

**Universidad Nacional de Ingeniería
Facultad de Ciencias
Escuela Profesional de Ingeniería Física**



Tesis para optar el título profesional de:
Ingeniero Físico

Titulada:

Estudio morfológico y estructural de nanopartículas de CuO empleando técnicas de dispersión de luz y rayos X.

Presentada por:

Gabriel Bernardo Rios Valer

Asesor:

Dr. José Solís Veliz

LIMA-PERÚ

2015

Digitalizado por:

**Consortio Digital del
Conocimiento MebLatam,
Hemisferio y Dalse**

DEDICATORIA

‘A mis padres con todo mi amor’

Américo Juan Ríos Estacio

e

Irma Matilde Valer Abad

PREFACIO

El presente trabajo ha tomado casi un año y medio en su realización, desde la búsqueda bibliográfica hasta la redacción de la misma. Esta tesis pretende dar una introducción a las dos técnicas de caracterización física empleadas modernamente en el campo de la materia blanda (DLS, SAXS) y cristalografía (XRD) y además de ser un protocolo en el uso de estas técnicas para que futuras generaciones puedan utilizarla. El equipo DLS (Brookhaven 90Plus) que posee la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, ha sido muy empleado por tesis, estudiantes, profesores e investigadores, sin embargo, no ha habido hasta ahora algún trabajo serio sobre cómo este equipo funciona y bajo que principios físicos está basado. Mi tesis pretende hacer eso. Mi entrenamiento tanto en la teoría como en el uso instrumental de la técnica SAXS que recibí en Argentina e Italia, respectivamente, es resumido también en este trabajo. Quiero devolver de esta manera lo que mi alma mater me brindó en conocimiento y formación.

Parte del trabajo de esta tesis ha sido presentado en el congreso:

José L. Solís, Mónica M. Gómez, Gabriel B. Rios-Valer, Rómulo Cruz-Simbron, Cinzia Giannini, Dritan Siliqi, Davide Altamura, Teresa Sibillano, 'CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE OXIDO DE COBRE ACUOSO, MEDIANTE LAS TECNICAS DE DISPERSION: DLS Y SAXS', International School on Fundamental Crystallography and Fourth MaThCryst School in Latin America, 27 Abril - 3 Mayo, 2014, La Plata, Argentina.

Gabriel Rios Valer

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer por el apoyo mediante una beca al Instituto General de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería (IGI-UNI), al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) por el apoyo económico para mis pasantías en Italia y Argentina y al Patronato de la Universidad Nacional de Ingeniería (Pro-Uni) por el apoyo económico para mi última pasantía en Argentina

Quiero agradecer muy especialmente al Dr. José Solís Veliz por haberme dado la oportunidad de realizar investigación científica, por el apoyo constante en la realización de esta tesis y por su paciencia, el Dr. José Solís es un ejemplo de investigador y de persona, recuerdo que cuando era su estudiante, al igual que mis compañeros de clase, estaba desmotivado por mi pesimismo político debido a la falta de apoyo de nuestros gobernantes hacia la ciencia en el Perú. Él nos contaba sus experiencias personales en ciencia y tecnología y como poco a poco se fue haciendo camino hacia ser un gran investigador. Estas conversaciones me motivaron mucho y lo vi como un ejemplo a seguir.

Quiero agradecer también a su esposa la Dra. Mónica Gómez quien me otorgó la facilidad y las sugerencias para realizar las mediciones experimentales tanto en la síntesis como en las caracterizaciones además de los consejos para la redacción de esta tesis, sin dejar de reconocer también las recomendaciones y el apoyo que me dieron los chicos de maestría en Energías Renovables de la facultad de Ciencias de la UNI, en especial a Vanessa Martínez, Víctor Cahuana y también a Esmeralda Román de Ingeniería Textil. No sería grato no reconocer la ayuda en la síntesis de las nanopartículas de CuO que mi compañero Rómulo Cruz Simbrón, me brindó dándome la receta y el procedimiento más óptimo para obtener estas nanopartículas, además de explicarme cómo se opera el equipo DLS.

Quiero agradecer especialmente al Dr. Abel Gutarra por la revisión del manuscrito y por las recomendaciones y sugerencias encontradas para la corrección en la redacción de esta tesis.

También quiero agradecer a mis amigos los científicos Italianos del Istituto di Cristallografia, CNR, Bari: Dra. Cinzia Giannini, Dr. Dritan Siliqi y Dr. Davide Altamura. Quienes me dieron la oportunidad de recibir un entrenamiento en la técnica SAXS realizando la caracterización de mis muestras y además de su amable hospitalidad.

Quiero agradecer también a los Dres. Roberto Candal (Universidad de Buenos Aires - Argentina) por los materiales de DLS que muy amablemente me dio y a los Dres. Aldo Craievich (Universidad de San Pablo-Brasil) y Guinther Kellermann (Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón-Brasil) por los materiales obsequiados en el curso de SAXS avanzado que muy magistralmente dictaron en Argentina.

También quiero agradecer al Dr. Natasha Erdman y Dr. Masateru Shibata por el análisis de microscopía electrónica de las muestras de CuO y a la profesora Dora Maurtua de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por las muestras y sus respectivos análisis microbiológicos.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Antecedentes	1
1.2	Objetivos	2
1.2.1	Objetivo general	2
1.2.2	Objetivos específicos	2
2	FUNDAMENTO TEÓRICO	3
2.1	Oxido cúprico, CuO	3
2.1.1	Estructura cristalina del CuO	5
2.2	Técnicas de caracterización DLS y SAXS	8
2.2.1	Introducción a la técnica: Dispersión dinámica de la luz DLS (Dynamic light scattering)	8
2.2.1.1	Función de auto-correlación de la intensidad	10
2.2.1.2	El movimiento Browniano y el coeficiente de difusión	11
2.2.1.3	Modelo de decaimiento exponencial de la función de auto-correlación de la Intensidad	12
2.2.1.4	Normalización de la función de ajuste de la auto-correlación de la intensidad	12
2.2.1.5	Función de auto-correlación del campo y la relación de Seigert	13
2.2.1.5.1	Función de auto-correlación del campo	14
2.2.1.5.2	Relación de Seigert	14
2.2.1.6	Partículas monodispersas	14
2.2.1.7	Partículas polidispersas	15
2.2.1.8	Expansión de Cumulantes	16
2.2.1.9	Momentos de la distribución de coeficientes de difusión y diámetros promedios	18
2.2.1.10	Modelos de distribución de tamaños de partícula	20
2.2.1.10.1	Modelo de distribución Log-normal	20
2.2.1.10.2	Distribución Multimodal	21
2.2.2	Introducción a la técnica: Dispersión de rayos X a bajos ángulos SAXS (Small angle X-ray scattering)	22
2.2.2.1	Amplitud de dispersión de rayos X y la densidad-electrón	25
2.2.2.2	Contraste	26
2.2.2.3	Sistema de partículas estadísticamente Isotrópicas que no poseen orden a largo alcance	26
2.2.2.4	Sistemas monodispersos	29
2.2.2.4.1	Partículas de forma globular	29
2.2.2.5	Sistemas polidispersos	29
3	DESARROLLO EXPERIMENTAL	30
3.1	Procedimientos y equipamiento empleado	30
3.2	Síntesis de nanopartículas de CuO	30
3.3	Caracterización de las nanopartículas de CuO mediante DLS	31
3.4	Caracterización de las nanopartículas de CuO mediante SAXS	31
3.5	Caracterización morfológica mediante FE-SEM	33
3.6	Caracterización estructural mediante Powder XRD	33
3.7	Análisis microbiológico de los cultivos en presencia de CuO	33
3.7.1	Preparación del inóculo	33

3.7.2	Preparación de la muestra	33
3.7.3	Enfrentamiento microbiano	33
4	RESULTADOS EXPERIMENTALES	34
4.1	Resultados obtenidos de la caracterización mediante DLS	34
4.2	Resultados obtenidos de la caracterización mediante SAXS.....	37
4.2.1	Resultados de los perfiles de dispersión SAXS del solvente y de las muestras	37
4.2.2	Resultados del tratamiento de la data de los perfiles de dispersión SAXS de las muestras	41
4.3	Resultados de la caracterización morfológica mediante FE-SEM.....	53
4.4	Resultados de la caracterización estructural mediante Powder XRD	53
4.5	Resultados del análisis microbiológico de los cultivos en presencia de CuO 54	
5	DISCUSIONES.....	57
5.1	Discusión sobre los resultados de las caracterizaciones	57
5.2	Discusión sobre el análisis microbiológico.....	59
6	CONCLUSIONES	60
7	TRABAJOS FUTUROS	60
8	REFERENCIAS.....	61
9	ANEXOS	65
9.1	ANEXO 1.....	65
9.1.1	Interacción Rayos X-materia	65
9.1.2	Dispersión elástica e inelástica de rayos X.....	66
9.2	ANEXO 2.....	67
9.2.1	La ley de Bragg para la difracción de rayos X.....	67
9.2.2	La ley de Bragg para la dispersión.....	68
9.2.2.1	La ley de Bragg para la dispersión de rayos X	68
9.2.2.2	La ley de Bragg para la dispersión de la Luz.....	70
9.3	ANEXO 3.....	71
9.3.1	Introducción a la Difracción de rayos X de polvos (Powder X-ray Diffraction)	71
9.3.2	Cámara de Debye-Scherrer	72
9.3.3	Ecuación de Debye-Scherrer.....	72
9.4	ANEXO 4.....	74
9.4.1	Introducción a la técnica: Microscopía electrónica de Barrido SEM (Scanning Electron Microscopy)	74
9.4.1.1	Microscopio electrónico de barrido por emisión de campo, microscopio FE-SEM (Field Emission-Scanning Electron Microscopy)	74
9.4.2	Microscopía electrónica de transmisión-barrido STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy)	77
9.5	ANEXO 5.....	79
9.5.1	PROGRAM PACKAGE GNOM.....	79
9.6	ANEXO 6.....	87
9.6.1	Resumen de las características de los microorganismos utilizados como inóculos.....	87
9.7	ANEXO 7.....	89

ABREVIATURAS

A.C: Antes de Cristo
 ACO: Anular Campo Oscuro
 AMP: Amplificador
 CNR: Consiglio Nazionale de la Ricerche (Consejo Nacional de la Investigación)
 CONCYTEC: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
 CRT: Cathode Ray Tube (tubo de rayos catódicos)
 CuO: Oxido de cobre (II), óxido cúprico
 %C.C.: Porcentaje de carácter covalente
 %C.I.: Porcentaje de carácter iónico
 D.C: Después de Cristo
 DLS: Dynamic Light Scattering (dispersión dinámica de la luz)
 DP: Dispositivo de Pantalla
 EEUU: Estados Unidos
 ENCu: Electronegatividad del Cobre
 ENO: Electronegatividad del Oxígeno
 ERD: Electrones Retro-Dispersados
 E-T: Everhart-Thornley
 ES: Electrones secundarios
 Δ EN.: Diferencia de electronegatividades entre dos elementos
 FE-SEM: Field Emission-Scanning Electron Microscopy (microscopía electrónica de barrido por emisión de campo)
 FWHM: Full Width at Half its Máximum intensity (ancho total en la mitad de su intensidad máxima)
 GNOM: Software de cálculo aplicado a SAXS
 IC-Bari: Istituto di Cristallografia di Bari (instituto de cristalografía de Bari)
 IPEN: Instituto Peruano de Energía Nuclear
 LNLS: Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón
 NASA: National Aeronautics and Space Administration (Administración Nacional de la Aeronáutica y del Espacio)
 NNLS: Non-Negatively constrained Least Squares (Mínimos cuadrados no negativamente restringidos)
 PDDF: Pair Distance Distribution Function (función de distribución de distancias par)
 pH: Potencial de hidrógeno
 PMT: Photo Multiplier Tube (tubo foto-multiplicador)
 RPM: Revoluciones por minuto
 SAXS: Small Angle X-ray Scattering (dispersión de rayos X a bajos ángulos)
 SEM: Scanning Electron Microscopy (Microscopía electrónica de barrido)
 STEM: Scanning Transmission Electron Microscopy (Microscopía electrónica de Transmisión-Barrido)
 TEM: Transmission Electron Microscopy (Microscopía electrónica de Transmisión)
 TV: Televisión
 UNI: Universidad Nacional de Ingeniería
 USAXS: Ultra-Small Angle X-ray Scattering (dispersión de rayos X a ángulos ultra

pequeños)

WAXS: Wide Angle X-Ray Scattering (dispersión de rayos X a grandes ángulos)

XMILab: X-ray Microimaging Laboratory (Laboratorio de microimágenes de rayos X)

XRD: X-Ray Diffraction (difracción de Rayos X)

RESUMEN

Nanopartículas esféricas de óxido cúprico (CuO) altamente dispersadas con un tamaño promedio de dominio cristalino de 8 nm y tamaño de partícula de 30 nm aproximadamente, fueron sintetizadas a partir del precipitado obtenido de la reacción entre el acetato de cobre y el hidróxido de sodio [1]. Las nanopartículas de CuO fueron caracterizadas por dispersión dinámica de la luz (DLS) y por dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS) y complementariamente se hicieron caracterizaciones por microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FE-SEM) y por difracción de rayos X (XRD). Los resultados muestran que las nanopartículas de CuO tienen alta dispersión y estrecha distribución de tamaños en poblaciones de tamaños menores a 100 nm. Hay buena concordancia entre las mediciones, DLS, SAXS, FE-SEM y XRD. La actividad antibacterial del CuO fueron probadas en cultivos de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Bacillus subtilis*, dando buenos resultados con las tres primeras, mientras que en *Candida albicans* y *Bacillus subtilis* no se observaron efectos inhibidores.

