWNTs basándonos en el modelo descrito en la literatura para dispersiones en tensoactivo (aunque en nuestro caso es NaDBS en lugar de SDS), obteniéndose valores en torno a 0.9 nm para la banda a 258 cm^{-1} .

3.3.2. Espectros Raman de MWNTs

La interpretación del espectro Raman de MWNTs suele ser más complicada que en el caso de SWNTs. Para la dispersión Raman, se puede considerar que los MWNTs son un conjunto de nanotubos de carbono con un rango de diámetros desde muy pequeños a grandes. Normalmente, la interpretación del espectro Raman de MWNTs se basa en los resultados más ampliamente descritos en la literatura para SWNTs.

³² C. Fantini, A. Jorio, M. Souza, M.S. Strano, M. S. Dresselhaus, M. A. Pimenta, Phys. Rev. Lett. 93 (2004) 147406.

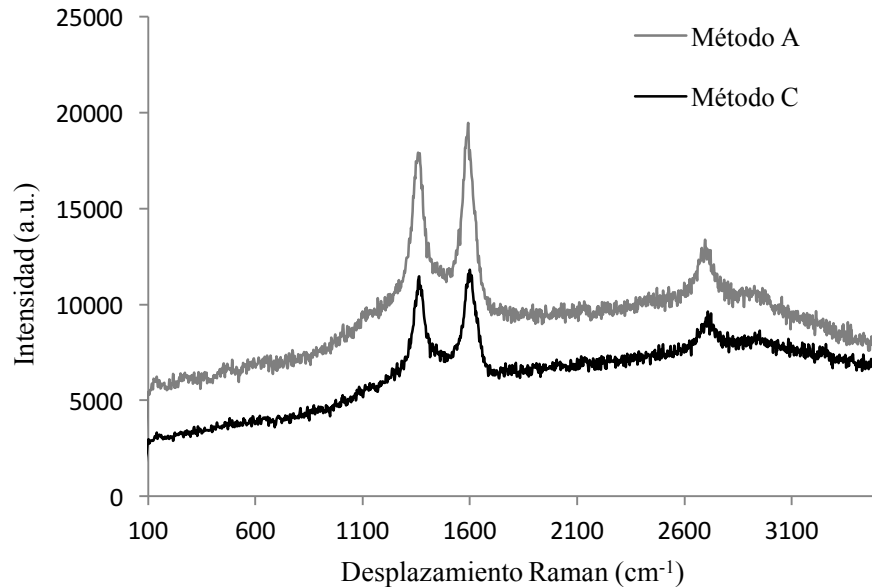


Figura 8. Espectros Raman de las dispersiones de MWNTs preparadas con los métodos A y C. Se muestra el espectro Raman en el rango $100\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$

Como puede observarse en la figura 8, las bandas observadas en el espectro Raman de las muestras de MWNTs preparadas con los dos métodos fueron la banda D (1342 cm^{-1}), la banda G (1576 cm^{-1}) y a 2660 cm^{-1} se observó la banda G', el sobretono de la banda D. Dicha banda es indicativa de orden a largo alcance de la muestra, y surge de un proceso de dispersión de segundo orden de dos fonones que se traduce en la creación de fonones inelásticos³³. No hay bandas por debajo de 500 cm^{-1} , como cabía esperar, debido a las múltiples capas del nanotubo, que en nuestro caso tienen un diámetro mayor de 2 nm.

³³ J.H. Lehman, M. Terrones, E. Mansfield, K.E. Hurst, V. Meunier, Carbon 49 (2011) 2581.

3.4. Nefelometría

La nefelometría es una técnica útil para determinar la concentración de partículas en suspensión. El espectrofluorímetro para mediciones nefelométricas fue utilizado con el detector en un ángulo de 90° respecto a la fuente de luz. En este trabajo, la nefelometría fue utilizada para evaluar la opacidad de las suspensiones de SWNTs y MWNTs asociadas al contenido de nanomaterial y a la dispersidad en la suspensión.

Se hicieron medidas de las suspensiones con el tiempo para registrar posibles cambios en las propiedades ópticas de la suspensión con el fin de evaluar la estabilidad. La figura 8 presenta la señal analítica obtenida (se midió la señal a 595 nm) para las distintas dispersiones a lo largo del período de tiempo evaluado.

Las diferencias entre las intensidades máximas para cada uno de los métodos de preparación, se pueden atribuir a la disminución de señal debido a la presencia de obstáculos entre la luz irradiada y el detector. Dichos obstáculos que encuentra la luz se pueden atribuir a una mayor cantidad de partículas en suspensión, las cuales, al interactuar con la luz generan dispersión y absorbancia, por lo que, solo una porción de la señal emitida por la muestra llega al detector. De esta forma se puede evaluar la dispersidad de la suspensión.

Como puede observarse en la figura 9, la señal obtenida para las distintas suspensiones se mantuvo estable con el tiempo, lo que puede correlacionarse con el hecho de que no se formaron agregados de nanopartículas que precipitasen durante el tiempo investigado. Las determinaciones se realizaron durante un período de 7 meses. La variabilidad encontrada en la señal para las distintas dispersiones se

encontró entre un 6 y 10%. Las conclusiones derivadas de los estudios nefelométricos coinciden con las observaciones cualitativas llevadas a cabo mediante la inspección visual de las muestras, como se comentó anteriormente.

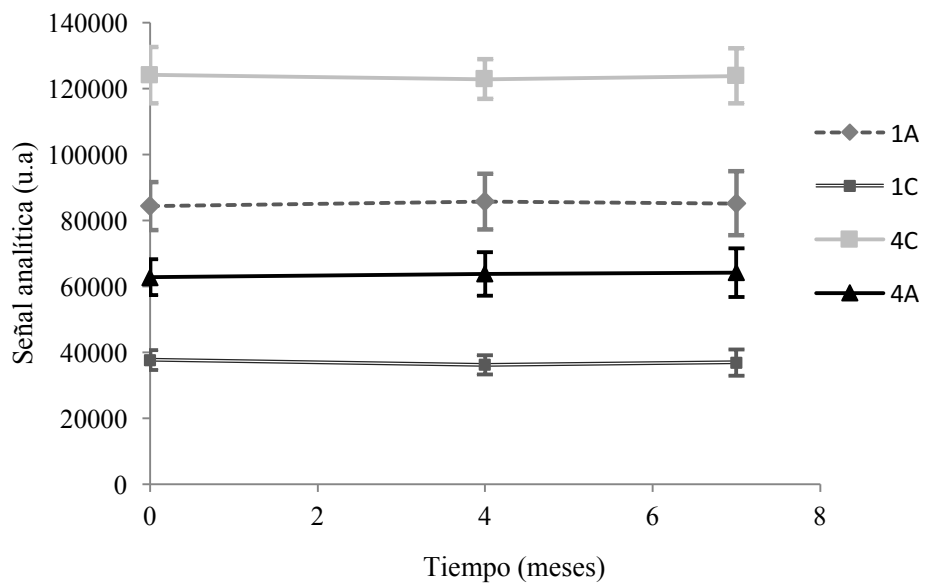


Figura 9. Señales obtenidas mediante nefelometría de las dispersiones preparadas con SWNTs (muestra 1) y MWNTs (muestra 4) usando los dos métodos de preparación (A y C). Se hicieron medidas en un período de tiempo de 7 meses.

4. Conclusiones

Cuatro diferentes materiales de nanotubos de carbono comercialmente disponibles se examinaron en términos de estabilidad, homogeneidad y capacidad de dispersión en suspensiones acuosas con tensioactivo. Una comparación entre los métodos para la preparación de suspensiones de nanotubos de carbono revelaron que la concentración de CNTs, el tipo de agente dispersante y el método de preparación de la suspensión tienen

influencia sobre la estabilidad y homogeneidad de las suspensiones resultantes. El sobrenadante obtenido tras la centrifugación de dispersiones llevadas a cabo mediante dispersión con ayuda de una sonda de ultrasonidos en una disolución de tensioactivo NaDBS mostró una buena estabilidad a lo largo del tiempo, como demostraron medidas de nefelometría.

Las dispersiones obtenidas se han caracterizado mediante diversas técnicas complementarias, como microscopía electrónica de transmisión, espectroscopia Raman, y nefelometría, de modo que se obtiene información de diferentes características de las muestras. Las dispersiones pudieron ser caracterizadas en términos de tamaño de nanopartículas y dispersión de tamaños mediante técnicas microscópicas, mientras que la espectroscopia Raman permite evaluar la pureza de las mismas así como la presencia de grupos funcionales. Una única técnica analítica por sí misma, no permite la caracterización completa de las dispersiones. Como se discutirá posteriormente, en el capítulo 5 de esta Tesis Doctoral, todas las técnicas presentan ventajas pero también limitaciones a la hora de llevar a cabo la caracterización de nanomateriales.

4.4. Preparación y caracterización de dispersiones acuosas de nanodiamantes

Las aplicaciones de los nanodiamantes (NDs) se ven restringidas cuando estas partículas se encuentran en forma de agregados. En este trabajo se ha investigado el uso de distintos agentes dispersantes para la preparación de dispersiones estables de nanodiamantes sin necesidad de llevar a cabo la modificación química de su superficie o funcionalización de los mismos. Se seleccionó la dispersión con el tensioactivo aniónico sodio dodecibenceno sulfonato para posteriores estudios de las suspensiones preparadas mediante distintos métodos que difieren en la cantidad de energía suministrada, mediante un baño o sonda de ultrasonidos, así como en la concentración de tensioactivo y nanodiamantes. Se evaluó el grado de agregación de las dispersiones obtenidas, y se calculó la distribución de tamaño. La caracterización de las dispersiones se realizó empleando diversas técnicas analíticas tales como la microscopía electrónica, espectroscopia Raman y dispersión de luz dinámica (DLS), que proporcionan información complementaria sobre las características del nanomaterial.

1. Introducción

Desde su descubrimiento en 1961, los nanodiamantes (NDs) han atraído un creciente interés dadas sus excelentes propiedades mecánicas y fisicoquímicas. Los nanodiamantes son un nanomaterial cuyas partículas tienen un tamaño medio de unos 4-5 nm con una forma predominantemente esférica. Cada partícula de nanodiamante tiene un núcleo de diamante (con átomos de carbono con hibridación sp^3) rodeado por una capa de carbono de hibridación sp^2 ¹. Los nanodiamantes tienen una gran dureza, baja conductividad eléctrica y alta conductividad térmica, lo que ha impulsado su uso en gran variedad de aplicaciones, tales como marcadores fluorescentes, biosensores, para la liberación de medicamentos –ya que son un material biocompatible y no tóxico-, en nanocompuestos poliméricos y productos cosméticos, entre otras².

Para la mayoría de estas aplicaciones, las partículas deben encontrarse de forma individual. Sin embargo, los nanodiamantes, como la mayoría de los nanomateriales de carbono, tienden a la agregación a través de interacciones electrostáticas entre partículas, formándose estructuras primarias y secundarias. La formación de los agregados depende de las condiciones térmicas, concentración y las propiedades físico-químicas de la superficie de las partículas³. El tamaño de agregado puede estar en el intervalo 100-200 nm, muy por encima del tamaño de partícula primaria 4-5 nm⁴. Esta circunstancia limita las aplicaciones de los NDs.

¹ A.E. Aleksenski, M.V. Baidakova, A.Ya. Vul, V.I. Siklitskii, *Phys. Solid State* 41 (1999) 668.

² L.-Y. Chang, E. Ōsawa, A.S. Barnard, *Nanoscale* 3 (2011) 958.

³ I.I. Kulakova, *Phys. Solid State* 46 (2004) 636.

⁴ Krüger, A., et al., *Carbon* 43 (2005) 1722.

La dispersión de nanodiamantes en medios acuosos y orgánicos ha centrado la atención de numerosos estudios⁵. Por ejemplo, se ha llevado a cabo la funcionalización –covalente y no covalente- de nanodiamantes con el fin de conseguir una mejor solubilización de los mismos, por ejemplo fluoro-nanodiamantes se han funcionalizado con reactivos de alquil-litio, diaminas y aminoácidos, mostrando mejor dispersión en disolventes orgánicos polares⁶. Otras estrategias se han centrado en la funcionalización de los NDs con polímeros⁷. Como se ha descrito en el capítulo 3.1. de esta Tesis Doctoral, otra estrategia para mejorar la dispersión de nanodiamantes en medio acuoso es su oxidación mediante tratamiento ácido. Sin embargo, algunos de estos métodos tienen la limitación de que requieren mucho tiempo de preparación, y en algunos casos conllevan varias etapas. Por otro lado, se ha estudiado la dispersión de nanodiamantes con ayuda de tensioactivos tales como bis(2-etilhexil) sulfosuccinato (AOT), Triton X-100, polivinil alcohol (PVA), bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y tert-octilfenoxi poli(oxietilene)etanol (IGEPAL)⁸. Sin embargo, la completa desagregación de los nanodiamantes en nanopartículas individuales en torno a 4 nm, se ha conseguido sólo mediante una intensa agitación de los nanodiamantes en agua en la que se han añadido partículas de dióxido de zirconio de tamaño micrométrico⁹.

El objetivo de este estudio era desarrollar un proceso simple para la preparación de dispersiones estables de nanodiamantes, sin necesidad de

⁵ X. Q. Zhang, M. Chen, R. Lam, X. Xu, E. Osawa, D. Ho, ACS Nano 3 (2009) 2609.

⁶ Y. Liu, Z. Gu, J. L. Margrave, V. N. Khabashesku, Chem. Mater. 16 (2004) 3924.

⁷ N. Mochalin, I. Neitzel, B. Etzold, A. M. Peterson, G. Palmese, Y. Gogotsi, ACS Nano 5 (2011) 7494.

⁸ U. Maitra, A. Gomathi, C.N.R. Rao, J. Exp. Nanosc. 3 (2008) 271.

⁹ E. Osawa, Pure Appl. Chem. 80 (2008) 1365.

llevar a cabo la modificación química de su superficie. En este caso, se ha investigado el uso de distintos medios –disolventes orgánicos, aceite mineral, líquidos iónicos y tensioactivos- seleccionándose estos últimos, en concreto el tensioactivo aniónico sodio dodecilbenceno sulfonato (NaDBS), para llevar a cabo estudios de estabilidad de las dispersiones preparadas. La caracterización de las dispersiones se ha llevado a cabo mediante diversas técnicas que proporcionan información complementaria, tales como la microscopía electrónica, espectroscopia Raman y dispersión de luz dinámica (DLS).

2. Experimental

2.1. Reactivos

Se han empleado nanodiamantes con diámetro 3.2 nm que fueron suministrados por NaBond (Shenzhen, China). La disolución de surfactante aniónico fue preparada con dodecil benceno sulfonato de sodio (NaDBS) que fue adquirido en Aldrich GmbH (Berlín, Alemania).

El agua usada en la preparación de las disoluciones fue agua purificada con el sistema Milli-Q (EEUU).

2.2. Preparación de las dispersiones

Los métodos propuestos -A, B y C cuyas especificaciones se muestran en la Tabla 1- para preparar suspensiones de NDs en una disolución de tensioactivo aniónico sodio dodecilbencenosulfonato (NaDBS) consisten en las siguientes etapas:

(a) Preparación de la suspensión. Mezclado del nanomaterial con la disolución de tensioactivo. Las disoluciones utilizadas para dispersar los NDs tienen diferente concentración de tensioactivo, en el caso del

método A y B es 0.1% de tensioactivo, mientras, para el método C es de 0.5 %. La concentración final de la suspensión también fue variable, en el método A y B es de 0.02 g/L y para el método C es de 0.01g/L. Se prepararon 50 mL de volumen total disolución.

(b) Proceso de homogeneizado mediante ultrasonidos. En esta etapa el objetivo es romper los agregados y obtener la mayor cantidad de nanopartículas individuales en suspensión. Esta etapa se realiza con un baño ultrasónico (baja energía), método A, con una sonda ultrasónica (alta energía), método B, o una combinación de ambos método C.

(c) Proceso de centrifugación. El objetivo es tener una disolución de nanodiamantes lo más estable posible con el tiempo, de modo que la disolución se sometió a centrifugación de manera que el nanomaterial que no está completamente disperso en la disolución es retirado de la misma. El volumen recuperado de la disolución fue de 40 mL, los cuales fueron almacenados en viales de 10 mL. Las medidas posteriores se realizaron utilizando el sobrenadante obtenido tras el proceso de centrifugación.

La tabla 1 muestra las condiciones utilizadas en los tres métodos estudiados para la preparación de las dispersiones de NDs en NaDBS.

Tabla 1. Condiciones de preparación de las disoluciones.

Parámetro	Método de preparación		
	A	B	C
Concentración de NaDBS (%)	0.1	0.1	0.5
Concentración de NDs (g L ⁻¹)	0.02	0.02	0.01
Método de ultrasonidos	Baño	Sonda	Baño + sonda
Tiempo de ultrasonidos (min)	200	15 ^(a)	30 baño y 15 sonda ^(b)
Potencia sonda ultrasonidos	-	45%	30%
Centrifugado	20 min, 10080 g (10000 rpm)		

^(a)Ciclos de 50 s encendido y 20 s apagado.

^(b)Ciclos de 50 s encendido y 30 s apagado.

2.3. Instrumentación

Para la caracterización de las dispersiones se empleó la microscopía de transmisión electrónica (TEM) usando un microscopio PHILIPS CM-10, el cual permite obtener imágenes aumentadas de 18x a 450.000x. Se realizaron medidas de microscopía de transmisión electrónica de alta resolución (HTEM) usando un microscopio JEOL JEM 2010 acoplado con un espectrómetro de energía de rayos X (EDX). Ambos equipos se encuentran instalados en servicio central de apoyo a la investigación (SCAI) de la Universidad de Córdoba. Se realizaron medidas complementarias usando un microscopio HTEM FEI Tecnica E30

acoplado con un espectrómetro EDX, que se encuentra instalado en el Laboratorio Nacional de Investigaciones de Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) dentro del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) en México.

Por otro lado, se ha utilizado un microscopio Raman confocal alpha500 de WITec GmbH para el estudio de las muestras en polvo. Para la excitación se utilizó un láser de doble frecuencia de Nd:YAG de 532 nm (segundo armónico), que resulta en una profundidad de penetración en silicio de 0.5 μm . Los espectros Raman se registraron con una rejilla de difracción de 600 g/mm. El haz del láser se enfoca sobre la superficie de la muestra usando objetivos de 20x/0.4 de Zeiss y de 100x/0.95, 50x/0.80 en aire, y de 100x/1.25 de inmersión en aceite, de Nikon. Este equipo se encuentra instalado en el laboratorio del grupo de investigación FQM-215 de la Universidad de Córdoba, España.

Asimismo, se empleó un equipo MicroRaman DXR de Thermo Fisher, equipado con láser de 532 y 780 nm, 900 y 400 líneas/mm, 4 y 1 mW con lente objetivo de 10x. Se usó el accesorio muestreador microRaman LLC 208-9001-01 para mediciones directas en la suspensión. Este equipo se encuentra instalado en el Centro Nacional de Metrología, México.

Las medidas de DLS se realizaron en un Nanosizer modelo S Malvern Nanozetasizer, bajo condiciones ambientales. El software Nanomalvern fue utilizado para la colección de los datos de propiedades hidrodinámicas de la suspensión.

3. Resultados y discusión

A continuación se muestra la caracterización de los nanodiamantes en polvo tal y como se recibieron, así como de las dispersiones preparadas mediante los tres métodos descritos anteriormente usando el tensioactivo aniónico NaDBS como agente dispersante.

