



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

**FACULTAD DE CIENCIAS**

Grado en Química

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y FUNCIONALIZACIÓN DE  
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA LA DETECCIÓN DE PATÓGENOS.  
ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS.

SÍNTESE, CARACTERIZACIÓN E FUNCIONALIZACIÓN DE  
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA DETECCIÓN DE PATÓXENOS.  
ESTUDO DA MORFOLOXÍA DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS.

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND FUNCTIONALIZATION OF MAGNETIC  
NANOPARTICLES FOR DETECTION OF PATHOGENS. STUDY OF THE  
MAGNETIC NANOPARTICLES MORPHOLOGY.

Directores: Socorro Castro García

Carlos Jiménez González

**CELIA PENA BONHOME**

Curso 2015/2016 – Convocatoria: *Septiembre*



## **Contenido**

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | Resumen/ Resumen/Abstract .....  | 1  |
| 2     | Introducción .....   | 3  |
| 2.1   | Contexto .....   | 3  |
| 2.2   | Nanopartículas magnéticas .....  | 5  |
| 2.3   | Propiedades magnéticas de las nanopartículas .....   | 6  |
| 2.4   | Estructura de la magnetita .....   | 11 |
| 2.5   | Síntesis de las nanopartículas magnéticas .....  | 12 |
| 3     | Objetivos .....  | 16 |
| 4     | Instrumental y métodos .....   | 17 |
| 4.1   | Procedimiento experimental.....  | 17 |
| 4.1.1 | Obtención de nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> mediante síntesis solvotermal..... | 17 |
| 4.1.2 | Obtención de nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> mediante el método de Kim .....    | 17 |
| 4.2   | Caracterización .....  | 20 |
| 4.2.1 | Difracción de rayos x en polvo (DRX) .....   | 20 |
| 4.2.2 | Espectroscopía infrarroja (IR).....  | 23 |
| 4.2.3 | Microscopía electrónica de transmisión (MET).....  | 24 |
| 4.2.4 | Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS). 25                    |    |
| 4.3   | Medidas de magnetismo .....  | 26 |
| 4.4   | Bibliografía .....   | 27 |
| 5     | Discusión de resultados.....   | 28 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.1   | Difracción de rayos X en polvo (DRX) .....                                     | 28 |
| 5.2   | Espectroscopía infrarroja (IR).....  | 30 |
| 5.3   | Microscopía electrónica de transmisión (MET).....                              | 32 |
| 5.3.1 | Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> obtenida mediante síntesis solvotermal .....    | 32 |
| 5.3.2 | Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> obtenida mediante el método de Kim .....        | 33 |
| 5.4   | Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)..... | 43 |
| 5.5   | Medidas de magnetismo.....   | 46 |
| 6     | Conclusiones. Conclusións. Conclusions. ....                                   | 48 |

# **1 Resumen/ Resumo/Abstract**

## **Resumen**

En este trabajo de fin de grado se llevó a cabo la síntesis y caracterización de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) con morfología modificada. Para ello se llevaron a cabo diferentes métodos de síntesis por descomposición térmica de un precursor orgánico (acetilacetonato de hierro (III)) en disolventes no acuosos. En estas síntesis se han hecho uso de agentes surfactantes para modificar la morfología y crecimiento de las nanopartículas.

La caracterización de las muestras se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de transmisión (MET), difracción de rayos X en polvo (DRX), espectroscopía infrarroja (IR), y dispersión de luz dinámica (DLS).

## **Resumo**

Neste traballo de fin de grado levouse a cabo a síntese e caracterización de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) con morfoloxía modificada. Para iso leváronse a cabo diferentes métodos de síntese por descomposición térmica dun precursor orgánico (acetilacetonato de ferro (III)) en disolventes non acuosos. Nestas sínteses usáronse axentes surfactantes para modificar a morfoloxía e crecemento das nanopartículas.

A caracterización das mostrás levouse a cabo mediante microscopía electrónica de transmisión (MET), difracción de raios X en pó (DRX), espectroscopía infravermella (IR) e dipersión de luz dinámica (DLS).

## **Abstract**

In this TFG there was carried out the synthesis and chatacterization of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetite) nanoparticles with modified shapes. For that purpose there were carried out different synthetic methods based on thermal decomposition of an organic precursor (iron (III) acetylacetonate) in non-aqueous sovents. In these synthesis surfactants were used to modify the shape and growth of the nanoparticles.

The characterization of the samples was made using Transmission Electron Microscopy (TEM), Powder X-Ray Diffraction (XRD), Infrared Spectroscopy (IR), and Dynamic Light Scattering (DLS).

### ***Palabras clave / Palabras clave / Keywords***

Nanopartículas magnéticas. Nanocubos magnéticos. Detección de patógenos.

Nanopartículas magnéticas. Nanocubos magnéticos. Detección de patógenos.

Magnetic nanoparticles. Magnetic nanocubes. Pathogen detection.

## **2 Introducción**

### **2.1 Contexto**

La pesca extractiva y la acuicultura son consideradas industrias muy importantes a nivel mundial tanto por los beneficios para la salud que proporciona el consumo de pescado como por la riqueza que generan. La producción pesquera mundial ha aumentado de forma constante en las últimas cinco décadas y se espera que la acuicultura supere a la pesca de captura en los próximos años debido al crecimiento que ha presentado, habiéndose multiplicado por 60 la producción desde el año 1950.

A pesar de su crecimiento e importancia, es necesario seguir investigando para solucionar uno de los mayores problemas que está limitando su desarrollo a nivel mundial, el relacionado con las enfermedades causadas por agentes biológicos y no biológicos.

Entre los agentes biológicos, las enfermedades infecciosas originadas por diversas bacterias patógenas constituyen una de las causas más importantes de las cuantiosas pérdidas económicas anuales, debido a los efectos devastadores que tienen sobre las granjas afectadas.

Existen varias bacterias patógenas de peces, pero sólo algunas representan un verdadero problema a nivel mundial. Entre las enfermedades infecciosas más dañinas y que originan mayores pérdidas económicas para la acuicultura se encuentran la yersiniosis, la vibriosis, la pasteurelosis y la forunculosis.

Durante los procesos infecciosos, la virulencia e incluso la supervivencia de la mayoría de las bacterias depende de su capacidad para competir eficazmente por los nutrientes clave con el organismo infectado. El hierro es un nutriente esencial ya que participa en reacciones enzimáticas fundamentales. Sin embargo la disponibilidad del hierro es limitada, ya que a pH fisiológico el hierro se encuentra como  $\text{Fe}^{+3}$ , que es muy poco soluble y por lo tanto no se encuentra disponible para ser aprovechado por estos microorganismos.

Para superar esta extrema indisponibilidad del  $\text{Fe}^{+3}$ , las bacterias han diseñado varios mecanismos para conseguirlo del entorno, como su obtención a partir de glicoproteínas

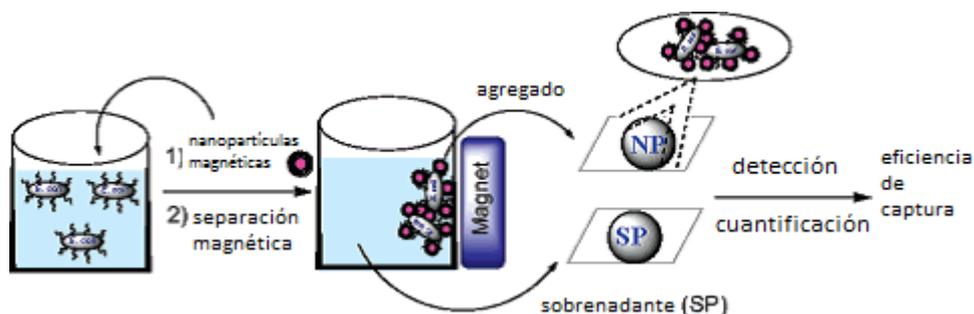
y hemoproteínas, la adquisición en forma de  $\text{Fe}^{+2}$  que es más soluble que el  $\text{Fe}^{+3}$ , o la producción de unos agentes que “secuestran” el  $\text{Fe}^{+3}$  llamados sideróforos.

Los sideróforos son unos compuestos de bajo peso molecular, biosintetizados y excretados por muchos microorganismos, que se caracterizan por ser unos agentes quelantes selectivos de iones férricos. Estas moléculas son capaces de quelatar fuertemente el  $\text{Fe}^{+3}$  de tal forma que facilitan su solubilidad e introducción en la célula. Presentan una gran variedad de estructuras químicas y actualmente forman una familia de más de 500 compuestos diferentes producidos por bacterias, hongos y plantas.

Debido a que el hierro es indispensable para que los microorganismos puedan multiplicarse dentro del organismo infectado, constituye uno de los principales factores de virulencia en los patógenos bacterianos. De este modo, el estudio de los sistemas de captación de este metal permite desarrollar vías para la detección de patógenos de forma rápida como alternativa a los cultivos de bacterias convencionales.<sup>[1]</sup>

Uno de esos sistemas de optimización de la detección de patógenos consiste en la unión de los sideróforos a partículas magnéticas, lo que permite aumentar su concentración mediante la aplicación de un campo magnético externo.

El uso de partículas magnéticas de tamaño nanométrico (nanopartículas) resulta ventajoso debido a la elevada relación superficie/volumen de estos materiales, lo que proporciona una mayor superficie de contacto para la unión nanopartícula-sideróforos. La otra razón por la que se utilizan nanopartículas es que al ser dos órdenes de magnitud más pequeñas que las bacterias permiten la unión de varias nanopartículas a una bacteria, facilitando la concentración de éstas mediante la aplicación de un campo magnético, tal como se esquematiza en la Figura 1.<sup>[2]</sup>



**Figura 1:** Esquema de la detección de patógenos mediante el uso de nanopartículas magnéticas (NP).<sup>[2]</sup>

En el grupo de investigación en el que se desarrolló este trabajo, se plantea el proceso síntesis de estos composites en diferentes etapas. El primer paso es la síntesis de las nanopartículas magnéticas, en este caso de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) que deben cumplir unos requisitos en cuanto a su tamaño, dispersión y comportamiento magnético. En segundo lugar, las nanopartículas de magnetita se recubren con una capa de  $\text{SiO}_2$ , que es un material biocompatible que se une fácilmente a la magnetita y permite su posterior funcionalización. El  $\text{SiO}_2$  se funcionaliza posteriormente con una molécula que actúa de espaciador o *linker* y que permite a su vez la unión del sideróforo al composite en una siguiente etapa. Finalmente se testa la interacción del conjunto con los patógenos deseados.

En este trabajo de fin de grado se puso en práctica sólo el primer paso de este proceso, obteniendo nanopartículas magnéticas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , pero con diferentes tamaños y morfologías, con el fin de analizar la influencia de tales variables en las etapas posteriores de la funcionalización e interacción con los patógenos.

## **2.2 Nanopartículas magnéticas**

Las nanopartículas magnéticas son materiales con un tamaño menor de 100 nm y que presentan propiedades magnéticas. Esta clasificación surge de que las propiedades que presentan los materiales de tamaño nanométrico varían de manera significativa con respecto a las que podrían presentar los mismos materiales en su forma masiva, también llamada *bulk*.<sup>[3]</sup>

Entre los materiales de los que pueden estar hechas estas nanopartículas se encuentran los metales como Fe, Co y Ni y algunos óxidos de metales de transición. Pese a que las nanopartículas metálicas presentan unas mejores propiedades magnéticas (mayor magnetización de saturación), provocan más problemas en cuanto a su toxicidad y son sensibles a la oxidación, lo que provoca una pérdida de sus propiedades magnéticas.

En cuanto a los óxidos magnéticos se utilizan fundamentalmente los óxidos de hierro, como  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) y  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  (maghemita) además de otras ferritas (óxidos mixtos de hierro y otros metales). Estos materiales pueden ser susceptibles a la

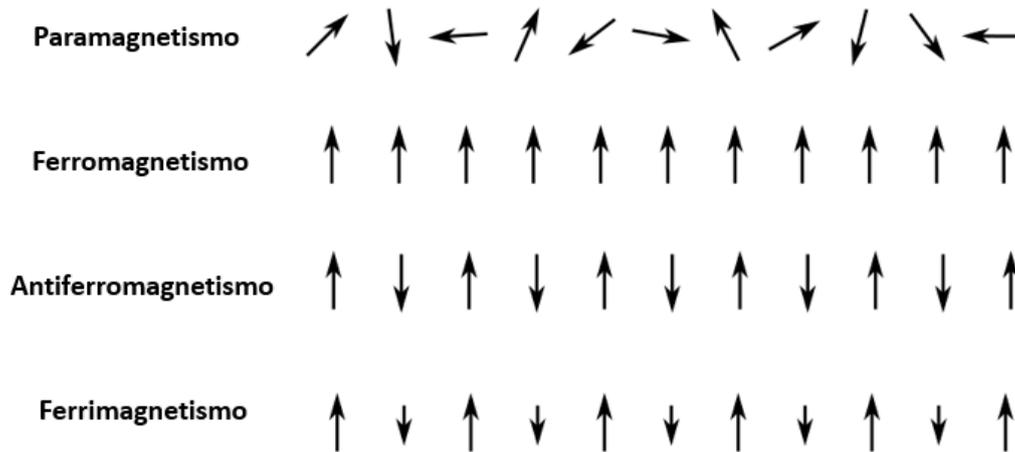
oxidación, sobre todo en el caso de que contengan  $\text{Fe}^{+2}$ , pero en cualquier caso su tendencia a oxidarse es mucho menor que la de las nanopartículas metálicas. Aun así, es conveniente realizarles un recubrimiento con especies orgánicas tales como polímeros y tensioactivos, o con materiales inorgánicos como la sílice. Estos revestimientos no sólo impiden la degradación de las nanopartículas sino que también mejoran su capacidad para formar suspensiones ya que disminuyen la tendencia de las nanopartículas a aglomerarse.<sup>[4]</sup>

### **2.3 Propiedades magnéticas de las nanopartículas**

Una consecuencia de la gran proximidad de los átomos en un sólido es que los átomos individuales pueden interactuar de manera cooperativa produciendo efectos que no tienen lugar en los fluidos. Mientras que en los fluidos se dan comportamientos de *magnetismo no cooperativo* (diamagnetismo y paramagnetismo), en los sólidos se dan comportamientos de *magnetismo cooperativo*.