Palabras clave:

Óxido de cobre (II) – Difracción de rayos X (XRD) - Dispersión dinámica de la luz (DLS) - Dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS) - Microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FE-SEM) - *Escherichia coli* - *Pseudomonas aeruginosa* - *Staphylococcus aureus* - *Candida albicans* - *Bacillus subtilis*

1 INTRODUCCIÓN

Los iones metálicos han sido usados por siglos para desinfectar fluidos, sólidos, y tejidos humanos. Los ‘primeros en usar el cobre por motivos higiénicos’ fueron los antiguos comerciantes fenicios (2300 A.C.), quienes clavaron franjas de cobre en los cascos de sus barcos para inhibir la suciedad (evitando, sin saberlo, la proliferación de hongos y bacterias). Fueron los antiguos griegos de la era pre-cristiana de Hipócrates (400 A.C.), los ‘primeros en descubrir el poder sanitario del cobre’. Ellos recetaron cobre para combatir enfermedades pulmonares y para purificar agua potable. Sin embargo, en el Perú, los antiguos cirujanos ‘Hampi Camayocs’ de la cultura Paracas (700 A.C.) ya utilizaban cinceles hechos de **cobre**, plata, oro o champi (el ‘bronce incaico’) como parte del instrumental quirúrgico en las trepanaciones craneanas [2], [3]. Los celtas en la antigua Escocia produjeron whisky en vasijas de cobre hacia el año 800 D.C. y esta práctica se sigue continuando hoy. En la India, el gangajal (‘agua bendita’ tomada del río Ganges) es almacenado en utensilios de cobre en cada hogar Hindú debido a sus propiedades higiénicas y bacteriostáticas. Por el siglo XVIII, el cobre tuvo un amplio uso clínico en el mundo occidental, siendo empleado para el tratamiento de desórdenes mentales e infecciones de los pulmones. Los primeros ‘pioneros americanos’ moviéndose desde el ‘viejo oeste’ atravesando el continente, pusieron monedas de plata y cobre en barriles de madera llenos de agua para proveerse ellos mismos de agua potable segura para su largo viaje. Durante la segunda guerra mundial soldados japoneses pusieron piezas de cobre en sus botellas de agua para prevenir la disentería. El sulfato de cobre es muypreciado y utilizado hasta el día de hoy por algunos habitantes de África y Asia para curar llagas y enfermedades de la piel. La NASA diseñó novedosamente un sistema de esterilización por ionización cobre-plata para sus vuelos de Apolo. Hoy, el cobre es usado como un purificador de agua, algacida, fungicida, nematocida, molusquicida, y como un agente antibacterial y de limpieza. El cobre es considerado seguro para los humanos, como es demostrado por el amplio y prolongado uso de dispositivos intrauterinos (T de cobre) por mujeres. En contraste a la poca sensibilidad del tejido humano (de la piel u otros) al cobre, los microorganismos si son extremadamente susceptibles al cobre [4].

1.1 Antecedentes

Actualmente, las nanopartículas de CuO tienen extenso y atractivo interés debido a sus propiedades novedosas y su potencial aplicación en catálisis, celdas solares, electrodos para baterías, sensores de gas, fotocatalisis, textiles antimicrobianos, etc.[5-10] En estas aplicaciones es un deber sintetizar polvos de alta calidad y ultra finos con características requeridas en términos de su tamaño, morfología, microestructura, pureza de composición, etc., los cuales son los factores más esenciales que eventualmente determinan la performance de los productos finales. Algunos métodos para la preparación de nanopartículas de CuO han sido reportados tales como el método de precipitación rápida ([1],[11]), molienda mecánica de polvos comerciales [12], el método sonoquímico [13], método de reacción de estado sólido de un solo paso a temperatura ambiental [14], método spray-pirolisis ultrasónico [15], etc. Entre las diferentes técnicas de síntesis desarrolladas durante los últimos años, el método de precipitación rápida de nanopartículas de CuO es un método con gran potencial porque es simple, barato, seguro y eficiente.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Establecer la morfología y los tamaños promedios de partícula y de dominios cristalinos de nanopartículas de CuO preparadas por el método de precipitación rápida [1], y estudiar su efecto de toxicidad en cultivos de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Bacillus subtilis*.

1.2.2 Objetivos específicos

- i) Preparar, aproximadamente bajo las mismas condiciones, tres muestras de nanopartículas de CuO en solución acuosa con concentraciones de 1mg/ml para sus posteriores caracterizaciones, tomando como base el procedimiento de síntesis conocido como: ‘el método de precipitación rápida’ [1].
- ii) Analizar los perfiles de dispersión DLS y SAXS, para encontrar los tamaños promedios y la distribución de tamaños de partícula, utilizando el análisis de los histogramas (distribución multimodal de tamaños de partícula) para DLS y el análisis de las curvas PDDF mediante el software GNOM para SAXS.
- iii) Examinar los resultados de las mediciones FE-SEM y XRD de la muestra de CuO (de mejores características), para determinar la estructura cristalográfica y la morfología así como encontrar los tamaños de dominio cristalino de las nanopartículas de CuO, tomando como base los procedimientos de medición propios de cada una de estas dos técnicas.
- iv) Analizar microbiológicamente a dicha muestra de CuO con la finalidad de estudiar su actividad antibacteriana en los cultivos de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Bacillus subtilis*, tomando como base el método de difusión en agar (modificación del método de Kirby-Baurber [16]).

2 FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Óxido cúprico, CuO

El óxido de cobre (II) u óxido cúprico (CuO) es un complejo de coordinación [17] y es el óxido cuyo cobre posee el mayor número de oxidación. Como mineral se conoce como tenorita. No es inflamable. Tiene una masa molar de 79,545 g/mol, se presenta en la naturaleza en estado sólido, es de color negro, tiene una densidad de 8,96 g/cm³ [18], es insoluble tanto en el agua como en el etanol pero soluble en soluciones acuosas amoniacaes, tiene altas temperaturas de fusión (1201°C) y de ebullición (2000°C).

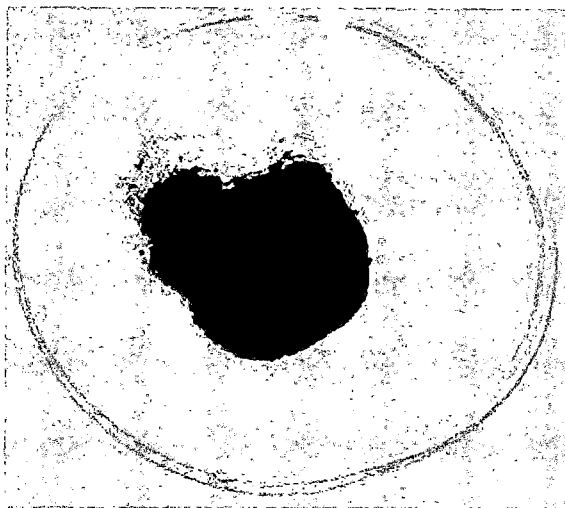
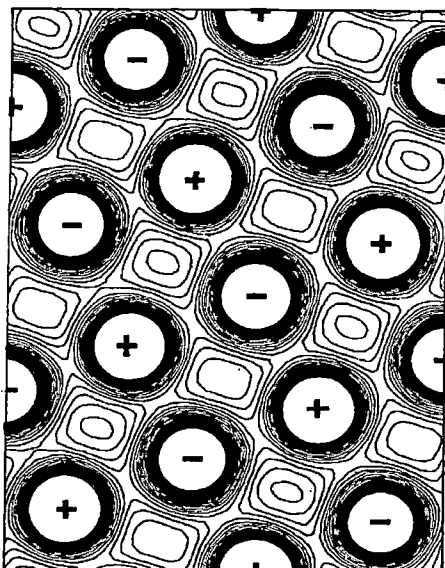


Figura 1. Óxido de cobre (II). Figura tomada de [17].

Los óxidos de metales de transición son en su mayoría compuestos iónicos (o con bajo carácter covalente). Sin embargo, el óxido de cobre (II) que posee una diferencia ΔEN de 1,7 entre las electronegatividades del oxígeno ($EN_O = 3,5$) y del cobre ($EN_{Cu} = 1,8$) (según Pauling), le podría ser estimado sólo un 37,3% de porcentaje de carácter iónico %C.I. (según la fórmula empírica de Smith-Hannay: $\%C.I. = 16\Delta EN + 3,5(\Delta EN)^2$, donde: $\%C.I. + \%C.C. = 100\%$ [19]), entonces, CuO tiene principalmente carácter covalente [20]. Por lo tanto, a pesar de que el estado de oxidación del Cu en el CuO sea incuestionablemente Cu^{2+} , el enlace en CuO es una mezcla de enlaces iónicos y covalentes.

Debido a la mayor contribución de los electrones de valencia provenientes del orbital dx^2-y^2 del Cu en los enlaces covalentes Cu-O (al ser la longitud de enlace de los orbitales dz^2 más grande que la longitud de enlace de los orbitales dx^2-y^2 , el enlace de los orbitales dz^2 es más débil), la estructura electrónica del CuO está bien descrita por la distribución de electrones en el grupo $(CuO_4)^{6-}$ con el cobre en el centro de un arreglo de oxígenos coplanares [21]. Un mapeo de la distribución de la densidad de cargas de valencia en este grupo $(CuO_4)^{6-}$ (plano (110)) es mostrado en la Figura 2.



CuO

Figura 2. Mapa de la densidad de cargas de valencia del CuO en el plano (110). Note que la concentración de electrones de valencia para ambos tipos de iones en cada unidad $(\text{CuO}_4)^{6-}$ es cercanamente esférica (donde los símbolos + y - representan los signos de las cargas eléctricas de los iones Cu y O respectivamente) y no hay concentración de cargas (de enlace covalente) entre iones opuestos, es decir, a lo largo de cada enlace Cu-O no hay concentración de cargas. Figura tomada de [22].

De la configuración electrónica del óxido de Cobre (II), tenemos: $\text{Cu}^{2+}(3d^9)\text{O}^{2-}(2p^6)$, la cual nos indica que son las contribuciones electrónicas de los orbitales 3d del Cu^{2+} y 2p del O^{2-} las que originan los enlaces covalentes en CuO. De allí que estos orbitales (mayormente el Cu 3d) son los responsables de las propiedades químicas de CuO.

La coordinación de átomos en CuO es tal que cada ion tiene exactamente cuatro iones vecinos más próximos del otro tipo (ver Figuras 4 y 5). En el plano (110), cada átomo de Cu está coordinado a cuatro átomos de O coplanares ubicados en las esquinas de un paralelogramo imaginario casi rectangular. Las longitudes de enlace Cu-O en este plano son aproximadamente 1,95 Å (las distancias interatómicas y ángulos son dados en la Figura 3). Los siguientes dos enlaces Cu-O perpendiculares al plano son más grandes. El átomo de O está coordinado a cuatro átomos de Cu situados en las esquinas de un tetraedro deformado.

De las Figuras 3 y 4 (o 5), se observa que la distancia (Cu-Cu) más corta es 2,90 Å (relativamente grande) y del análisis de concentración de cargas de valencia de la Figura 2, se deduce que los enlaces iónicos Cu-Cu son despreciables en comparación con los enlaces covalentes Cu-Cu en este compuesto. Además el compuesto no presenta enlace metálico [20].

Desde átomo	Átomo vértice	A átomo	Distancia	Ángulo
Cu	—	{ O	1·9608 ± 13 Å	—
		{ O(vii)		
Cu	—	{ O(iii)	1·9509 ± 26	—
		{ O(v)		
		{ O(i)		
Cu	—	{ O(vi)	2·7840 ± 37	—
O	—	{ O(iii)	2·9005 ± 3	—
O	—	{ O(v)	2·6246 ± 19	—
O	Cu	{ O(iii)	—	95·72 ± 4°
O	O(iii)	{ O(vii)	—	90·29 ± 12
O	Cu	{ O(vi)	—	106·95 ± 11
O(iii)	Cu	{ O(vi)	—	89·17 ± 6
O	—	{ Cu		
		{ Cu(viii)	1·9608 ± 13	—
O	—	{ Cu(ii)		
		{ Cu(iv)	1·9509 ± 26	—
Cu	—	{ Cu(ii)		
Cu(iv)	—	{ Cu(viii)	2·9005 ± 3	—
Cu	—	{ Cu(iv)		
Cu(ii)	—	{ Cu(viii)	3·0830 ± 4	—
Cu	—	{ Cu(viii)	3·1734 ± 4	—
Cu(ii)	—	{ Cu(iv)	3·7484 ± 4	—
Cu	O	{ Cu(ii)		
Cu(iv)	O	{ Cu(viii)	—	95·72 ± 4
Cu	O	{ Cu(iv)		
Cu(ii)	O	{ Cu(viii)	—	104·03 ± 5
Cu	O	{ Cu(viii)	—	108·85 ± 21
Cu(ii)	O	{ Cu(iv)	—	145·82 ± 25

Figura 3. Valores de distancias y ángulos entre los átomos de Cu y O, según la estructura del CuO. La enumeración de los átomos puede visualizarse con ayuda de la Figura 4. Figura tomada de [20].

2.1.1 Estructura cristalina del CuO

El óxido de cobre (II) pertenece al sistema cristalino monoclinico, específicamente a la red monoclinica de base centrada (red monoclinica C), tiene grupo puntual cristalografico igual a 2/m (en notación Schönflies, C_{2h}). El grupo espacial de su celda unitaria es C2/c (es decir, C12/c1) y número de grupo espacial 15 [23], sus parámetros de red son: $a = 4,6837 \text{ \AA}$; $b = 3,4226 \text{ \AA}$; $c = 5,1288 \text{ \AA}$; $\alpha = 90^\circ$; $\beta = 99,54^\circ$; $\gamma = 90,2^\circ$. En la estructura cristalina del CuO, existen 'posiciones especiales' ocupadas por los átomos de Cu y O (ver Figuras 4 y 5):

- i) Cuatro átomos de cobre ocupan cuatro posiciones especiales c (es decir, ocupan las mismas posiciones de 4 centros de inversión $\bar{1}$), las coordenadas de estas posiciones son:
 $4 \text{ Cu en } 4(c) \rightarrow (1/4, 1/4, 0); (3/4, 3/4, 0); (1/4, 3/4, 1/2); (3/4, 1/4, 1/2)$
- ii) Cuatro átomos de oxígeno ocupan cuatro posiciones especiales e (es decir, ocupan las mismas posiciones de 4 ejes de rotación binarios 2), las coordenadas de estas posiciones son:
 $4 \text{ O en } 4(e) \rightarrow (0, y, 1/4); (1/2, 1/2 + y, 1/4); (0, -y, 3/4); (1/2, 1/2 - y, 3/4)$
con $y = 0,4184$.