La mejora en la estabilidad de las dispersiones de NDs en presencia del tensioactivo aniónico se debe a la adsorción del tensioactivo en la superficie de las nanopartículas de ND, modificando la propiedades superficiales de los mismos y la estabilidad en medio acuoso. Por un lado las nanopartículas de ND poseen áreas hidrofóbicas que pueden interactuar con los segmentos hidrofóbicos del tensioactivo a través de interacciones hidrofóbicas, quedando expuestas hacia el exterior la parte hidrofílica del tensioactivo, lo que hace que la superficie del cluster de NDs sea hidrofílica y se mejore la dispersión en medio acuoso. Por otra parte, los NDs suelen estar cargados positivamente, como demuestran valores de potencial zeta descritos en la bibliografía, por lo que pueden interactuar con la carga negativa de tensioactivos aniónicos, como el NaDBS utilizado en nuestro caso. Sin embargo, la exposición hacia el exterior de las cadenas alquílicas hidrofóbicas del tensioactivo que pueden interactuar con otros segmentos hidrofóbicos de otras moléculas de tensioactivos puede conllevar a la formación de bicapas de tensioactivos sobre los NDs¹⁰.

¹⁰ X. Zhang, S. Wang, M. Liu, J. Hui, B. Yang, L. Tao, Y. Wei, *Toxicol. Res.* 2 (2013) 335.

3.1. Caracterización de los nanodiamantes en polvo

Los nanodiamantes fueron suministrados en polvo. Se llevó a cabo la caracterización del mismo previa a la dispersión con el tensioactivo.

La figura 1 muestra un espectro Raman de nanodiamantes. El polvo fue tomado de la parte media del contenedor y la muestra fue colocada directamente en un portamuestras de vidrio. Se evitó colocar disolventes que ayudara a la adhesión de los polvos en el portamuestras, con la finalidad de no modificar la superficie de los nanodiamantes o las propiedades del polvo. La evaluación fue un reto, ya que el polvo al interactuar con el láser se energizaba y se desenfocaban. El espectro se registró en el intervalo de 500 a 3500 cm^{-1} . La banda D (1350 cm^{-1}) se presenta dentro del intervalo 1344 a 1365 cm^{-1} , mientras que la banda G aparece alrededor de 1590 cm^{-1} . Como puede observarse en el espectro ambas bandas son bastante anchas. El espectro obtenido es similar a los descritos previamente en la literatura¹¹ para nanodiamantes de tamaño similar, entre 5-50 nm, en los que las estructuras grafiticas o amorfas dominan en el espectro¹². El espectro Raman de nanodiamantes depende de la estructura, pureza, relación sp^3/sp^2 , el tamaño del cristal y la química superficial de los mismos. El espectro de polvo de nanodiamante con un alto contenido en carbono sp^2 está dominado por las bandas D y G del carbono grafitico mientras que la señal del diamante es débil o ausente, como se puede observar en nuestro caso. Al incrementar el

¹¹ A. C. Ferrari, J. Robertson, Phil. Trans. R. Soc. Lond. A 362 (2004) 2477.

¹² P.Chung, E.Perevedentseva, C.Cheng, Surface Science 601 (2007) 3866.

contenido sp^3 , la intensidad de la banda del diamante aumenta, mientras que la banda D disminuye¹³.

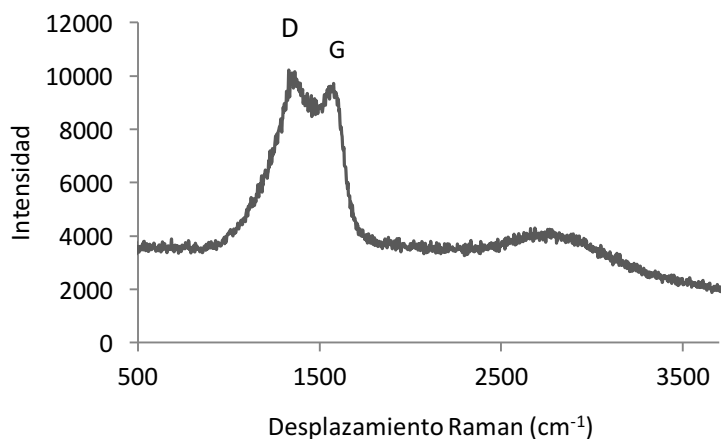


Figura 1. *Espectro Raman de nanodiamantes en polvo.*

La figura 2(a) muestra una imagen TEM del polvo de nanodiamantes. Las muestras fueron preparadas al colocar polvo con una micro-espátula sobre el portamuestras (grid) de tipo formvar. El polvo se esparció con la micro-espátula con la finalidad de hacer una capa uniforme y delgada, posteriormente se sacudió para eliminar el exceso de muestra y después se depositó una gota de metanol sobre el grid con el polvo y se dejó secar. El metanol sirvió para fijar los NDs y evitar la proyección de nanopartículas dentro de la cámara del microscopio TEM. Las imágenes obtenidas presentan nanodiamantes agregados y fueron difícil de evaluar.

¹³ V.N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi, Nature Nanotechnol. 7 (2012) 11.

Asimismo se hicieron estudios por microscopía de barrido con electrones, SEM, como se muestran en la figura 2(b). De nuevo, las imágenes del polvo de nanodiamantes no permitieron llevar a cabo la caracterización de los mismos, ya que se encontraban en forma de agregados.

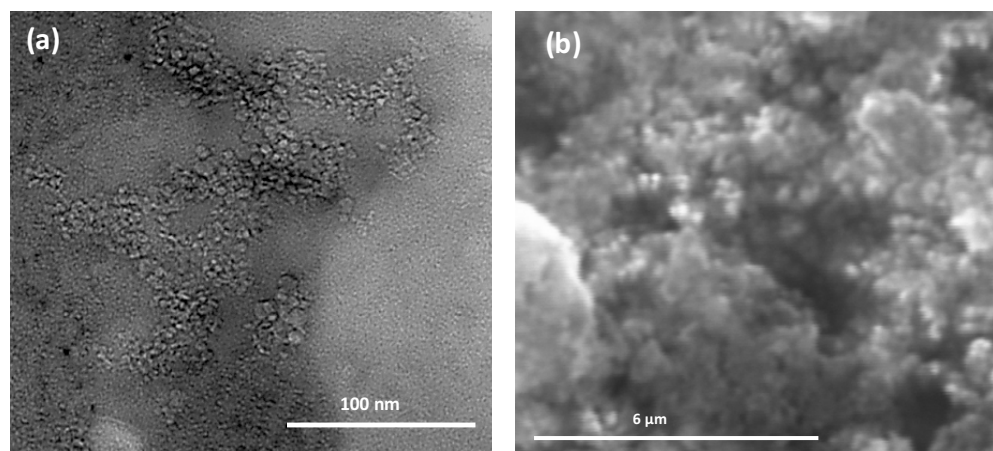


Figura 2. (a) Nanodiamantes observados en modo de campo claro por TEM a 120Kx. (b) Imagen SEM de nanodiamantes a 75Kx.

3.2. Evaluación del disolvente para la preparación de dispersiones de nanodiamantes

Se realizó un estudio para seleccionar un disolvente que permitiera obtener nanodiamantes dispersos de forma eficiente. Para ello se evaluaron los siguientes disolventes: (a) tensioactivos, (b) líquidos iónicos, (c) aceite mineral y (d) disolventes orgánicos.

El uso de líquidos iónicos, aceite mineral y disolventes orgánicos presentaron desventajas con respecto al uso de tensioactivos. Los

experimentos con líquido iónico (LI) se realizaron con una disolución de NDs en 1-butil-3-metilimidazolio hexafluorofosfato (BMIM-PF₆). No se prepararon mezclas de LI con otro disolvente como por ejemplo agua. La suspensión de NDs en el BMIM-PF₆ mantuvo su estabilidad en un período de días (4 a 6 días), posteriormente los NDs se precipitaron. La emulsión que se preparó en aceite mineral permaneció estable dos días, pero no era homogénea. Asimismo la presencia del aceite mineral dificulta la preparación de muestra para su análisis por microscopía. Por otro lado, los NDs se mantuvieron estables en la suspensión en disolvente orgánico del orden de minutos a horas, dependiendo de la concentración de los mismos y del tipo de disolvente orgánico. En este caso el tolueno fue el que mantuvo los NDs dispersos por más tiempo (12 horas).

Teniendo en cuenta lo anterior, para los estudios de estabilidad se prepararon dispersiones de nanodiamantes usando el tensioactivo NaDBS, de manera análoga a los estudios que se han descrito previamente en el capítulo 4.3. de esta tesis para el caso de nanotubos de carbono monocapa y multicapa.

3.3. Métodos empleados para la preparación de las dispersiones de nanodiamantes

El primer método (método A) que se empleó para la preparación de las dispersiones de NDs en tensioactivo implica el uso de una concentración de NaDBS del 0.1% con una concentración de NDs de 0.02 g·L⁻¹. La dispersión de los nanodiamantes se llevó a cabo sometiendo la disolución a un baño de ultrasonidos durante 200 minutos. En este caso, la energía a la que se sometió la dispersión fue la menor de todos los métodos estudiados (~20727 J·ml⁻¹), lo que evita la aparición de perturbaciones en

la superficie o en la morfología de los NDs. El método es rápido y simple. Una inspección visual de las dispersiones reveló que la dispersión se mantuvo estable durante 60 días. Transcurrido este tiempo, se observaron la aparición de agregados en las paredes y en fondo del vial, produciéndose una separación de fases.

En el segundo método investigado (método B) se utilizó una concentración de NDs similar al anterior ($0.02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) así como la misma concentración de tensioactivo (0.1%). La principal diferencia entre ambos métodos radica en la energía empleada para la dispersión. En este caso en lugar de un baño de ultrasonidos se utilizó una sonda de ultrasonidos, que aplica una mayor energía sobre la muestra ($\sim 135000 \text{ J}\cdot\text{ml}^{-1}$), siendo en este caso necesarios 15 minutos para obtener una dispersión estable del nanomaterial. La inspección visual de la muestra reveló que la dispersión se mantuvo inalterada durante 240 días. Después de este período se presentaron grumos y posteriormente precipitados en el fondo del vial, que podían resuspenderse fácilmente tras agitación manual del vial. Sin embargo, los precipitados se presentaban de nuevo al cabo de 24 horas.

Por último, el tercer método bajo estudio (método C) combina el uso de baño de ultrasonidos y sonda ultrasónica para llevar a cabo la dispersión de los NDs, de modo que se incrementó la energía suministrada. Asimismo se incrementó la concentración de tensioactivo a 0.5% y se redujo la concentración de NDs a $0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. El mayor contenido en tensioactivo para una mayor cantidad de nanomaterial junto a la mayor energía en el proceso de dispersión hacen esperar que dicha dispersión muestre una mejor estabilidad que las preparadas con los métodos

anteriores. De hecho, la dispersión se mantuvo visualmente estable más de 400 días, cuando apareció una segunda fase en el fondo del vial.

3.4. Caracterización de las dispersiones de nanodiamante

Las dispersiones de nanodiamantes preparadas en tensioactivo se caracterizaron utilizando diversas técnicas analíticas: microscopía electrónica de transmisión (TEM) convencional y de alta resolución (HTEM), dispersión de luz dinámica (DLS) y espectroscopia Raman, para determinar el tamaño, distribución de tamaño y estructura de los NDs para tener información de la estabilidad y homogeneidad de la suspensión así como evaluar el efecto de la cantidad de energía en el proceso de preparación de las dispersiones.

3.4.1. Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman proporciona información sobre la estructura, composición y homogeneidad de los nanodiamantes, así como de la presencia de grupos funcionales.

Como se ha comentado anteriormente, el espectro Raman de nanodiamantes depende de su estructura, pureza, la relación de carbonos con hibridación sp^3/sp^2 , el tamaño del cristal y la química superficial del mismo.

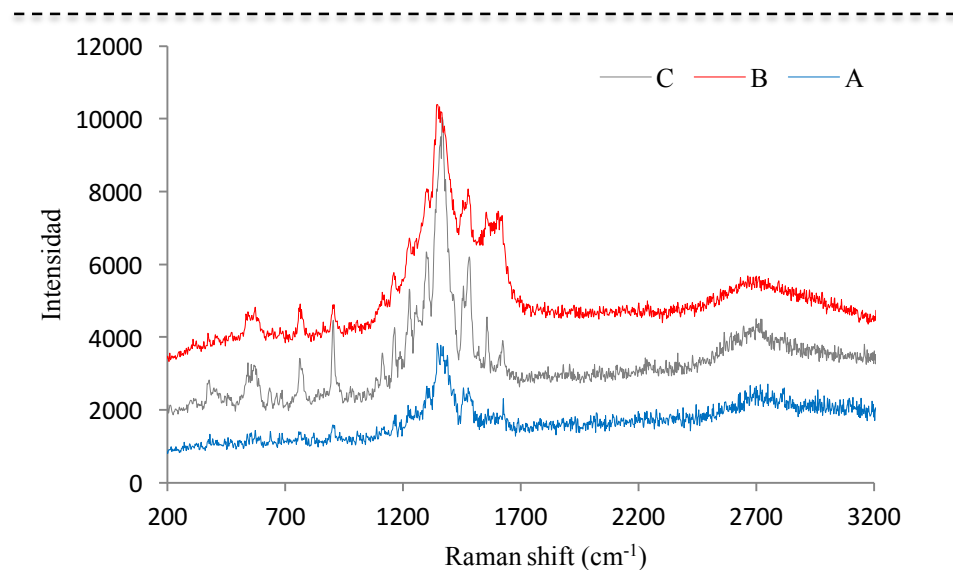


Figura 3. Espectros Raman obtenidos para las distintas dispersiones de nanodiamante preparadas con los métodos (A) azul, (B) rojo y (C) gris.

La figura 3 muestra los espectros Raman obtenidos para las dispersiones de NDs preparadas con los tres métodos descritos. En este caso se observa una banda ancha en el espectro Raman, que corresponde principalmente a la banda D del carbono grafitico. Para poder observar mejor la banda del diamante y suprimir la banda D del carbono grafitico que se superpone a ésta es necesario el uso de láseres ultravioleta con una energía de excitación cercana al *bandgap* del diamante (5.5. eV)¹⁴. El pico del nanodiamante es ancho y aparece a desplazamientos más bajos ($\sim 1326 \text{ cm}^{-1}$) respecto al diamante convencional, con un hombro a aproximadamente 1250 cm^{-1} originado por partículas de nanodiamante más pequeñas.

¹⁴ V.N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi, Nat. Nanotechnol. 7 (2012) 11.

Otra característica del espectro Raman de nanodiamantes es una banda asimétrica ancha entre 1500 y 1800 cm^{-1} , que es una superposición de la banda del carbono grafitico a 1590 cm^{-1} y la flexión de grupos O-H a 1640 cm^{-1} . Dicha banda a 1590 cm^{-1} del carbono grafitico se observa mejor en aquellos nanodiamantes que se han dispersado usando el método B.

3.4.2. Microscopía electrónica de transmisión

La figura 4 muestra imágenes TEM de las tres suspensiones de NDs preparadas con los distintos métodos. En ellas se observa la morfología de los nanomateriales presentes. Los nanodiamantes presentaron una estructural poligonal, casi esférica, siendo homogéneos en forma y tamaño.

Las tres suspensiones analizadas mostraron la presencia de agregados de nanodiamantes así como nanopartículas libres. En la muestra preparada con el método A se observaron agregados de hasta 200 nm y muy pocas nanopartículas individuales. En cambio, las muestras preparadas con los métodos B y C presentaron una mejor dispersión, observándose una mayor cantidad de nanopartículas individuales, aunque también se observaron presencia de algunos agregados.

A partir del análisis de las imágenes TEM puede concluirse que el método B es el que condujo a una mejor dispersión de los nanodiamantes, pudiéndose observar de forma individual en el microscopio. No obstante, cabe destacar que en TEM se trabaja en condiciones de vacío por lo que la muestra debe introducirse seca. Durante el proceso de preparación de la muestra y el posterior secado puede producirse agregación de NDs que se encontrasen dispersos

previamente en la disolución, por lo que para poder analizar mejor la agregación de los mismos se llevaron a cabo medidas complementarias que dispersión de luz dinámica que se muestran posteriormente.

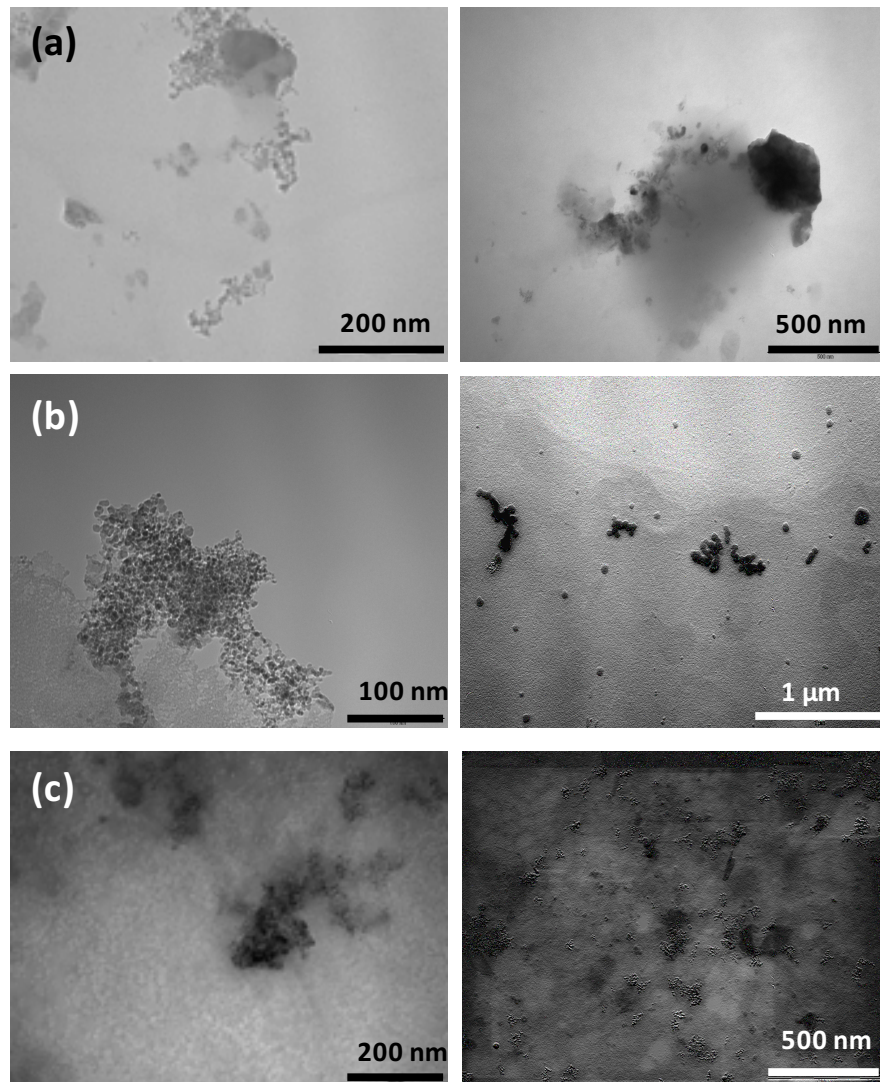


Figura 4. Imágenes TEM de las dispersiones de NDs preparadas utilizando los métodos (a) A, (b) B y (c) C anteriormente descritos.

A partir de las imágenes TEM obtenidas, se calculó el diámetro de los nanodiamantes así como las distribución de tamaño de los mismos (figura 5). En el caso de los nanodiamantes preparados con el método A, fue posible medir el diámetro de NDs individuales -en torno a 5 nm, que muestran la mayor frecuencia-, sin embargo, también encontramos formando agregados, de ahí los valores entre 40-100 nm en cuanto a diámetro de partícula, que no corresponden a las especificaciones del fabricante.

Como puede verse en las distribuciones de tamaño, en el caso de las dispersiones de NDs obtenidas con los métodos B y C, los diámetros calculados se encuentran en torno a los 5 nm, disminuyendo la cantidad de valores por encima de 20 nm, lo que significa un menor número de agregados.