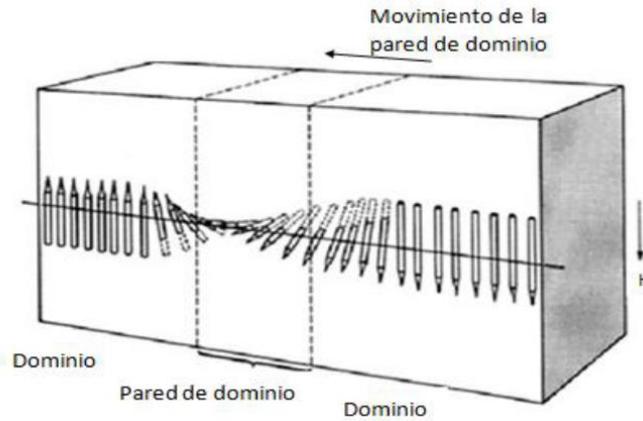
El paramagnetismo ocurre en sustancias con electrones desapareados en las que éstos están aislados efectivamente y no interactúan entre sí. Cuando un material paramagnético se coloca en un campo magnético, el flujo del campo aumenta en el interior del material y este se ve atraído por el campo. Por contraste, en las sustancias diamagnéticas todos los electrones están apareados y estas son repelidas por el campo magnético aplicado.

En el magnetismo cooperativo los momentos magnéticos de los átomos interactúan entre sí y se alinean en la misma dirección. Existen tres tipos de magnetismo cooperativo: ferromagnetismo, antiferromagnetismo y ferrimagnetismo. En la Figura 2 se esquematizan estos comportamientos, comparándolos con el paramagnetismo. En un material ferromagnético, todos los momentos magnéticos están orientados en el mismo sentido y son de la misma magnitud, por lo que al sumarse, la magnetización resultante del material es distinta de cero. En los materiales antiferromagnéticos, los momentos magnéticos de la misma magnitud están alineados en sentidos alternos, por lo que la magnetización resultante es igual a cero. En el caso de los materiales ferrimagnéticos, existen dos especies con momentos magnéticos pero éstos son de magnitudes diferentes. En este último caso, los momentos magnéticos están alineados en sentidos alternos como en un antiferromagnético, magnetización es distinta de cero.



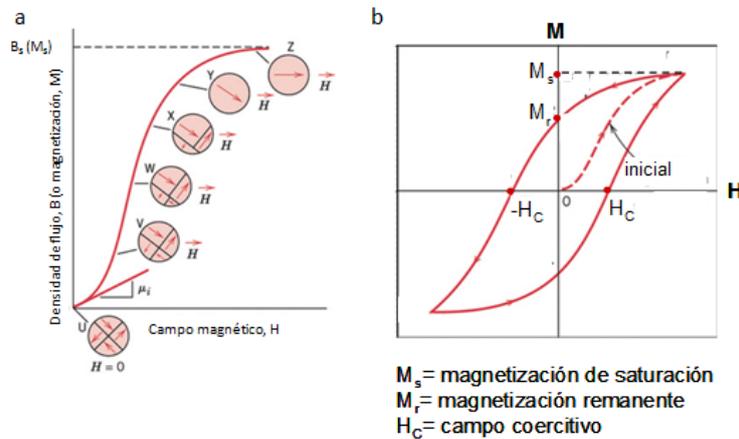
**Figura 2:** Representación de la alineación de los momentos magnéticos en materiales magnéticos con electrones no apareados, que presentan fenómenos cooperativos y paramagnetismo.

Los materiales ferromagnéticos y ferrimagnéticos se estructuran en dominios, que son zonas en las que todos los momentos magnéticos están orientados en la misma dirección. En un material al que no se le ha aplicado un campo previamente, esos dominios se encuentran orientados al azar por lo que su magnetización es igual a cero. Los dominios están separados entre sí por las llamadas paredes de dominio, que son zonas en las que los momentos magnéticos cambian de orientación. En el momento en que se le aplica un campo magnético, las paredes de dominio se desplazan de forma que crece el dominio cuya magnetización coincide en dirección y sentido con el campo aplicado (Figura 3). Esto ocurre hasta un valor de magnetización máximo llamado magnetización de saturación ( $M_S$ ). A partir del momento en que se alcanza este punto, el material queda magnetizado, y cuando se deja de aplicar el campo magnético, sigue teniendo una magnetización remanente ( $M_R$ ). Cuando al material se le aplica un campo magnético igual pero de sentido contrario, éste pierde su magnetización. El campo necesario para que un material pierda la magnetización que presenta tras haber sido sometido a un campo magnético se conoce como campo coercitivo ( $H_C$ ).



**Figura 3:** Representación del movimiento de la pared de dominio bajo la aplicación de un campo magnético externo (H).

Una curva de histéresis (Figura 4) surge de representar la relación no lineal que existe entre la magnetización de una sustancia y un campo magnético aplicado a la misma. La forma de la curva depende de las propiedades magnéticas del material. Así dependiendo a la forma de su ciclo de histéresis, los materiales pueden clasificarse en duros y blandos.



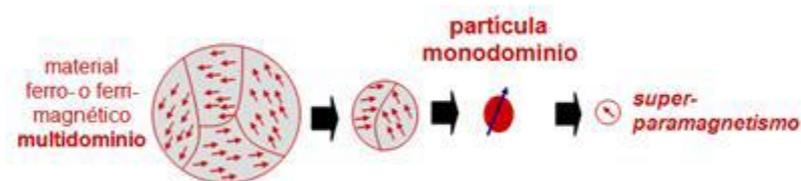
**Figura 4:** a) Representación de la rotación de los momentos magnéticos y variación de las paredes de dominio al modificar el campo magnético aplicado. b) Descripción de un ciclo de histéresis, representando la magnetización M frente a campo magnético H.

Un material es magnéticamente duro cuando es difícil de magnetizar y desmagnetizar (alto  $H_C$ ) y tiene una curva de histéresis grande. Los materiales duros son aquellos en los que es difícil mover las paredes de dominio, lo que ocurre cuando hay muchos

defectos y muchos límites de grano. Algunos de estos materiales son la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), las ferritas hexagonales, las aleaciones de Fe y los compuestos de lantánido-metal de transición.

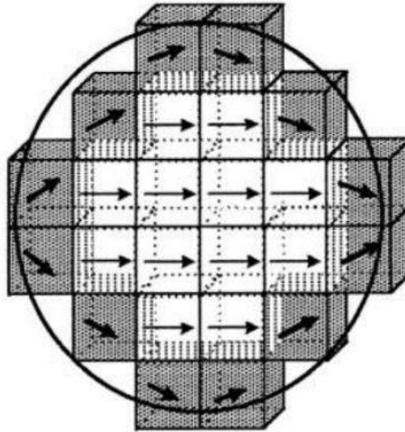
Un material es magnéticamente blando cuando es fácil de magnetizar y desmagnetizar ( $H_C$  bajo), tiene pocos defectos y pocas fronteras de grano, por lo que es más fácil el movimiento de las paredes de dominio.

Otro factor que influye en la facilidad de un material para magnetizarse y desmagnetizarse es el tamaño de partícula. A medida que el tamaño de partícula se reduce, también se reduce la facilidad de las paredes de dominio para desplazarse debido a las interacciones entre las mismas. Este comportamiento se observa hasta cierto punto en donde el tamaño de la partícula desciende hasta ser comparable con el de los dominios. En estas condiciones la partícula, de tamaño nanométrico, presenta un solo dominio, lo que facilita su magnetización y desmagnetización. El tamaño de monodominio depende del material pero es del orden de nanómetros. Si el tamaño de partícula decrece todavía más, también lo hace el número de átomos con momento magnético hasta el punto en el que la fuerza que los mantenía alineados es inferior a la energía térmica y éstos se encuentran orientados de forma aleatoria en ausencia de un campo magnético. Este fenómeno se conoce con el nombre de superparamagnetismo y se caracteriza por la ausencia de  $H_C$  (Figura 5).



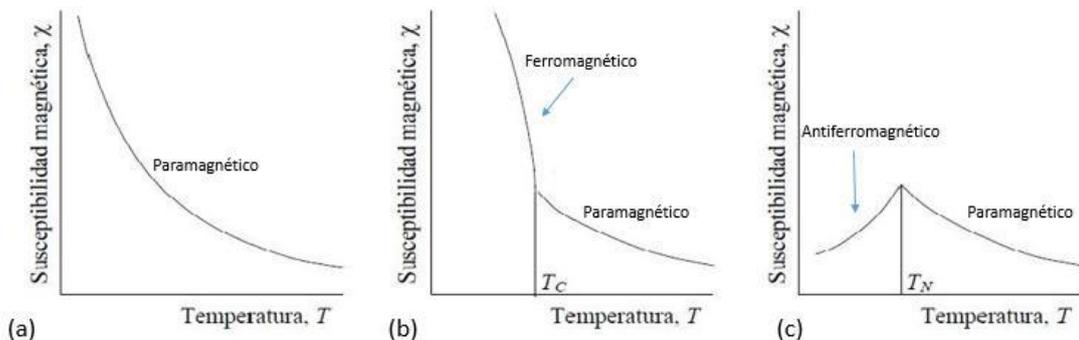
**Figura 5:** Evolución de la estructura multidominio hasta la situación de monodominio de un material magnético con el tamaño de partícula de éste.

Otro motivo por el que el magnetismo de un material depende del tamaño de partícula es porque a medida que éste último desciende, disminuye su cristalinidad. Esto ocurre principalmente porque aumenta la relación superficie/volumen del material y el ordenamiento de los espines es diferente en la superficie y en el interior de las partículas, dando lugar a una magnetización menor de la que cabría esperar (Figura 6).



**Figura 6:** Representación del efecto de superficie producido por del desorden en la orientación de los momentos magnéticos en la superficie de una partícula magnética.

La temperatura también es un factor condicionante del magnetismo. Una sustancia paramagnética, a medida que se hace descender su temperatura, experimenta un reordenamiento de sus momentos magnéticos. La temperatura a la que tiene lugar este fenómeno se conoce como temperatura de Curie o temperatura de Neel en el caso de que por debajo de ella los materiales se comporten como ferromagnéticos o antiferromagnéticos respectivamente. A esas temperaturas la energía térmica se iguala a las interacciones internas en el material. Por debajo de una temperatura crítica,  $T_B$ , conocida como temperatura de bloqueo, las partículas superparamagnéticas pueden alinear sus espines a favor de un campo magnético, comportándose de una forma similar a un material paramagnético pero con un momento magnético mucho mayor.

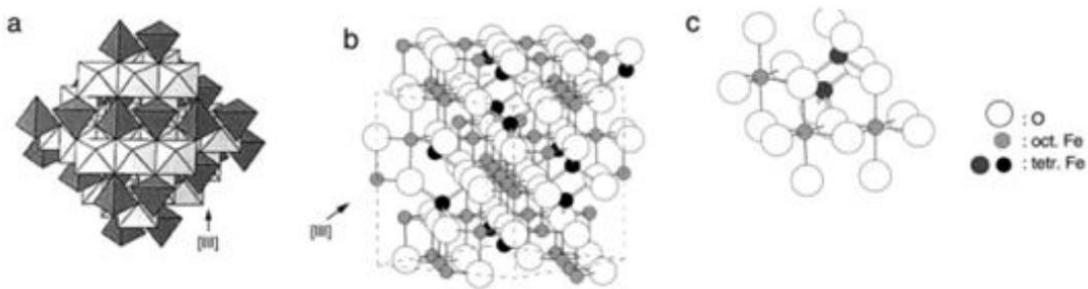


**Figura 7:** Representación de la variación del comportamiento magnético en función de la temperatura en materiales (a) paramagnéticos, (b) ferromagnéticos y (c) antiferromagnéticos.

Otro aspecto importante que afecta a las propiedades es la morfología de las nanopartículas. Esto es debido a un fenómeno conocido como anisotropía magnética y se deriva de la presencia de ejes cristalográficos en los que la magnetización resulta más fácil. En el caso de la magnetita tiene lugar en el plano [111], que coincide con la diagonal de la celda unidad.

## 2.4 Estructura de la magnetita

La magnetita es un óxido mixto de  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$  con estructura de espinela inversa (Figura 8). La celda unidad es cúbica centrada en las caras, basada en 32 iones  $\text{O}^{-2}$  con un empaquetamiento cúbico compacto a lo largo del plano [111]. El valor del parámetro de red  $a$  ( $a=b=c$ ,  $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ ) que describe el tamaño de la celda unidad es 8,39 Å.



**Figura 8:** Estructura de la magnetita. (a) Modelo poliédrico que representa las capas octaédricas y tetraédricas. (b) Modelo de bolas, señalada la celda unidad. (c) Detalle de la disposición octaédrica y tetraédrica mediante el modelo de bolas.

En cada celda unidad hay el mismo número de huecos octaédricos como de iones de oxígeno, es decir, 32 y dos veces la cantidad de huecos tetraédricos, es decir, 64. Los huecos tetraédricos de la estructura están ocupados por cationes  $\text{Fe}^{+3}$  y los octaédricos lo están un 50% por  $\text{Fe}^{+2}$  y el otro por  $\text{Fe}^{+3}$ , por lo que su fórmula se puede expresar como  $\text{Fe}^{+3}_8[\text{Fe}^{+2}, \text{Fe}^{+3}]_{16}\text{O}_{32}$ . Esto significa que hay 8 huecos tetraédricos ocupados y 16 huecos octaédricos ocupados en una celda unidad. Los iones en posiciones octaédricas interactúan a través de los oxígenos con los iones en posición tetraédrica, alineando sus momentos magnéticos de forma antiparalela a éstos y generando un comportamiento ferrimagnético (Figura 9).<sup>[5]</sup>

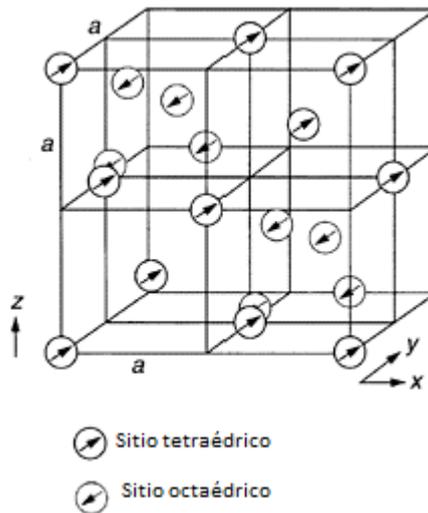


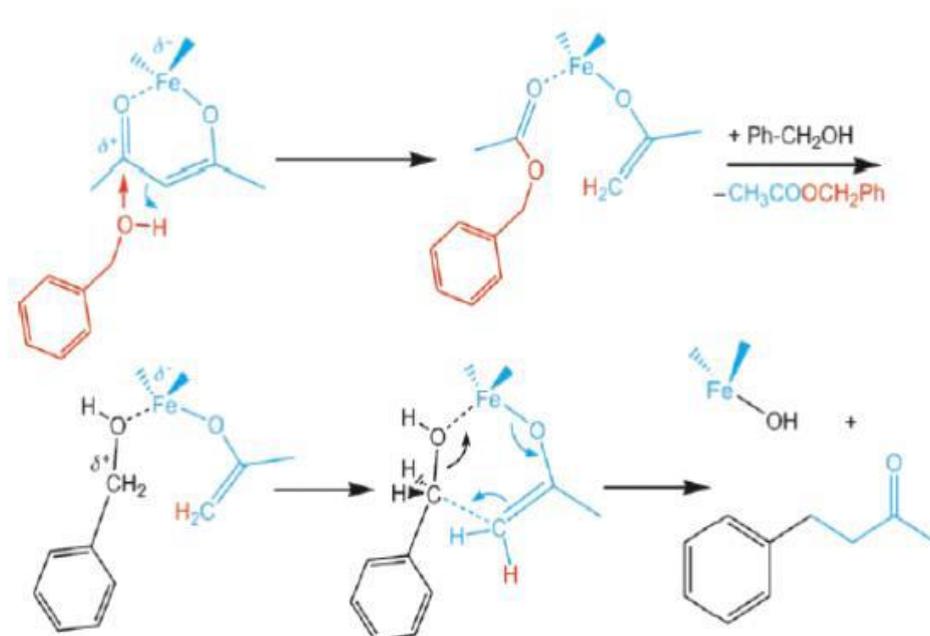
Figura 9: Estructura magnética en espinelas inversas.<sup>[1]</sup>

## 2.5 Síntesis de las nanopartículas magnéticas

En este TFG se ha llevado a cabo la síntesis de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  en un disolvente orgánico en presencia de un agente surfactante, pero mediante dos métodos ligeramente diferentes: i) una síntesis solvotermal en recipiente herméticamente cerrado, calentando a unos  $180\text{ }^\circ\text{C}$ , y ii) una síntesis a presión ambiental, calentando a unos  $265\text{-}285\text{ }^\circ\text{C}$ .