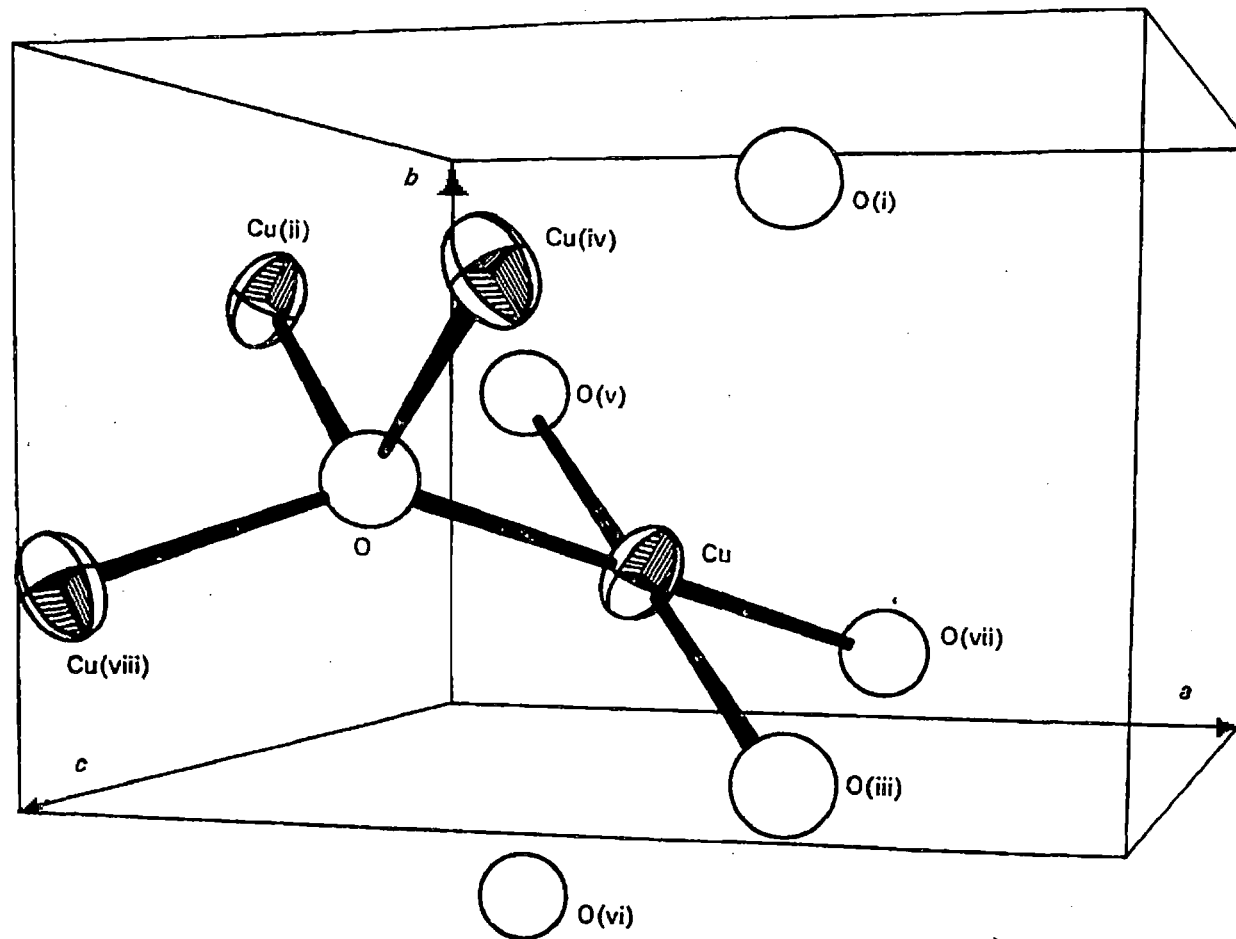


Figura 4. Celda unitaria mostrando el tetraedro deformado de coordinación de cuatro átomos de cobre alrededor de un átomo de oxígeno y el plano de coordinación de cuatro átomos de oxígeno alrededor de un átomo de cobre. Dos átomos de oxígeno distantes completan un octaedro distorsionado alrededor del cobre. Note que los átomos de oxígeno son isotrópicos por lo que están representados por esferitas mientras que los átomos de cobre son anisotrópicos y están representados por elipsoides. Figura tomada de [20].

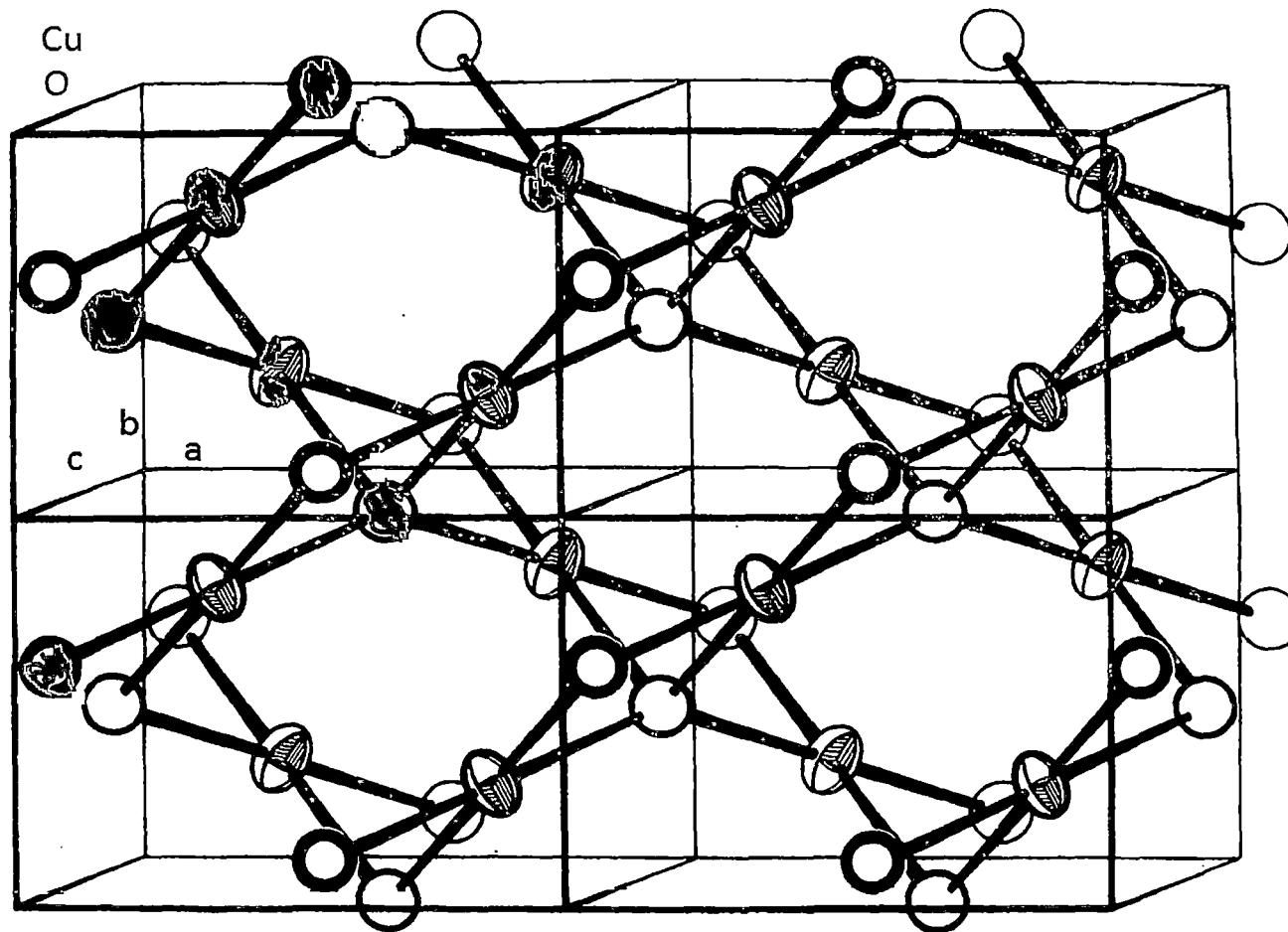


Figura 5. Cuatro celdas unitarias en el CuO mostrando cadenas de $(\text{CuO}_4)^{6-}$ alternadas en las direcciones $[110]$ y $[\bar{1}10]$. Los átomos de cobre coloreados en rojo marcan las cuatro posiciones especiales 'c' y los átomos de oxígeno coloreados en azul, las cuatro posiciones especiales 'e', tomando como origen de coordenadas el punto de intersección de los ejes a, b, y c mostrados en la figura. Figura distorsionada tomada de [20].

Como puede notarse de la Figura 5, la estructura cristalina del CuO también podría ser descrita en la forma siguiente: Los elementos de construcción son los arreglos $(\text{CuO}_4)^{6-}$ coplanares, los cuales forman cadenas compartiendo sus oxígenos. Tales cadenas atraviesan la estructura en las direcciones $[110]$ y $[\bar{1}10]$, los dos tipos de cadenas alternan en la dirección $[010]$. Cada tipo de cadena es apilado en la dirección $[010]$ con una separación entre las cadenas de alrededor de $2,7 \text{ \AA}$. En esta distancia ningún enlazamiento ocurre. Cada eslabón individual $(\text{CuO}_4)^{6-}$ en una cadena de dirección $[110]$ está ligado a dos eslabones paralelos de dos cadenas de dirección $[\bar{1}10]$ por compartición de oxígenos no colineales.

2.2 Técnicas de caracterización DLS y SAXS

Las técnicas de caracterización estructural DLS y SAXS, se basan en el fenómeno de dispersión de ondas electromagnéticas debido a su interacción con la materia, sin embargo, el tamaño de la onda incidente y la geometría de la dispersión determinan los diferentes rangos de aplicabilidad de estas dos técnicas.

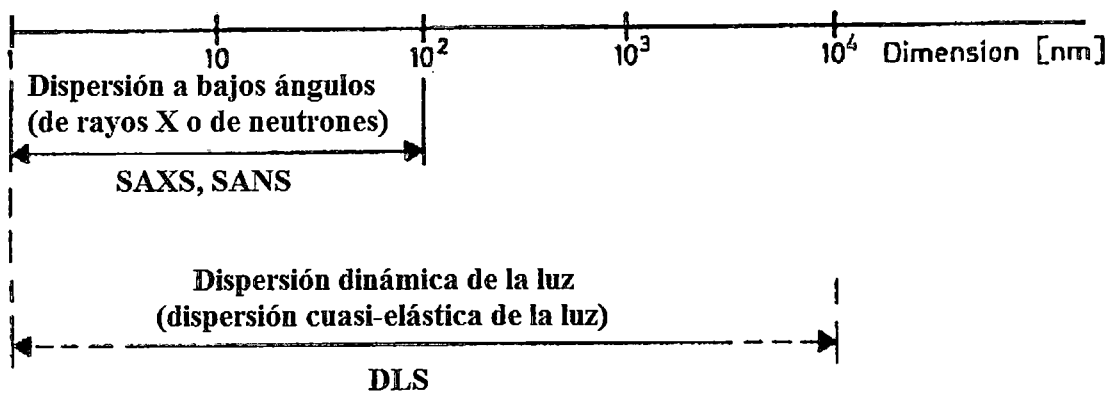


Figura 6. Rango de aplicabilidad de los métodos de dispersión utilizados. Note que SAXS tiene un rango: 1-100nm, y DLS: 1-10 000 nm.

Según la gráfica anterior, DLS tiene mayor rango de aplicabilidad (o menor resolución) que SAXS.

2.2.1 Introducción a la técnica: Dispersión dinámica de la luz DLS (Dynamic light scattering)

Esta técnica, también conocida como dispersión cuasi-elástica de la luz, es utilizada para obtener información estadística de la distribución de tamaños de partículas y se basa en el fenómeno de dispersión de la luz debido al impacto de ésta con dichas partículas coloidales [24-28]. DLS, mide únicamente las fluctuaciones en el tiempo de la intensidad de la luz dispersada (debido a las fluctuaciones en el índice de refracción) alrededor de su promedio al interactuar con las partículas en movimiento Browniano (ver Figura 7), permitiendo calcular una constante de difusión D de estas partículas y de allí los diámetros hidrodinámicos (tamaños de partícula).