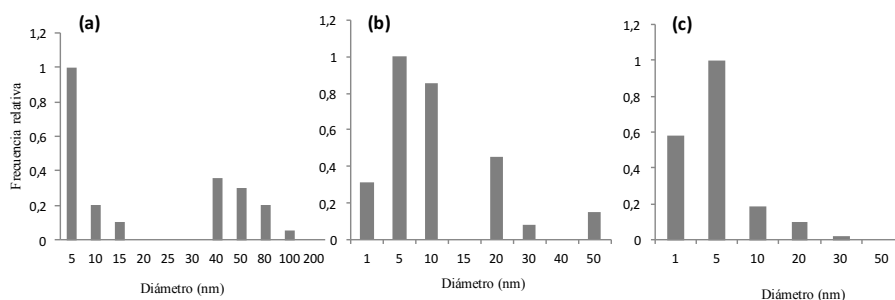


Figura 5. Distribuciones de tamaño de los nanodiamantes preparados utilizando los métodos (a) A, (b) B y (c) C, calculadas a partir de las imágenes TEM de los mismos.

3.4.3. Dispersión de luz dinámica (DLS)

Como se ha mencionado anteriormente, uno de los inconvenientes de las medidas de microscopía electrónica es el hecho de que el estado de agregación de la muestra puede variar durante el proceso de preparación y secado de la misma. Se ha utilizado la técnica de dispersión de luz dinámica para estudiar el tamaño de partícula de los nanodiamantes en las dispersiones.

Esta técnica es uno de los métodos más populares para determinar el tamaño de partículas. La iluminación con una fuente de luz monocromática, como un láser, sobre una disolución con partículas esféricas en movimiento Browniano produce difracción de la luz cuando choca con la partícula en movimiento, que puede interferir constructiva o destructivamente. Los cambios producidos sobre la luz se relacionan con el tamaño de las partículas. Este método presenta la ventaja de que las medidas son rápidas, puede automatizarse para medidas rutinarias y se mide en la propia dispersión de nanopartículas, por lo que el estado de agregación de las mismas no se ve alterado. Además, el coste de la instrumentación no es muy alto.

En la figura 6 se presentan los resultados obtenidos mediante dicha técnica para la dispersión de nanodiamantes obtenidos mediante el método B, así como un blanco de la disolución de tensioactivo NaDBS 0.5% usando como agente dispersante de los nanodiamantes. Como puede verse en la figura, en el caso del tensioactivo se obtuvieron valores

en torno a 5 nm y 100-800 nm que corresponden a micelas y agregados de micelas, de acuerdo con lo descrito previamente en bibliografía¹⁵.

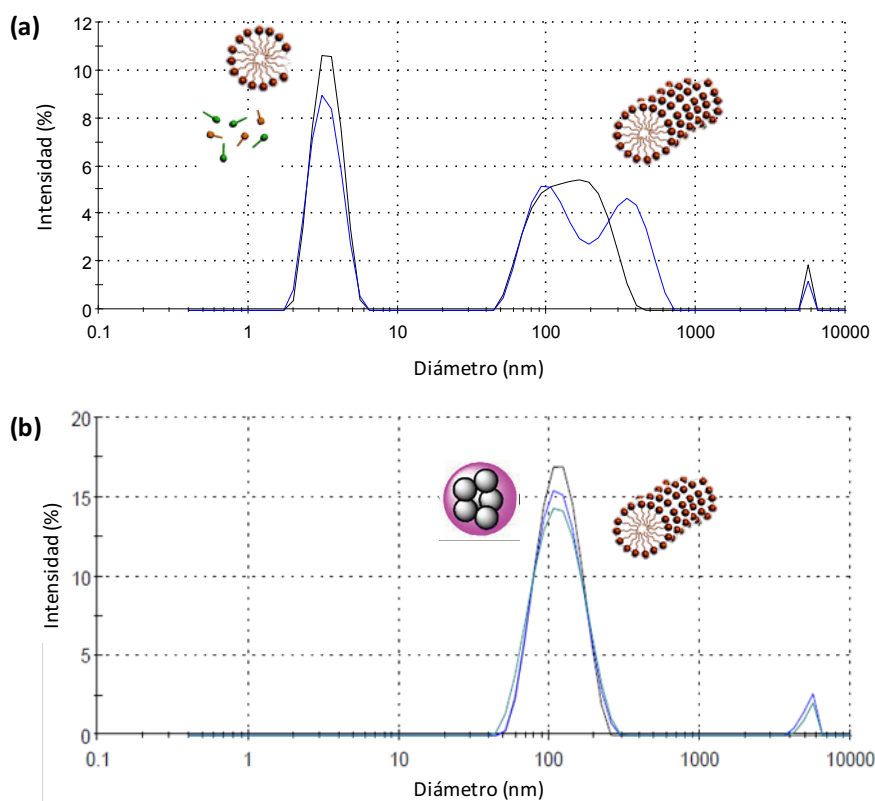


Figura 6. Gráfica de la distribución de tamaño obtenida mediante DLS para (a) disolución de tensioactivo NaDBS 0.5% y (b) dispersión de NDs en NaDBS 0.5% preparados con el método B descrito.

La dispersión preparada con el método B tiene una distribución donde el valor promedio es de 100 nm con un intervalo entre 50 y 200 nm. Esta muestra es muy estable, ya que medidas sucesivas mostraron una respuesta similar. Sin embargo el valor de diámetro observado debe

¹⁵ S.A. Dergunov, A.G. Richter, M.D. Kim, S.V. Pingali, V. Urban, E. Pinkhassik, Chem. Commun. 40 (2013) 11026.

corresponder a la presencia de agregados de nanodiamantes no observándose el nanomaterial individualmente.

En todos los casos se observaron valores correspondientes a la presencia de agregados de nanodiamantes, no pudiéndose identificar en ningún caso nanodiamantes individuales. Cabe destacar que en el caso de las medidas en las dispersiones de nanodiamantes tampoco se observaron señales procedentes de micelas pequeñas o de moléculas libre de tensioactivo.

Aunque la señal obtenida mediante DLS en el caso de las dispersiones preparadas con los métodos B y C se mantuvieron estables con el tiempo, lo que indica la estabilidad de la disoluciones obtenidas, en ninguno de los casos se consiguieron medir mediante DLS nanotubos individuales. Estudios previos de dispersión de nanodiamantes con diversos tensioactivos, como polioxietilen lauril éter (Brij35), bromuro de hexadeciltrimetil amonio (CTAB), lecitina (LEC) y el propio NaDBS condujeron a dispersiones similares. En el caso de las dispersiones preparadas con NaDBS se han descrito distribuciones de tamaño de NDs en 72 ± 1 nm en agua¹⁶. Valores similares de dispersión de tamaños de dispersiones de nanodiamantes por DLS en torno a 150-200 nm se han descrito en la bibliografía^{17, 18}.

¹⁶ X. Zhang, S. Wang, M. Liu, J. Hui, B. Yang, L. Tao, Y. Wei, *Toxicol. Res.* 2 (2013) 335.

¹⁷ M.V. Baidakova, Y.A. Kukushkina, A.A. Sitnikova, M.A. Yagovkina, D.A. Kirilenko, V.V. Sokolov, M.S. Shestakov, A.Y. Vul, B. Zousman, O. Levinson, *Phys. Solid State* 55 (2013) 1747.

¹⁸ H. Kato, A. Nakamura, M. Horie, S. Endoh, K. Fujita, H. Iwahashi, S. Kinugasa, *Carbon* 49 (2011) 3989.

Como se comentó anteriormente, es posible que de la interacción de los NDs con las micelas de tensioactivo puedan formarse bicapas de tensioactivo sobre la superficie de los NDs. En el caso de la microscopía de transmisión electrónica ha sido posible medir el tamaño de nanodiamantes individuales, ya que puede diferenciarse el núcleo del ND de las moléculas de tensioactivo que lo rodean. Sin embargo, en el caso de DLS, dicha técnica nos proporciona información sobre el diámetro de una esfera que se mueve de la misma forma que nuestra muestra, y dicho tamaño incluye cualquier estabilizante que esté unido a nuestra molécula, incluso aunque éstos no se vean en TEM. De ahí que se obtengan valores de los *clusters* de nanodiamantes mucho mayores que en el caso de las medidas por TEM.

4. Conclusiones

En resumen, se ha evaluado el potencial del tensioactivo NaDBS para la preparación de dispersiones estables de nanodiamantes, empleando varios métodos que difieren en la concentración de tensioactivo y nanomaterial así como en la energía suministrada para la dispersión, bien mediante un baño de ultrasonidos o una sonda ultrasónica. Cabe destacar que el uso de la sonda de ultrasonidos condujo a una mejor dispersión del nanomaterial, pudiéndose observar en las imágenes de TEM algunas nanopartículas individuales, si bien también se observaron la presencia de agregados de NDs. La energía suministrada por el baño de ultrasonidos resultó ser insuficiente para obtener dispersiones estables de nanopartículas individuales.

La caracterización de las dispersiones obtenidas se ha llevado a cabo mediante el uso de diversas técnicas analíticas que proporcionan

información complementaria. En el caso de la microscopía electrónica, permitió la visualización de nanopartículas individuales pudiéndose calcular la distribución de tamaño del nanomaterial en las dispersiones, aunque se observaron agregados de nanopartícula con diámetros superiores a 20 nm, e incluso de hasta 100 nm. Cabe destacar que la distribución de tamaño obtenidas en las dispersiones preparadas con ayuda de la sonda de ultrasonidos fueron más estrechas obteniéndose un mayor número de nanopartículas en el rango 1-10 nm.

En el caso de las medidas por DLS, no fue posible distinguir las nanopartículas individuales en ninguno de los tres casos, observándose valores en torno a 100 nm. La dispersión se ha llevado a cabo mediante el uso de tensioactivo, por lo que cabe esperar que las micelas del mismo estén rodeando a las nanopartículas. Aunque dichas micelas no se observan en microscopía electrónica, su presencia en la superficie conlleva a que el tamaño determinado mediante la técnica dispersiva sea mayor del obtenido mediante TEM.

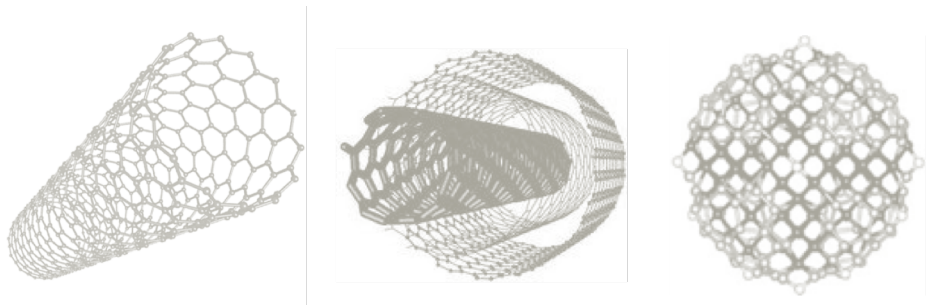
Por último, la espectroscopia Raman nos proporciona información sobre la estructura, composición y homogeneidad del material, así como de la pureza y los grupos funcionales presentes en el mismo. El espectro Raman de los nanodiamantes depende asimismo de la cantidad de carbonos con hibridación sp^2 o sp^3 presentes.

Mediante los estudios realizados podemos concluir que el uso de tensioactivo ayuda a la dispersión de los nanodiamantes en medio acuoso, sin embargo, bajo las condiciones estudiadas, las dispersiones mostraron la presencia de agregados de nanopartículas junto con otras dispersadas individualmente.

La estrategia a seguir en el futuro consistirá en probar otros agentes dispersantes como tensioactivos zwitteriónicos (por ejemplo lecitina), aumentando las condiciones de tratamiento con ultrasonidos (tiempo y energía) para la dispersión, controlando a su vez que dicho proceso no produzca la degradación del nanomaterial. Uno de los retos en este contexto, es la dispersión de los nanodiamantes en medios fisiológicos (por ejemplo buffer fosfato salino, PBS), ya que es importante a la hora de llevar a cabo estudios de biocompatibilidad y toxicidad para posibles aplicaciones de los nanodiamantes, por ejemplo como sistemas de liberación de fármacos.

Capítulo 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



En este capítulo se resumen los principales resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral. Dado que en los capítulos correspondientes ya se han discutido previamente los resultados específicos de cada trabajo, el objetivo de esta sección es procurar una visión integral del trabajo experimental desarrollado y presentado a lo largo de la memoria.

Este bloque se ha estructurado de manera diferente al esquema general de la Tesis. Se ha dividido en tres secciones, la primera dedicada a las estrategias para la dispersión de nanomateriales de carbono, otra destinada a la caracterización de nanomateriales, donde se discutirán las ventajas y limitaciones de las técnicas analíticas utilizadas, y, por último, una sección dedicada al uso de nanoestructuras de carbono como herramientas analíticas.

De manera general, los principales retos que se abordaron durante la tesis pueden resumirse en:

1. La escasa solubilidad y estabilidad de los nanoestructuras de carbono en agua y otros solventes^{1, 2}.
2. La tendencia de los nanomateriales a formar agregados, lo que puede limitar sus potenciales aplicaciones.
3. La falta de materiales de referencia o patrones de medida³.

¹ O. Matarredona, H. Rhoads, Z. R. Li, J. H. Harwell, L. Balzano, D. E. Resasco, J. Phys. Chem. B 107 (2003) 13357.

² W. Zhou, S. Lv, W. Shi, Eur. Polymer J. 44 (2008) 587.

4. Confirmación de la alta dependencia del resultado al método de medida empleado. Además de la escasa información y pocos métodos de preparación eficientes para determinaciones fiables de los nanomateriales⁴.
5. Técnicas analíticas en desarrollo o con diseños poco apropiados para las mediciones en la nanoescala. Algunas medidas dependen directamente de la preparación de la muestra (agente dispersante y aditivos específicos para cada muestra) y del contenido de nanomaterial en la suspensión.
6. En microscopia los métodos de preparación siguen siendo un cuello de botella. Por ejemplo la colocación de la muestra en el *grid* es un tema de controversia sobre la posibilidad de generación de agregados que evitan una caracterización efectiva. Además la muestra es sometida a diferentes ambientes antes de realizar las medidas, lo que aumenta el riesgo a la modificación de las propiedades de la muestra.

La Figura 1 resume los retos abordados en esta Tesis Doctoral.

³ T. Linsinger, G. Roebben, C. Solans, R. Ramsch, Trends Anal. Chem. 30 (2011) 18.

⁴ L. Vaisman, H. Wagner, G. Marom, Adv. Colloid Interface Sci. 128 (2006) 37.

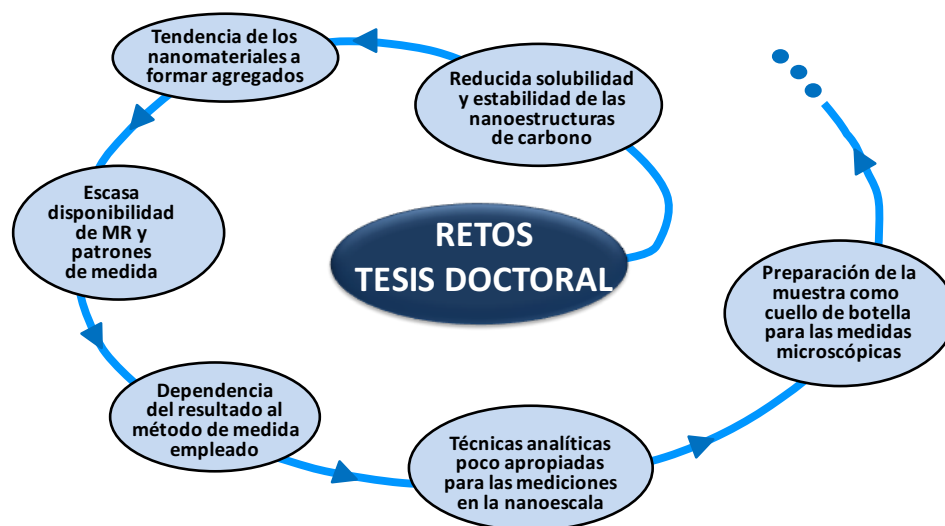


Figura 1. Esquema de los retos abordados en la tesis doctoral.

5.1. Estrategias para la dispersión de nanomateriales de carbono

Uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral es la preparación de dispersiones de nanomateriales de carbono –nanotubos de carbono de una capa y de múltiples capas y nanodiamantes- que permitieran la caracterización del nanomaterial de manera individual y que se mantuviesen estables con el tiempo.

Como se ha comentado en capítulos anteriores, los nanomateriales de carbono tienden a la agregación a través de interacciones hidrofóbicas entre nanopartículas. Las mismas propiedades que los hacen excelentes sorbentes, limitan su aplicación debido a la presencia de agregados. Se

han ideado una gran cantidad de estrategias para mejorar la solubilidad y dispersión de nanomateriales de carbono, como la dispersión en disolventes orgánicos volátiles⁵, dispersión con ayuda de tensioactivos⁶, por ejemplo, sodio bencenosulfonato (SDS), Triton X-100, bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) o sodio dodecilbencenosulfonato (NaDBS). Asimismo se han descrito procesos de funcionalización –covalente y no covalente- de nanomateriales de carbono con el fin de conseguir una mejor solubilización de los mismos en disoluciones acuosas y orgánicas. Recientemente, los líquidos iónicos (LIs) han surgido como alternativas “verdes” sustituyendo a los disolventes orgánicos volátiles para este propósito.

En esta tesis se ha estudiado el potencial de distintos disolventes para dispersar nanotubos de carbono y nanodiamantes. Se han evaluado disolventes orgánicos, como metanol, tolueno, acetona, metanol, 2-propanol y 2-butanol; tensioactivos (Triton-X100, dodecil sulfato de sodio (SDS) o sodio dodecil bencenosulfonato (NaDBS)); aceite mineral; y el líquido iónico 1-butil-3-metilimidazolio hexafluorofosfato (BMIM-PF₆). La tabla 1 muestra una evaluación cualitativa de la estabilidad y el grado de dispersión conseguido con los distintos disolventes para los nanomateriales estudiados. Un mayor número de estrellas indica una mejor dispersión.

⁵ K.D. Ausman, R. Piner, O. Lourie, R.S. Ruoff, M. Korobov, J. Phys. Chem. B 104 (2000) 8911-8915.

⁶ R. Rastogi, R. Kaushal, S.K. Tripathi, A.L. Sharma, I. Kaur, L.M. Bharadwaj, J. Colloid Interf. Sci. 328 (2008) 421-428

Tabla 1. Análisis cualitativo de la estabilidad y grado de dispersión de las suspensiones obtenidas con los disolventes estudiados.

	CNTs	NDs
Líquido iónico	***	**
Tensioactivos	***	***
Disolvente orgánico	*	*
Aceite mineral		*

En la figura 2 se muestra a modo de ejemplo la estabilidad de dispersiones de nanotubos de carbono a alta concentración preparadas en metanol, Triton X-100 y BMIM-PF₆.

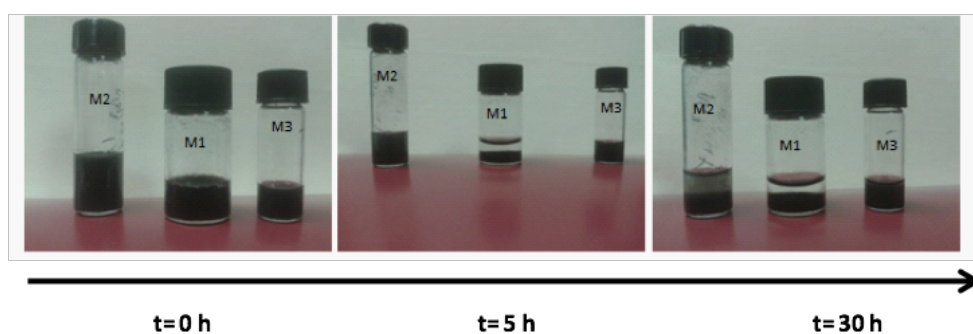


Figura 2. Fotografías de dispersiones en metanol, Triton X-100 y BMIM-PF₆ en función de tiempo, donde se aprecia la estabilidad de cada una de ellas.

En el caso de nanodiamantes la mejor dispersión se observó en aquellas dispersiones preparadas con tensioactivo NaDBS, que se mantuvieron estables durante un período largo de tiempo. En la figura 3 se muestran fotografías de la dispersiones preparadas en el momento de la preparación y transcurridos 60 días desde la misma. Como puede verse, no se observó la separación de fases o la aparición de precipitados de nanodiamantes no dispersos. Asimismo se muestra la dispersión en el caso de disolvente orgánico (tolueno) a los 5 días, donde pueden observarse precipitado de nanodiamantes en el fondo del vial.