El primero de los métodos de síntesis llevado a cabo es una modificación del método propuesto por Li et al.<sup>[6]</sup> En este método se partió de acetilacetonato de hierro (III),  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ , y ácido oleico en alcohol bencílico, haciendo éste último de disolvente y agente reductor. Se trata de una síntesis solvotermal, ya que se lleva a cabo en un recipiente herméticamente cerrado, de manera que al aumentar la temperatura se alcanza una cierta presión, que favorece la reacción y la formación de los nanocristales. La temperatura máxima alcanzada es de  $180\text{ }^\circ\text{C}$  y el tiempo de calentamiento es relativamente largo (6 días).

El mecanismo de formación de óxidos como la magnetita aún no está demostrado, aunque se han formulado diversas hipótesis que justifican de manera razonable los resultados obtenidos. En la Figura 10 se muestra el mecanismo propuesto por Niederberger.<sup>[7]</sup>



**Figura 10:** Mecanismo propuesto por Niederberger para la obtención de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a partir de alcohol bencílico y  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ <sup>[7]</sup>

La reacción comienza con el ataque nucleófilo del alcohol bencílico a uno de los grupos carbonilo de acetilacetato, lo que se conoce como reacción de solvólisis. Esta reacción da como producto el enolato, liberándose a la vez el acetato bencílico. En el siguiente paso, el alcohol se coordina con el átomo de Fe, liberando acetato bencílico en una reacción de intercambio de ligandos. Por último, el enolato ataca el alcóxido coordinado con el Fe, liberando 4- fenil-2-butanona.

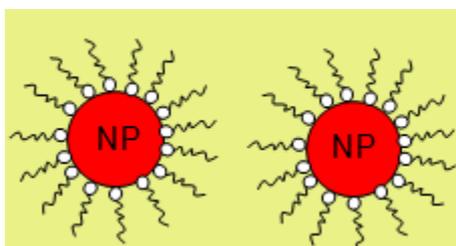
El alcohol bencílico reduce un tercio del hierro(III) a hierro(II), lo que queda demostrado al obtenerse pequeñas cantidades de 4-fenil-3-buten-2-ona, que es un producto de oxidación de 4-fenil-2-butanona.

La segunda metodología sintética llevada a cabo fue siguiendo el método desarrollado por Kim et al.<sup>[8]</sup> en la que se parte de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  y ácido oleico en éter bencílico, actuando éste último como disolvente y agente reductor. La reacción se lleva a cabo en atmósfera inerte, sin sobrepresión, y calentando durante tiempos mucho más cortos (menos de una hora) a una temperatura relativamente elevada (hasta 285 °C).<sup>[9]</sup>

No se han encontrado referencias bibliográficas que postulen un mecanismo de esta reacción pero se sabe que la formación de las nanopartículas de magnetita con

diferentes características morfológicas depende mucho de las condiciones de los procesos de nucleación y de crecimiento de las mismas.

En ambas síntesis, el ácido oleico se emplea como agente surfactante (tensioactivo o agente de *capping*). Los agentes de *capping* son moléculas que se componen de cadenas apolares con una cabeza polar que se adhiere a la superficie de las nanopartículas cuando éstas se encuentran en medio apolar. Las cadenas apolares se repelen entre ellas, evitando la aglomeración de las nanopartículas y estabilizándolas en el medio. De este modo se favorece el crecimiento de las nanopartículas en determinadas direcciones cristalográficas (Figura 11).



**Figura 11:** Actuación de los tensioactivos en presencia de nanopartículas magnéticas (NP) en medio apolar. La cabeza polar del tensioactivo, representada en blanco, está adherida a la nanopartícula con las colas apolares hacia el exterior y manteniendo las NP alejadas mediante repulsión estérica.

## Bibliografía

- [1] Y. Segade Parrado, Tesis Doctoral, “*Síntesis de sideróforos y análogos de dos bacterias patógenas en peces. Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos*”, Universidade da Coruña (2015)
- [2] K. El-Boubbou, C. Gruden, X. Huang, “*Magnetic Glyco-nanoparticles: A Unique Tool for Rapid Pathogen Detection, Decontamination, and Strain Differentiation*”, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 13392-13393
- [3] <https://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossaryn.html> (27/7/2016)
- [4] García Jimeno, S. “*Nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas*”. Tesis doctoral, Universidad de Barcelona (2012).
- [5] Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2ª Edición; Wiley-Vch: Weinheim, 2003; pp 32-33.
- [6] L. Li, Y. Yang, J. Ding, J. Xue, *Chem. Mater.*, **2010**, *22*, 3183-3191.
- [7] M. Niederberger, G. Garnweitner, *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 7282-7302.
- [8] D. Kim, N. Lee, M. Park, B. H. Kim, K. An and T. Hyeon, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 454–455.
- [9] A. Pardo, R. Pujales, M. Blanco, *Dalton Trans*, **2016**, *45*, 797-810.

### **3 Objetivos**

Los objetivos de este trabajo de fin de grado se centran en la preparación y caracterización de nanopartículas magnéticas que puedan ser empleadas para la detección y eliminación de patógenos. Con este propósito se han abordado los siguientes aspectos:

- ❖ Búsqueda bibliográfica sobre nanopartículas magnéticas y funcionalización de las mismas.
- ❖ Síntesis de nanopartículas magnéticas con diferentes morfologías.
- ❖ Caracterización estructural y morfológica de los materiales preparados mediante microscopía electrónica, difracción de rayos X, espectroscopía IR y dispersión dinámica de luz láser. Estudio de su comportamiento magnético.
- ❖ Interpretación de los resultados obtenidos.

## **4 Instrumental y métodos**

### **4.1 Procedimiento experimental**

#### **4.1.1 Obtención de nanopartículas de $Fe_3O_4$ mediante síntesis solvotermal**

En 4 viales de vidrio de 20 mL se prepararon suspensiones de  $Fe(acac)_3$  (Aldrich, 97%) en 8,5 mL de alcohol bencílico (Panreac, 98%) y 1,5 mL de ácido oleico (Panreac). Las cantidades de  $Fe(acac)_3$  añadidas a cada vial están reflejadas en la Tabla 1.

**Tabla 1:** Cantidades de  $Fe(acac)_3$  adicionadas en cada vial para la síntesis solvotermal

| Nº vial           | 1     | 2     | 3     | 4     |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| g de $Fe(acac)_3$ | 0,741 | 0,713 | 0,706 | 0,717 |

Los viales se taparon con tapones de teflón y se calentaron a 180 °C en un bloque térmico durante 6 días. Transcurrido ese tiempo, se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente y su contenido se trasvasó a cuatro tubos de centrifuga. El sobrenadante se retiró con ayuda de un imán en el fondo del tubo tras haber sido centrifugados en dos ciclos de 15 minutos a 5000 rpm.

Las nanopartículas se lavaron con 9 mL de etanol y se sonicaron durante 10 minutos (40kHz, 25 °C). A continuación, se centrifugaron los tubos a 5000 rpm dos veces durante 15 minutos y otras dos durante 30 minutos. Este proceso se repitió 10 veces, obteniendo un sólido negro que se secó en un desecador.

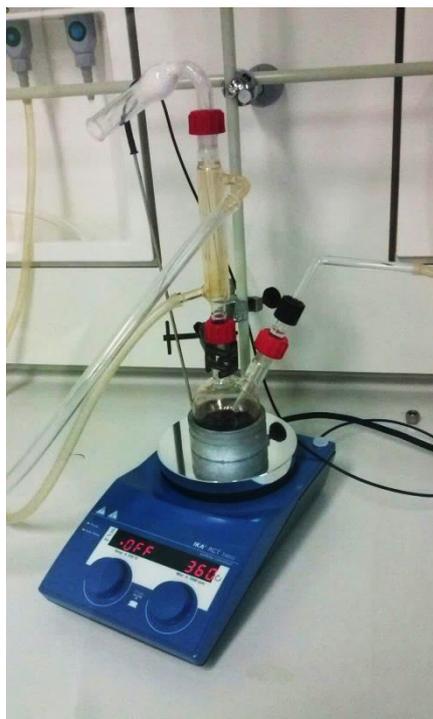
#### **4.1.2 Obtención de nanopartículas de $Fe_3O_4$ mediante el método de Kim**

Se pesaron las cantidades de  $Fe(acac)_3$  (Aldrich, 97%) indicadas en la Tabla 2 y se añadieron a un matraz de fondo redondo de dos bocas de 100 mL. A ese mismo matraz se añadieron 10 mL de éter bencílico (Aldrich, 98%) y 1,57 mL de ácido oleico (Panreac) además de una barra agitadora. Se realizó el montaje de la Figura 12 y se

purgó durante 15 minutos con nitrógeno. A continuación, se calentó la mezcla de reacción hasta llegar a una temperatura de entre 260 y 290 °C y se mantuvo a esa temperatura durante 30 minutos. Se repitió esta síntesis varias veces, con el fin de optimizar las condiciones. La rampa de calentamiento y la temperatura final alcanzada en cada una de las síntesis se indica en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Cantidades de reactivos y condiciones de reacción en cada una de las síntesis siguiendo el método desarrollado por Kim

| muestra                             | CPBS201 | CPBS202 | CPBS203 | CPBS204 | CPBS205 | CPBS206 |
|-------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Fe(acac) <sub>3</sub><br>(g)        | 0,709   | 0,705   | 0,709   | 0,705   | 0,695   | 0,713   |
| rampa<br>(°C/min)                   | 4,28    | 4,48    | 4,94    | 4,63    | 4,2     | 4,3     |
| T final (°C)                        | 265     | 276     | 269     | 266     | 274     | 285     |
| Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (mg) | 48      | 40      | 10      | 10      | 10      | 66      |



**Figura 12:** Montaje de la síntesis.

Finalizado el tiempo de reacción, se dejó enfriar el montaje hasta temperatura ambiente y se añadieron al matraz de reacción 50 mL de una mezcla de hexano/tolueno en proporción 1:4. El contenido del matraz de reacción se trasvasó a un tubo de centrífuga y se separó el precipitado del sobrenadante por decantación asistida mediante un imán.

Las nanopartículas se lavaron con 3 mL de isopropanol, sonicando durante 10 minutos y decantándolas del sobrenadante con ayuda de un imán. Este proceso se repitió entre 3 y 8 veces obteniendo un sólido de color negro.

#### **4.1.2.1 Escalado**

Se repitió la síntesis anterior en otras tres ocasiones pero a mayor escala con el objetivo de obtener una mayor cantidad de producto para utilizar en las etapas posteriores. Las cantidades de los reactivos utilizados se indican en la Tabla 3. Las condiciones de calentamiento y la temperatura final fueron de 3,5 °C/min y 250 °C.

**Tabla 3:** Cantidades de reactivos utilizados en los escalados

| Muestra                    | CPBS301 | CPBS302 | CPBS303 |
|----------------------------|---------|---------|---------|
| g de Fe(acac) <sub>3</sub> | 7,293   | 3,514   | 3,528   |
| mL de éter<br>bencílico    | 105     | 50      | 50      |
| mL de ácido oleico         | 16      | 7,5     | 7       |

Durante estas síntesis se repitió el mismo proceso descrito en el apartado 1.2 hasta la etapa de lavado pues no se observó ningún precipitado con propiedades magnéticas tras la decantación. Además, en la síntesis CPBS302 se realizó un segundo calentamiento de la mezcla de reacción a 230 °C tras no alcanzarse la temperatura deseada la primera vez.

Sorprendentemente ha sido imposible encontrar una relación clara entre las pequeñas variaciones en las condiciones de síntesis y las cantidades de producto obtenido, tanto en las primeras síntesis como en los intentos de escalado. Posiblemente una pequeñísima variación en las rampas de calentamiento o en la agitación del sistema hagan variar de manera crítica las etapas de nucleación y/o crecimiento de las nanopartículas.

## **4.2 Caracterización**

### **4.2.1 Difracción de rayos X en polvo (DRX)**

La difracción de rayos X de polvo cristalino es una técnica no destructiva que ofrece información cualitativa acerca de las fases que componen la muestra, permite identificar impurezas y mezclas de fases cristalinas además de ofrecer información sobre el grado de cristalinidad de la muestra. Además de la información cualitativa también puede proporcionar información cualitativa y semicuantitativa en cuanto a los parámetros de celda del cristal, el tipo de red de Bravais, las posiciones atómicas e incluso permite hacer una estimación del tamaño de grano.

Esta técnica se basa en la difracción de un haz de rayos X al impactar con los átomos de una red cristalina. Esta difracción ocurre debido a que las distancias interatómicas y

la longitud de onda de los rayos X son del mismo orden de magnitud ( $\sim 2-3 \text{ \AA}$ ). Para establecer la relación entre las distancias interplanares y la difracción de los rayos X, podemos estudiar el fenómeno de la reflexión esquematizado en la Figura 13.

Para que una familia de planos produzca una interferencia constructiva es necesario que las ondas que difracta/refleja estén en fase. Esto sólo tiene lugar si la distancia entre W y X y entre X e Y es igual a un número entero de veces la longitud de onda de la radiación de rayos X incidente.