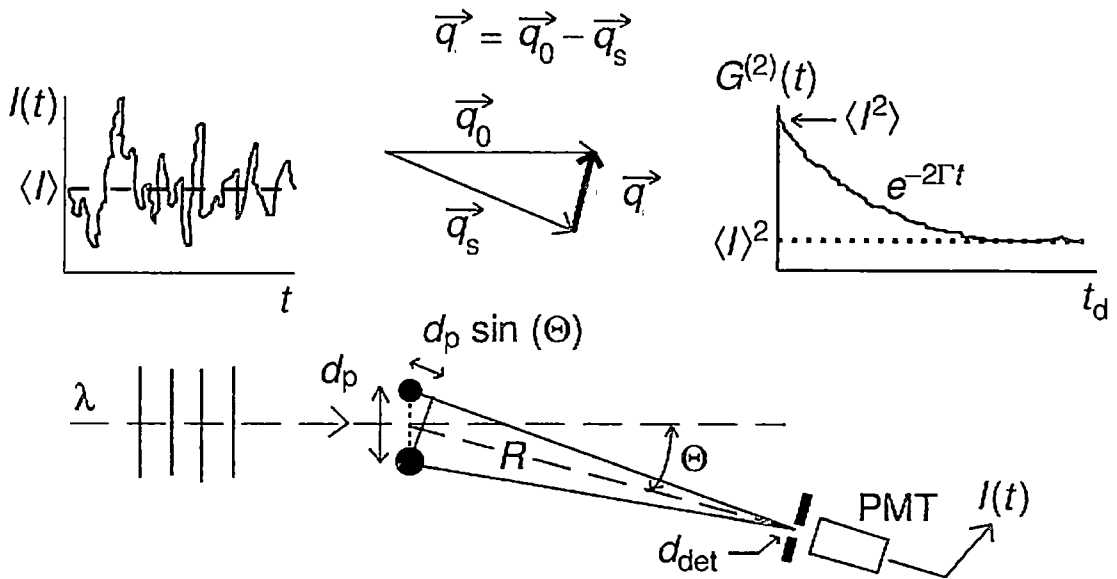


Figura 7. Parámetros y funciones básicas en DLS. Dónde: $I(t)$ es la intensidad de la luz dispersada fluctuante alrededor de su promedio $\langle I \rangle$; \vec{q}_0 , \vec{q}_s son los vectores de onda de la luz en las direcciones incidente y dispersada, respectivamente que definen el vector de dispersión \vec{q} mediante el triángulo de vectores; $G^{(2)}(t)$ es la función de auto-correlación de la intensidad dispersada que en función del tiempo de retardo t_d presenta un decaimiento exponencial; λ es la longitud de onda de la luz incidente, Θ es el ángulo de dispersión (que posteriormente llamaremos 2θ), R es la distancia 'partícula-detector PMT (tubo foto-multiplicador)', d_p es el tamaño promedio de partícula (distancia máxima entre dos puntos dispersores internos de la partícula) y d_{det} es el diámetro del área de detección de foto-cuentas (o intensidad dispersada). Figura tomada de [29].

Un foto-multiplicador PMT (detector) cuenta sólo los fotones dispersados (ver Figura 8) a un ángulo de dispersión $\Theta = 90^\circ$ (debido a la ubicación del detector a esa misma dirección) que llegan a su superficie y los convierte luego en pulsos eléctricos (un pulso por fotón) que después serán trabajados por un correlador digital que funciona para hallar la función de auto-correlación.

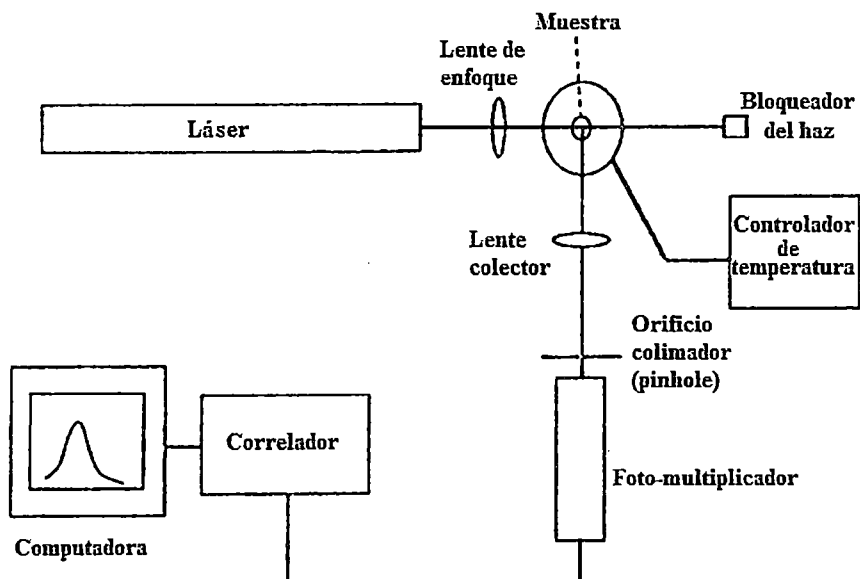


Figura 8. Instrumentación típica de un equipo DLS. Figura tomada de [30].

Un correlador digital divide el tiempo total del experimento T en intervalos de tiempo igualmente espaciados $\Delta\tau$ (tiempo de muestreo) y cuenta el número de fotones detectados (foto-cuentas) en cada intervalo j . Ver Figura 9

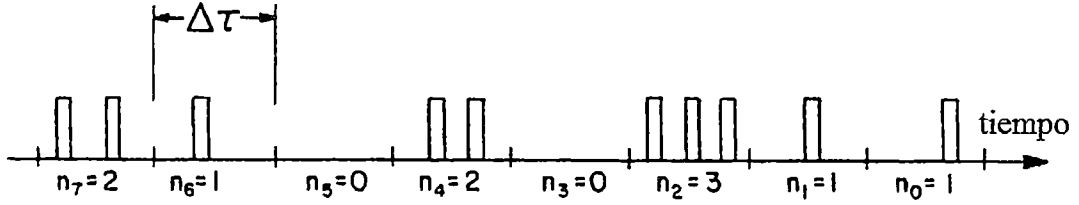


Figura 9. Tren de pulsos procesados por un correlador digital. Las marcas pequeñas representan el 'clock' del tiempo de muestreo, el cual divide el tiempo en intervalos $\Delta\tau$. Figura tomada de [31].

El número de fotones (o tasa de foto-cuentas $n(t)$), es proporcional a la intensidad dispersada $I(R, t')$. Según la ecuación:

$$n(t) = \sigma \int_A d^2 R \int_t^{t+\delta t} I(R, t') dt' \quad (1)$$

Dónde R es la posición del fotocátodo del foto-multiplicador PM (PhotoMultiplier), sobre el cual la intensidad $I(R, t)$ cae en el tiempo t , σ es la constante de eficiencia cuántica del fotocátodo y la integración espacial es sobre el área A del fotocátodo (ver página 49, de [32]).

2.2.1.1 Función de auto-correlación de la intensidad

Las funciones de correlación son funciones estocásticas (aleatorias), cuyos valores están determinados por una distribución de probabilidad y no tienen forma funcional aparente (ver, [33]). La definición matemática de la función de auto-correlación de la intensidad es:

$$G_2(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{t_0}^{t_0+T} I(t)I(t+\tau)dt \quad (2)$$

Que equivalentemente, también puede ser denotada como el valor promedio en el tiempo del producto de las intensidades dispersadas $I(t_0)I(t_0 + \tau)$, es decir:

$$G_2(\tau) = \langle I(t_0)I(t_0 + \tau) \rangle_t \quad (3)$$

Dónde T es la duración del experimento, t_0 es un tiempo inicial de medición (cualquiera), τ es el tiempo de retardo entre dos intensidades (dispersadas) medidas. Note que: ' $\langle \rangle_t$ ' representa el valor promedio en el tiempo. Sistemas en equilibrio termodinámico (como el presente experimento), exhiben funciones de auto-correlación estacionarias, es decir, no dependientes del valor inicial t_0 (ver página 10, de [33]), por lo tanto:

$$G_2(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t)I(t + \tau)dt \quad (4)$$

Que análogamente a la ecuación (2), puede ser expresado por (ver página 87 de [34]):

$$G_2(\tau) = \langle I(0)I(\tau) \rangle_t \quad (5)$$

La función de auto-correlación de la intensidad $G_2(\tau)$ es una función del tiempo de retardo, bajo el límite de un tiempo muy grande de medición, esto es para asegurar que se toma también en cuenta, la no correlación dentro de ésta (es decir, $G_2(\tau_x) = 0$, donde $\tau_x \leq T$). Experimentalmente nuestro T fue 20 s ($\gg \tau_x = 5,63$ ms). En el experimento DLS, como se dijo antes, el tubo fotomultiplicador PM cuenta 'sólo' los fotones dispersados en un ángulo de dispersión $2\theta = 90^\circ$. Por lo tanto, la función de auto-correlación de intensidad, puede ser reemplazada calculando (realizado por un correlador digital) en tiempo real la función de auto-correlación de fotocuentas, de la siguiente forma:

$$G_2(\tau_j) = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{1}{N} \sum_{i=0}^N n_i n_{i+j} \quad (6)$$

Con $N = N_s - j$, siendo N_s la duración del experimento en unidades del tiempo de muestreo $\Delta\tau$ (es decir, $T = N_s \Delta\tau$) y $\tau_j = j\Delta\tau$ es el tiempo de retardo entre dos fotocuentas medidas n_i y n_{i+j} . Aquí $j = 0, 1, 2, \dots, m - 1$ y $m \ll N$ (m es el número de canales del correlador), como se observa $m - 1$ es el número de tiempo de retardo más largo con incremento de tiempo de retardo $\Delta\tau$. Por lo tanto, el tiempo de retardo más largo es: $\tau_{m-1} = (m - 1)\Delta\tau$. La ecuación (6) es una estimación imparcial para $G_2(\tau_j)$, donde el factor $\frac{1}{N}$ es introducido para igualar las sumas en diferentes canales (un canal es una unidad de almacenamiento en la memoria del correlador digital). Si N_s es suficientemente grande (nuestro equipo tiene: $N_s = 10^7$ ver [35]), nosotros lo acomodamos sin este factor, es decir:

$$G_2(\tau_j) = \sum_{i=0}^{N_s} n_i n_{i+j} \quad (7)$$

Las ecuaciones (6) o (7) nos determinan los valores de la función $G_2(\tau_j)$ para cada canal j , la cual es una relación funcional de G_2 con τ_j , permitiéndonos ya esbozar una gráfica, sin embargo, es práctico normalizar esta función primero. Además, de las ecuaciones (1) y (4), se puede obtener la función de auto-correlación de la intensidad, reemplazando los valores experimentales de σ y A .

2.2.1.2 El movimiento Browniano y el coeficiente de difusión

Las nanopartículas de CuO en el agua son coloidales y por lo tanto presentan movimiento Browniano. Debido a este movimiento Browniano, las partículas presentan un coeficiente de difusión D , la cual está relacionado inversamente con el tamaño hidrodinámico d de estas (ecuación de Stokes-Einstein), es decir:

$$D = \frac{k_B T}{3\pi\eta d} \quad [\text{cm}^2/\text{s}] \quad (8)$$

Donde $k_B = 1,38054 \times 10^{-16}$ erg/°C es la constante de Boltzman, $T = 25^\circ\text{C}$ es la temperatura del laboratorio, $\eta = 0,890$ cP es la viscosidad del agua ($1 \text{ cP} = 10^{-2} \text{ P}$, $1 \text{ P} = 10^{-1} \text{ N.s/m}^2$). Entonces, el equipo determina los valores de ‘tamaños de partícula (diámetros hidrodinámicos)’ a partir de los coeficientes de difusión.

2.2.1.3 Modelo de decaimiento exponencial de la función de auto-correlación de la Intensidad

El modelo utilizado por el equipo, para la función $G_2(\tau)$ (definida por (4) o (5)), es una ecuación del tipo decaimiento exponencial. Este ‘ajuste’ es satisfecho, bajo la condición de suspensión diluida de esferas monodispersas (ver: [29], [30], [36], [37], [38]):

$$G_2(\tau) = Ae^{-2\Gamma\tau} + B \quad (9)$$

Donde A y B ($B = \langle I \rangle^2$) son constantes instrumentales, siendo llamados la amplitud espectral y la línea base respectivamente. El parámetro Γ es definido por:

$$\Gamma = q^2 D \quad [\text{rad/s}] \quad (10)$$

Donde q es el módulo del vector de dispersión, la cual si utilizamos la ecuación (94) de la ley de Bragg (ver ANEXO 2) que toma en cuenta los valores de la longitud de onda λ de la luz en el vacío y el índice de refracción n_0 del medio heterogéneo donde se propaga la luz [29], [36] (la solución acuosa de nanopartículas de CuO), tenemos:

$$q = \frac{4\pi n_0 \sin \theta}{\lambda} \quad (11)$$

Donde los valores de n_0 fluctúan entre los valores del índice de refracción del agua ($n_0 = 1,33$; la solución sin nanopartículas) y de las nanopartículas de CuO ($n_0 = 2,71$) debido a que la luz interactúa con un medio heterogéneo (formado por agua y nanopartículas de CuO). Estas fluctuaciones en los valores del índice de refracción, permiten que la determinación de la estructura de las partículas coloidales mediante DLS sea posible. Los otros parámetros de esta ecuación son constantes: $\lambda = 658 \text{ nm}$ es la longitud de onda del láser (luz visible en la cercanía del rojo) en el vacío, $2\theta = 90^\circ$ es el ángulo de dispersión y D es el coeficiente de difusión ya definido por (8).

2.2.1.4 Normalización de la función de ajuste de la auto-correlación de la intensidad

Sea $\beta = A/B$, entonces haciendo un reacomodo simple [37] a la ecuación (9), tenemos:

$$C(\tau) = \frac{G_2(\tau) - B}{B} = \beta e^{-2\Gamma\tau} \quad (12)$$

La siguiente, muestra la gráfica de esta función normalizada, la cual es la ‘materia prima’ para obtener la distribución de tamaños (hidrodinámicos) de las partículas.

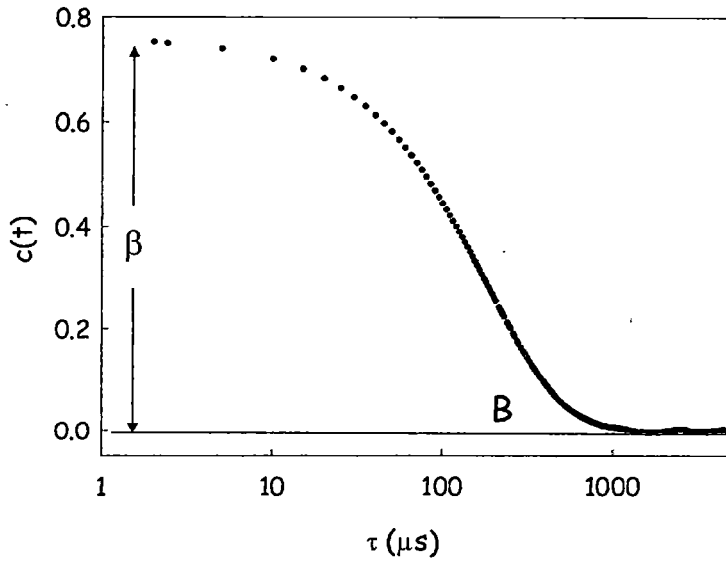


Figura 10. Función de Ajuste normalizada de la auto-correlación de la intensidad. B debería tomar valores muy cercanos a cero y β es usualmente menor que uno.