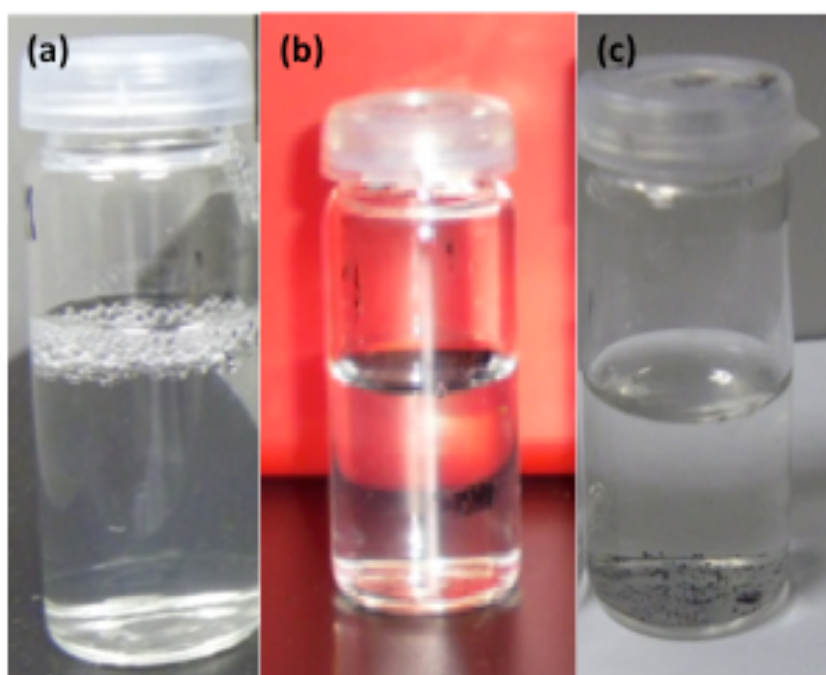


Figura 3. Fotografías de las dispersiones preparadas usando (a) tensioactivo NaDBS (a tiempo 0), (b) tensioactivo NaDBS transcurridos 60 días, (c) en disolvente orgánico (tolueno) transcurridos 5 días.

El mecanismo de dispersión de los nanotubos de carbono en tensioactivo se asocia a la orientación que toman las moléculas de surfactante de modo que los grupos hidrófobos (colas) se dirigen a la superficie de los nanotubos, mientras que los grupos de las cabezas hidrófilas se orientan hacia la fase acuosa, produciendo una disminución en la tensión interfacial entre los MWNTs y el agua⁷. Se ha descrito que los tensioactivos con grupos aromáticos, como el Triton X-100 o el NaDBS, tienen una mayor capacidad para dispersar los CNTs en virtud a su aromaticidad. Las moléculas que tienen una estructura de anillo de benceno se adsorben más fuertemente a la superficie de grafito debido a la interacción del tipo π - π (*stacking*). La cantidad de tensioactivo adsorbido depende de las interacciones grafito – tensioactivo, de la estructura superficial y de la longitud de la cadena alquílica y el tamaño de los grupos de la cabeza del tensioactivo, afectando a su poder dispersante⁸. Los grupos hidrófobos (colas) se colocan generalmente de manera plana sobre la superficie del grafito, ya que las unidades de metileno de las cadenas del hidrocarburo están bien coordinadas con las celdas unitarias del grafito. Las colas largas significan un volumen espacial alto y mayor impedimento estérico, proporcionando así mayores fuerzas de repulsión entre los CNTs individuales⁹.

Sin embargo, cómo se organizan las moléculas anfífilas adsorbidas sobre los CNTs es aún objeto de debate. Se han propuesto varias configuraciones (figura 4) entre las que se incluyen encapsulamiento

⁷ R. Rastogi, R. Kaushal, S.K. Tripathi, A.L. Sharma, I. Kaur, L.M. Bharadwaj, J. Colloid Interf. Sci. 328 (2008) 421-428.

⁸ V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, R.H. Hauge, R.E. Smalley, Nano Lett. 3 (2003) 1379-1382.

⁹ A.I. López-Lorente, B.M. Simonet, M. Valcárcel, Analyst 138 (2013) 2378-2385.

entre las micelas cilíndricas, recubrimiento con hemiesferas de micelas (hemimicelas), o adsorción aleatoria de las moléculas¹⁰.

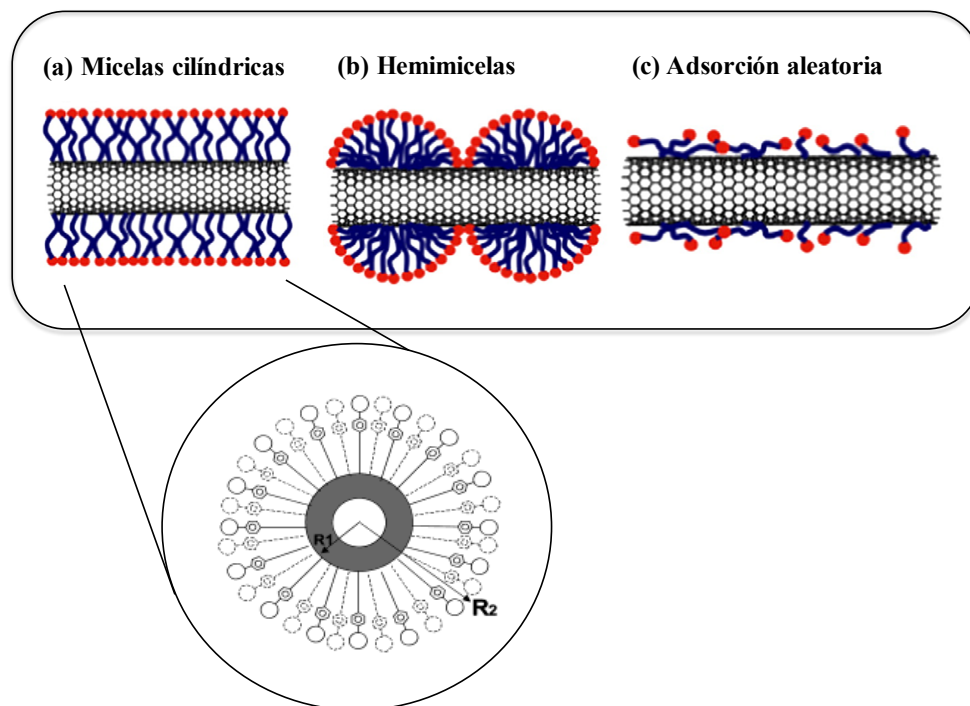


Figura 4. Esquema de las estructuras que se forman en la estabilización de SWNTs con tensioactivos: (a) micelas cilíndricas, (b) hemimicelas, y (c) adsorción aleatoria. En la imagen inferior se muestra el esquema de una micela cilíndrica con el tensioactivo NaDBS. Figura adaptada de las ref^{11, 12}.

En el caso del tensioactivo NaDBS se ha descrito que durante la adsorción del tensioactivo en los CNTs las fuerzas de Coulomb no juegan un papel central, siendo superadas por las interacciones hidrofóbicas

¹⁰ H. Wang, Current Opinions Colloid Interface Sci. 14 (2009) 364.

¹¹ E.J. Wallace, M.S:P. Sansom, Nanotechnology (2009) 20.

entre la cola del tensioactivo y la pared del nanotubo¹². Las fuerzas hidrofóbicas entre la cola del tensioactivo y el nanotubo determinan la estructura de los CNT estabilizados con el NaDBS. En dicha estructura, cada nanotubo está cubierto por una monocapa de moléculas de tensioactivo en las que las cabezas forman una superficie exterior compacta mientras que las colas permanecen en contacto con las paredes del nanotubo. Aunque la configuración final puede describirse como una micela cilíndrica con un nanotubo en el centro, el mecanismo de formación de esta estructura no se produce por la incorporación del nanotubo dentro de la micela, sino por una adsorción en dos etapas que termina con la formación de la monocapa de tensioactivo (Figura 4).

Aunque se prepararon dispersiones con una variedad de disolventes, los estudios se centraron principalmente en dos de ellos: dispersión con el tensioactivo sodio dodecibenceno sulfonato (NaDBS), y dispersión en el líquido iónico 1-butil-3-metilimidazolio hexafluorofosfato (BMIM-PF₆). La figura 5 muestra un esquema general de los capítulos de la tesis en los que se abordan dichos estudios así como las técnicas analíticas empleadas para ello.

¹² O. Matarredona, H. Rhoads, Z. Li, J.H. Harwell, L. Balzano, D.E. Resasco, J. Phys. Chem. B 107 (2003) 13357.

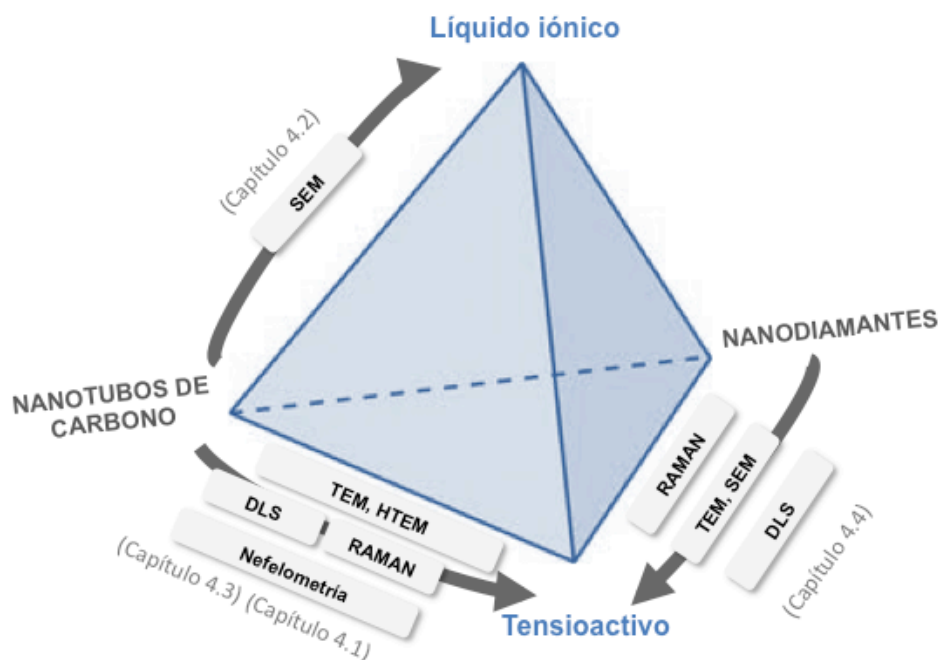


Figura 5. Resumen de las estrategias seguidas para la dispersión de nanotubos de carbono y nanodiamantes y técnicas empleadas en los diferentes capítulos de la Tesis Doctoral para la caracterización de las mismas.

En los diferentes estudios de dispersión de nanomateriales llevados a cabo en los capítulos 4.3 y 4.4. se siguió un procedimiento similar que consistía en la dispersión del nanomaterial con ayuda de ultrasonidos, seguido de una etapa de centrifugación con el fin de eliminar el material no disperso. Se trabajó, por tanto, con el sobrenadante obtenido que contiene el nanomaterial disperso. En ambos casos se estudió la influencia de la energía suministrada en la etapa de dispersión, encontrándose que la utilización de una sonda de ultrasonidos produjo mejores dispersiones que el uso de un baño de ultrasonidos. En este caso, la sonda conduce a un mayor calentamiento de la disolución, por lo

que para evitar la degradación del material, así como la evaporación del disolvente, la dispersión se llevó a cabo en ciclos, de modo que la sonda actuaba durante periodos de tiempo pequeños, dejándose un tiempo de descanso para disipar el calor.

En ambos capítulos se empleó el mismo tensioactivo aniónico (NaDBS) para preparar las dispersiones de nanotubos de carbono y nanodiamantes, respectivamente. Aunque la concentraciones de nanomateriales no fueron las mismas, de los estudios llevados a cabo se puede deducir que el NaDBS mostró un gran potencial para dispersar nanotubos de carbono monocapa, así como también multicapa.

En el caso de dispersiones de nanodiamantes, aunque se obtuvieron nanopartículas individuales que pudieron ser caracterizadas en términos de tamaño mediante técnicas microscópicas, éstas revelaron la presencia de restos de agregados de nanodiamantes, lo que confirma lo previamente descrito en la bibliografía de la dificultad para dispersar este nanomaterial sin modificación química de la superficie. En cualquier caso, cabe destacar que se emplearon para dichos estudios concentraciones de NDs superiores a las utilizadas en el caso de CNTs.

Por otro lado, en el capítulo 3.1. se prepararon dispersiones de NDs en tensioactivo, en este caso usando sodio dodecilsulfato (SDS), con nanodiamantes que previamente se habían sometido a un tratamiento de oxidación con ácidos. Bajo estas condiciones se observó una buena dispersión del nanomaterial, lo que permitió su uso como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar sin provocar atasco del capilar y conduciendo a resultados reproducibles.

La figura 6 muestra a modo de resumen el grado de dispersión de los nanomateriales estudiados en presencia de tensioactivo.

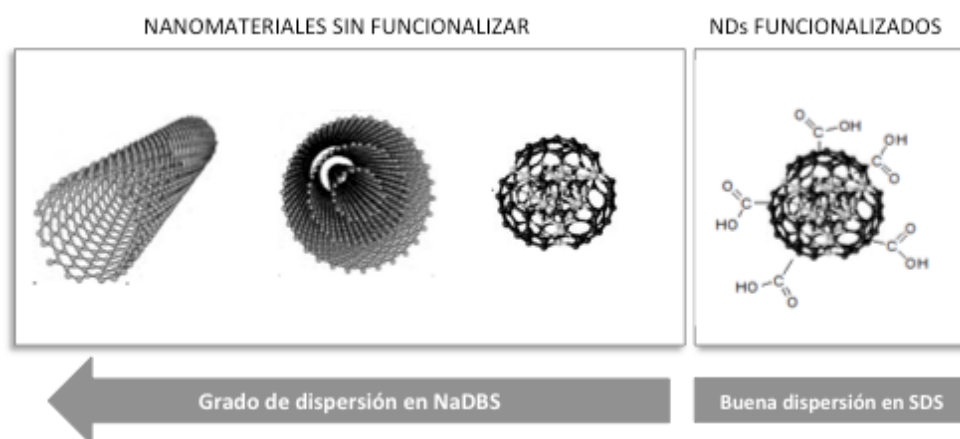


Figura 6. Grado de dispersión de los nanomateriales funcionalizados y sin funcionalizar estudiados con ayuda de tensioactivo: NaDBS y SDS.

Por otro lado, en el capítulo 4.1. se evaluó la estabilidad de dispersiones de SWNTs y MWNTs en tensioactivo NaDBS cuando se incrementó la fuerza iónica del medio. Como puede verse en la figura 7, al aumentar la fuerza iónica del medio el diámetro hidrodinámico observado mediante DLS aumentó, lo que puede relacionarse con la formación de agregados de nanomaterial¹³. La precipitación puede atribuirse a la disminución de la doble-capa eléctrica por la adición de los iones, que puede reducir la repulsión electrostática entre los CNTs y, por tanto, conducir a la agregación de los mismos.

¹³ I. Schwyzer, R. Kaegi, L. Sigg, R. Smajda, A. Magrez, B. Nowack, Environ. Pollut. 169 (2012) 64.

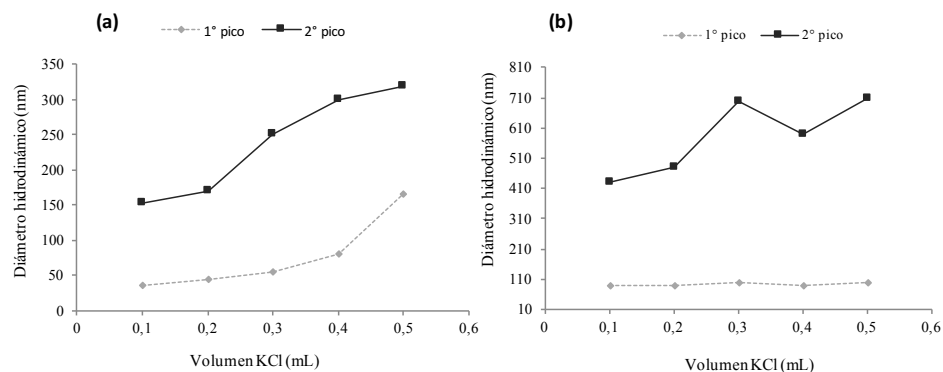


Figura 7. *Diámetro hidrodinámico medido por DLS para dispersiones en NaDBS de (a) SWNTs y (b) MWNTs en presencia de distintas cantidades de KCl en la disolución.*

5.2. Caracterización de nanomateriales de carbono

En el capítulo 4 de esta Tesis Doctoral se ha abordado la caracterización de los nanomateriales de carbono dispersados con ayuda de diferentes disolventes y agentes dispersantes empleando un conjunto de técnicas analíticas que proporcionan información complementaria.

Para tener una caracterización completa de un nanomaterial es necesario el empleo de diversas técnicas que nos proporcionen información sobre parámetros tales como el tamaño, distribución de tamaño de la muestra, estructura, pureza y presencia de grupos funcionales en la superficie. En esta Tesis Doctoral se han empleado técnicas microscópicas – microscopía electrónica de transmisión (convencional y de alta resolución) y de barrido-, técnicas espectroscópicas como la

espectroscopia Raman, y técnicas dispersivas como la dispersión de luz dinámica (DLS) o nefelometría. La figura 8 muestra un esquema de las técnicas utilizadas en cada capítulo.

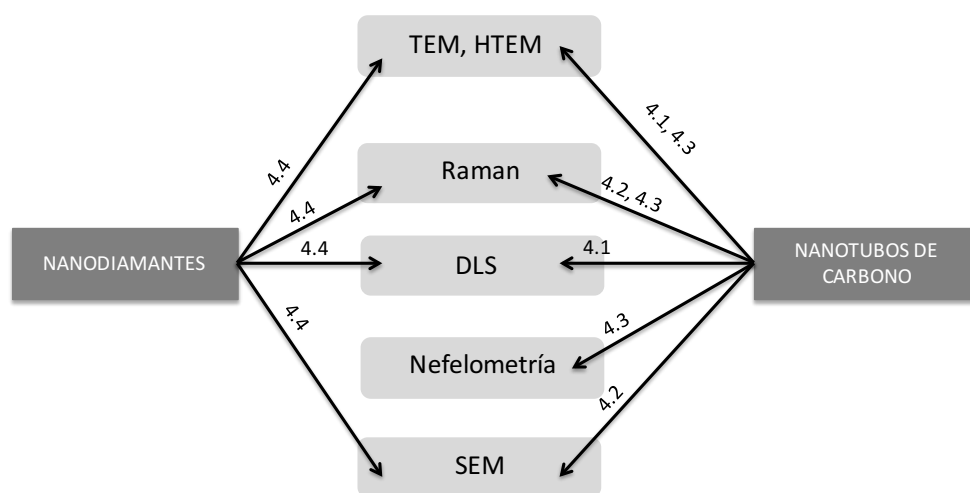


Figura 8. Esquema de las distintas técnicas analíticas empleadas para la caracterización de nanodiamantes y nanotubos de carbono en los distintos capítulos de esta Tesis Doctoral.

A continuación se discutirán los resultados obtenidos con cada una de las técnicas empleadas, así como el potencial y las limitaciones de cada una de ellas.

5.2.1. Microscopía electrónica

Existen varias técnicas microscópicas que pueden proporcionar imágenes de sistemas de nanopartículas. Entre ellas cabe destacar las microscopías electrónica y las microscopías de sonda, como microscopía de fuerza atómica (AFM) o microscopía de efecto túnel (STM), que, aunque

proporcionan una gran información sobre muestras de nanopartículas, no se han usado en esta Tesis Doctoral. En cambio se ha empleado en varias ocasiones las microscopías electrónicas de transmisión (TEM) y de barrido (SEM). Estas técnicas se basan en la interacción de un haz de electrones de alta energía con la muestra, emitiéndose electrones y fotones. Proporcionan información sobre tamaño (por ejemplo, diámetros de nanomateriales), morfología y distribución de tamaños.