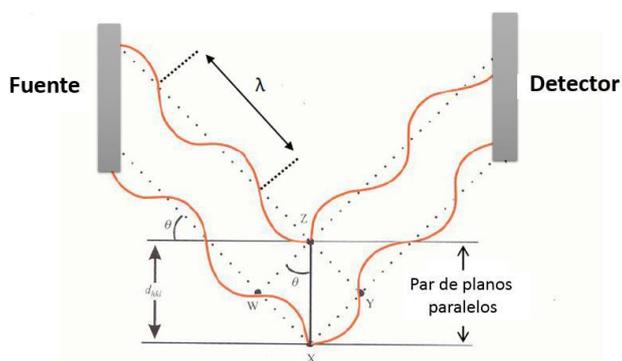


Figura 13: Dispersión de rayos X en un conjunto de planos paralelos.<sup>[1]</sup>

La ley de Bragg relaciona el ángulo de incidencia con el espaciado interplanar para cada familia de planos cristalográficos:

$$2 d_{hkl} \text{sen}\theta = n \lambda$$

dónde  $\theta$  es el ángulo de incidencia,  $d_{hkl}$  es la distancia interplanar,  $\lambda$  es la longitud de onda empleada y  $n$  un número entero.

Cuando la ley de Bragg se cumple, las ondas reflejadas están en fase y producen una interferencia constructiva, dando lugar a una señal. Las interferencias constructivas entre las ondas difractadas originan señales a ángulos  $2\theta$ , siendo  $\theta$  el ángulo de incidencia del haz de radiación.<sup>[2]</sup>

El conjunto de señales de este tipo, representadas frente al ángulo  $2\theta$ , se conoce como difractograma. Cada sólido cristalino proporciona un difractograma propio que permite su identificación. Además, sus máximos se pueden relacionar con diferentes y familias de planos mediante la ley de Bragg, proporcionando de esta forma información estructural sobre las posiciones de los átomos y los parámetros de red.

A partir del difractograma de una muestra también se puede obtener información sobre el tamaño de sus partículas. A medida que el tamaño del cristal decrece, aumenta el ancho de los picos debido a que no existe el suficiente número de planos como para dar una interferencia destructiva. La ecuación de Debye-Scherrer permite calcular el tamaño de un cristal a partir del ancho de los picos de su difractograma:

$$t = \frac{0,9 \lambda}{\left(\sqrt{B_M^2 - B_S^2}\right) \cos \theta}$$

Dónde  $t$  es el tamaño de partícula (Å),  $B_M$  y  $B_S$  representan la anchura de los picos a media altura, en radianes, de la muestra y del patrón estándar, respectivamente, y  $\lambda$  (Å) es la longitud de onda de la radiación X empleada.<sup>[3]</sup>

En este trabajo no se realizó el cálculo del tamaño de partícula mediante el uso de esta ecuación al no disponer de patrón estándar pero se evaluó cualitativamente el tamaño de partícula a partir de la anchura de los picos.

El equipo utilizado para realizar la difracción de rayos X de polvo cristalino es un difractómetro Siemens D5000 (Figura 6) con radiación de Cu ( $K\alpha$ )= 1,541874 Å, de geometría de Bragg-Brentano y goniómetro de dos círculos theta/2theta y diámetro de 500 mm. Consta de un monocromador secundario de grafito y un detector centelleo. Este equipo se encuentra disponible en la Unidad de Análisis Estructural (UAE) de los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña.<sup>[4]</sup>



Figura 14: Difractómetro D5000 Siemens.<sup>[4]</sup>

#### **4.2.2 Espectroscopía infrarroja (IR)**

La espectroscopía infrarroja es una técnica analítica que permite la identificación de grupos funcionales a partir de las bandas originadas por las vibraciones de los diferentes enlaces de un compuesto.

Esta técnica permite comprobar la presencia de compuestos orgánicos en los productos caracterizados, ya que las bandas de tensión propias de los grupos funcionales de las moléculas orgánicas se encuentran en una zona característica del espectro. De esta forma, se puede determinar si los lavados que se han realizado a las muestras después de su síntesis han sido o no eficientes.

Se ha empleado el equipo Thermo Scientific Nicolet iS10 con módulo FT-IR Thermo Scientific™ Nicolet iZ™10 externo, disponiendo de un intervalo espectral de 400 a 7500  $\text{cm}^{-1}$ . El software empleado para visualizar y tratar los espectros obtenidos es Thermo Scientific™ OMNIC™ Specta, instalado en el equipo por la casa comercial. El equipo se encuentra disponible en la Sala de Espectroscopia 2 del Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA) de la UDC.

Las condiciones en las que obtuvieron los espectros fueron: 32 barridos, resolución 4 (espaciado de 0.482  $\text{cm}^{-1}$ ) en un rango de 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 15:** Espectrofotómetro Thermo Scientific Nicolet iS10 con módulo FT-IR Thermo Scientific™ Nicolet iZ™10 externo

### ***4.2.3 Microscopía electrónica de transmisión (MET)***

El microscopio electrónico de transmisión emplea la transmisión/dispersión de los electrones acelerados para formar imágenes de la muestra sobre la que inciden. Nos dará información morfológica de nuestras muestras (tamaños, formas y tendencia a la aglomeración).

Se utilizó el equipo emplazado en la Unidad de Microscopia (UM) de los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña, modelo JEOL JEM 1010.

Las muestras, dispersadas en isopropanol con ayuda de agitación por ultrasonidos, se depositaron sobre rejillas de cobre recubiertas con una fina capa de carbono.



**Figura 16:** Microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 1010.

#### ***4.2.4 Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)***

El análisis por dispersión de luz dinámica se basa en la utilización de un láser que incide en suspensión de partículas y se dispersa. La luz dispersada llega a un detector con un ángulo de dispersión. Los instrumentos de DLS más simples sólo pueden medir a un ángulo determinado, lo que permite calcular el tamaño medio de las partículas en suspensión en un rango de tamaños limitado. Sin embargo los equipos de DLS multi-ángulo pueden determinar distribuciones de tamaños de partícula.<sup>[5]</sup>

Se ha empleado el equipo 90Plus/BI-MAS, Multi Angle Particle Sizing Option (Figura 28), de la casa comercial BROOKHAVEN INSTRUMENTS CORPORATION, ubicado en el laboratorio QUIMOLMAT 1 en el Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA) de la Universidade da Coruña.



Figura 17: Analizador de tamaño de partícula 90Plus/BI-MAS.

### ***4.3 Medidas de magnetismo***

Las propiedades magnéticas fueron medidas en el magnetómetro de muestra vibrante, VSM, modelo DMS-1660, perteneciente al grupo NANOMAG de la Universidad de Santiago de Compostela, con la ayuda de la Dra. Susana Yáñez Vilar. Este equipo permite medir la magnetización en función del campo aplicado,  $M(H)$ , a distintas temperaturas.

Para la realización de estas medidas se aplicó un campo magnético cuyo valor se hizo variar según la secuencia:

$$10 \text{ kOe} \rightarrow 0 \text{ Oe} \rightarrow -10 \text{ kOe} \rightarrow 0 \text{ Oe} \rightarrow 10 \text{ kOe}$$

Los datos se registraron en intervalos de 100 Oe, entre 0 y 1000 Oe, mientras que entre 1000 y 10000 Oe se recogieron en intervalos de 500 Oe.



Figura 18: Magnetómetro de muestra vibrante modelo DMS-1660.<sup>[6]</sup>

#### 4.4 Bibliografía

[1] Dann S.E. *Reactions and Characterization of Solids*, Royal Society of Chemistry: Bristol, 2000 ; pp 48-77.

[2] A.R. West , “*Solid State Chemistry and its applications*”, John Wiley and Sons, 2014; pp 232-240

[3] L. E. Smart, E. A. Moore, “*Solid State Chemistry: An Introduction*”, Taylor & Francis, 2012; p 105.

[4] <https://www.sai.udc.es/es/unidades/UAE> (21/7/2016)

[5] [http://www.lsinstruments.ch/technology/dynamic\\_light\\_scattering\\_dls/](http://www.lsinstruments.ch/technology/dynamic_light_scattering_dls/)  
(21/7/2016)

[6] <http://www.usc.es/fagms/> (21/7/2016)

## **5 *Discusión de resultados***

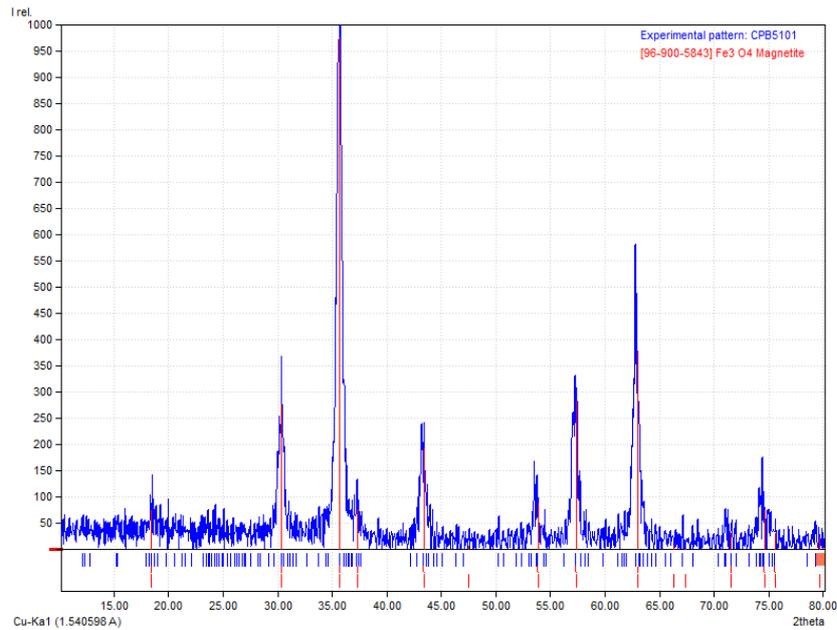
Se preparó la muestra CPBS101 por descomposición térmica de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  en presencia de ácido oleico usando alcohol bencílico como disolvente. La reacción se llevó a cabo en recipiente cerrado calentando a  $180\text{ }^\circ\text{C}$  durante 6 días.

Se prepararon las muestras CPBS201, CPBS202, CPBS203, CPBS204, CPBS205 y CPBS206 mediante el método de Kim, por descomposición térmica de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  en presencia de ácido oleico usando éter bencílico como disolvente. La reacción se llevó a cabo en recipiente abierto, calentando a unos  $265\text{-}285\text{ }^\circ\text{C}$  durante 30 minutos

En esta sección se discute la caracterización de esas muestras mediante las siguientes técnicas.

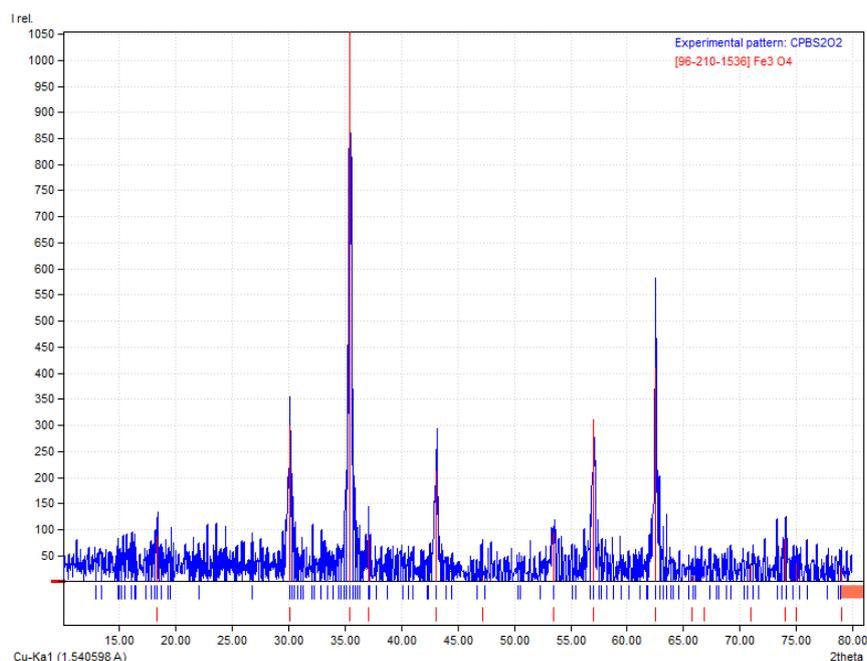
### **5.1 *Difracción de rayos X en polvo (DRX)***

Los máximos del difractograma experimental de la muestra CPBS101 (Figura 19) coinciden con los del patrón de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  de la base de datos, por lo que se puede afirmar que el compuesto de la muestra es magnetita. Además se observa que los picos del difractograma son de una anchura considerable lo que indica que se trata de una muestra con un tamaño de grano nanométrico.



**Figura 19:** Difractograma de la muestra CPBS101 comparado con el patrón de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  la base de datos de Match!

Se obtuvo también el difractograma de la muestra CPBS202 (Figura 20). Se ha elegido el difractograma de esta muestra por ser representativo de todas las muestras obtenidas mediante este segundo método de síntesis. En él se observa que los picos coinciden con el patrón de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  de la base de datos, por lo que se puede decir que el compuesto de la muestra es magnetita. Además en este difractograma los picos son ligeramente más estrechos que en el difractograma de la Figura 34, lo que confirma que el tamaño de las nanopartículas es mayor en estas muestras que en la muestra CPBS101, tal y como era de esperar a la vista de las micrografías de MET.



**Figura 20:** Difractograma de la muestra CPBS101 comparado con el patrón de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  la base de datos de

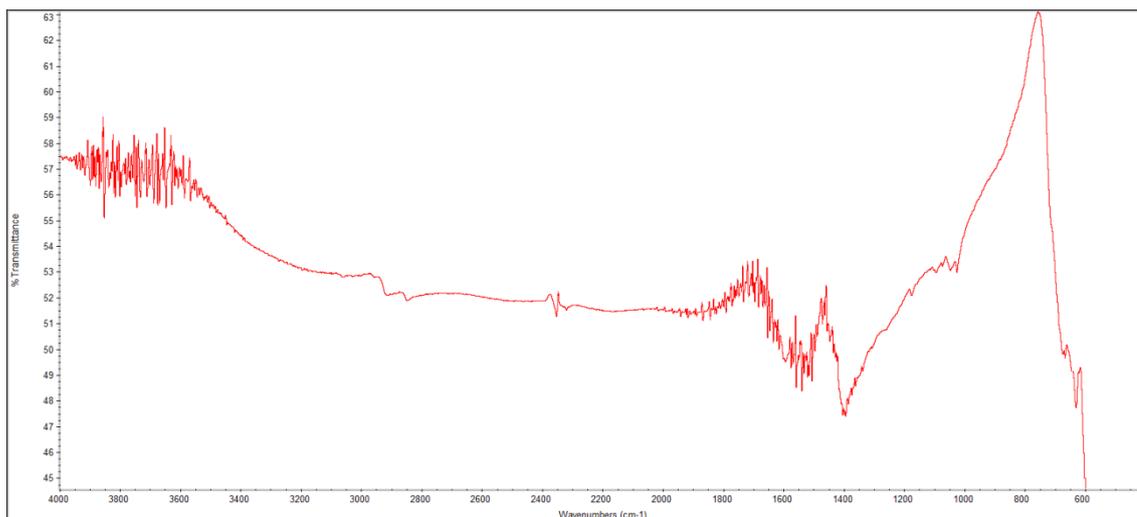
Match!