Sacando logaritmo neperiano a ambos lados de la expresión (12):

$$\ln C(\tau) = \ln \left(\frac{G_2(\tau) - B}{B} \right) = \ln \beta - 2\Gamma\tau \quad (13)$$

O reemplazando las correspondientes definiciones:

$$\ln C(\tau) = \ln \beta - 2q^2 D\tau \quad (14)$$

La cual es una ecuación lineal en variables logarítmicas.

2.2.1.5 Función de auto-correlación del campo y la relación de Seigert

El campo recibido puede ser expresado como la suma de componentes (ver: página 89, de [38], [34]), de frecuencias positiva ($\omega > 0$) y negativa ($\omega < 0$, pero, para una mayor generalización, tomaremos $\omega \leq 0$), según:

$$E(t) = E^+(t) + E^-(t) \quad (15)$$

Donde $E^+(t)$ y $E^-(t)$, son definidos por descomposición de Fourier. Por lo tanto:

$$E^+(t) = \sum_{\omega>0} a_{\omega}^* e^{-i\omega t} \quad (16)$$

$$E^-(t) = \sum_{\omega\leq 0} a_{\omega} e^{i\omega t} \quad (17)$$

Con $a_{\omega} = a_{-\omega}^* = \frac{1}{T} \int_0^T E(t) e^{-i\omega t} dt$.

2.2.1.5.1 Función de auto-correlación del campo

Las fluctuaciones en el tiempo del campo de la onda dispersada (luz), pueden ser descritas mediante funciones de correlación [38]. La función de auto-correlación (estacionaria) de la intensidad del campo eléctrico (o magnético) dispersado, es definido por:

$$G_1(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T E^+(t) E^-(t + \tau) dt \quad (18)$$

$$G_1(\tau) = \langle E(0)^+ E(\tau)^- \rangle_t \quad (19)$$

Donde el campo E^+ y E^- ya fueron definidos arriba. Cabe recalcar que el fotodetector no responde al campo, sino al cuadrado del campo, es decir, a la intensidad ($I(t) = E^+(t)E^-(t) = |E(t)|^2$). Las funciones de auto-correlación de intensidad y de campo eléctrico se pueden normalizar, sus formas normalizadas son, respectivamente:

$$g_2(\tau) = \frac{G_2(\tau)}{\langle I \rangle^2} \quad (20)$$

$$g_1(\tau) = \frac{G_1(\tau)}{\langle I \rangle} \quad (21)$$

Dónde: $\langle I \rangle^2 = B$ ya fue definida en la ecuación (9).

2.2.1.5.2 Relación de Seigert

Para un campo óptico E , que obedece la estadística Gaussiana (modulado aleatoriamente, ver: páginas 88 y 89 de [38], [37]) y es estacionario, ambas funciones de auto-correlación están relacionadas mediante la relación de Seigert:

$$G_2(\tau) = B[1 + \beta |g_1(\tau)|^2] \quad (22)$$

Dónde β es una constante instrumental, cuyo valor esta entre 0 y 1.

2.2.1.6 Partículas monodispersas

Partículas monodispersas son todas aquellas partículas que dentro del volumen de dispersión tienen el mismo tamaño, forma y estructura interna (idénticas) por lo que éstas se dispersan de igual manera en un fluido. Debido a la difusión de partículas (del movimiento Browniano) y a partir de la ley de Fick con la ley de conservación de la masa, se deduce la siguiente expresión (ver página 1396, de [39]):

$$g_1(\tau) = S(q) e^{-\Gamma \tau} \quad (23)$$

Dónde:

$$S(q) = 1 + \rho \int [g(r) - 1] e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} d^3 \quad (24)$$

$S(q)$ es llamado el factor de estructura estático; ρ es la densidad del número de partículas ($\int \rho dr^3 = N$, N número de partículas locales), $g(r)$ es la función de distribución radial (para líquidos, su forma típica se ve en la Figura 11), ver página 19 de [33]):

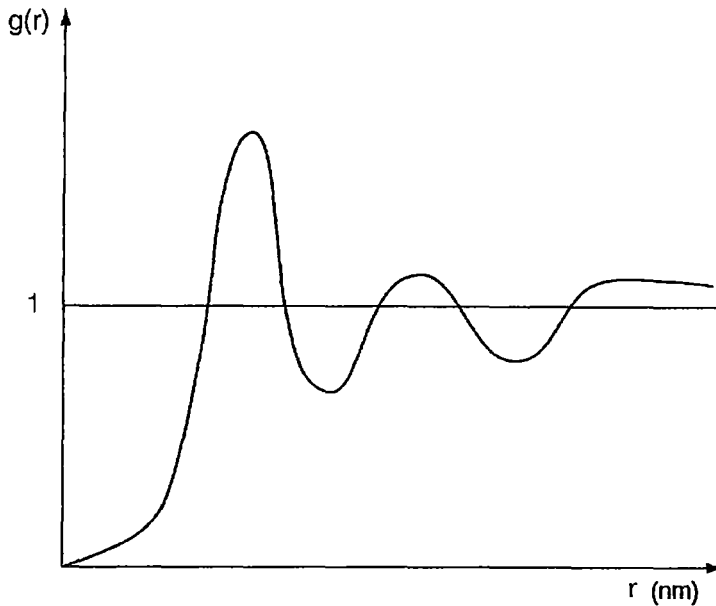


Figura 11. Forma típica de $g(r)$ para líquidos. Figura tomada de [33].

Para partículas esféricas monodispersas, en una **suspensión diluida** que sufren movimiento Browniano $S(q) = 1$ para todo q . es decir:

$$g_1(\tau) = e^{-\Gamma\tau} \quad (25)$$

2.2.1.7 Partículas polidispersas

Partículas polidispersas son aquellas que se dispersan de manera diferente en el fluido que las contiene y esto es debido a que tienen diferente tamaño y/o forma. Para sistemas de partículas esféricas polidispersas también en suspensión diluida, la ecuación anterior debe ser reemplazada por:

$$g_1(\tau) = \int_0^{\infty} G(\Gamma) e^{-\Gamma\tau} d\Gamma \quad (26)$$

Donde $G(\Gamma)$ es la función densidad de probabilidad normalizada en el espacio Γ , es decir:

$$\int_0^{\infty} G(\Gamma) d\Gamma = 1 \quad (27)$$

La expresión (26), nos dice que: la función de auto-correlación del campo de un sistema de partículas polidispersas, es la suma de todas las contribuciones (exponenciales) de las funciones de auto-correlación del campo de todas las partículas considerándolas como si fueran monodispersas para cada tamaño.

La intensidad de la luz dispersada por una suspensión de partículas con diámetro d es proporcional al número de partículas N , el cuadrado de la masa de las partículas M , y

el factor $P(q, d)$ que depende del tamaño, ángulo de dispersión, índice de refracción, y longitud de onda (y por lo tanto depende implícitamente de la función Γ , ver [40] y [41]):

$$G(\Gamma) \approx N(d)M^2P(q, d) \quad (28)$$

Para partículas sólidas $G(\Gamma) \approx N(d)d^6$ y para partículas en forma de capas $G(\Gamma) \approx N(d)d^4$ (ver, [42]).

2.2.1.8 Expansión de Cumulantes

Este método propuesto por Koppel [43], [37], [42], nos permite encontrar la función de auto-correlación para sistemas de partículas con cierto grado de polidispersidad, es decir, obtiene mejores resultados para sistemas monodispersos y monodispersos más anchos, hallando la distribución de valores del parámetro Γ asumiendo sólo que la distribución de valores de Γ es del tipo exponencial, con un pico alrededor de un $\bar{\Gamma}$ (el valor medio de Γ). De lo dicho anteriormente, podemos hacer el siguiente reacomodo:

$$e^{-\Gamma\tau} = e^{-\bar{\Gamma}\tau} e^{-(\Gamma-\bar{\Gamma})\tau} \quad (29)$$

Y con ayuda de la serie: $e^{-x} \approx 1 - x + \frac{x^2}{2!} - \frac{x^3}{3!} + \dots$ expandimos $e^{-(\Gamma-\bar{\Gamma})\tau}$, quedándonos:

$$e^{-\Gamma\tau} \approx e^{-\bar{\Gamma}\tau} \left\{ 1 - (\Gamma - \bar{\Gamma})\tau + \frac{(\Gamma - \bar{\Gamma})^2}{2!} - \frac{(\Gamma - \bar{\Gamma})^3}{3!} + \dots \right\} \quad (30)$$

Reemplazando, la ecuación (30) en (26):

$$g_1(\tau) = e^{-\bar{\Gamma}\tau} \int_0^\infty G(\Gamma) \left\{ 1 - (\Gamma - \bar{\Gamma})\tau + \frac{(\Gamma - \bar{\Gamma})^2}{2!} - \frac{(\Gamma - \bar{\Gamma})^3}{3!} + \dots \right\} d\Gamma \quad (31)$$

Definiendo las integrales:

$$k_0 = \int_0^\infty G(\Gamma) d\Gamma = 1 \quad (32)$$

$$k_1 = \int_0^\infty G(\Gamma)(\Gamma - \bar{\Gamma}) d\Gamma = 0 \quad (33)$$

$$k_2 = \int_0^\infty G(\Gamma)(\Gamma - \bar{\Gamma})^2 d\Gamma \quad (34)$$

$$k_3 = \int_0^\infty G(\Gamma)(\Gamma - \bar{\Gamma})^3 d\Gamma \quad (35)$$

Es decir, para la n-ésima integral:

$$k_n = \int_0^\infty G(\Gamma)(\Gamma - \bar{\Gamma})^n d\Gamma \quad (36)$$

Entonces:

$$g_1(\tau) = e^{-\bar{\Gamma}} \left\{ 1 - 0 + \frac{k_2}{2!} \tau^2 - \frac{k_3}{3!} \tau^3 + \dots \right\} \quad (37)$$

Sacando logaritmos neperianos a ambos lados de la expresión anterior:

$$\ln g_1(\tau) = \ln \left(e^{-\bar{\Gamma}} \left\{ 1 - 0 + \frac{k_2}{2!} \tau^2 - \frac{k_3}{3!} \tau^3 + \dots \right\} \right) \quad (38)$$

Por otro lado, de la relación de Seigert, la ecuación (12) (la que define a $C(\tau)$) se convierte en:

$$\frac{G_2(\tau) - B}{B} = \beta |g_1(\tau)|^2 \quad (39)$$

Por lo tanto, sacando logaritmos neperianos a ambos lados de la ecuación anterior:

$$\frac{1}{2} \ln \left\{ \frac{G_2(\tau) - B}{B} \right\} = \frac{1}{2} \ln \beta + \ln |g_1(\tau)| \quad (40)$$

Reemplazando la ecuación (38) en la expresión (40), notando que $\ln ab = \ln a + \ln b$, además de que $\ln(1+x) \approx x - \frac{1}{2}x^2$, nos queda finalmente:

$$\ln \left\{ \frac{G_2(\tau) - B}{B} \right\} = \ln \beta - 2\bar{\Gamma}\tau + k_2\tau^2 - \frac{k_3}{3}\tau^3 + \dots \quad (41)$$

O equivalentemente:

$$\ln C(\tau) = \ln \beta - 2\bar{\Gamma}\tau + k_2\tau^2 - \frac{k_3}{3}\tau^3 + \dots \quad (42)$$

Los coeficientes de las potencias de τ , son llamados **cumulantes** de la distribución. En la práctica sólo los cumulantes $\bar{\Gamma}$ y k_2 son útiles, y estos son idénticos a los momentos de la distribución. (En general, el primer momento de cualquier distribución es la media y el segundo es la varianza, ver [41]). Por lo tanto, la media de la distribución de valores $\bar{\Gamma}$ es:

$$\bar{\Gamma} = \bar{D}q^2 \quad (43)$$

y la variancia μ , es:

$$\mu = k_2 = (D^2 - \bar{D}^2)q^4 \quad (44)$$

Dónde: q es el módulo del vector de dispersión, D es el coeficiente de difusión, y \bar{D} es el valor promedio del coeficiente de difusión.

De las expresiones (43) y (8), se puede definir el **diámetro efectivo** como el valor medio del diámetro hidrodinámico:

$$d_{efectivo} = \frac{k_B T q^2}{3\pi\eta \bar{\Gamma}} \quad (45)$$

Por otro lado, la magnitud y las unidades de μ no son inmediatamente útiles para caracterizar una distribución de tamaños, además distribuciones con el mismo ancho relativo (misma forma) pueden tener diferentes medias y varianzas, por eso, es más útil definir el índice de polidispersidad Q :

$$Q = \frac{k_2}{\bar{I}^2} \quad (46)$$

Q no tiene unidades. Si $0 < Q \leq 0,020$ entonces el sistema es considerado monodisperso; si $0,020 < Q \leq 0,080$, el sistema es polidisperso estrecho y si $0,080 < Q$, el sistema es polidisperso ancho [41].

2.2.1.9 Momentos de la distribución de coeficientes de difusión y diámetros promedios

Las expresiones (28) y (43), nos permiten definir los momentos de una distribución de coeficientes de difusión y estas son:

$$\bar{D} = \frac{\sum_i D_i N_i M_i^2 P_i(q_i, d_i)}{\sum_i N_i M_i^2 P_i(q_i, d_i)} \quad (47)$$

$$\bar{D}^2 = \frac{\sum_i D_i^2 N_i M_i^2 P_i(q_i, d_i)}{\sum_i N_i M_i^2 P_i(q_i, d_i)} \quad (48)$$

Aquí las sumas (reemplazan a integrales, porque las partículas son finitas) son llevadas a cabo sobre todas las partículas que contribuyen a la dispersión.