Los métodos de microscopía son métodos para medir partículas individuales; sin embargo, esto necesita un conteo o medición de un gran número de partículas. La medida de tamaño por microscopía se basa en un promedio de mediciones de tamaño sobre un cierto número de partículas, de modo que para una caracterización fiable estadísticamente de la distribución de tamaño es necesario hacer medidas de miles de partículas. Las partículas grandes (o posibles agregados), pueden contribuir substancialmente a las distribuciones calculadas.

Otra característica común en las técnicas de microscopía es que se requieren diferentes niveles de preparación de muestra. Se tiene un amplio escenario de preparación de muestras que van desde muestras húmedas, para los casos del microscopio de fuerza atómica (AFM)¹⁴ o el microscopio de barrido con electrones ambiental (ESEM), hasta muestras que deben soportar el alto vacío de microscopios como SEM y HTEM¹⁵. La transferencia de la muestra de un estado húmedo a uno seco con frecuencia significa cambios dramáticos en la distribución del tamaño de la partícula. Por ejemplo, cuando una gota que contiene nanopartículas es

¹⁴ E. Balnois, K.J. Wilkinson, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects* 207 (2002) 229–242.

¹⁵ K. Tiede, A.B.A. Boxall, S.P. Tear, J. Lewis, H. David, M. Hassellöv, *Food Add. Contaminants: Part A* 25 (2008) 795-821.

sometida a un método de secado por evaporación, la concentración de partículas y la concentración de soluto aumentan, mientras que el volumen de la gota decrece antes de finalizar el proceso de evaporación. Esto permite que las partículas se agreguen y las sales se precipiten. Hay algunos métodos que preservan el estado hidratado de las partículas, entre ellos, criofijación, el cual consiste en congelar rápidamente las formas no cristalinas del hielo. Otro método es embeber las partículas en resinas solubles en agua que fijan a esta durante el curado de la resina.

En el caso de las microscopías usadas en esta Tesis, en SEM la muestra ha de ser necesariamente conductora. Para ello, las muestras aislantes son recubiertas con una película delgada de un material conductor (C, Au, Cr); sin embargo, existe la posibilidad de perder información al recubrir la superficie de la muestra. En el capítulo 4.2. se propuso un procedimiento de preparación de muestras de CNTs con el uso de líquidos iónicos para su caracterización por SEM. Los LIs presentan algunas ventajas tales como no dañar la superficie de los CNTs, disminuir la agregación de nanopartículas, ya que se incrementa el número de CNTs dispersos de manera individual, favoreciendo que se tenga una muestra más representativa. Debido a la conductividad de los líquidos iónicos su uso evita el recubrimiento de oro en la muestra antes de analizarla y se favorece el contraste y brillo de la imagen. La figura 9 muestra imágenes SEM de SWNTs dispersos en líquido iónico BMIM PF₆.

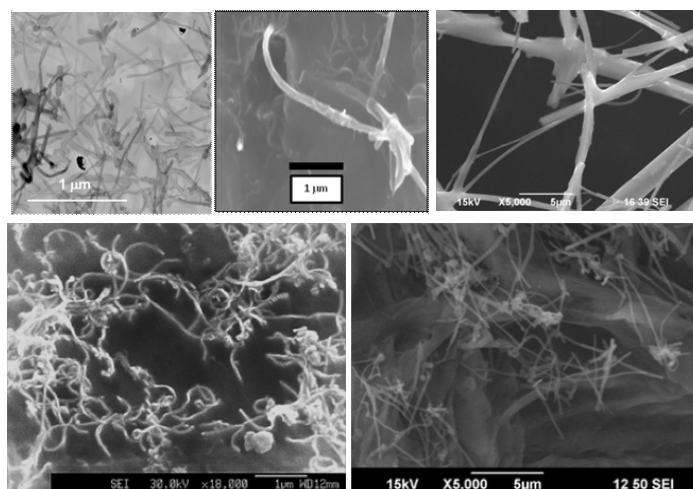


Figura 9. Imágenes de SEM de MWNTs dispersos con el líquido iónico $BMIM PF_6$ (método 3). Una gota de la suspensión fue colocada en una membrana de policarbonato y el exceso de LI se eliminó.

En el caso de la microscopía TEM, la muestra ha de ser muy delgada y se sitúa sobre una rejilla que actúa de soporte (por ejemplo de Cu, carbono y con o sin película protectora). La microscopía TEM y HTEM se han empleado a lo largo de la Tesis Doctoral para caracterizar las dispersiones de CNTs y nanodiamantes preparadas. Se observó que la representatividad de la muestra evaluada por TEM depende del método que se emplee en la preparación de la muestra sobre el grid así como del tipo de grid empleado.

Se estudiaron la deposición de la muestra sobre el grid por gota o por inmersión. El método de gota permite reunir una gran cantidad de nanoobjetos en una zona específica de la rejilla, por lo que facilita la búsqueda y observación por TEM. Sin embargo, este método puede promover la formación de agregados, ya que la fase líquida tiende hacia el centro de la gota, esto acarrea nanoobjetos que se centralizan y se

unen en la zona donde se seca la última porción del líquido. Al mismo tiempo, aunque en menor proporción, este mecanismo también genera que nanopartículas se liberen en las zonas donde se realiza el secado más pronto, límites de la gota, y queden partículas individuales que pueden ser caracterizadas con mayor eficacia.

El método de inmersión nos proporcionó otro tipo de dispersión de los nanomateriales, ya que estos quedan impregnados en la película del grid, cluster grandes y pequeños de nanopartículas. En este método se usaron dos tipos de grids: del tipo rejilla (lancey) y tipo película (formvar). Los grid de rejilla fueron muy efectivos para capturar aglomerados que tiene pocas unidades de nanopartículas, por lo que, este método fue efectivo para proporcionar muestras que permiten la caracterización de nanopartículas individuales. El grid formvar atrapa una mayor cantidad de nanomateriales que se distribuyen en toda la superficie, lo que facilita la búsqueda y la observación. La etapa de secado del grid no tiene ninguna influencia en la formación de agregados o en la forma en que se distribuyen los nanomateriales por lo anterior este método es recomendable para la medición de distribuciones de tamaño, mientras que lancey es muy útil en la caracterización del nanomaterial. En la figura 10 se observan los resultados obtenidos en cada tipo de grid.

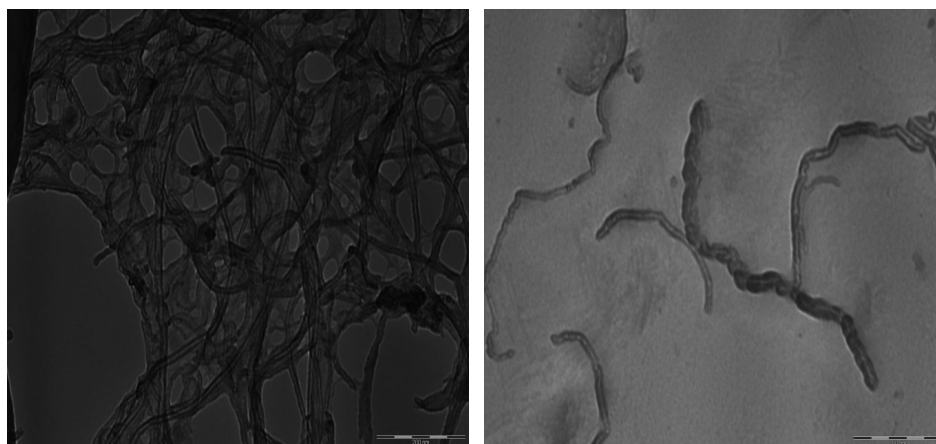


Figura 10. Derecha: Imagen de MWNTs sobre grid lancey. Izquierda: Imagen de MWCNT sobre grid de película (formvar).

Las técnicas microscópicas permitieron calcular las dimensiones de los nanomateriales objeto de estudio. En el caso de los nanodiamantes se calculó la distribución de tamaños de los mismos en base al diámetro de partícula. En cuanto a los CNTs se calculó el diámetro, siendo más difícil las medidas de la longitud de los mismos, dadas las limitaciones del software de análisis de imágenes debido a la forma no regular que tienen los nanotubos de carbono. La tabla 2 resume las ventajas y limitaciones de las distintas técnicas microscópicas para el análisis de nanomateriales.

Tabla 2. Ventajas y limitaciones de las técnicas microscópicas

	VENTAJAS	LIMITACIONES
STM	<ul style="list-style-type: none"> - Resolución a escala atómica (trabajar con buenos conductores Pt, Au, Cu, Ag) - Se obtiene además del diámetro de NP información sobre el volumen 	<ul style="list-style-type: none"> - Trabajar in situ (evitar oxidación o contaminación), vacío, baja temperatura - No aplicable a muestras aislantes
AFM	<ul style="list-style-type: none"> - Aplicable a materiales aislantes, semiconductores o conductores - Información cualitativa (visualización 3D, textura) y cuantitativa (ej: conteo partículas, distribución tamaños, área superficial, volumen y masa) - Requiere menos tiempo y costo que SEM y TEM 	<ul style="list-style-type: none"> - Identificar posibles artificios - Dependiendo de la modalidad posible el arrastre de partículas - La superficie sobre la que se deposita la muestra debe ser plana para no interferir (mica, silicio). - La muestra debe estar adherida al sustrato y ser rígida
SEM	<ul style="list-style-type: none"> - Imágenes pueden obtenerse sobre cualquier especie en masa - SEM alto vacío aplicable todo tipo de muestras - Imágenes tridimensionales realistas de la superficie - La muestra es más sencilla de preparar que TEM - Información EDS 	<ul style="list-style-type: none"> - Trabajo en ultravacío - Muestra necesariamente conductora (recubrir material conductor, pero puede perderse información)
TEM	<ul style="list-style-type: none"> - Mejor resolución que en SEM - Información sobre composición cristalográfica - Posibilidad de usar HRTEM (alta resolución). 	<ul style="list-style-type: none"> - Preparación compleja de muestra (han de ser muy finas y estables a alto vacío). - Trabajo en ultravacío - Imagen es la proyección 2D de la muestra

5.2.2. Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman se basa en el examen de luz dispersada por un material al incidir sobre él un haz de luz monocromático. Una pequeña porción de la luz es dispersada inelásticamente experimentando ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado e independientes de la frecuencia de la luz incidente (Figura 11).

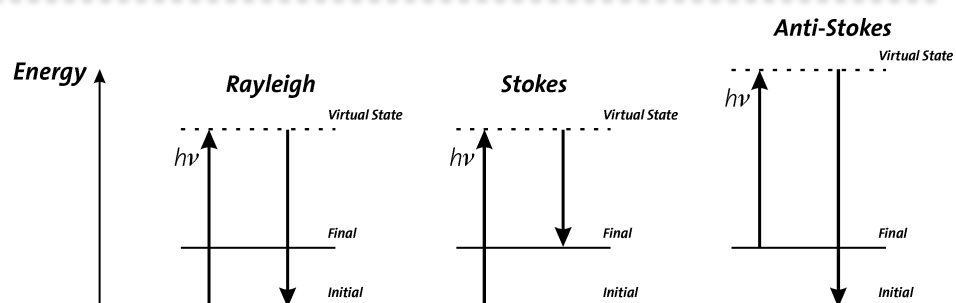


Figura 11. Diagramas de niveles de energía de la dispersión Raman.

Como se ha comentado anteriormente, la espectroscopia Raman proporciona información sobre pureza, defectos y estructura de nanomateriales de carbono, como CNTs y nanodiamantes, y es de ayuda para diferenciar entre SWNTs, MWNTs y otros alótropos del carbono. Algunas ventajas que han impulsado su uso extendido son que se trata de una técnica no invasiva, que no requiere preparación de la muestra y que permite una gran versatilidad de condiciones de medida.

En el caso de los nanotubos de carbono, puede proporcionar información detallada sobre la estructura geométrica, electrónica y vibracional de los

diferentes CNTs presentes en la muestra¹⁶. Los principales modos de vibración en el espectro Raman de CNTs son las bandas de respiración radiales (RBM, 100-300 cm⁻¹), que aparecen en el caso de SWNTs, y que están relacionadas con el diámetro de los nanotubos, proporcionando información acerca del mismo. Para el caso de un SWNT aislado puede estimarse el diámetro del mismo a partir de la frecuencia de las bandas RBM siguiendo la siguiente ecuación establecida para SWNTs semiconductores en una disolución acuosa de SDS¹⁷:

$$d_t = \frac{223}{\omega_{\text{RBM}} - 10} \quad (1)$$

donde d_t es el diámetro del SWNT en nm, y ω_{RBM} el desplazamiento (shift) Raman para los modos RBM en cm⁻¹. En algunas ocasiones, si se establecen condiciones muy buenas de resonancia, pueden observarse en MWNTs.

El modo tangencial (banda G, 1400-1700 cm⁻¹) es el de mayor energía en el caso de SWNTs, pudiéndose emplear asimismo para la caracterización del diámetro de los CNTs o de su carácter metálico. Dicha banda tiende a dividirse en dos (G⁺ y G⁻) en el caso de SWNTs, mientras que en MWNTs el efecto es menos pronunciado. La banda D, asociada al desorden, se observa entre 1300-1400 cm⁻¹, pudiéndose observar su sobretono, conocido como banda G', a 2600-2800 cm⁻¹.

En esta tesis se ha empleado la espectroscopia Raman para caracterizar las dispersiones de SWNTs y MWNTs preparadas en tensioactivo

¹⁶ M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, A. Jorio, Phys. Rep. 409 (2005) 47.

¹⁷ C. Fantini, A. Jorio, M. Souza, M.S. Strano, M. S. Dresselhaus, M. A. Pimenta, Phys. Rev. Lett. 93 (2004) 147406.

(capítulo 4.3.) así como para monitorizar la dispersión de MWNTs de forma efectiva en el líquido iónico BMIM PF₆ (capítulo 4.2.).

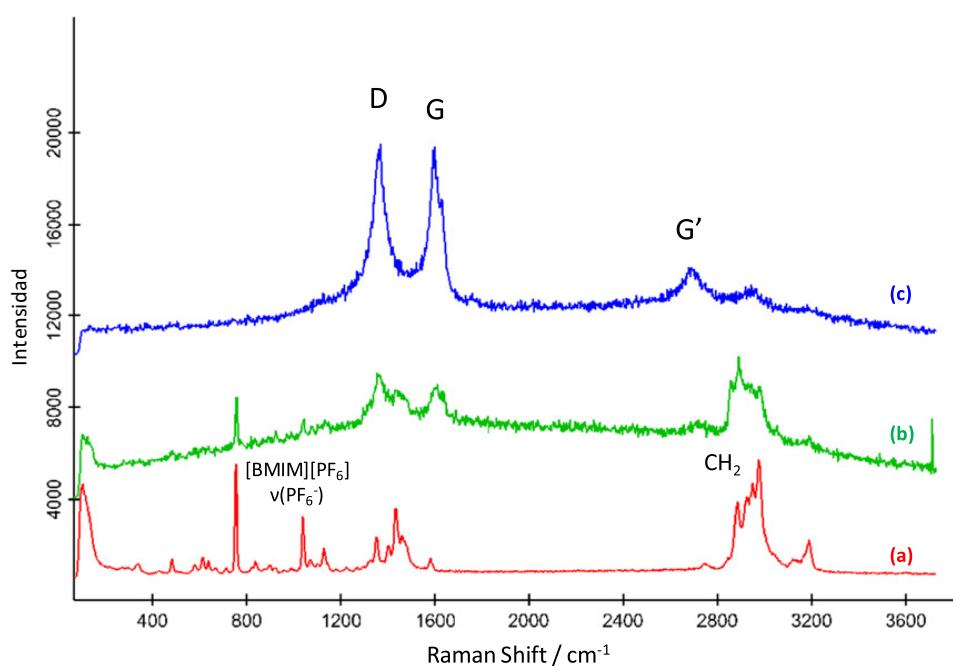


Figura 12. Espectro Raman de (a) líquido iónico BMIM PF₆, (b) MWNTs dispersos en BMIM PF₆ y (c) MWNTs después de la deposición en membrana y eliminación del exceso de LI.

La figura 12 muestra los espectros del LI BMIM PF₆ (a), la suspensión de MWNTs en el LI (b) y el espectro de MWNTs depositados sobre una membrana donde se ha eliminado el exceso de LI (c). El espectro del LI presenta bandas correspondientes a los enlaces CH₂, mientras que la banda más predominante aparece a 739 cm⁻¹ generada por el tensión simétrica del anión PF₆⁻. En el espectro de la dispersión de los MWNTs en el líquido iónico, se observan las bandas correspondientes a los MWNTs (D y G) junto con las bandas correspondientes al LI del medio.

Una vez que los MWNTs se depositan en la membrana y se elimina el exceso de LI, el espectro Raman correspondiente presenta todas las características de los MWNTs. Por lo tanto, la dispersión en líquido iónico no altera las propiedades de los MWNTs, permitiendo su caracterización por SEM y espectroscopia Raman.

Por otra parte, la espectroscopia Raman proporciona información sobre la estructura, composición y homogeneidad de los nanodiamantes, así como de la presencia de grupos funcionales. Como se ha comentado anteriormente, el espectro Raman de nanodiamantes depende de su estructura, pureza, la relación de carbonos con hibridación sp^3/sp^2 , el tamaño del cristal y la química superficial del mismo. El espectro de polvo de nanodiamante con un alto contenido en carbono sp^2 está dominado por las bandas D (1350 cm^{-1}) y G del carbono grafitico mientras que la señal del diamante ($\sim 1332\text{ cm}^{-1}$) es débil o ausente. Al incrementar el contenido sp^3 , la intensidad de la banda del diamante aumenta, mientras que la banda D disminuye¹⁸. Otra característica del espectro Raman de nanodiamantes es una banda asimétrica ancha entre 1500 y 1800 cm^{-1} , que es una superposición de la banda del carbono grafitico a 1590 cm^{-1} y la flexión de grupos O-H a 1640 cm^{-1} .

La figura 13 muestra los espectros Raman obtenidos para las dispersiones de NDs en el tensioactivo aniónico NaDBS descritas en el capítulo 4.4. preparadas con los métodos A, B y C. En este caso se observa una banda ancha en el espectro Raman, que corresponde principalmente a la banda D del carbono grafitico. Para poder observar mejor la banda del diamante y suprimir la banda D del carbono grafitico

¹⁸ V.N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi, Nature Nanotechnol. 7 (2012) 11.

que se superpone a ésta es necesario el uso de láseres ultravioleta con una energía de excitación cercana al *bandgap* del diamante (5.5. eV)¹⁹. El pico del nanodiamante es ancho y aparece a desplazamientos más bajos ($\sim 1326 \text{ cm}^{-1}$) respecto al diamante convencional, con un hombro a aproximadamente 1250 cm^{-1} originado por partículas de nanodiamante más pequeñas.

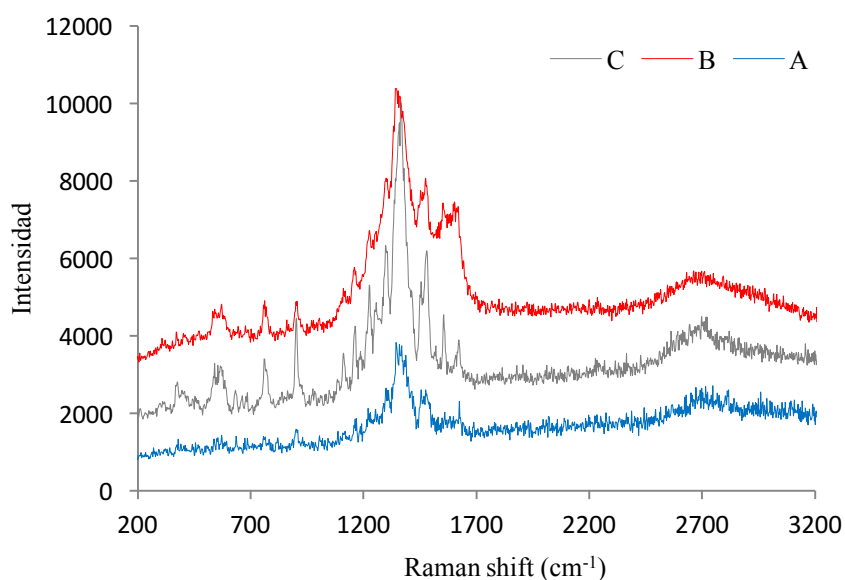


Figura 13. Espectros Raman obtenidos para las distintas dispersiones de nanodiamante en tensioactivo NaDBS preparadas con los métodos (A) azul, (B) rojo y (C) gris.