## 5.2 Espectroscopía infrarroja (IR)

Se realizaron espectros de IR de las muestras obtenidas por los diferentes métodos de síntesis para comprobar si quedaron restos de reactivos o productos adsorbidos a éstas a pesar de los procesos de lavado.

En la Figura 21 se representa el espectro de la muestra CPBS101. En él se observan bandas propias de las vibraciones de tensión C=C y C=O (entre  $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ ), y de tensión O-H propias de alcoholes (banda ancha a  $3300\text{ cm}^{-1}$ ). Estas bandas se atribuyen a la presencia de los restos orgánicos y productos secundarios de la reacción, además de al etanol utilizado en los lavados.

Además en este espectro se observa el comienzo de una banda a  $800\text{ cm}^{-1}$  que se puede deber a las vibraciones de los enlaces Fe-O de la magnetita aunque al encontrarse cerca del límite de detección del aparato ( $650\text{ cm}^{-1}$ ) también puede deberse al propio cristal de ATR del aparato.

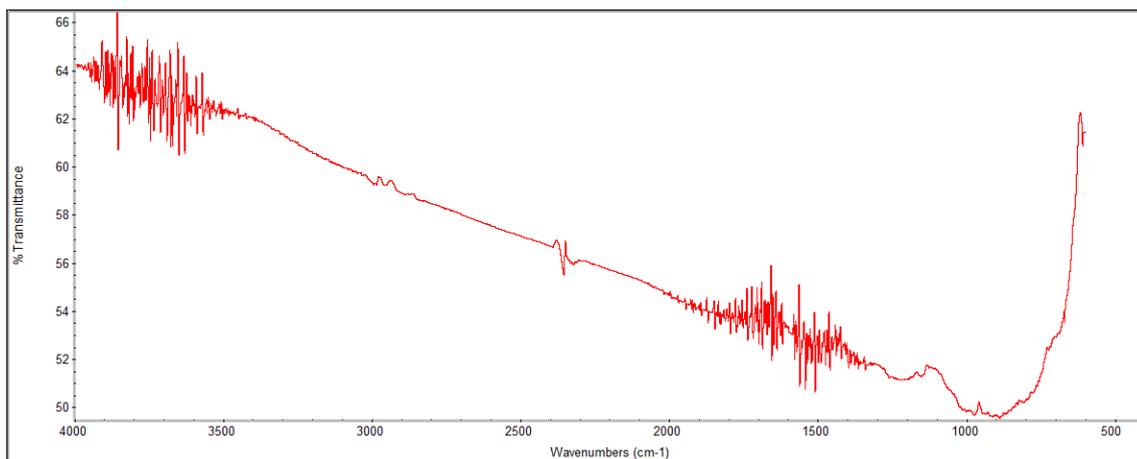


**Figura 21:** Espectro de IR de la muestra CPBS101

Para evaluar el segundo método de síntesis se realizó el espectro IR de varias muestras y se comprobó que a grandes rasgos eran iguales por lo que sólo se discutirá uno de ellos.

En el espectro de IR de la muestra CPBS206, representado en la Figura 22, se observa un descenso en la transmitancia desde 3400 a 700  $\text{cm}^{-1}$ , con un mínimo a 900  $\text{cm}^{-1}$ . Esa banda se puede atribuir a una mezcla de compuestos orgánicos adsorbidos a la superficie de las nanopartículas aunque con los datos de que se dispone no se puede afirmar con seguridad. Para confirmar la presencia de materia orgánica sería necesario realizar un análisis termo-gravimétrico o también análisis elemental.

A diferencia del espectro de CPBS101, en éste se observa un aumento de la transmitancia a 600  $\text{cm}^{-1}$  pero como ya se ha señalado antes, el límite del aparato está a 650  $\text{cm}^{-1}$ , por lo que las señales a números de onda menores no son del todo fiables.



**Figura 22:** Espectro de IR de la muestra CPBS206

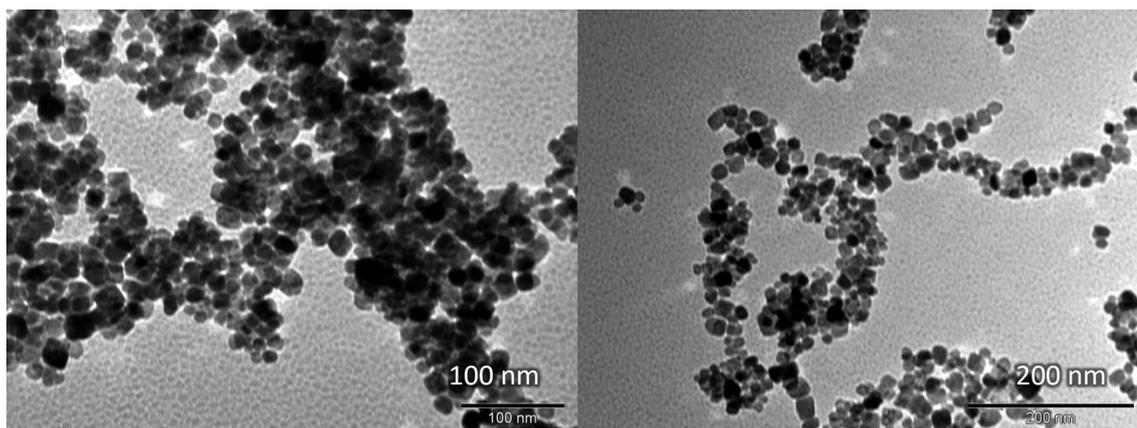
### ***5.3 Microscopía electrónica de transmisión (MET)***

Las imágenes obtenidas mediante MET se utilizaron para obtener información detallada de la forma de las nanopartículas y la homogeneidad de éstas. Además se estudió la distribución de tamaños de partícula con el programa ImageJ a partir de las imágenes.

#### ***5.3.1 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> obtenida mediante síntesis solvotermal***

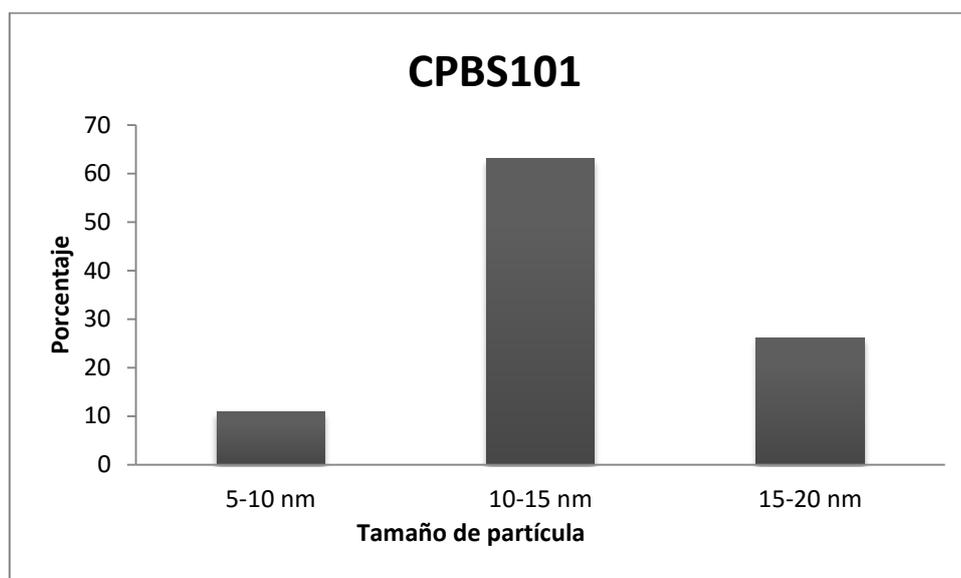
En las micrografías obtenidas de la muestra CPBS101 (Figura 23) se aprecian nanopartículas de tamaño reducido y con una distribución de tamaños bastante homogénea ya que éstos se encuentran entre 9 y 16 nm. También se observa que las nanopartículas, aunque presenten algunas caras planas, tienen por lo general formas redondeadas.

Otra característica que se observa es que las nanopartículas tienden a formar aglomerados aunque también es posible encontrar algunas nanopartículas aisladas.



**Figura 23:** Micrografías de la muestra CPBS101

En la Figura 24 se representa la distribución de tamaños calculada mediante ImageJ. Se puede apreciar que la mayoría de las partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  tienen un tamaño comprendido entre 10 y 15 nm lo que pone de manifiesto que la distribución de tamaños es muy homogénea.



**Figura 24:** Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS101

### **5.3.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ obtenida mediante el método de Kim**

En este apartado se discuten las diferencias morfológicas de las nanopartículas obtenidas en las diferentes síntesis en vista a sus micrografías obtenidas mediante MET. Las diferencias en las condiciones de dichas síntesis están representadas en la Tabla 4 (Apartado 4.1.2), que repetimos aquí para facilitar la lectura del trabajo.

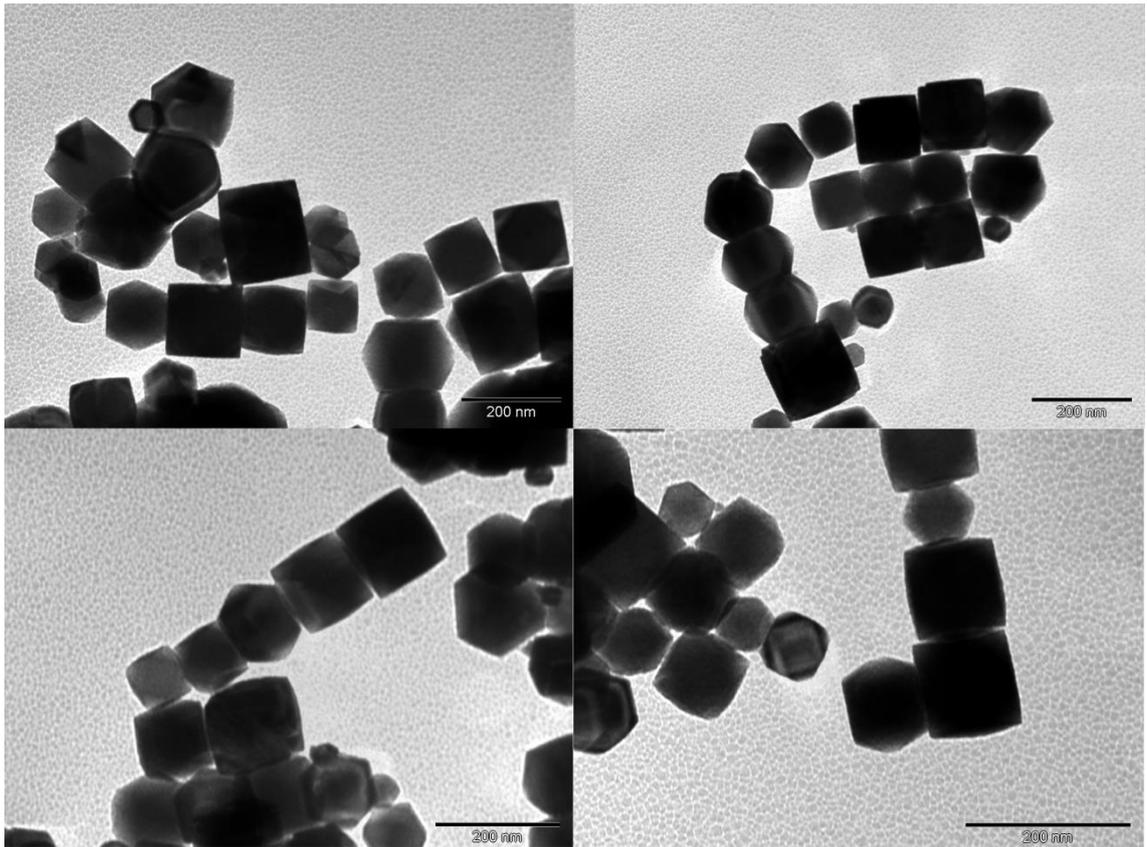
**Tabla 4:** velocidad de calentamiento, temperatura final y cantidad de producto de cada una de las síntesis.

| Muestra                             | CPBS201 | CPBS202 | CPB203 | CPBS204 | CPBS205 | CPBS206 |
|-------------------------------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|
| Rampa (°C/minuto)                   | 4,28    | 4,48    | 4,94   | 4,63    | 4,20    | 4,32    |
| Temperatura final (°C)              | 265     | 276     | 269    | 266     | 274     | 285     |
| Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (mg) | 48      | 40      | 10     | 10      | 10      | 66      |

### **5.3.2.1 CPBS201**

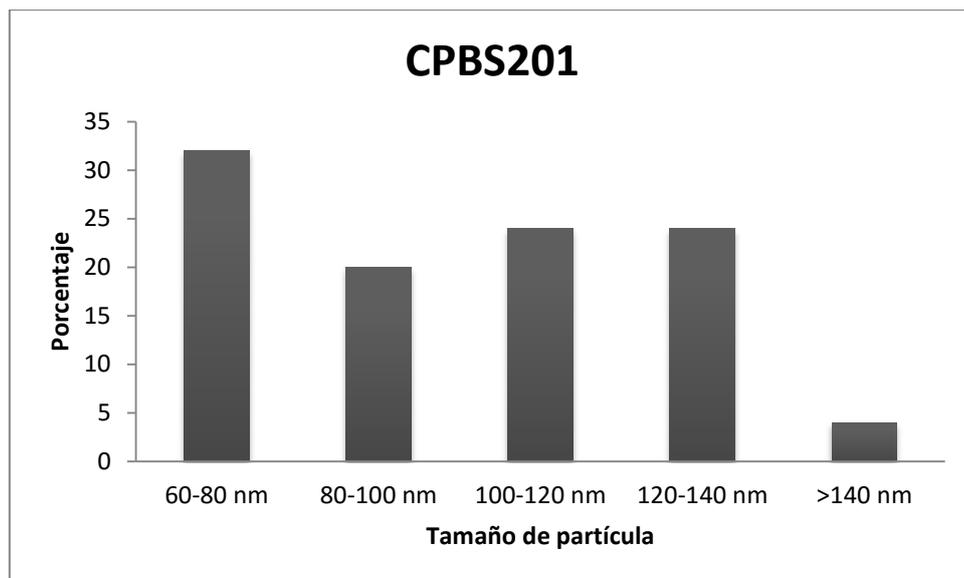
Las micrografías de la muestra CPBS201 (ver Figura 25) permiten ver que las nanopartículas en esta muestra presentan formas geométricas muy diferenciadas, siendo las más frecuentes los cubos. El tamaño de estas nanopartículas es muy heterogéneo y se encuentra entre 70 y 160 nm.