Para partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda de la luz (dispersión de Rayleigh: $d \ll \lambda$), y para todas las partículas donde las mediciones han sido extrapoladas a ángulo cero (por ejemplo SAXS), $P_i(q_i, d_i) = 1$. Entonces:

$$\bar{D} = \langle D_z \rangle = \frac{\sum_i D_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i^2} \quad (49)$$

Esta expresión es llamada el promedio-z del coeficiente de difusión (ponderamiento-z significa el ponderamiento más alto después al del volumen). Puesto que el coeficiente de difusión es inversamente proporcional al diámetro hidrodinámico, el promedio-z inverso, es:

$$\left\langle \frac{1}{d_z} \right\rangle = \frac{\sum_i \left(\frac{1}{d_i} \right) N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i^2} \quad (50)$$

Como M_i es proporcional a d_i^3 , entonces, podemos definir el tamaño promedio-z inverso:

$$\langle d_{1/z} \rangle = \left\langle \frac{1}{d_z} \right\rangle^{-1} = \frac{\sum_i N_i d_i^6}{\sum_i N_i d_i^5} \quad (51)$$

Donde este promedio, no es otra cosa que el diámetro efectivo definido en la ecuación (45). Este diámetro es obtenido del experimento DLS

$$d_{efectivo} = \langle d_{1/z} \rangle \quad (52)$$

Por otro lado, dividiendo el numerador y el denominador del término derecho de la expresión (51) por el número total de partículas ($N = \sum_i N_i$) tenemos, en notación de promedios:

$$\langle d_{1/z} \rangle = \frac{\langle d^6 \rangle}{\langle d^5 \rangle} \quad (53)$$

Por otro lado, también de manera análoga podemos obtener, los diámetros promedios:

Por número:

$$\langle d_N \rangle = \frac{\sum_i d_i N_i}{\sum_i N_i} \quad (54)$$

Por área:

$$\langle d_A \rangle = \frac{\sum_i d_i^3 N_i}{\sum_i d_i^2 N_i} \quad (55)$$

Por peso (masa o volumen):

$$\langle d_W \rangle = \frac{\sum_i d_i^4 N_i}{\sum_i d_i^3 N_i} \quad (56)$$

Los cuatro promedios son igualmente descriptivos para la misma muestra. Uno puede preferir una de éstas dependiendo de la aplicación particular: d_N cuando los números de partículas son importantes; d_A cuando el área superficial es importante; d_W cuando la masa o el volumen son importantes; y $d_{efectivo}$ cuando son importantes las propiedades dependientes de la dispersión de la luz. Examinando estas ecuaciones se puede mostrar que:

$$\langle d_N \rangle \leq \langle d_A \rangle \leq \langle d_W \rangle \leq d_{efectivo} \quad (57)$$

La igualdad ocurre sólo en el caso de partículas esféricas monodispersas. Podemos expresar el índice de polidispersidad Q , en función de $d_{1/z}$, para esto, partimos de la definición de Q y empleando propiedades de promedios obtenemos:

$$\frac{\langle d_{1/z} \rangle^2}{\langle d_{1/z}^2 \rangle} = 1 + Q \quad (58)$$

2.2.1.10 Modelos de distribución de tamaños de partícula

2.2.1.10.1 Modelo de distribución Log-normal

Esta distribución es utilizada en el equipo DLS (ver [44], [45] y [46]) para mostrarnos como sería la distribución de tamaños de nanopartículas de CuO en solución bajo este modelo Log-normal. La distribución Log-normal es expresada por la siguiente función:

$$dI = \frac{1}{\ln \sigma_g \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(\ln d - \ln X)^2}{\ln \sigma_g \sqrt{2}}} d(\ln d) \quad (59)$$

Donde los dos parámetros que la definen son σ_g y X . σ_g es conocida como la desviación estándar geométrica GSD (Geometric Standard Desviation) de $\ln d$, X es el diámetro medio geométrico ($X = (d_1 d_2 d_3 \dots d_n)^{\frac{1}{n}}$). Note que esta distribución de $\ln d$ es ponderada por la intensidad dispersada relativa I .

Para esta distribución se demuestra que $Q = \sigma^2$, y de ésta con (58) se demuestran los siguientes valores promedios en función de Q y $d_{1/z}$

$$\langle d_N \rangle = \frac{\langle d_{1/z} \rangle}{[1 + Q]^5} \quad (60)$$

$$\langle d_A \rangle = \frac{\langle d_{1/z} \rangle}{[1 + Q]^3} \quad (61)$$

$$\langle d_W \rangle = \frac{\langle d_{1/z} \rangle}{[1 + Q]^2} \quad (62)$$

Dónde:

$$1 + Q = e^{(\ln \sigma_g)^2} \quad (63)$$

O de manera equivalente (63) también puede ser expresado como $\sigma_g = e^{\sqrt{\ln(1+Q)}}$. Note, que estas expresiones en (60, 61, 62) verifican la desigualdad (57).

Cabe recalcar que el equipo DLS utilizado, utiliza para sus resultados (distribución log-normal) las siguientes expresiones para σ_g y X :

$$\sigma_g = e^{\sqrt{\ln(1+Q)}} \quad (64)$$

$$X = \langle d_{1/z} \rangle \quad (65)$$

Es decir, el diámetro X es directamente $\langle d_{1/z} \rangle$ en la distribución log-normal ponderado por la intensidad (ver, sin embargo [41]). Por otro lado, cuando se definen las otras distribuciones log-normales (ponderadas por número, área y volumen) las

expresiones $\langle d_N \rangle$, $\langle d_A \rangle$ y $\langle d_W \rangle$ deben ser reemplazadas (en vez de $\langle d_{1/z} \rangle$) como valores X (para cada ponderamiento) considerando siempre un mismo σ_g y haciendo un ligero cambio en la ecuación (59), es decir cambiando I por N o A o W , según el tipo de ponderamiento con que se quiera trabajar.

2.2.1.10.2 Distribución Multimodal

Esta distribución es utilizada también en el equipo DLS (ver, [41]) y es la otra alternativa de posible distribución de tamaños de nanopartícula. La distribución Multimodal se basa en el método (algoritmo) **Non-Negatively constrained Least Squares (NNLS)** propuesta por Grabowski y Morisson (ver [47], también las páginas 1404 y 1405 de [39], y también ver [48]).

Debido a que el conteo de foto-cuentas es un proceso finito la ecuación (26) debe ser escrita en su forma discreta

$$g_1(\tau_i) = \sum_{i=1}^M a_i e^{-\Gamma_i \tau_i} \quad (66)$$

Ahora el problema es resolver numéricamente su ecuación inversa para obtener la distribución de valores Γ_i , para esto, se debe minimizar la siguiente expresión:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^M [g_1(\tau_i) - a_i e^{-\Gamma_i \tau_i}]^2 \quad (67)$$

Sujeto a las siguientes restricciones: $a_i \geq 0$ para $1 \leq i \leq M$. Además es necesario asumir los valores de las constantes de decaimiento Γ_i para que el error únicamente determinado en cada constante sea uniforme sobre todo el rango de estas constantes de decaimiento asumidas.

La constante de decaimiento máximo es:

$$\Gamma_M = \frac{1}{\Delta\tau} \quad (68)$$

Dónde: $\Delta\tau$ está definida en la Figura 9, y la constante de decaimiento mínimo es:

$$\Gamma_1 = \frac{1}{20} \bar{\Gamma} \quad (69)$$

Donde $\bar{\Gamma}$ es la pendiente del logaritmo de los datos medidos $g_1(\tau_i)$. Los pasos seguidos por este algoritmo se pueden resumir de la siguiente manera:

- (i) Se escoge el número de constantes de decaimiento M , usualmente en el rango: $20 \leq M \leq 50$.
- (ii) Se determina los valores de las constantes de decaimiento dentro de los límites impuestos Γ_1 y Γ_M , según:

$$\Gamma_i = \frac{1}{(ai + b)^2} \quad (1 \leq i \leq M) \quad (70)$$

Dónde a y b son determinados a partir de los valores Γ_1 y Γ_M . La ecuación (70) asegura que la diferencia entre las constantes de decaimiento sea uniforme para todos los valores de Γ_i .

- (iii) Se calcula los valores de cada termino exponencial $e^{-\Gamma_i \tau_i}$ y se compara con los valores medidos de $g_1(\tau_i)$.
- (iv) Se usa la rutina de mínimos cuadrados no negativos NNLS, para encontrar los valores de a_i que minimizan la ecuación (67) sujeta a la restricción no negativa.
- (v) Se hace una distribución como un histograma asociando cada a_i a un rectángulo cuya base tiene los extremos: $\frac{1}{2}(\Gamma_{i-1} + \Gamma_i)$ y $\frac{1}{2}(\Gamma_i + \Gamma_{i+1})$.
- (vi) Finalmente se invierten los valores de Γ_i mediante la ley de Einstein-Stokes, para obtener los diámetros hidrodinámicos d_i dibujándolo como un nuevo histograma con valores de frecuencias normalizadas iguales a a_i/N (dónde $N = \sum_i a_i$) y con sus respectivos tamaños de paso en los intervalos: $\frac{1}{2}(d_{i-1} + d_i)$ y $\frac{1}{2}(d_i + d_{i+1})$.

Note que las ecuaciones (26) y (66) pertenecen a la clase de transformaciones lineales (Laplace) conocidas como ‘mal condicionadas’. En la presencia de cualquier ruido son posibles muchas soluciones diferentes para la forma funcional de $G(\Gamma)$ (o a_i). Una medición repetida en la misma muestra dará $g_1(\tau)$ ligeramente diferente con contribución de ruido ligeramente diferente, resultando en un diferente $G(\Gamma)$ (o a_i) y de aquí en una distribución de tamaños de partícula diferente. Este comportamiento puede presentar los resultados de un instrumento DLS aparentemente ‘no repetibles’. Por estas razones fundamentales la técnica DLS es una técnica de baja resolución para medir tamaños de partículas.

2.2.2 Introducción a la técnica: Dispersión de rayos X a bajos ángulos SAXS (Small angle X-ray scattering)

Las componentes básicas de todos los instrumentos SAXS son una fuente de rayos X (ánodo rotante, sincrotrón, etc.), un sistema de colimación (que permite seleccionar sólo rayos X de una sola longitud de onda), una cámara donde se ubica la muestra, un bloqueador del haz primario de rayos X y un sistema de detección (detectores). La fuente irradia la muestra, y el detector mide la radiación saliente de aquella en un cierto rango de ángulos. El sistema de colimación hace que el haz se vuelva estrecho y define la posición del ángulo cero. El bloqueador del haz primario previene que el haz incidente (intensidad en el ángulo de dispersión 0°) intenso golpee al detector bloqueándolo para que no dañe al sistema de detectores y para que no opaque las otras intensidades dispersadas relativamente más débiles [49-51].

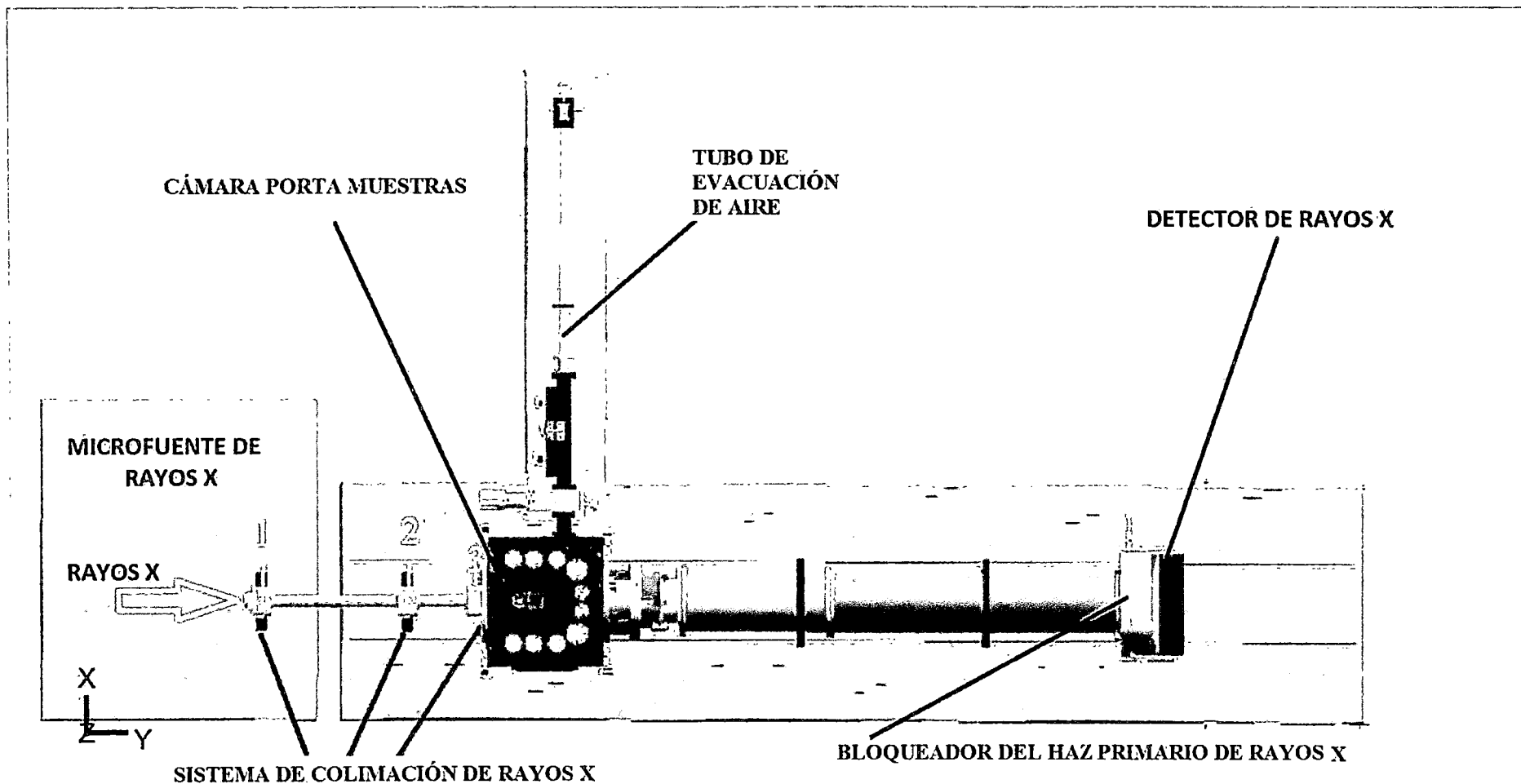


Figura 12. Esquema mostrando las componentes del equipo usado para la caracterización mediante rayos X a bajos ángulos, sistema SWAXS (SAXS y WAXS) del XMILab (IC-Bari). Figura tomada de [50].