Aunque, como hemos visto, la espectroscopia Raman puede proporcionar mucha información sobre la muestra, esta técnica también tiene algunas limitaciones. Por ejemplo, uno de los problema inherentes

¹⁹ V.N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi, Nat. Nanotechnol. 7 (2012) 11.

a la adquisición de espectros Raman es la aparición de ruidos en el espectro, tales como el ruido shot, ruido generado por la muestra –como es el caso de la fluorescencia-, ruido generado por la instrumentación, ruido computacional y ruido generado por fuentes externas, como por ejemplo los rayos cósmicos que llegan al detector. De todos estos posibles ruidos los que más habitualmente aparecen son el ruido shot, el cósmico y la fluorescencia. Para evitarlos normalmente las medidas se hacen con la luz apagada, de manera que no haya interferencias de la luz de las bombillas halógenas. En el caso de los nanotubos de carbono y nanodiamantes se observa interferencias debido a la fluorescencia de los mismos. Para intentar minimizar la fluorescencia se puede disminuir la potencia del láser, de modo que es necesario aumentar el tiempo de medida y el número de adquisiciones. Asimismo se recomienda utilizar láseres con una longitud de onda mayor (p.e. 785 nm) que producen menos problemas de fluorescencia que en el caso de láser más energéticos como el de 532 nm. Cabe destacar que se observaron mayores interferencias de fluorescencia de los nanotubos cuando más diluidos e individualmente dispersos se encontraban los mismos.

Otra dificultad que se encuentra cuando se mide el espectro Raman de muestras sólidas de CNTs y NDs es la degradación de la muestra debido al calor generado por la irradiación del láser. Para ello, de nuevo, una disminución de la potencia evita la degradación de la muestra. En nuestro caso el problema se redujo cuando se midieron dispersiones de los nanomateriales de carbono en dispersiones acuosas de tensioactivo, ya que las disoluciones pueden disipar mejor el calor lo que disminuye los requerimientos de las condiciones de medida del láser.

5.2.3. Dispersión de luz dinámica

La dispersión de luz dinámica (DLS) es una técnica común para evaluar el tamaño, distribución de tamaño y forma de nanomateriales^{20, 21}. La radiación electromagnética de fotones incidentes induce un dipolo oscilatorio en la nube de electrones de la partícula. Como las cargas del dipolo, la radiación electromagnética es dispersada en todas direcciones. La fuente de luz puede ser un láser, una lámpara de luz, un haz de neutrones o rayos X, para cada tipo de sonda tiene un rango de tamaño de partícula y composición. Esta técnica presenta ventajas tales como el análisis de una gran población de nanopartículas simultáneamente, la preparación de la muestra es simple y el tiempo de análisis son unos pocos minutos²². Otra ventaja es que se mide en la propia dispersión de nanopartículas, por lo que el estado de agregación de las mismas no se ve alterado. Además, el coste de la instrumentación no es muy alto. Generalmente, DLS se ha utilizado para medir el diámetro hidrodinámico de partículas esféricas.

La técnica de dispersión dinámica de luz se fundamenta en las fluctuaciones en la luz dispersada que depende del coeficiente de difusión de las partículas (movimiento). Las fluctuaciones se originan desde el movimiento browniano de las partículas y del efecto por partículas vecinas que pueden tener interferencia constructiva o destructiva de la intensidad de la luz dispersada en una dirección determinada. Al alcanzar las numerosas partículas que hay en una suspensión, la luz láser que se hace incidir sobre ellas se dispersa en

²⁰ G. M. Wilkins, P. T. Spicer, M. J. Solomon, *Langmuir* 25 (2009) 8951.

²¹ M. T. Cabeen, C. Jacobs-Wagner, *Nat. Rev. Microbiol.* 3 (2005) 601.

²² J. B. Falabella, T. J. Cho, D. C. Ripple, V. A. Hackley, M. J. Tarlov, *Langmuir* 26 (2010) 12740.

todas las direcciones posibles, los haces de luz dispersados por distintas partículas interfieren entre sí y se obtiene una intensidad de dispersión determinada. La figura 14 muestra un esquema del proceso de medida mediante DLS.

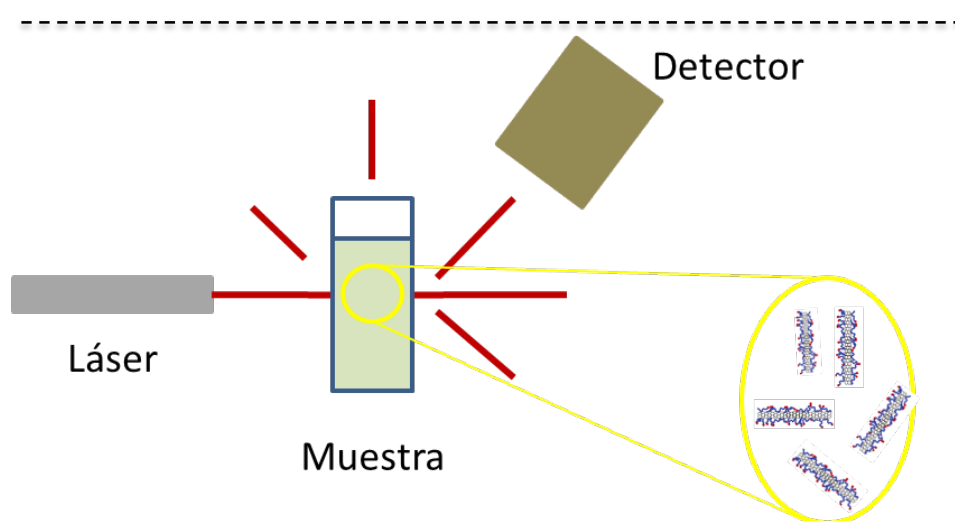


Figura 14. Representación esquemática del proceso de medida mediante DLS para nanotubos de carbono.

DLS proporciona información sobre el diámetro de una esfera que se mueve (difunde) del mismo modo que nuestra muestra. Este tamaño, por tanto, incluye a los estabilizantes unidos a la partícula (por ejemplo tensioactivos, moléculas de estabilizantes como citrato unidos a la superficie de la nanopartícula, etc.), aunque éstos no sean observados por TEM.

En el caso de los nanotubos de carbono, dada su naturaleza cilíndrica, la relación de aspecto de los mismos puede llegar a ser de 1000. A pesar de esta limitación, se han desarrollado algunos cálculos que permiten

obtener una estimación del diámetro hidrodinámico de nanotubos mediante DLS²³.

En el capítulo 4.1. se evaluó el potencial de la técnica de DLS para determinar el diámetro hidrodinámico de CNTs. Utilizando la ecuación de Stokes-Einstein y la de los coeficientes de difusión, se puede llegar a una ecuación capaz de predecir el diámetro hidrodinámico en función de la longitud y el diámetro de los mismos:

$$D_h = \frac{L}{\ln\left(\frac{L}{d}\right) + 0.32}$$

donde D_h el diámetro hidrodinámico y L y d son la longitud y el diámetro del nanotubo, respectivamente. Se observó que los diámetros hidrodinámicos observados estaban de acuerdo con el intervalo que cabía esperar en base a las dimensiones de los CNTs calculadas mediante HTEM. Los valores de diámetro hidrodinámico en ningún caso pueden equipararse a la longitud del nanotubo de carbono. Además, dado la gran relación de aspecto (hasta 1000:1) inherente a los nanotubos, es importante recalcar que una pequeña imprecisión en las medidas de DLS de tamaño hidrodinámico resultarían en una gran variación en la longitud calculada, por lo que éstas deben ser consideradas únicamente como una aproximación.

Otra limitación de la técnica de DLS en el caso de dispersiones de nanomaterial en tensioactivo es la posible influencia del mismo en la señal obtenida, ya que las propias micelas originan señales en DLS.

²³ N. Nair, W. Kim, R. D. Braatz, M. S. Strano. Langmuir 24 (2008) 1790.

Aunque la técnica de DLS no nos permitió obtener información precisa sobre las dimensiones de los CNTs, sí que resultó útil a la hora de estudiar la estabilidad de dispersiones de los mismos. En el capítulo 4.1. se investigó el efecto que produce un aumento de la fuerza iónica del medio sobre la estabilidad de las dispersiones, observándose mayores valores de diámetro hidrodinámico, que corresponden a la formación de agregados de nanomaterial.

Por otra parte, en el capítulo 4.4. se empleó de nuevo DLS para caracterizar dispersiones de nanodiamantes con ayuda del tensioactivo NaDBS. En este caso se trata de un nanomaterial de forma casi esférica, por lo que la relación de aspecto del mismo es cercana a 1, no encontrándose las limitaciones en cuanto a la interpretación del tamaño encontradas para los CNTs. Sin embargo, de nuevo se midieron dispersiones de NDs en medio micelar, por lo que es posible que de la interacción de los NDs con las micelas de tensioactivo puedan formarse bicapas de tensioactivo sobre la superficie de los NDs. Esta técnica proporciona información sobre el diámetro de una esfera que se mueve de la misma forma que nuestra muestra, y dicho tamaño incluye cualquier estabilizante que esté unido a nuestra molécula, incluso aunque éstos no se vean en TEM. De ahí que se obtuviesen, como se muestra en el capítulo 4.4., valores de los *clusters* de nanodiamantes mucho mayores que en el caso de las medidas por TEM.

A modo de ejemplo la figura 15 muestra los resultados obtenidos mediante DLS para dispersiones de NDs en tensioactivo NaDBS, así como la señal que proporciona el propio tensioactivo.

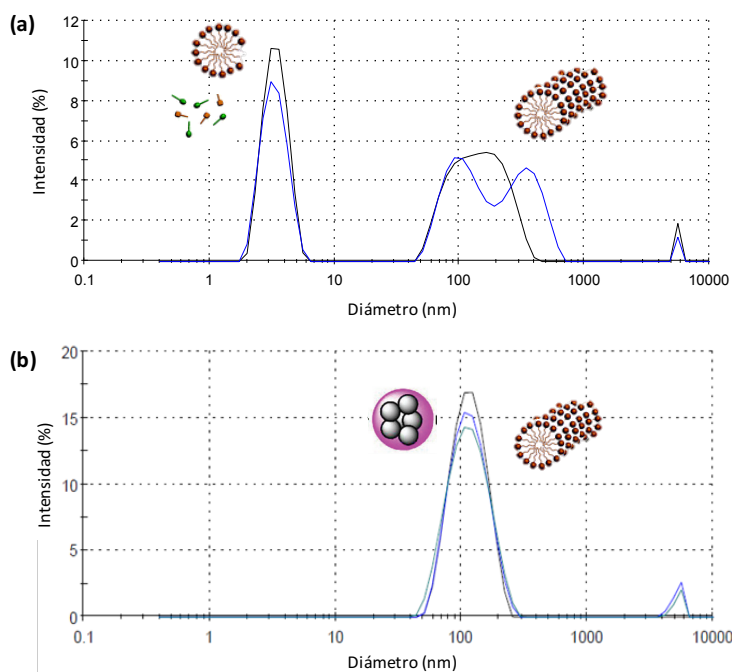


Figura 15. Gráfica de la distribución de tamaño obtenida mediante DLS para (a) disolución de tensioactivo NaDBS 0.5% y (b) dispersión de NDs en NaDBS 0.5%.

5.2.4. Nefelometría

La nefelometría permite detectar la energía lumínica dispersada o reflejada hacia un detector que normalmente se encuentra en un determinado ángulo en relación el haz de luz incidente, en este caso las medidas se hicieron con un ángulo de 90° . Las mediciones nefelométricas suelen utilizarse para medir muestras cuya concentración de partículas es baja, lo que da a lugar a una débil dispersión de la luz. La intensidad de la radiación depende del número de partículas suspendidas, su tamaño, su forma, los índices refractivos de la partículas así como del medio dispersante, y la longitud de onda de la radiación

dispersada. Generalmente, en la práctica se puede extrapolar que cuanto mayor es el número de partículas, mayor es la dispersión, encontrándose influida asimismo por el tamaño de la partícula.

Esta técnica se empleó en el capítulo 4.3. para evaluar la estabilidad a largo plazo de dispersiones de CNTs en tensioactivo. Como se discutió en dicho capítulo, se encontraron que la dispersiones observadas para la dispersiones no variaron significativamente con el tiempo, por lo que las dispersiones se mantuvieron estables sin la formación de agregados significativos que aumentaran el tamaño de partícula o que sedimentaran al fondo del vial.

5.3. Nanoestructuras de carbono como herramientas analíticas

En esta Tesis Doctoral también se ha explotado otra faceta de los nanomateriales en el ámbito de la Nanociencia y Nanotecnología Analítica, que es su uso como herramienta para mejorar los procesos analíticos, en este caso nos hemos centrado en mejorar procesos de separación mediante el uso de nanodiamantes como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas, como se describió en el capítulo 3.1. de esta memoria.

En dicho capítulo se investigó la separación de nitroimidazoles mediante electroforesis capilar de zona (CZE), cromatografía electrocinética micelar (MEKC) y la denominada cromatografía electrocinética micelar con dispersión de nanopartículas (MiNDEKC). En cromatografía

electrocinética micelar los analitos se separan en base a su diferente partición entre micelas (fase pseudoestacionaria) y el buffer acuoso. Para ello se introducen micelas de tensioactivo a una concentración superior a su concentración micelar crítica en el buffer electroforético. Por otro lado, en MiNDECK, se usa una fase pseudoestacionaria compuesta por un medio micelar combinado con nanopartículas dispersadas en el mismo. Esta modalidad permite una mejora de la resolución debido a las interacciones entre los analitos y las nanopartículas, como se describirá a continuación. La figura 16 muestra un esquema de los distintos métodos electroforéticos que se pueden obtener mediante la incorporación de diferentes compuestos en el buffer de separación que actúan como fase pseudoestacionaria.

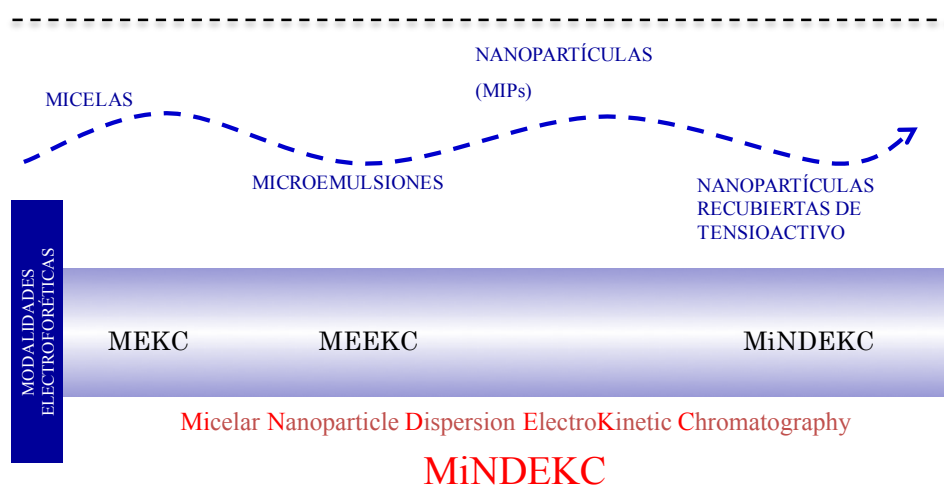


Figura 16. Distintas modalidades de electroforesis capilar mediante el uso de diferentes agentes como fase pseudoestacionaria: micelas en cromatografía electrocinética micelar (MEKC), microemulsiones en cromatografía electrocinética en microemulsión (MEEKC), nanopartículas o polímeros de impresión molecular, y NPs recubiertas con tensioactivo en MiNDECK (se muestra el nombre de la técnica en inglés).

Como ya se ha discutido anteriormente, para explotar al máximo la interacción de los nanodiamantes con los analitos es deseable que éstos se encuentren dispersos de forma individual. Para conseguir una mejor dispersión y evitar posibles atascos del capilar, se llevó a cabo un tratamiento de oxidación de los mismos (o-NDs). Asimismo, para lograr una buena dispersión se utilizó el tensioactivo sodio dodecilsulfato (SDS), de modo que tendremos NDs recubiertos por el tensioactivo.

Como puede observarse en la figura 17, el hecho de tener nanodiamantes recubiertos con tensioactivo presenta la ventaja de que en el sistema se tienen NDs recubiertos de tensioactivo con los que puede interaccionar el analito de distintas formas –interacción con la cabeza polar del tensioactivo, interacción con la cadena alquílica del tensioactivo, adsorción sobre la superficie del ND o interacciones mixtas-; así como presencia de micelas en el medio, con las que también podría interaccionar el analito.

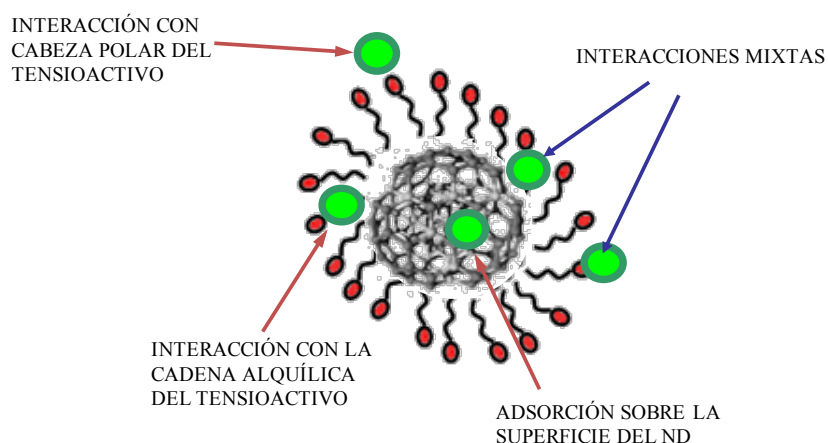


Figura 17. Tipos de interacciones que pueden tener lugar entre el analito y la fase pseudoestacionaria compuesta por nanodiamantes recubiertos con micelas de tensioactivo.

Los o-NDs mostraron su eficiencia en la separación de tres imidazoles (MNZ, RNZ y RNZ), como puede observarse en la figura 18. La presencia de grupos carboxilos en la superficie de los nanodiamantes ayudó a la dispersión de los mismos en el buffer electroforético evitando bloqueos del capilar e incompatibilidades con la detección. Cabe destacar que los o-NDs no causaron una degradación de la interfaz del espectrómetro de masas por electrospray incluso después de varias semanas de uso, ni problemas en la detección.