Además cabe destacar que, al presentar caras planas, las nanopartículas se apilan formando estructuras como barras en las que están en contacto unas nanopartículas con otras a través de dichas caras.



**Figura 25:** Micrografías de la muestra CPBS201

En la Figura 26 se muestra la distribución de los tamaños de partícula medidos con el programa ImageJ. En ella se puede observar que no existe un tamaño preferente sino que las nanopartículas tienen tamaños desde los 60 nm hasta tamaños mayores de 140 nm.

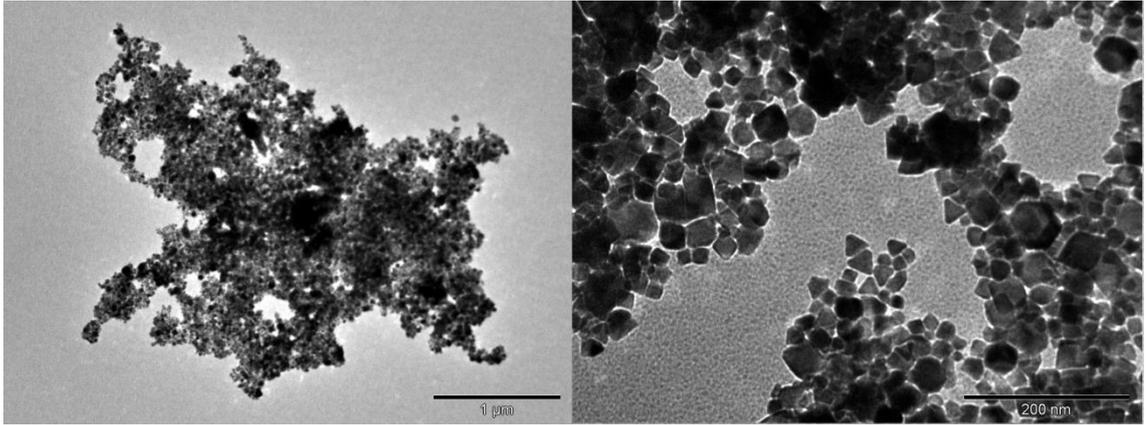


**Figura 26:** Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS201

### 5.3.2.2 CPBS202

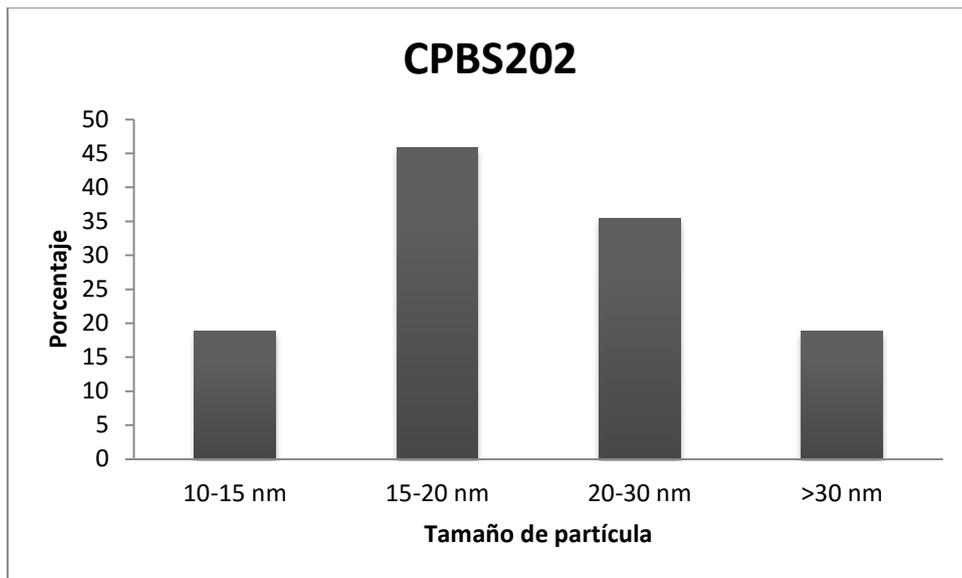
En las micrografías de la muestra CPBS202 (Figura 27) se aprecia que las nanopartículas de esta muestra presentan una variedad de formas considerable, siendo éstas muy irregulares a pesar de tener todas formas geométricas muy bien definidas. Por lo general las nanopartículas en esta muestra son de tamaño reducido aunque la distribución de tamaños es relativamente heterogénea, habiendo nanopartículas con tamaños comprendidos entre 10 y 36 nm.

Es importante destacar que las nanopartículas en esta muestra se encuentran formando cúmulos relativamente grandes (del orden de micras).



**Figura 27:** Micrografías de la muestra CPBS202

En la Figura 28 se representa la distribución de tamaños de partícula en la muestra CPBS202. En ella se observa que la mayoría de las partículas tienen tamaños comprendidos entre 15 y 20 nm.

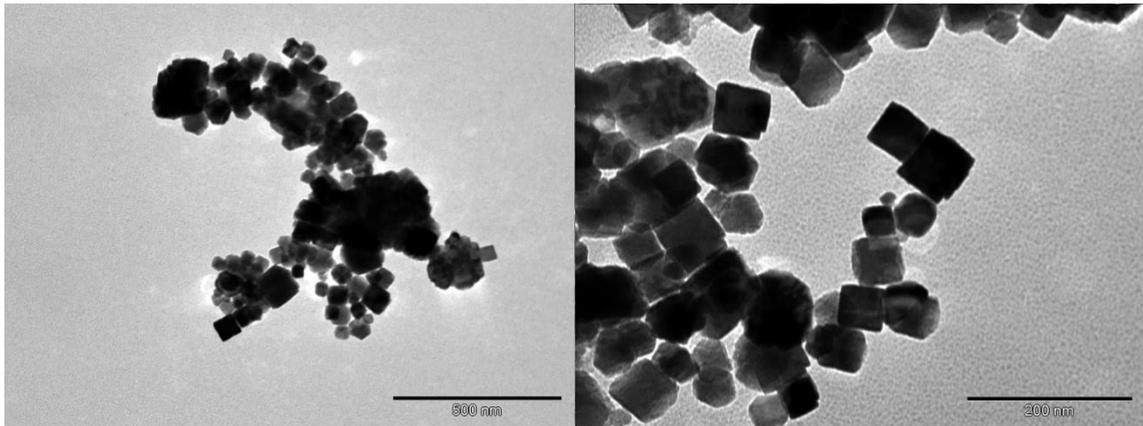


**Figura 28:** Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS202

### 5.3.2.3 CPBS203

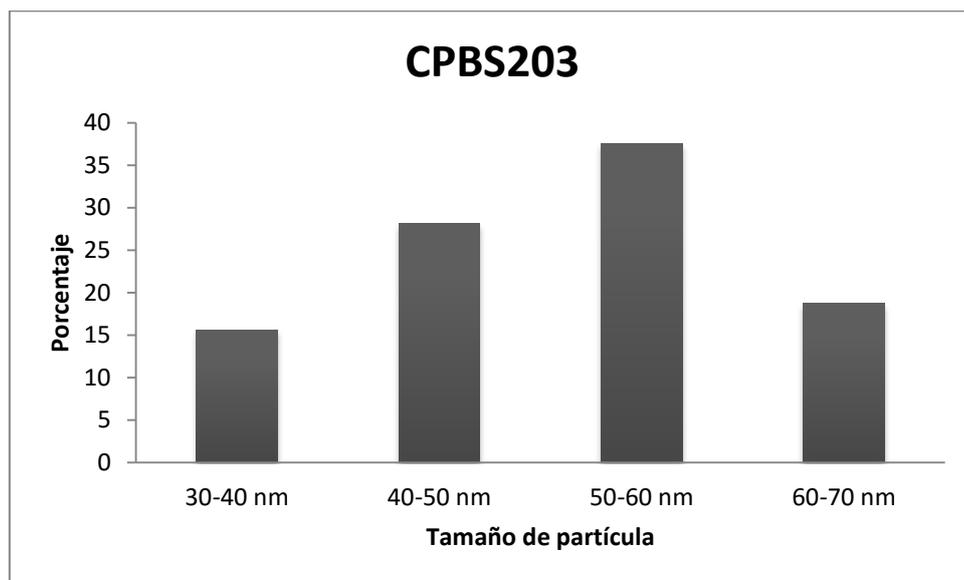
En las imágenes de la muestra CPBS203 obtenidas mediante MET (Figura 29) se observa la presencia de nanopartículas de tamaños entre 35 y 70 nm.

La forma de las nanopartículas en esta muestra es bastante regular, siendo éstas en su mayoría cubos aunque también son frecuentes los cubooctaedros.



**Figura 29:** Micrografías de la muestra CPBS203

En la Figura 30 se representa la distribución de tamaños de partícula en la muestra CPBS203. En ella se observa que la mayoría de las partículas tienen tamaños comprendidos entre 50 y 60 nm.



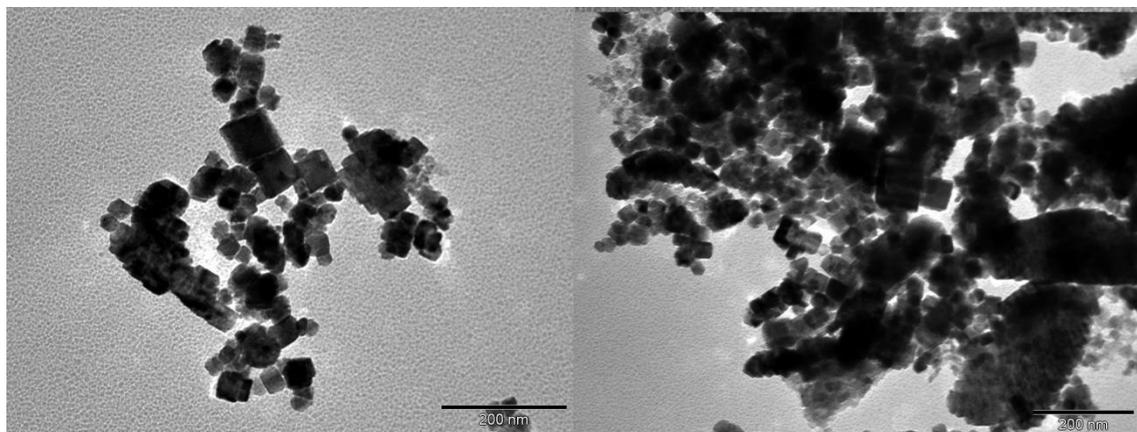
**Figura 30:** Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS203

#### **5.3.2.4 CPBS204**

En las imágenes obtenidas mediante MET de la muestra CPBS204 (Figura 31) se observan por lo general nanopartículas de tamaño reducido de entre 20 y 40 nm aunque también hay algunas que llegan hasta los 70 nm.

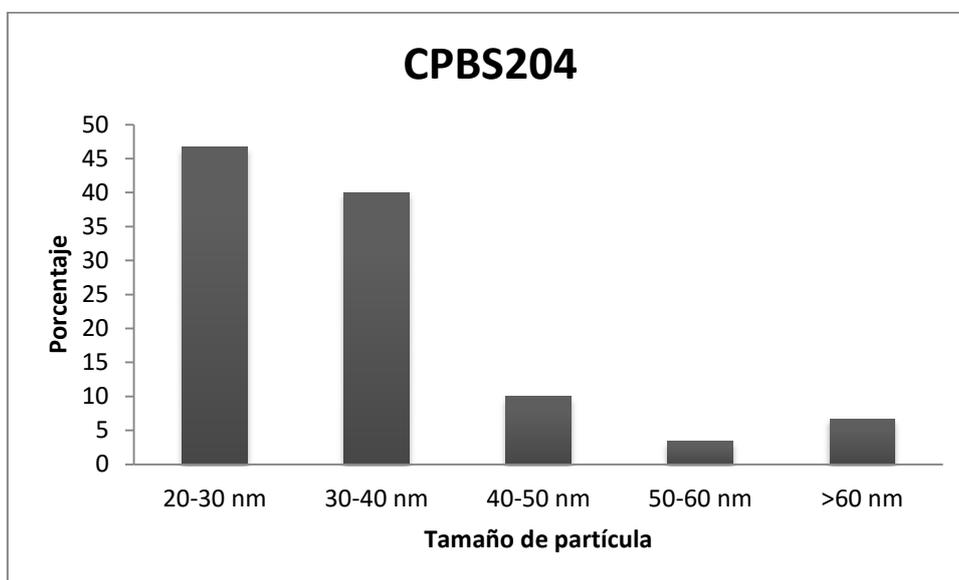
En estas imágenes se aprecia además la presencia de partículas menos opacas a los electrones y mucho más pequeñas. Se puede tratar de partículas de magnetita que aún

no han crecido. También podría ser materia orgánica resultante de la reacción de síntesis y que no haya sido eliminada durante las etapas de lavado. Incluso podría deberse a que la descomposición del acetilacetonato de hierro (III) no hay sido completa.



**Figura 31:** Micrografías de la muestra CPBS204

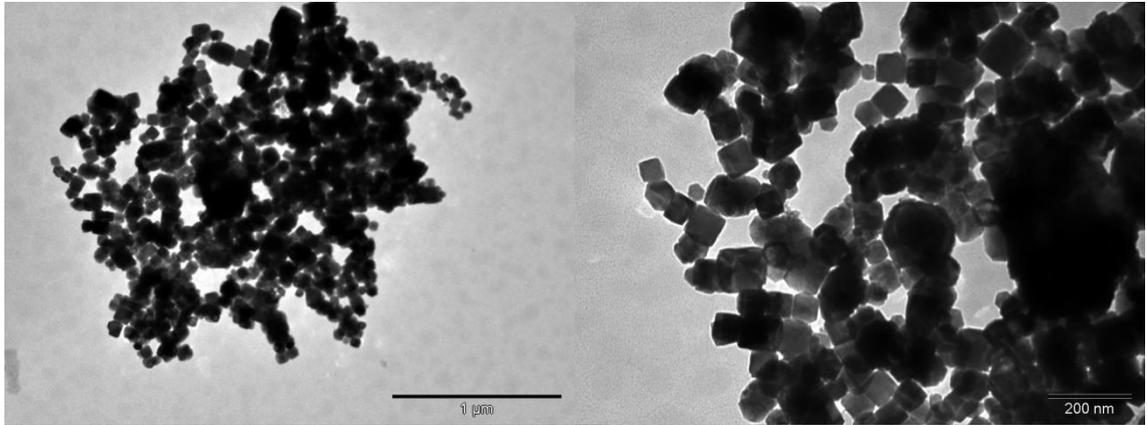
La distribución de tamaños de partícula medidos mediante ImageJ se muestra en la Figura 32. En ella se puede observar que la mayoría de las partículas tiene un tamaño comprendido entre 20 y 40 nm, siendo mucho más escasas las partículas de tamaño mayor.