El siguiente esquema describe como se obtiene un perfil de dispersión SAXS en un experimento típico.

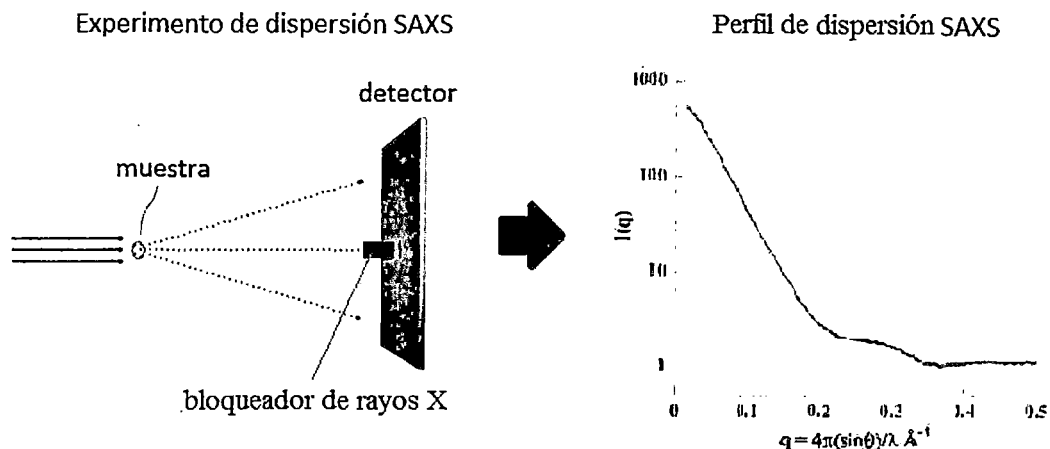


Figura 13. Los rayos X al interactuando con una muestra y su correspondiente perfil de dispersión. Los rayos X son dispersados por los electrones de las partículas de la muestra y solamente son permitidos de ser detectados aquellas intensidades dispersadas que provienen de ángulos de dispersión pequeños ($0^\circ < \theta < 10^\circ$). Finalmente se obtiene un perfil de dispersión SAXS de la forma como se muestra en la gráfica.

Los rayos X cuando interactúan con la materia se dispersan y cualquier medio que interactúa con éstos, dependiendo del fenómeno de interacción de rayos X que se quiera utilizar para la caracterización (que se basan en la dispersión elástica de rayos X, como por ejemplo: XRD, SAXS, USAXS), se les puede considerar a todos estos medios como si tuvieran un índice de refracción constante y aproximadamente igual a 1 (aunque como se sabe esto no es totalmente cierto ya que $n < 1$) y es debido a esto que a diferencia de DLS, no es necesario que las funciones de auto-correlación de intensidad en SAXS sean promediados en el tiempo sino directamente en el espacio recíproco q (compare las ecuaciones (3) y (79)). La característica más importante en SAXS es que el rango de ángulos de dispersión es pequeño y debido a la relación inversa entre ángulo y distancia entre dispersores en la ley de Bragg, entonces a ángulos pequeños podemos ‘medir’ tamaños de partícula d relativamente grandes (~ 100 nm). Además a ángulos pequeños obtenemos linealidad entre q y θ , es decir $q = 4\pi/\lambda \times \theta$, entonces podemos obtener fácilmente estos vectores q a partir de medir los ángulos de dispersión 2θ .

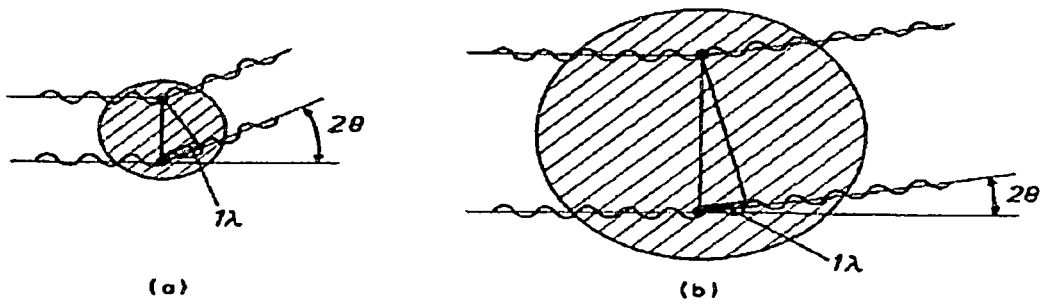


Figura 14. Partículas dispersoras de distintos tamaños y sus respectivos ángulos de dispersión. (a) Para una Partícula esférica pequeña. (b) Para una partícula esférica más grande Figura tomada de [51].

La dispersión SAXS es dependiente de la geometría de las zonas de **densidad-electrón** no homogénea que hay en el material; es decir, siempre y cuando existan dentro del material puntos con diferente número de electrones por unidad de volumen (como por ejemplo partículas coloidales dispersas en una solución acuosa), entonces es posible obtener resultados mediante esta técnica.

El objetivo de SAXS es hallar la estructura (tamaño, forma, estado de agregación, etc.) de las partículas (coloidales) en un medio conociendo la distribución de electrones en la partícula a partir de analizar los perfiles de dispersión (Intensidad dispersada vs ángulo de dispersión) detectados.

Es necesario definir una función densidad-electrón $\rho(\vec{r})$ como el número de electrones por volumen unidad en la posición \vec{r} . Entonces un elemento de volumen dV en \vec{r} contiene $\rho(\vec{r})dV$ electrones.

2.2.2.1 Amplitud de dispersión de rayos X y la densidad-electrón

A partir de la primera aproximación de Born aplicado a la dispersión elástica de rayos X (ver [52]), se obtiene la siguiente función de la amplitud de dispersión del volumen total (de la partícula en una orientación fija en el vacío) irradiado V en función de su $\rho(\vec{r})$, dado por

$$A(\vec{q}) = \int_V \rho(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}} dv \quad (71)$$

Vemos que la amplitud A es la transformada de Fourier de la distribución densidad-electrón ρ . Esta es la amplitud de la onda dispersada bajo las suposiciones de la teoría cinemática de los rayos X, desatendiendo la dispersión múltiple y los efectos de absorción [51-56].

Tomando en cuenta las propiedades matemáticas de la transformada de Fourier, la densidad-electrón $\rho(\vec{r})$ puede ser matemáticamente obtenida por la transformada de Fourier Inversa de la función amplitud $A(\vec{q})$:

$$\rho(\vec{r}) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int A(\vec{q}) e^{i\vec{q}\cdot\vec{r}} dv_q \quad (72)$$

Una dificultad fundamental que surge en el análisis de los resultados de experimentos de dispersión de rayos X es que los detectores de rayos X sólo cuentan fotones (o la

intensidad de dispersión $I(\vec{q})$) y no el módulo y la fase de la amplitud $A(\vec{q})$. Puesto que $I(\vec{q}) = A(\vec{q}) \cdot A(\vec{q})^* = |A(\vec{q})|^2$, la raíz cuadrada de la función $I(\vec{q})$ **proporciona el módulo de la amplitud de dispersión pero no la fase**, entonces obtenemos información incompleta. Por lo tanto la ecuación (72), no puede ser directamente aplicado para determinar la función densidad-electrón $\rho(\vec{r})$. Esto es el conocido **problema de la fase**.

2.2.2.2 Contraste

Hasta ahora, hemos discutido el proceso de dispersión de una partícula en una orientación fija en el vacío, sin embargo la realidad demuestra que el vacío es ideal y las partículas dispersoras están insertadas en una matriz (por ejemplo un solvente).

La matriz es considerada que es un medio homogéneo con densidad-electrón ρ_0 . Esta situación se mantiene para partículas en solución (o para no homogeneidades en un sólido). La función densidad-electrón en las ecuaciones (71) y (72) es la función densidad-electrón de la partícula en el vacío y debe ser reemplazado por la función densidad-electrón de la partícula en la matriz $\rho(\vec{r}) = \rho_{solución}(\vec{r}) - \rho_0$, el cual puede tomar valores positivos y negativos. De esta forma trabajaremos con la densidad de las partículas solamente. Este procedimiento en SAXS es llamado **contraste** y es realizado a fin de ‘volver visible’ a las partículas para los rayos X.

2.2.2.3 Sistema de partículas estadísticamente Isotrópicas que no poseen orden a largo alcance

En la mayoría de casos de dispersión a ángulos pequeños los dispersores (partículas o no homogeneidades en una matriz) son estadísticamente isotrópicos y no existe ningún orden de largo alcance.

La **isotropía** de un sistema de partículas se refiere a que el ρ de este sistema es independiente de la dirección del vector \vec{r} que pertenecen al espacio del sistema ($\rho(\vec{r})$ puede ser escrito como $\rho(r)$). Para estos casos la función $e^{-i\vec{q} \cdot \vec{r}}$ es reemplazado en la ecuación (71) por su promedio sobre todas las direcciones de \vec{r} en el espacio tridimensional (ángulos sólidos Ω), es decir: $\langle e^{-i\vec{q} \cdot \vec{r}} \rangle_{\Omega} = \frac{\sin qr}{qr}$.

La **no existencia de orden a largo alcance** en un sistema de partículas se refiere a que no hay correlación entre dos puntos del sistema muy separados entre sí (cuando la distancia entre estos puntos supera la dimensión de la partícula). Esto es el caso de las partículas coloidales inmersas en un fluido. Esto se interpreta matemáticamente como:

$$\rho(\vec{r}) \rightarrow \text{constante, cuando } r \gg \text{tamaño de partícula} \quad (73)$$

En resumen para puntos muy separados, ρ se vuelve independiente de \vec{r} por lo que podemos reemplazarlo por un valor promedio ρ_a y para los otros puntos, $\rho = \rho(\vec{r})$ (cuando $r \leq$ tamaño de partícula) entonces podemos estudiar las fluctuaciones de $\rho(\vec{r})$ alrededor de un ρ_a en todos los puntos del sistema de partículas dispersoras.

Tomemos una muestra macroscópica de volumen V representativa de un sistema de partículas, la función densidad-electrón $\rho(\vec{r})$ en V , entonces puede ser escrita como la suma de una densidad promedio ρ_a más sus desviaciones locales definidas por $\Delta\rho(\vec{r})$,

entonces $\rho(\vec{r}) = \rho_a + \Delta\rho(\vec{r})$. Substituyendo esta forma para $\rho(\vec{r})$ en la ecuación (72) (considerando previamente el contraste), la amplitud se vuelve

$$A(\vec{q}) = \int_V \rho_a e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}} dv + \int_V \Delta\rho(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}} dv \quad (74)$$

Para el volumen V del sistema de partículas (de dimensiones muy grandes comparadas a la longitud de onda de rayos X), la primera integral es no nula solamente sobre un rango de valores de r muy grandes en comparación con el tamaño de las partículas (o sobre un rango de valores de q extremadamente pequeños) que no es alcanzado en experimentos SAXS típicos (recuerde que hasta 100 nm de tamaño de partícula es posible de ser medido con SAXS). Por lo tanto, la intensidad de dispersión $I(\vec{q})$, sobre el rango \vec{q} accesible, es dado por

$$I(\vec{q}) = \int_V \int_V \Delta\rho(\vec{r}_1) \cdot \Delta\rho(\vec{r}_2) dv_1 dv_2 \quad (75)$$

Haciendo $\vec{r}_1 - \vec{r}_2 = \vec{r}$, la ecuación (75) puede ser escrita como

$$I(\vec{q}) = V \int_V \gamma(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}} dv \quad (76)$$

Dónde:

$$\gamma(\vec{r}) = \lim_{V \rightarrow \infty} \frac{1}{V} \int_{V'} \Delta\rho(\vec{r}') \cdot \Delta\rho(\vec{r}' + \vec{r}) dv' \quad (77)$$

$$\gamma(\vec{r}) = \langle \Delta\rho(\vec{r}') \cdot \Delta\rho(\vec{r}' + \vec{r}) \rangle_V \quad (78)$$

El símbolo ' $\langle \rangle_V$ ' indica el promedio sobre el volumen de la muestra analizada V . La función $\gamma(\vec{r})$, llamada **función de correlación**, es el volumen promediado del producto de $\Delta\rho(r)$ en dos elementos de volumen dv , localizados en \vec{r}_1 y \vec{r}_2 , conectados por un vector \vec{r} . La función $\gamma(\vec{r})$ puede ser directamente determinado desde una función de intensidad de dispersión experimental $I(\vec{q})$ por una transformada de Fourier en el espacio recíproco (q):

$$\gamma(\vec{r}) = \frac{1}{(2\pi)^3 V} \int I(\vec{q}) e^{i\vec{q}\cdot\vec{r}} dv_q \quad (79)$$

Donde v_q denota que la integración en la transformada de Fourier se hace en un volumen dentro del espacio recíproco. La función de correlación $\gamma(\vec{r})$ está relacionada a la estructura (es decir, a la función densidad-electrón) y fácilmente puede ser determinado conociendo previamente $\rho(\vec{r})$, es decir, es determinado aplicando la ecuación (78). Pero inversamente desde una función $\gamma(\vec{r})$ conocida, $\rho(\vec{r})$ no puede ser generalmente inferido sin algo de ambigüedad (debido al problema de fase).

Por lo tanto, para sistemas isotrópicos la ecuación (76) se transforma

$$I(q) = V \int_0^\infty 4\pi r^2 \gamma(r) \frac{\sin qr}{qr} dr \quad (80)$$

y la ecuación (79) es dada por

$$\gamma(r) = \frac{1}{(2\pi)^3 V} \int_0^\infty 4\pi q^2 I(q) \frac{\sin qr}{qr} dq \quad (81)$$

Definamos la siguiente función $p(r)$ (conocida como la **Función de distribución de distancias par PDDF (Pair Distance Distribution Function)**):

$$p(r) = r^2 V \gamma(r) \quad (82)$$

Entonces

$$I(q) = 4\pi \int_0^\infty p(r) \frac{\sin qr}{qr} dr \quad (83)$$

Aplicando la transformada inversa de Fourier a la expresión anterior, tenemos:

$$p(r) = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty I(q) qr \sin(qr) dq \quad (84)$$

La función PDDF está directamente conectada con la intensidad dispersada medible y es muy útil para la solución del problema inverso de dispersión que esta resumido en el siguiente esquema.