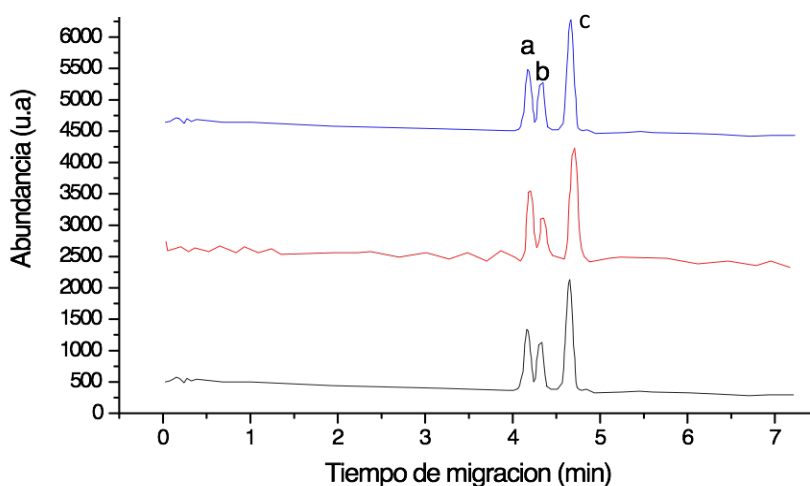
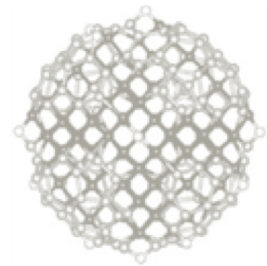
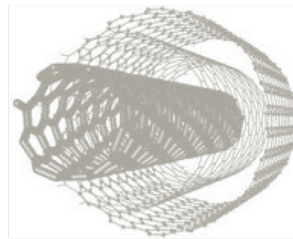
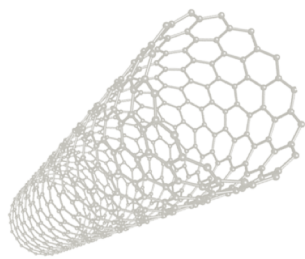


Figura 18. Electroferogramas obtenidos con un buffer que contiene o-NDs en una disolución 100 mM SDS y 15 mM NH_4OAc a pH 8. Identificación de los picos: (a) MNZ, (b) RNZ y (c) DZN.

CONCLUSIONES



La investigación realizada en la presente Tesis Doctoral se ha centrado en la preparación de dispersiones estables de nanomateriales de carbono – nanodiamantes y nanotubos de carbono- así como la caracterización de las mismas mediante diferentes técnicas analíticas. Asimismo se ha abordado otra faceta de la Nanociencia y Nanotecnología Analítica (N&NA), mediante el uso de nanodiamantes como herramienta analítica para mejorar procesos de separación. Siguiendo el esquema general de esta Memoria, las conclusiones principales de cada uno de los aspectos abordados se recogen a continuación.

En cuanto al uso de **nanoestructuras de carbono como herramientas en N&NA**, cabe destacar que se ha descrito por primera vez el uso de NDs oxidados (o-NDs) como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masas. El uso de o-NDs mejoró la identificación y separación electrocinética de los nitroimidazoles metronidazol (MNZ), dimetridazol (DZN) y ronidazol (RZN). Se ha investigado el efecto que producen sobre la separación de los nitroimidazoles la adición en el buffer electroforético de tensioactivos aniónicos así como la adición de nanodiamantes modificados con tratamiento ácido y sin modificar. Se obtuvieron los mejores resultados en términos de separación de picos con el buffer que combina nanodiamantes oxidados y moléculas de SDS, ya que pueden producirse

Conclusiones

interacciones hidrofóbicas de tipo π - π o de van der Waals entre el analito y los nanodiamantes dispersados en el buffer, así como interacciones con el tensioactivo que recubre al nanomaterial.

Por otro lado, se ha abordado la faceta de las **nanoestructuras de carbono como objetos de medida en N&NA**, estudiándose diversas estrategias para la dispersión de los nanomateriales de carbono así como la caracterización de los mismos mediante diversas técnicas analíticas que proporcionan información complementaria.

(1) Nanotubos de carbono se han caracterizado mediante dispersión de luz dinámica.

- Se ha evaluado el potencial de la técnica dispersión de luz dinámica (DLS) para la caracterización de dispersiones de nanotubos de carbono de pared simple y múltiple (SWNTs y MWNTs).
- Las dispersiones se prepararon con ayuda del tensioactivo aniónico sodio dodecilsulfonato (NaDBS) y se caracterizaron mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HTEM) para calcular el tamaño de los CNTs.
- Basándonos en los valores obtenidos por microscopía se compararon con los diámetros hidrodinámicos obtenidos en DLS, observándose que la distribución de tamaño proporcionada por la técnica dispersiva se encontraba en el rango que cabría esperar.
- No obstante, DLS es una técnica que proporciona valores exactos para partículas con una relación de aspecto en torno a 1, mientras que el alto valor de relación de aspecto de los CNTs impide que

se obtengan valores precisos de sus dimensiones mediante esta técnica.

- Por último, se utilizó DLS para evaluar el efecto del incremento de la fuerza iónica de la disolución en la estabilidad de la dispersión de los CNTs, observándose que se obtenían valores mayores de diámetro hidrodinámico, debido a que la presencia de los iones puede reducir la repulsión electrostática de los nanotubos.

(2) Se ha realizado un estudio de la influencia del disolvente en la preparación de muestra de CNTs para su análisis por microscopía de barrido electrónico.

- Se realizó un estudio comparativo sobre la utilidad de tres disolventes diferentes –metanol, una disolución de tensioactivo Triton X-100 y líquido iónico con presencia del grupo imidazolio- para la dispersión de MWNTs.
- Los líquidos iónicos presentan algunas ventajas tales como no dañar la superficie de los CNTs, disminuir la agregación de nanopartículas, ya que se incrementa el número de CNTs dispersos de manera individual, favoreciendo que se tenga una muestra más representativa.
- Debido a la conductividad de los líquidos iónicos su uso evita el recubrimiento de oro en la muestra antes de analizarla y se favorece el contraste y brillo de la imagen.

Conclusiones

- Se usó la espectroscopia Raman para evaluar la solubilidad de los nanotubos de carbono en la suspensión de LI, demostrando las excelentes características de los LI como disolventes de CNTs.

(3) Se han preparado dispersiones de nanotubos de carbono, que han sido caracterizadas mediante diversas técnicas analíticas complementarias.

- Se ha investigado la estabilidad de dispersiones de SWNTs y MWNTs suspendidos en una disolución acuosa de tensioactivo dodecil bencenosulfonato sódico (NaDBS).
- Se prepararon dispersiones usando distintos tipos de nanotubos y siguientes diferentes métodos que difieren en la cantidad de nanomaterial dispersado y en la etapa de ultrasonidos empleada para conseguir la dispersión de la muestra.
- El sobrenadante obtenido tras la centrifugación de dispersiones llevadas a cabo mediante dispersión con ayuda de una sonda de ultrasonidos en una disolución de tensioactivo NaDBS mostró una buena estabilidad a lo largo del tiempo, como demostraron medidas de nefelometría.
- Las dispersiones obtenidas se han caracterizado mediante diversas técnicas complementarias, como microscopía electrónica de transmisión, espectroscopia Raman, y nefelometría, de modo que se obtiene información de diferentes características de las muestras. Una única técnica analítica por sí misma, no permite la caracterización completa de las dispersiones.

- Se ha evaluado la estabilidad a tiempos elevados de las dispersiones, para evaluar el potencial uso de dispersiones de este tipo como materiales de referencia de CNTs.

(4) Se han preparado dispersiones de nanodiamantes, que han sido caracterizadas mediante diversas técnicas analíticas complementarias.

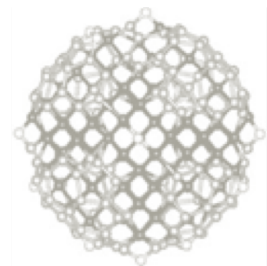
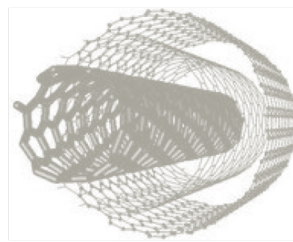
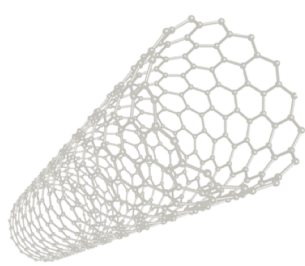
- Se ha investigado el uso de distintos agentes dispersantes para la preparación de dispersiones estables de nanodiamantes sin necesidad de llevar a cabo la modificación química de su superficie o funcionalización de los mismos.
- Se seleccionó la dispersión con el tensioactivo aniónico sodio dodecibenceno sulfonato para posteriores estudios de las suspensiones preparadas mediante distintos métodos que difieren en la cantidad de energía suministrada, mediante un baño o sonda de ultrasonidos, así como en la concentración de tensioactivo y nanodiamantes.
- El uso de la sonda de ultrasonidos condujo a una mejor dispersión del nanomaterial, pudiéndose observar en las imágenes de TEM algunas nanopartículas individuales, si bien también se observaron la presencia de agregados de NDs.
- Se evaluó el grado de agregación de las dispersiones obtenidas, y se calculó la distribución de tamaño. La caracterización de las dispersiones se realizó empleando diversas técnicas analíticas tales como la microscopía electrónica, espectroscopia Raman y dispersión de luz dinámica (DLS), que proporcionan información complementaria sobre las características del nanomaterial.

Conclusiones

- En el caso de las medidas por DLS, no fue posible distinguir las nanopartículas individuales en ninguno de los tres casos, observándose valores en torno a 100 nm. La presencia de micelas rodeando a los NDs conlleva a que el tamaño determinado mediante la técnica dispersiva sea mayor del obtenido mediante TEM.
- El uso de tensioactivo ayuda a la dispersión de los nanodiamantes en medio acuoso, sin embargo, bajo las condiciones estudiadas, las dispersiones mostraron la presencia de agregados de nanopartículas junto con otras dispersadas individualmente.

Por último cabe destacar que se evaluó el estado actual de la Nanometrología, investigándose las necesidades metrológicas de la N&NA. En la sección 1.3. de esta Memoria se recoge el capítulo de libro dedicado a este tema, donde se describe la importancia de la Nanometrología, se discute la problemática actual de la falta de materiales de referencia para nanomateriales y se presentan las principales técnicas nanometrológicas que se utilizan con sus limitaciones.

AUTOEVALUACIÓN CIENTÍFICA



La redacción de esta Memoria, junto con la experiencia adquirida durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral, ha proporcionado una visión general del trabajo desarrollado. En esta sección se ha llevado a cabo una autoevaluación crítica de los resultados obtenidos con el fin de valorar, por un lado, las principales aportaciones del trabajo, así como analizar las limitaciones y otros puntos que se podían haber abordado para complementar el trabajo mostrado, y que se tendrán en cuenta de cara a futuras investigaciones.

Como ya se ha descrito a lo largo de la Memoria, esta Tesis se ha centrado en el estudio de nanomateriales de carbono –nanodiamantes y nanotubos de carbono– abordándolos desde las dos facetas clásicas de la Nanociencia y Nanotecnología Analíticas, estas son: como herramienta y como objeto de medida.

En cuanto al uso de **nanomateriales como herramientas analíticas**, se ha evaluado el potencial de nanodiamantes como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar acoplada con espectrometría de masas. Se ha demostrado que los NDs son compatibles con la detección por MS, permiten mejorar la resolución y separación de los analitos en condiciones en las que CZE y MEKC no lo lograron. La oxidación de los NDs permitió tener una dispersión más estable, que no produjese atascos en el capilar ni problemas en la interfaz del MS.

Sin embargo, se podía haber estudiado más en profundidad las variables que afectan a la separación, tales como la concentración del electrolito, concentración de tensioactivo y, sobre todo, la concentración de nanodiamantes con el fin de haber mejorado aún más la resolución electroforética. No obstante,

debemos tener en cuenta que dadas las condiciones de medida no podemos trabajar con concentraciones de NDs muy elevadas para evitar atascos del capilar e incompatibilidades con el sistema de detección. Por otro lado, se podía haber evaluado la posibilidad no sólo de separar los tres nitroimidazoles, sino de llevar a cabo análisis cuantitativo en presencia de los NDs como fase pseudoestacionaria. Por último, sería interesante en el futuro comparar los resultados obtenidos con nanodiamantes con los de otros nanomateriales de carbono que se han usado también como fase pseudoestacionaria, tales como nanotubos de carbono, fullerenos o grafeno.

En el caso de los **nanomateriales como objeto de medida**, cabe destacar que se han empleado y evaluado el potencial de diversas técnicas analíticas: microscopías electrónicas de barrido y transmisión, espectroscopia Raman, dispersión de luz dinámica y nefelometría.

Por un lado, se ha estudiado el potencial y limitaciones de la técnica de dispersión de luz dinámica para caracterizar nanopartículas no esféricas, como son los CNTs. El tamaño de los CNTs se evaluó asimismo mediante medidas de HTEM, para poder comparar con los valores observados mediante ambas técnicas. En este sentido, hubiese sido interesante haber calculado la distribución de tamaños de los CNTs, en lugar de evaluar únicamente el intervalo de tamaños encontrado, lo que proporcionaría una idea más exacta de las dimensiones de los mismos. Para ellos se tendrían que haber medido un elevado número de CNTs con el fin de obtener un valor representativo. Asimismo, se estudió el efecto de un aumento de la fuerza iónica de la disolución sobre la agregación de los CNTs. Las medidas realizadas mediante DLS mostraron un aumento del diámetro hidrodinámico proporcionado mediante la técnica. Dichas medidas se podrían haber complementado con medidas de UV-Vis, que permiten evaluar la concentración de nanomaterial en las dispersiones, y, por tanto, su estabilidad.

En el capítulo 4.2. se ha propuesto el uso de líquidos iónicos para la preparación de CNTs previo a su análisis mediante SEM, consiguiéndose una buena dispersión de los CNTs y mejorándose el contraste de la imagen dada la conductividad de los líquidos iónicos. Se hizo un estudio con diferentes disolventes: orgánicos, dispersiones acuosas de tensioactivos y líquido iónico con grupo imidazolio. Se seleccionó un LI con dicho grupo como catión ya que previamente se había descrito en la bibliografía y se había visto en nuestro grupo de investigación el potencial de los LI con catión imidazolio para dispersar CNTs. No obstante, se podían haber investigado LIs con otros aniones, siendo solubles e insolubles en agua, así como con diferentes cationes.

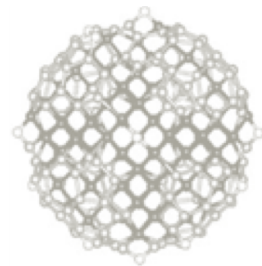
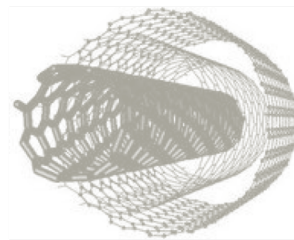
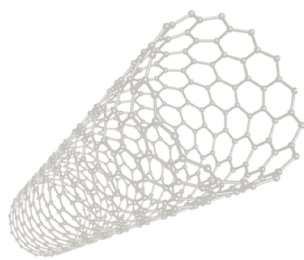
Por otra parte, en los capítulos 4.3. y 4.4. se han caracterizados dispersiones acuosas con ayuda de tensioactivos de CNTs y NDs, respectivamente. Como ya se ha comentado anteriormente, para los estudios de estabilidad se podía haber utilizado también la espectroscopia UV-Vis de forma complementaria al resto de técnicas utilizadas. Por otro lado, el rango de condiciones estudiadas para la preparación de las dispersiones podía haberse ampliado, por ejemplo, distintas concentraciones de tensioactivo y distintos tensioactivos –con el fin de evaluar la distinta capacidad de cada uno de ellos-, tanto con grupos aromáticos o cadenas alifáticas, y de distinta naturaleza: aniónica, catiónica o neutra. Asimismo, aunque se prepararon muchas muestras en condiciones variadas no todas se sometieron a la caracterización completa mediante las diversas técnicas analíticas, siendo algunas de ellas evaluadas únicamente de modo cualitativo mediante una inspección visual. En un futuro se abordarán dichos estudios más completos, así como el empleo de otros métodos de dispersión de nanomateriales, por ejemplo mediante la funcionalización de la superficie de los mismos con el fin de hacerlos más estables en disolución.

Además, en el caso de las dispersiones de NDs, no se consiguió tener al nanomaterial disperso individualmente, por lo que en el futuro se abordará el estudio de otros agentes dispersantes como tensioactivos zwitteriónicos (por

ejemplo lecitina), aumentando las condiciones de tratamiento con ultrasonidos (tiempo y energía) para la dispersión, controlando a su vez que dicho proceso no produzca la degradación del nanomaterial. Uno de los retos en este contexto, es la dispersión de los nanodiamantes en medios fisiológicos (por ejemplo buffer fosfato salino, PBS), ya que es importante a la hora de llevar a cabo estudios de biocompatibilidad y toxicidad para posibles aplicaciones de los nanodiamantes, por ejemplo como sistemas de liberación de fármacos.

Por último, aunque se han empleado diversas técnicas analíticas para la caracterización de los nanomateriales estudiados, hubiese resultado útil en este contexto el uso del fraccionamiento de flujo de campo (FFF) para la separación y caracterización de los nanomateriales en función de su diferente movilidad. Asimismo, para la evaluación de la estabilidad de las dispersiones hubiese sido útil haber calculado la carga Z de la superficie de los nanomateriales. En este caso, no se ha tenido acceso a dichas técnicas, que sin duda hubiesen resultado muy interesantes para contrastar y completar la caracterización de los nanomateriales utilizados durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

ANEXOS



A. PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS Y/O RELACIONADAS CON LA TESIS DOCTORAL

- R. Herrera-Basurto, A. López-Lorente, M. Valcárcel, “Scanning electron microscopy of carbon nanotubes dispersed in ionic liquid: solvent influence study”, *Microchemical Journal* 122 (2015) 137-143.
- R. Herrera-Basurto, B. Simonet, “Nanometrology”, *Encyclopedia Analytical Chemistry*, Ed. John Wiley and Sons, 2013, ISBN 9780470027318.
- E. Mañoso, R. Herrera-Basurto, B. Simonet, M. Valcárcel. “A quartz crystal microbalance modified with carbon nanotubes as a sensor for volatile organic compounds”, *Sensors and Actuators B* 186 (2013) 811– 816.



Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

Scanning electron microscopy of carbon nanotubes dispersed in ionic liquid: Solvent influence study

Raúl Herrera-Basurto¹, Ángela Inmaculada López-Lorente¹, Miguel Valcárcel^{*}

Department of Analytical Chemistry, University of Córdoba, E-14071 Córdoba, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 25 March 2015
Received in revised form 13 April 2015
Accepted 13 April 2015
Available online 17 April 2015

Keywords:
Carbon nanotubes
Scanning electron microscopy
Ionic liquid
Raman spectroscopy

ABSTRACT

In this work we present the results from the use of ionic liquids (ILs) for the sample preparation of carbon nanotubes prior to their characterization by scanning electron microscopy (SEM). Their use implies some advantages such as no damage of the surface of CNTs, the aggregation of the nanoparticles decreases while the number of CNTs individually dispersed increases, therefore, the sample is more representative. The use of ILs avoids the gold sputtering of the sample prior to analysis owing to the conductivity of the ionic liquid medium while increasing the contrast and brightness of the image. A comparative study of the feasibility of three different solvents – namely methanol, surfactant Triton X-100 solution, and imidazolium-based ionic liquid – for the dispersion of MWNTs prior to SEM analysis was carried out. Complementarily, Raman spectroscopy was employed to follow the solubilization of carbon nanotubes within the ionic liquid medium, demonstrating the excellent features of ILs for their use as solvent of CNTs.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Carbon nanotubes have aroused great attention in many fields owing to their exceptional electrical, optical and mechanical properties. A bottleneck for a more widespread industrial application is the accurate characterization of their properties. CNT dispersions have been characterized by UV–visible absorption spectroscopy [1] and near infrared (NIR) fluorescence spectroscopy [2]. Separation techniques (i.e. electrophoresis) have been also employed for the separation of single-walled carbon nanotubes (SWNTs), based on tube length or diameter-selective CE separation [3]. Raman spectroscopy has also emerged as a powerful technique for the characterization of carbon nanotubes [4–6].

Particle size is an important physical property of the nanomaterials [7–10] as well as size distribution. An essential measure is the aspect ratio determination, based on the measure of the length and outer diameter of the MWNTs by SEM. Scanning electron microscopy is one of the most commonly-used techniques employed for this purpose [11–13].