**Figura 32:** Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS204

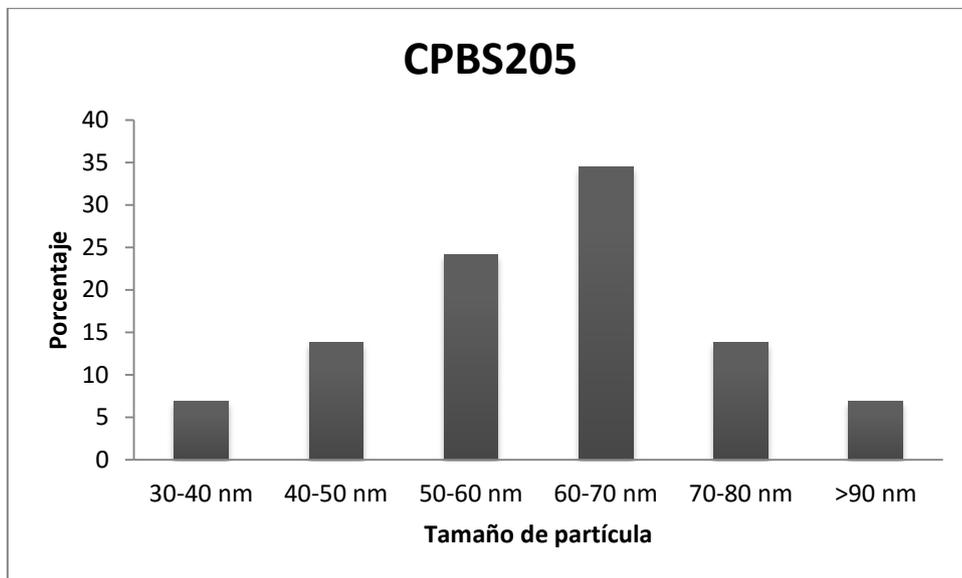
### 5.3.2.5 CPBS205

En las micrografías de la muestra CPBS205 (Figura 33) se observan nanopartículas con formas geométricas y con una distribución de tamaños muy heterogénea, estando éstos comprendidos entre los 40 y los 110 nm. Estas nanopartículas se encuentran formando agregados y están unidas entre sí a través de las caras planas que presentan.



**Figura 33:** Micrografías de la muestra CPBS205

En la Figura 34 se representa la distribución de tamaños de partícula en la muestra CPBS205. En ella se observa que la mayoría de las partículas tienen tamaños comprendidos entre 60 y 70 nm.



**Figura 34:** Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS205

### 5.3.2.6 CPBS206

En las imágenes obtenidas por MET de la muestra CPBS206 (Figura 35) se observa que las nanopartículas obtenidas son homogéneas en cuanto a su morfología, tratándose de cubos de en torno a 80 nm, aunque entre ellos se encuentren también cubos de 20 nm aunque en mucha menor cantidad.

Otro hecho observado es que existen algunas partículas mucho más pequeñas en algunas zonas de la imagen.

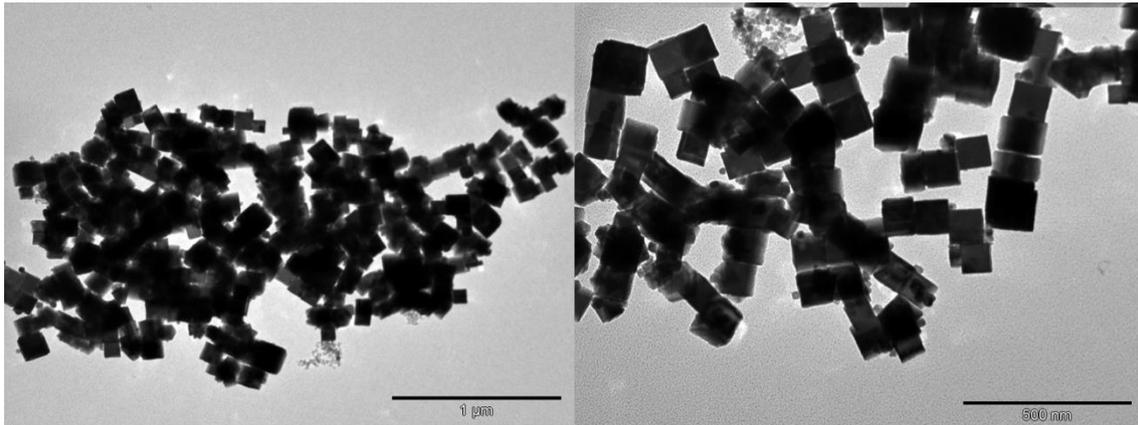


Figura 35: Micrografías de la muestra CPBS206

En la Figura 36 se representa la distribución de tamaños de partícula en la muestra CPBS206. En ella se observa que existe una distribución de tamaños entre 50 y 120 nm, siendo la distribución de tamaños bastante heterogénea.

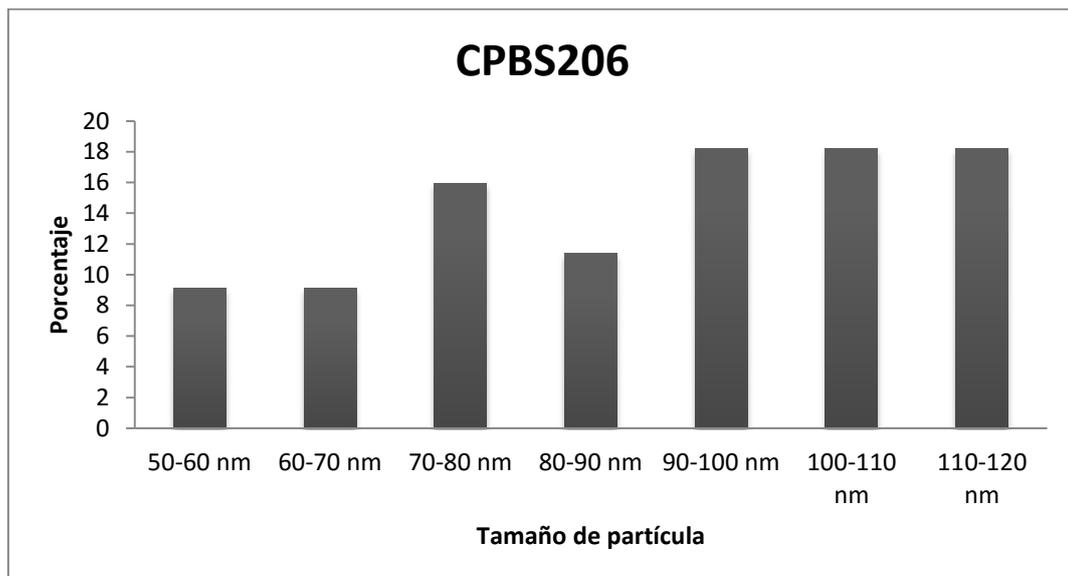


Figura 36: Distribución de tamaño de partículas en la muestra CPBS206

### **5.3.2.7 Influencia de la temperatura**

Con el fin de establecer una relación entre el tamaño y la forma de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sintetizadas por el método de Kim, se realizó un estudio de la influencia de la temperatura del matraz de reacción durante la síntesis de las distintas muestras, salvo la muestra CPBS201 de la que sólo se tomaron datos de temperaturas final e inicial. Los datos obtenidos se representaron en la Figura 37. Además en la Tabla 4 están reflejados los datos de velocidad de calentamiento o rampa, temperatura final y cantidad de producto en miligramos de cada una de las síntesis.

A la vista de estos resultados no se observan diferencias claramente significativas en las condiciones de calentamiento.

De todos modos, se puede decir que el rendimiento de la reacción depende de la temperatura siendo éste mayor en los casos en los que se alcanzó una temperatura más elevada, como es el caso de la muestra CPBS206.

También se observó que en las síntesis en las que se consiguieron rampas de temperaturas menores (con aumento un poco más lento de la temperatura) se obtuvieron nanopartículas con forma de cubos más regulares como fue el caso de las muestras CPBS201, CPBS205 y CPBS206.

En el caso de las síntesis en las que la temperatura final fue menor de la que se especificaba en la bibliografía, como es el caso de la muestra CPBS204, se observó una mayor cantidad de núcleos muy pequeños mezclados con las nanopartículas.

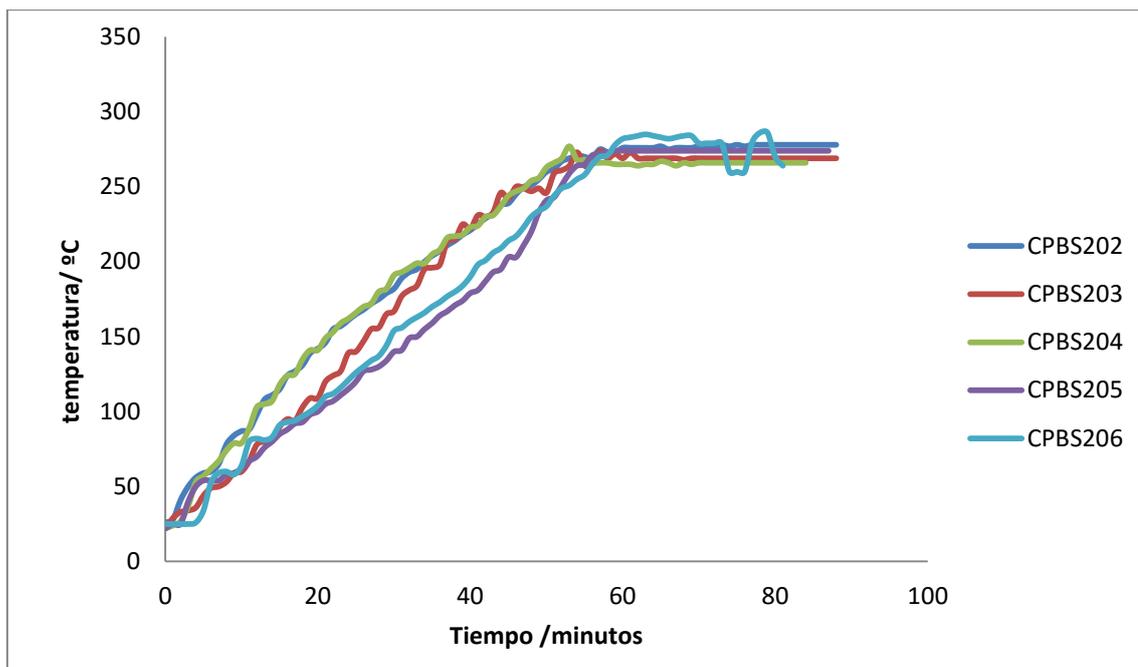
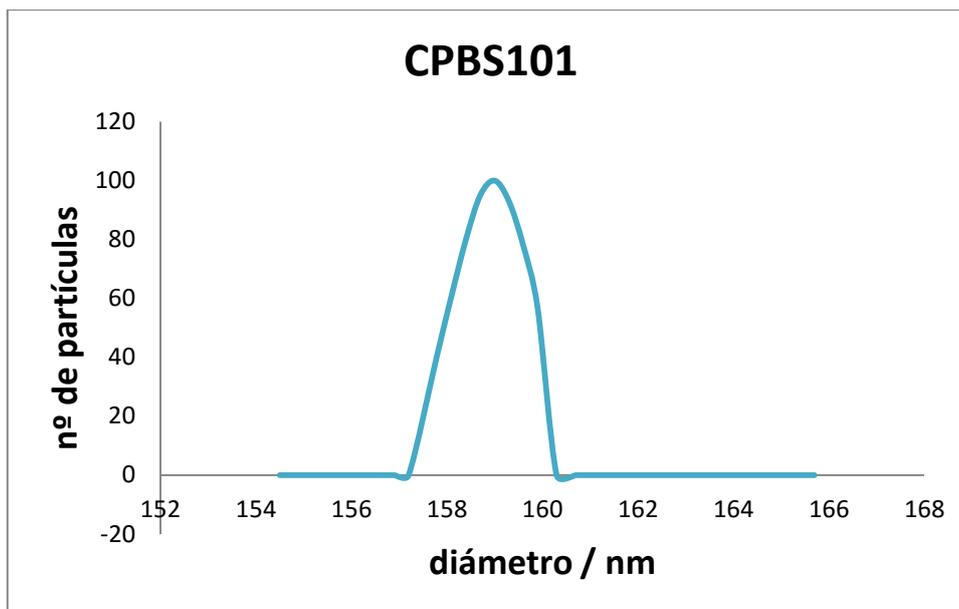


Figura 37: Representación de la temperatura del matraz de reacción frente al tiempo en la síntesis de las diferentes muestras.

#### 5.4 *Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)*

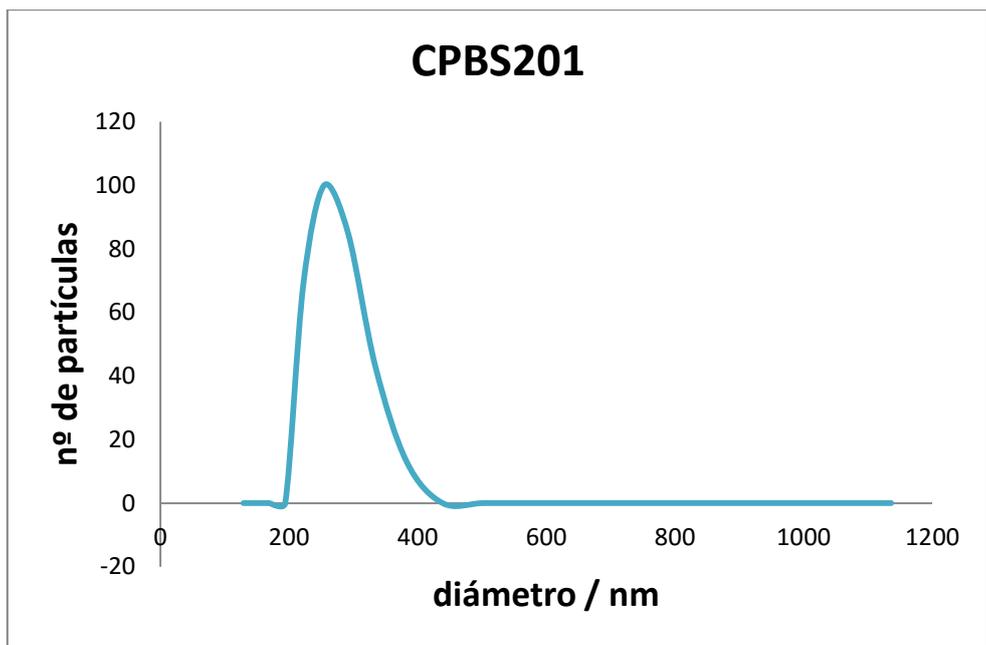
Se realizaron medidas de distribución de tamaño de partícula a suspensiones de tres muestras de nanopartículas mediante dispersión de luz dinámica. Se eligieron tres muestras que se ven claramente diferentes mediante MET.