Microscopy-based techniques provide exact information about type and characteristics (shape, size, etc.), however, they present shortcomings in sample preparation such as the aggregation of the nanoparticles [14]. Thus, sample preparation prior to microscopic analysis is crucial to achieve representative results of the sample. Some procedures for sample preparation show several problems i.e. damage or modification

of the surface of the MWNT, due to the metallic coating, chemical attack or their aggregation [15–17].

In the past decade, a variety of strategies have been devised to improve solubility and dispersion of CNT, mainly in strong acids or volatile organic solvents [18,19] or dispersion with the aid of surfactants [5,20,21]. In recent years, ILs have emerged as “green” alternatives to volatile organic solvents for this purpose. In the literature, ILs have been used as media for functionalization reactions or as functionalizing agents for the covalent binding of CNTs [22]. Moreover, the compatibility of ionic liquids for their use in scanning microscopy has been proved since they have been analyzed by SEM [23] as their negligible vapor pressure enables their introduction in the apparatus requiring vacuum conditions [24]. ILs have been also used to improve the SEM observation of wet biological specimens [25,26].

In this paper, a preparation procedure for the dispersion of carbon nanotubes prior to SEM analysis has been developed which involves the use of ionic liquids, in this case 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (BMIM PF₆). This procedure for dispersion of CNTs has been compared with other preparation methods, namely dispersion in organic solvent – methanol and dispersion with the aid of a surfactant – Triton X-100. Ionic liquid enabled better dispersion of the MWNTs, thus allowing further characterization of the nanomaterial, such as diameter and length measurements. In order to demonstrate the effective dispersion of the carbon nanotubes within the ionic liquid medium, Raman spectroscopy was employed to monitor the process and corroborate that the carbon nanotubes are homogeneously distributed within the ionic liquid medium and the excess of ionic liquid has been effectively removed before SEM analysis.

^{*} Corresponding author. Tel./fax: +34 957 218616.

E-mail address: qa1meobj@uco.es (M. Valcárcel).

¹ Tel./fax: +34 957 218616.

Nanometrology

R. Herrera-Basurto

University of Córdoba, Córdoba, Spain
National Center of Metrology, Querétaro, México

B.M. Simonet

University of Córdoba, Córdoba, Spain

1 Introduction	1
2 Definitions	1
3 Importance of Nanometrology	2
4 Importance of Dimension and Size Distribution in Nanostructures	2
5 Classification of Nanostructures	3
6 Standards	3
7 Nanometrological Techniques	10
Abbreviations and Acronyms	10
Related Articles	10
References	11

Nanometrology can be defined as the science of measurement at the nanoscale level. Nanometrological measurements include not only length or size (shape, aspect ratio, and size distribution) but also chemical composition, nanoparticle concentrations, and optical, force, mass, electrical, and various other types of properties. This article highlights the importance of nanometrology, with special emphasis on size distribution measurements. Nanoparticles are classified and the role of standards is examined. Finally, selected nanometrological methods are discussed in terms of benefits and shortcomings.

1 INTRODUCTION

The rapid development of nanotechnology has raised the need for effective methods to characterize nanoparticles and nanomaterials. A strong need for nanometrology and normalization in the fields of nanomaterials and nanoparticles also exists to respond to the dramatically increasing use of nanomaterials in a wide range of industrial sectors.

There is thus a need for effective means of correlating nanostructures and their properties based on quantitative methods enabling the characterization of nanosized materials (especially, those with particle sizes in the range 10–100 nm). To be useful for nanomaterial manufacturing

and application development purposes, such methods must provide reliable, comparable results as regards various types of information including

- nanosized particle density and nanoparticle concentration;
- particle size (or grain size) distribution;
- particle shape;
- characteristic dimensions of nanostructured materials; and
- nanoporosity of sintered materials.

According to the Nanotechnology–Nanoscience Glossary, nanometrology is “the science of measurement at the nanoscale level”. As such, it plays a crucial role in the production of nanomaterials and nanosized devices with a high accuracy and reliability (i.e. in nanomanufacturing). Therefore, nanometrology includes measurements of not only length and size (which usually fall in the nanometer range and are often subject to an uncertainty less than 1 nm) but also chemical composition, nanoparticle concentration, and force, mass, electrical, and various other properties. Further developments in nanotechnology are thus heavily reliant on progress in nanometrology.

2 DEFINITIONS

The most usual nanotechnological and nanometrological terms are briefly defined in the following list.

Nanoscale: the scale spanning the nanometric range (approximately 1–100 nm).

Nanotechnology and nanoscience: the technology and science, respectively, of structures made with materials or composites of inorganic, organic, or hybrid nature where at least one dimension is less than 100 nm and new properties arise from such a small size.

Nanostructure: a structure containing surfaces, interfaces, grain boundaries, precipitates, thin layers, or even particles as small as even a few atoms or as large as 100 nm.

Nanocrystalline material: a material with characteristic geometric dimensions smaller than 100 nm and having distinct properties conferred by its nanometric size.

Nanocrystal: a single-crystalline particle of nanometric dimensions.

Nanoparticle: a particle, whether amorphous, crystalline, or of mixed nature, with dimensions in the nanometric range.

Nanometrology: the science of measurements at the nanoscale level, which include not only physical measurements of nanometric dimensions with an uncertainty typically less 1 nm but also chemical and other types of measurements (e.g. toxicological).



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Sensors and Actuators B: Chemical

journal homepage: www.elsevier.com/locate/snb

A quartz crystal microbalance modified with carbon nanotubes as a sensor for volatile organic compounds



E.S. Mañoso, R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel*

Department of Analytical Chemistry, Institute of Fine Chemistry and Nanochemistry, University of Córdoba, Marie Curie Building, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 11 April 2013
Received in revised form 14 June 2013
Accepted 24 June 2013
Available online xxx

Keywords:
Quartz crystal microbalance
Carbon nanotubes
Sensor
Transducer
VOCs

ABSTRACT

A piezoelectric quartz crystal microbalance (PQCM) was modified with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) to develop a chemically based sensor for measurements other than the typical mass change in the quartz crystal. Slight conductivity changes in the carbon nanotubes are amplified to obtain a vibrational frequency signal in the crystal. A commercially available quartz crystal microbalance was modified by replacing its electrode with MWCNTs to obtain a sensor with high sensitivity, selectivity, robustness and stability over time. The modified microbalance was successfully used to determine various types of analytes including volatile organic compounds (VOCs), aldehydes and amines.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

One of the greatest current challenges of analytical chemistry is the development of simple, rapid methods of analysis enabling on-line determinations without the need for labor-intensive sampling and sample preparation operations. One way of meeting this challenge is by developing effective test devices, sensors and sensor systems [1].

Piezoelectric sensors, also known as “piezoelectric quartz crystal microbalances” (PQCMs), are based on the ability of some materials to produce an electrical potential under pressure. The effect also works in reverse: applying an electrical field to some faces of a crystal causes mechanical distortion. Pierre and Jacques Curie observed this phenomenon in quartz and Rochelle salt in 1880, and named it the “piezoelectric effect” (from the Greek “piezein”, “push”) [2].

The quartz crystal in a commercial piezoelectric sensor, which is coated with thin layers of gold serving as electrodes on both sides, acts as a transducer [3]. Applying an alternating current between the two electrodes causes the crystal to oscillate at a specific base frequency. The interaction of analytes with the crystal surface decreases the base frequency by effect of the increased mass on the microbalance, the decrease being directly proportional to the analyte concentration [4,5].

Quartz microbalances have greater sensitivity than the conventional analytical laboratory microbalances. Their high mass sensitivity is a result of the high acceleration acting on the deposited film [6]. The crystal frequency (f_r) depends on the physical properties of the crystal and those of the medium. The change in resonance frequency (f_0) is related to the mass accumulated on the crystal by the Sauerbrey equation [5]:

$$\Delta f = k_s \Delta m \quad (1)$$

where Δf is the change in f_0 , Δm the deposited mass and k_s a constant dependent on f_0 for quartz, thickness, density and shear modulus.

Ever since carbon nanotubes (CNTs) were discovered by Iijima [7] in 1991 they have garnered great interest by virtue of their excellent properties. Such properties include a high specific area and low resistivity, which facilitate their use in electrochemical devices [8].

In this work, we exploited an important asset of CNTs, namely: the adsorptive properties of nanotubes and fullerenes, which differ from those of other graphitic carbons owing to the curved nature of the carbon surface resulting from CCC bond angles. Carbon atoms in CNTs adopt *quasi-sp*² hybridization by effect of the highly curved structure. The degree of valence orbital hybridization depends on the radius of the particular material; thus, a large radius leads to pure *sp*² hybridization and a small radius to *sp*³ hybridization [9].

Carbon nanotubes possess a high adsorption capacity for atoms, molecules and ions in both gaseous and liquid media [10,11]. Also, they are hollow cylinders and hence efficient gas and metal containers. In fact, oxides, metals and chlorides have been successfully

* Corresponding author. Tel.: +34 957 218616; fax: +34 957 218616.
E-mail address: qa1vacam@uco.es (M. Valcárcel).

B. COMUNICACIONES EN CONGRESOS Y EVENTOS DE DIFUSIÓN CIENTÍFICA

Comunicaciones póster

- R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel, “Retos de las mediciones en la nanoescala”. Simposio de Metrología CENAM 2012. Santiago de Querétaro (México), Octubre 2012.
- R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel, “Medición de aglomerados de disoluciones de nanopartículas”. V Workshop Nanociencia y Nanotecnología Analíticas. Toledo (España), Septiembre 2011.
- R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel, “Ventajas de los líquidos iónicos para la caracterización de nanotubos de carbono mediante microscopía de barrido con electrones”. III Encuentro sobre Nanociencia y Nanotecnología de Investigadores Andaluces (Nanouco). Córdoba (España), Febrero 2011.
- R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel, “Uso de líquidos iónicos (LI) para la preparación y caracterización de nanopartículas por microscopía de barrido con electrones (MBE)”. Reunión del grupo regional andaluz de la sociedad española de química analítica (GRASEQA). Córdoba (España), Junio 2010.

Comunicaciones Flash y póster

- R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel, “Caracterización efectiva de nanopartículas una ayuda para la nanometrología”. IV Workshop Nanociencia y Nanotecnología Analíticas. Zaragoza (España), Septiembre 2010.
- R. Herrera-Basurto, B.M. Simonet, M. Valcárcel, “Contribuciones metrológicas a las Nanociencias y Nanotecnologías Analíticas”. VIII Jornadas Doctorales Andaluzas. Almería (España), Septiembre 2010.

RETOS DE LAS MEDICIONES EN LA NANOESCALA

R. Herrera Basurto¹, B. Simonet Suas¹, M. Valcárcel Cases¹

¹ Universidad de Córdoba, Departamento de Química Analítica, Campus Rabanales Córdoba España, CP 14071. Tel.: 0034680593855, correo-e: qa2hebar@uco.es

Resumen: Se describen los fenómenos que ocurren en las nanodimensiones y la importancia de la Nanometrología para resolver problemas de la sociedad actual. También, se ponen de manifiesto los retos presentes y futuros que tiene la Nanometrología. Se presenta la divergencia de resultados entre técnicas de medición de la distribución de tamaño de partículas en disoluciones de nanodiamantes, como un ejemplo de los retos actuales en la Nanometrología.

1. UNA DESCRIPCIÓN BREVE DEL PANORAMA DE LA NANOMETROLOGÍA.

En Nanometrología hay un problema básico. No se puede definir con claridad el mensurando. Esto radica principalmente en el poco conocimiento que se tiene sobre el comportamiento de la materia en la escala nano. Un mensurando común donde se cree que se fundamenta este comportamiento es el "tamaño", por ello, la mayoría de las técnicas de

medición se enfocan en la determinación de esta propiedad[1-3].

En la tabla 1, se enlistan algunos de los fenómenos que aparecen en la escala nano y la probabilidad de su aplicación en la solución de problemas actuales, por ello, se sugieren como posibles mensurandos, al menos en el sector industrial.

Tabla 1. Posibles mensurando en la Nanometrología

Efecto de la nanoescala (mensurando)	Aplicaciones
Alta relación entre <u>volumen y área de nanoobjetos</u> , enriquecimiento de la reactividad.	Catálisis, celdas solares, baterías, sensores para gases
Bajo nivel de percolación, <u>tamaño de poro</u> .	Conductividad de materiales, sensores
Incremento de la dureza/resistencia al desgaste con decrecimiento del <u>tamaño de grano</u> .	Recubrimientos duros, películas de protección, herramientas
Estrechamiento de la banda conductividad con la disminución del tamaño de grano.	Opto-electrónicos
Alta resistividad con <u>tamaños de grano pequeño</u> .	Electrónicos, componentes pasivos, sensores
Mejor cinética de transporte atómico.	Baterías, almacenaje de hidrógeno
Bajas temperaturas de fusión y sinterización, <u>distribución de tamaño de partícula o nanoobjetos</u> .	Procesamiento de materiales a baja temperatura, quizás con nuevas propiedades
Mejoramiento del desempeño y reducción de la fatiga	Componentes electrónicos y MEMS

Por otro lado hay varias investigaciones[4-7] sobre la disponibilidad de técnicas para la caracterización de nanoobjetos. Los reportes señalan una amplia gama de instrumentación basada en principios de medición diversos. Estos instrumentos también tienen diferentes y múltiples fuentes de error, por lo que, la combinación de resultados es complicada.

En la figura 1, se observa el desarrollo de productos de consumo masivo que usan nanotecnología, principalmente nanopartículas. Por el sector en el

que se emplean se pueden distinguir que son empleadas en procesos químicos o bioquímicos.

Bien, en el link <http://www.nano-refmat.bam.de/en/>, se encuentra la base de datos de los materiales de referencia, materiales de control de calidad y materiales de referencia certificados disponibles para mediciones en la nanoescala. Se observan avances notables en dispositivos para Nanometrología dimensional, sin embargo, para mediciones de procesos químicos y bioquímicos, son escasos, ya que la mayoría son materiales de



El Comité Organizador del



Otorga la presente

CONSTANCIA

A

Raúl Herrera Basurto
por su participación con el cartel
“Retos de las mediciones en la nanoescala”

Santiago de Querétaro, Qro., a 10 de Octubre del 2012



DR. VICENTE GONZÁLEZ JUÁREZ
Coordinador
Comité Organizador



DR. HÉCTOR NAVA JAIMES
Director General
CENAM

V Workshop NyNA 2011

Toledo 21-23 de Septiembre de 2011

CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

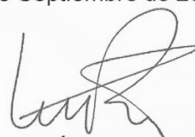
El Comité Organizador certifica que se ha presentado la siguiente comunicación tipo POSTER

MEDICIÓN DE AGLOMERADOS EN DISOLUCIONES DE NANOPARTÍCULAS

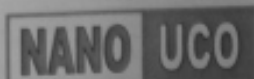
Raúl Herrera, Bartolomé Simonet y Miguel Valcárcel

en el *V Workshop de Nanociencia y Nanotecnología Analíticas* celebrado en Toledo, del 21 al 23 de Septiembre de 2011

Y para que así conste, se expide el siguiente certificado en Toledo, a 23 de Septiembre de 2011



Prof. Ángel Ríos
Presidente del Workshop



III ENCUESTRO SOBRE NANOCIENCIA Y
NANOTECNOLOGÍA DE INVESTIGADORES
ANDALUCES

El Comité Científico del III Encuentro sobre Nanociencia y Nanotecnología de Investigadores Andaluces, celebrado en Córdoba los días 10 y 11 de febrero de 2011,

HACE CONSTAR

Que D. Raúl Herrera Basurto ha participado en el citado evento presentando el siguiente poster:

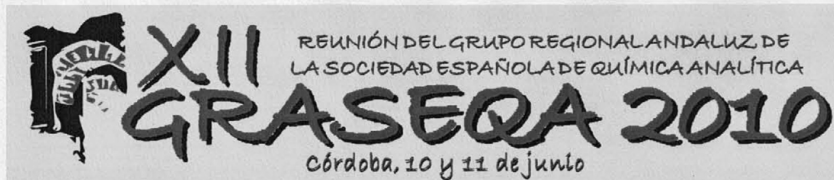
"Ventajas de los líquidos iónicos para la caracterización de nanotubos de carbono mediante microscopía de barrido con electrones"

R. Herrera, B.M. Simonet, M. Valcárcel

Córdoba, 14 de febrero de 2011.

Fdo: Luis Camacho Delgado
Presidente del Comité Científico

Fdo: Rafael Madueño Jiménez
Secretario del Comité Científico



CERTIFICADO DE PRESENTACIÓN DE CARTEL

Soledad Rubio Bravo, Catedrática del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba, y Coordinadora del Comité Organizador de XII Reunión del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica,

CERTIFICA:

que R. Herrera Basurto, B.M. Simonet y M. Valcárcel han presentado el cartel "Uso de líquidos iónicos (LI) para la preparación y caracterización de nano-partículas (NPS) por microscopía de barrido con electrones (MBE)" en el marco de la reunión anteriormente citada, celebrada en Córdoba durante los días 10 y 11 de junio de 2010.

Córdoba, 11 de junio de 2010.

Soledad Rubio Bravo
Coordinadora del Comité Organizador

IV NyNA 2010
IV WORKSHOP NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA ANALÍTICAS
Zaragoza 7 - 9 septiembre 2010

Certificado Presentación de Comunicación

El presidente del Comité Organizador del IV Workshop Nanociencia y Nanotecnología Analíticas 2010 certifica que la comunicación titulada

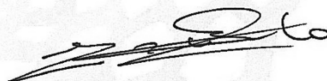
CARACTERIZACIÓN EFECTIVA DE NANOPARTÍCULAS UNA AYUDA PARA LA NANOMETROLOGÍA

RAÚL HERRERA BASURTO, BARTOLOMÉ MIGUEL SIMONET SUAU, MIGUEL VALCÁRCEL CASES

ha sido presentada como comunicación

Flash + Póster

en el IV Workshop Nanociencia y Nanotecnología Analíticas celebrado en Zaragoza del 7 a 9 de septiembre de 2010


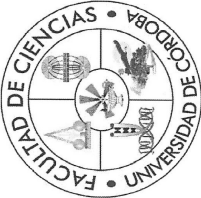


Prof. Juan R. Castillo
Presidente del Comité Organizador



C. PARTICIPACIÓN EN ACTIVIDADES DE DIVULGACIÓN

- Participación en el I Concurso de fotografía y vídeos científicos “Todo es Química” de la Facultad de Ciencias de la UCO. Noviembre 2011.
- Participación en el concurso de carteles “La química en la vida cotidiana” de la Facultad de Ciencias de la UCO. Marzo 2011.
- Participación en las VIII Jornadas Doctorales Andaluzas. Premio al mejor proyecto empresarial innovador. Almería, septiembre 2010.



Año Internacional de la
QUÍMICA
2011

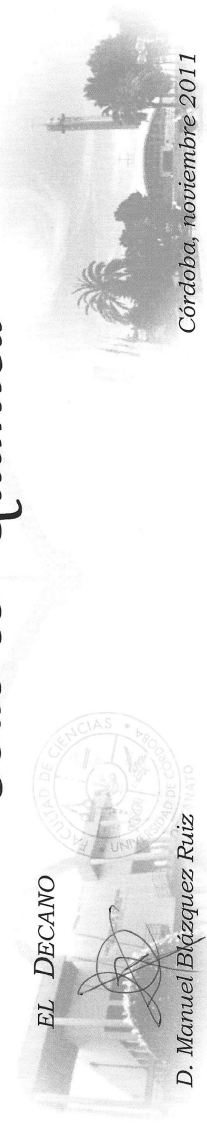
La Facultad de Ciencias

a Don Raúl Herrera

con motivo de su participación

en el "I Concurso de Fotografía y Videos Científicos:"

"Todo es Química"



EL DECANO
D. Manuel Blázquez Ruiz

Córdoba, noviembre 2011





doctorales 2010 andaluzas



Raúl Herrera Basurto
durante las VIII Jornadas Doctorales Andaluzas
celebradas en Almería del 19 al 24 de septiembre de 2010,
ha recibido el premio al mejor proyecto empresarial innovador

La Vicerrectora de Postgrado

Trinidad Angosto Trillo

Almería, 24 de septiembre de 2010