Tal y como se puede observar en la Figura 38, se aprecia un máximo en torno a 159 nm que, junto con la información sobre el tamaño de partícula obtenida mediante MET, indica que en suspensión las nanopartículas tienden a formar aglomerados de entre 157 y 160 nm.



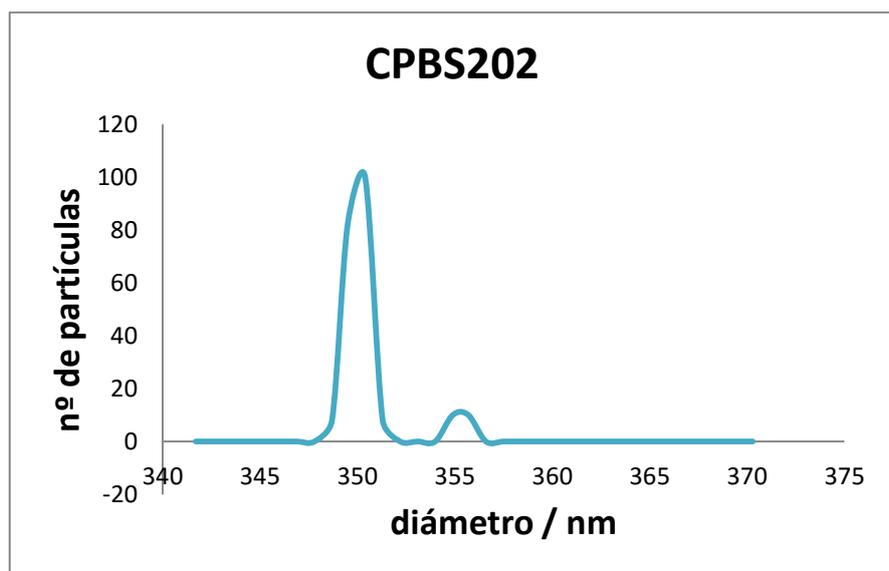
**Figura 38:** Dispersión de tamaños de la suspensión de la muestra CPBS101. El número de partículas se muestra normalizado, otorgándole a la frecuencia máxima el valor de 100.

En la Figura 39 se muestra la representación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión de la muestra CPBS201. En ella se observa que las partículas en suspensión se encuentran formando aglomerados de tamaños comprendidos entre 200 y 400 nm.



**Figura 39:** Dispersión de tamaños de la suspensión de la muestra CPBS201. El número de partículas se muestra normalizado, otorgándole a la frecuencia máxima el valor de 100.

En la Figura 40 se muestra la representación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión de la muestra CPBS202. En ella se observa la tendencia a formar aglomerados de 350 nm, mucho más abundantes que los aglomerados de 355 nm.



**Figura 40:** Dispersión de tamaños de la suspensión de la muestra CPBS202. El número de partículas se muestra normalizado, otorgándole a la frecuencia máxima el valor de 100.

A vista de estos resultados, puede decirse que todas las partículas preparadas tienen tendencia a formar aglomerados. Sin embargo, estos aglomerados tienden a ser más pequeños en el caso de las preparadas con el primer método (CPBS101), es decir, las partículas más pequeñas.

## 5.5 Medidas de magnetismo

Se realizaron medidas de magnetismo de muestras sintetizadas mediante los dos procedimientos realizados para evaluar la influencia de las diferentes características morfológicas en su comportamiento magnético.

La muestra CPBS101 no muestra histéresis en el ciclo medido, como se muestra en las Figuras 41 y 42, lo que es indicativo de un comportamiento superparamagnético. Dicho comportamiento era de esperar debido al reducido tamaño de las nanopartículas.

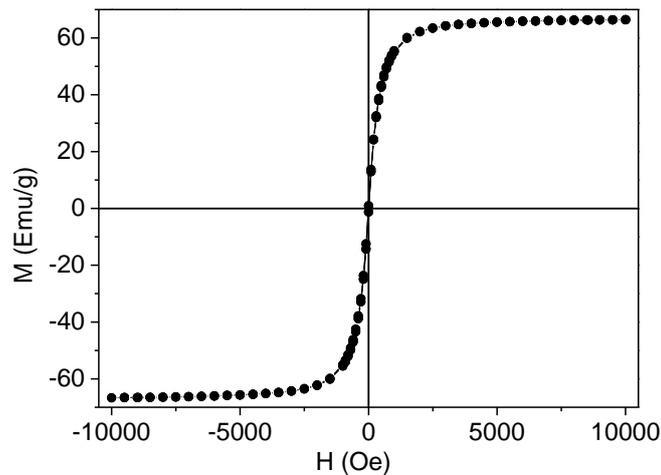
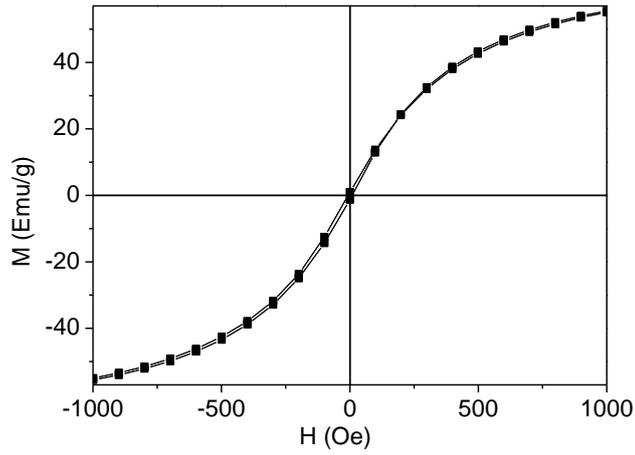
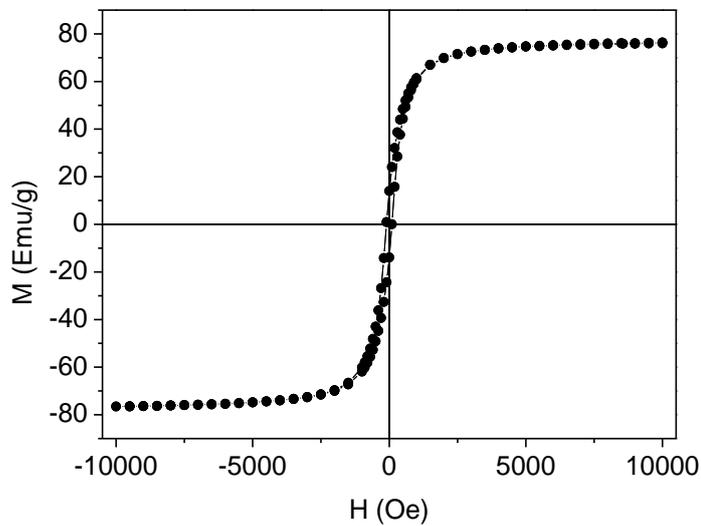


Figura 41: Ciclo de histéresis de la muestra CPBS101

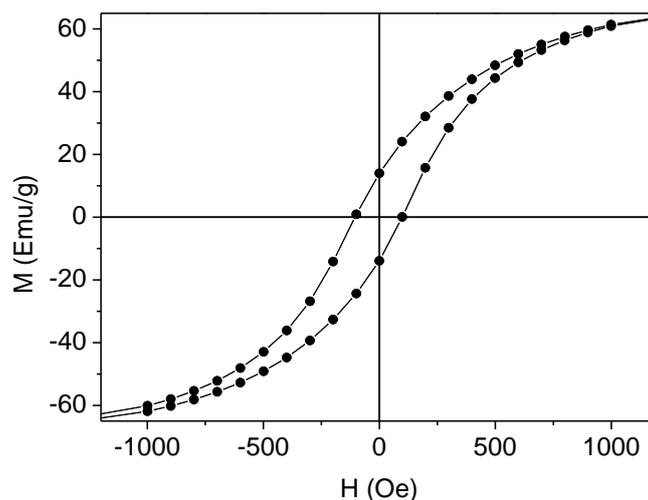


**Figura 42:** Ampliación del ciclo de histéresis de la muestra CPBS101

En la muestra CPBS201 (Figuras 43 y 44) se observa la aparición de una pequeña histéresis, característica de un material blando. En esta muestra las nanopartículas de magnetita se comportan como lo haría un material ferrimagnético. Estos resultados concuerdan con lo esperado, ya que las nanopartículas en esta muestra tienen un tamaño medio de 100 nm, mayor que el tamaño teórico de monodominio en la magnetita.



**Figura 43:** Ciclo de histéresis de la muestra CPBS201



**Figura 44:** Ampliación del ciclo de histéresis de la muestra CPBS201

Los valores de magnetización de saturación, remanente y campo coercitivo se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5:** Valores de magnetización de saturación, remanente y campo coercitivo de las muestras CPBS101 y CPBS201

| Muestra | $M_S$ (emu/g) | $M_R$ (emu/g) | $H_c$ (Oe) |
|---------|---------------|---------------|------------|
| CPBS101 | 66.56         | -             | -          |
| CPBS201 | 76.46         | 13.97         | 101.30     |

## 6 Conclusiones. Conclusións. Conclusions.

### Conclusiones

En vista de los resultados obtenidos, en este apartado se resumen las conclusiones más destacadas del trabajo que se ha realizado:

- ❖ Se ha conseguido preparar nanopartículas de magnetita ( $Fe_3O_4$ ) mediante una síntesis solvotermal en recipiente herméticamente cerrado, calentando a  $180\text{ }^\circ\text{C}$  durante 6 días.

A la vista de los resultados obtenidos mediante DRX y MET se confirma que la muestra CPB101 obtenida es  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  con un tamaño de partícula que se encuentra dentro de los límites deseados para que tenga un comportamiento superparamagnético y que presentan una morfología ligeramente geométrica con caras planas. Los resultados de IR muestran la presencia de restos de materia orgánica a pesar de los lavados a los que se sometió la muestra. Las medidas de VSM confirman el comportamiento superparamagnético de la muestra.

Mediante este método se obtienen resultados reproducibles en cuanto a la morfología de las nanopartículas.

- ❖ Se ha conseguido preparar nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) mediante una síntesis a presión ambiental, calentando a unos 265-285 °C durante 30 minutos.

Los resultados de DRX confirman que se obtuvo magnetita. Las micrografías de MET muestran que se obtuvieron nanopartículas con morfologías y tamaños diversos dependiendo de las condiciones de la síntesis, pero siempre partículas más grandes que con la síntesis anterior, con tendencia a la morfología cúbica y que presentan una ligera histéresis magnética.

Los resultados obtenidos mediante este método son poco reproducibles al obtenerse nanopartículas con formas y tamaños muy diversos en cada una de las síntesis realizadas.

- ❖ Las nanopartículas obtenidas mediante ambos métodos podrán usarse en etapas posteriores de la síntesis de nanocomposites destinados a la detección de patógenos.

## ***Conclusiones***

En vista dos resultados obtidos, neste apartado resúmense as conclusións mais destacadas do traballo que se realizou:

- ❖ Consegúronse preparar nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) mediante una síntese solvotermal en recipiente herméticamente pechado, quentando a 180 °C durante 6 días.

Á vista dos resultados obtidos mediante DRX e MET confírmase que a mostra CPBS101 é  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  cun tamaño de partícula que se atopa dentro dos límites desexados para que teña un comportamento superparamagnético e que presentan una morfoloxía lixeiramente xeométrica con caras planas. Os resultados de IR amosan a presenza de restos de materia orgánica a pesar dos lavados aos que se someteu a mostra. As medidas de VSM confirman o comportamento superparamagnético da mostra.

Mediante este método obteñense resultados reproducibles en canto a morfoloxía das nanopartículas.

- ❖ Consegúronse preparar nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) mediante unha síntese a presión ambiental, quentado a uns 265-285 °C durante 30 minutos.

Os resultados de DRX confirman que se obtivo  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . As micrografías de MET amosan que se obtiveron nanopartículas con morfoloxías e tamaños diversos dependendo das condicións da síntese pero sempre partículas mais grandes que coa síntese anterior, com tendencia á morfoloxía cúbica e que presentan unha lixeira histerese magnética.

Os resultados obtidos mediante este método son pouco reproducibles ao obterse nanopartículas con formas e tamaños moi diversos en cada unha das sínteses realizadas.

- ❖ As nanopartículas sintetizadas mediante ambos métodos poderán ser utilizadas en posteriores etapas da síntese de nanocomposites destinados á detección de patóxenos.

## ***Conclusions***

The main conclusions of this work are summarized below:

- ❖ Synthesis of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nanoparticles (sample CPBS101) has been successfully performed by a solvothermal method in a closed container heating up to  $180\text{ }^\circ\text{C}$ / 6 days.

The results provided by XRD and TEM confirmed that the sample CPBS101 is magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) and that the size of the nanoparticles is the desired to exhibit a superparamagnetic behavior. TEM micrographs also showed that nanoparticles had slightly geometrical shapes showing . IR spectra shows that there is organic matter remaining despite the washes. VSM results confirm the superparamagnetic behaviour of the nanoparticles.

Results obtained using this method are reproducible regarding the morphology of nanoparticles.

- ❖ Synthesis of magnetite nanoparticles has been successfully performed by a second method in a non-pressurized container, heating up  $265\text{-}285\text{ }^\circ\text{C}$  for 30 min.

DRX results confirm the obtention of magnetite. TEM micrographs show that nanoparticles with different shapes and sizes were obtained, depending on the synthesis conditions, but the size is higher than the particles obtained by the first method. Those particles tend to be cubic and to exhibit magnetic hysteresis.

Results obtained using this method are little reproducible, obtaining nanoparticles varying in a wide range of shapes and sizes, comparing any of the synthesis.

- ❖ Nanoparticles obtained by both of these methods can be used in further stages of the synthesis of nanocomposites for the detection of pathogens.