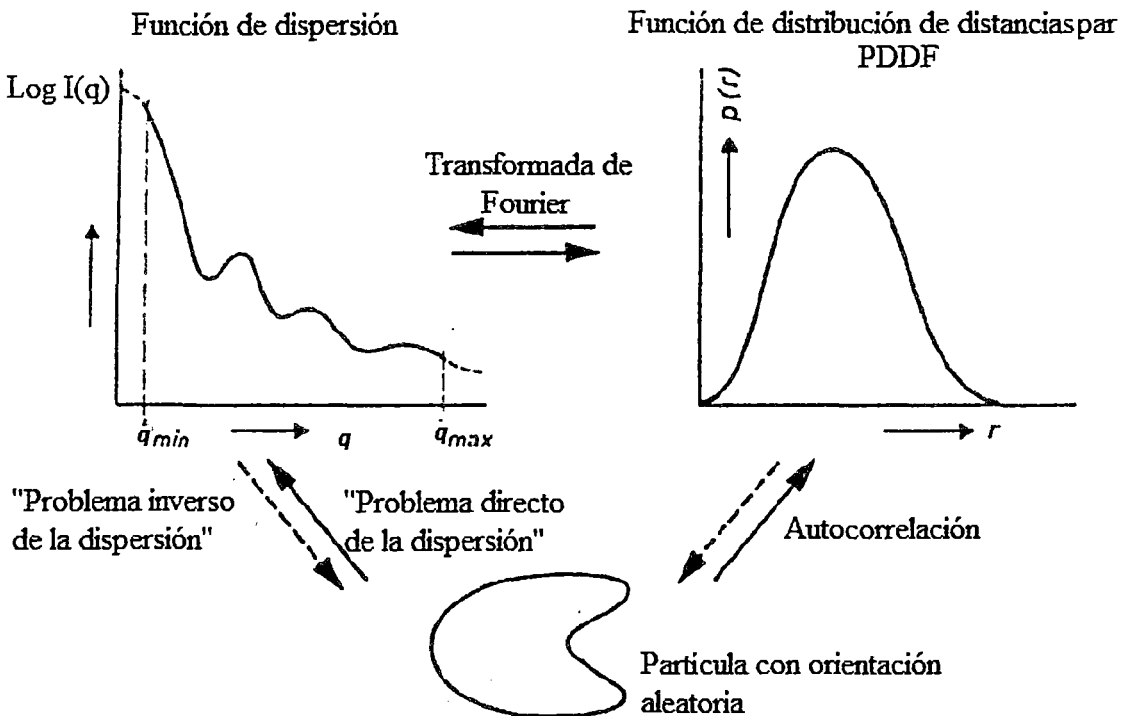


Figura 15. Esquema de los problemas de dispersión (directo e inverso). Con ayuda del perfil de dispersión (función de dispersión) o la PDDF ($p(r)$) se puede obtener información morfológica-estructural de las partículas coloidales orientadas aleatoriamente en una solución, sin embargo, es necesario tener alguna información adicional para resolver completamente este problema. Figura tomada de [57].

Otro procedimiento que es muy aplicado también para determinar estructuras simples de baja resolución, evitando el problema de la fase, es empezar con un modelo de estructura propuesta, asumiendo una función de densidad-electrón $\rho(\vec{r})$ inicial. La amplitud de dispersión es por lo tanto determinada usando la ecuación (71) y entonces la intensidad de prueba $I(\vec{q}) = |A(\vec{q})|^2$ es comparada a la intensidad experimental. El uso de programas de cálculo especializados [57] permite, haciendo muchas y rápidas iteraciones y modificaciones del modelo de la estructura, lograr un buen ajuste de la función calculada a la curva experimental. Este procedimiento está siendo aplicado comúnmente para la determinación de la estructura a baja resolución (función de desarrollo) de proteínas en solución.

2.2.2.4 Sistemas monodispersos

Asumamos que tenemos una solución de éstas partículas en dilución infinita.

2.2.2.4.1 Partículas de forma globular

Solamente unos pocos problemas de dispersión pueden ser resueltos analíticamente. La forma más trivial es una esfera. La expresión analítica para la intensidad dispersada por una partícula esférica de radio R , es:

$$I(q) = \left(3 \frac{\sin qR - qR \cos qR}{(qR)^3} \right)^2 \quad (85)$$

Y para la PDDF es

$$p(r) = 12x^2(2 - 3x + x^3) \quad x = \frac{r}{2R} \leq 1 \quad (86)$$

El análisis de la forma de las partículas globulares como esferas, elipsoides, etc. puede ser llevado a cabo usando la función de dispersión y la PDDF.

2.2.2.5 Sistemas polidispersos

La función de dispersión de un sistema polidisperso es determinado por la forma de las partículas y por la distribución de tamaños. Nosotros asumimos una cierta distribución de tamaños y podemos determinar la forma de las partículas, o, más frecuentemente, asumimos la forma y determinamos la distribución de tamaños. Para hacer esto, tenemos que asumir que los resultados de la intensidad dispersada de un conjunto de muchas partículas que tienen la misma forma cuya distribución de tamaños puede ser descrita por $D_n(R)$, donde R es un parámetro de tamaño y $D_n(R)$ denota el número de partículas de tamaño R . Asumamos adicionalmente que no hay interferencias interpartículas o efectos de dispersión múltiple. Entonces la función de dispersión $I(q)$ está dada por

$$I(q) = c_n \int_0^{\infty} D_n(R) R^6 i_0(qR) dR \quad (87)$$

Donde c_n es una constante experimental, el factor R^6 toma en cuenta el hecho de que el volumen de la partícula es proporcional a R^3 , y $i_0(qR)$ es el factor de forma normalizado de un tamaño de partícula R .

En muchos casos, uno está interesado en la distribución de masa $D_m(R)$ (a veces llamado distribución de volumen $D_V(R)$). En este caso, tenemos

$$I(q) = c_m \int_0^{\infty} D_m(R) R^3 i_0(qR) dR \quad (88)$$

La solución de estas ecuaciones integrales, es decir, el cálculo de $D_n(R)$ o $D_m(R)$ a partir de $I(q)$, necesita más bien de métodos sofisticados numéricos o analíticos.

Los problemas de interferencia inter-partícula y dispersión múltiple en el caso de los sistemas polidispersos no pueden ser descritos analíticamente y no ha sido investigado en detalle hasta ahora [57], [54].

En general, los efectos de interferencia empiezan a influenciar los datos desde los experimentos de dispersión a ángulos pequeños mucho más temprano, es decir, en más baja concentración, que en dispersión múltiple. La dispersión múltiple se vuelve más importante con el incremento del tamaño y el contraste y es entonces dominante en experimentos de dispersión de la luz en altas concentraciones.

Una serie de concentraciones y extrapolación a concentración cero como en sistemas monodispersos podrían ser utilizados para eliminar estos efectos.

3 DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Procedimientos y equipamiento empleado

La síntesis y caracterización DLS se hicieron en los ‘Laboratorios de Energías Renovables de la Facultad de Ciencias de la UNI’ en Lima-Perú, bajo la supervisión del Dr. José Solís Veliz; la caracterización SAXS se realizó en el ‘Laboratorio de Microimagen de rayos X (XMILab) del Istituto di Cristallografia CNR’ en Bari-Italia, bajo la supervisión del Dr. Davide Altamura. Estos experimentos se llevaron a cabo dentro del marco del Acuerdo Bilateral CNR-CONCYTEC 2012-2014.

Como medidas adicionales, se utilizó microscopía electrónica (FE-SEM) para la caracterización morfológica de las nanopartículas de CuO (estas mediciones lo hicieron los Dres. Natasha Erdman y Masateru Shibata en sus laboratorios de Jeol de EEUU) y la difracción de rayos X para la caracterización estructural (este trabajo lo realizó el Dr. José Solís Veliz en los laboratorios del IPEN).

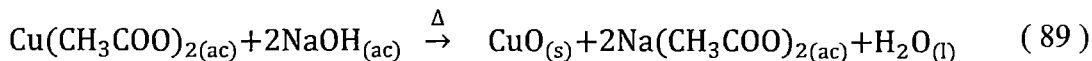
Como una aplicación las nanopartículas de CuO fueron estudiadas como agentes antimicrobianos de cultivos no estándar de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Bacillus subtilis*, los cuales fueron donados por el Hospital Cayetano Heredia. Los respectivos análisis microbiológicos los realizó la profesora Dora Maurtua y se llevaron a cabo en los laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.2 Síntesis de nanopartículas de CuO

Para la síntesis de nanopartículas de CuO se preparó 250 ml de una solución acuosa de acetato de cobre monohidratado ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0,020 M. Luego se agregó

ácido acético (CH₃COOH) 16,65 M gota a gota (agitándolo por 3 minutos) hasta obtener un pH aproximado de 4,3.

Se calentó la solución agitándolo simultáneamente a 400 RPM hasta la temperatura aproximada de 100 °C e inmediatamente se agregó 1,5 ml de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 11,167 M. La siguiente reacción [58], explica la obtención del precipitado CuO:



Luego se esperó que se enfríe y precipite, se extrajo el precipitado eliminando el líquido sobrante. Posteriormente se centrifugó a 10 000 RPM por 10 minutos.

Finalmente, se agregó agua destilada y se agitó hasta obtener un volumen de solución de 1 l aproximadamente con el fin de obtener una concentración de CuO en agua de 1mg/ml. El pH final de la solución fue aproximadamente de 6.

Se prepararon tres muestras de esta solución para caracterizarlas (muestra 1, muestra 2, muestra 3).

3.3 Caracterización de las nanopartículas de CuO mediante DLS

En la caracterización se utilizó un equipo analizador de tamaños de partícula Brookhaven Instruments 90Plus Nanoparticle Size Analyzer.

Antes de cada medición cada muestra de CuO fue sonicada por 2 minutos aproximadamente. Luego se procedió a trabajar directamente con las soluciones de CuO sin la necesidad de medir primero la dispersión del solvente ni tampoco de calibrar el equipo. Se realizaron tres medidas (corridas) en un tiempo de 20 segundos cada una para cada muestra, con un láser de longitud de onda $\lambda = 658 \text{ nm}$ (diodo laser rojo de 35 mW de potencia, ver [59]) a un ángulo de detección (dispersión) de 90°. Se consideró a las partículas de CuO (índice de refracción $n = 2,741 + 0,389i$) como esféricas difundiéndose (con movimiento Browniano) en agua (índice de refracción $n = 1,33$ y viscosidad $\eta = 0,890 \text{ cP}$) a una $T = 25^\circ\text{C}$.

3.4 Caracterización de las nanopartículas de CuO mediante SAXS

El equipo utilizado fue un sistema SAXS/WAXS del XMILab, equipado con una micro-fuente súper brillante de ánodo de cobre rotante Rigaku Fr-E+ (2,5 kW de potencia) de emisión CuK α : $\lambda_{\text{x-ray}} = 0,15405 \text{ nm}$, acoplado a un arreglo óptico focalizante CMF 15-105, y cámara SMAX3000, la dispersión a bajos ángulos se colectó en un detector de rayos X multi-hilo (1024×1024 píxeles con tamaño de píxel de 195 μm) puesto a 2,2 m de distancia de la muestra. La intensidad incidente (la máxima intensidad transmitida sin muestras) fue medida dentro de la cámara por un detector de rayos X adicional.

El intervalo accesible en términos de vectores de dispersión entre 0,006 y 0,2 \AA^{-1} (el rango angular accesible entre -1 y +6° [50])

El tamaño del haz en la posición de las muestras fue de aproximadamente 200 μm (diámetro del orificio colimador 3, ver Figura 12) de diámetro; fue usado un bloqueador de haz de rayos X de 5,5mm de diámetro.

Previamente fue usado para la calibración del equipo un polvo estándar de Behenato de Plata ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOAg}$) puesto en un capilar de 8 mm de diámetro, midiéndose su dispersión de rayos X con el fin de determinar la relación píxeles \leftrightarrow valores de q para la imagen en un área del detector.

El experimento fue hecho para el solvente y las soluciones puestos en capilares de 8 mm en diferentes posiciones de cada capilar y para diferentes tiempos de colección de datos: Tiempo corto ($t_1 = 600$ s) y tiempo grande ($t_2 = 1200$ s). Se evacuó el aire interior mediante el tubo de evacuación hasta llegar a una presión de vacío de 0,5 mbar ($\pm 0,02$ mbar) para reducir la absorción dentro de la cámara (ver Figuras: 12 y 16) y el interior de los capilares se mantuvo a presión atmosférica para reducir la evaporación del solvente.

La intensidad dispersada colectada fue la proveniente de la región central (puntos centrales) de cada capilar (para el solvente y cada solución). Similarmente, la intensidad transmitida fue medida en los mismos puntos investigados en el experimento SAXS, y el coeficiente de transmisión fue calculado en cada punto como $T = I_{\text{Transmitido}} / I_0$, donde I_0 es la intensidad del haz primario, en los experimentos se ha considerado que $T_{\text{solución}} \approx T_{\text{solvente}}$. La intensidad del ruido de fondo (la intensidad total debido al solvente, aire dentro de la cámara, ventanas, etc. es decir sin muestras) $I_{\text{Ruido de fondo}}$ fue entonces substraído de la data de dispersión para obtener la intensidad de las partículas $I_{\text{Partículas}}$ solamente, tomando en cuenta los coeficientes de transmisión según: $I_{\text{Partículas}} = I_{\text{Medido}} - (1/T) \times I_{\text{Ruido de fondo}}$. (ver páginas 49 y 50 de [49])

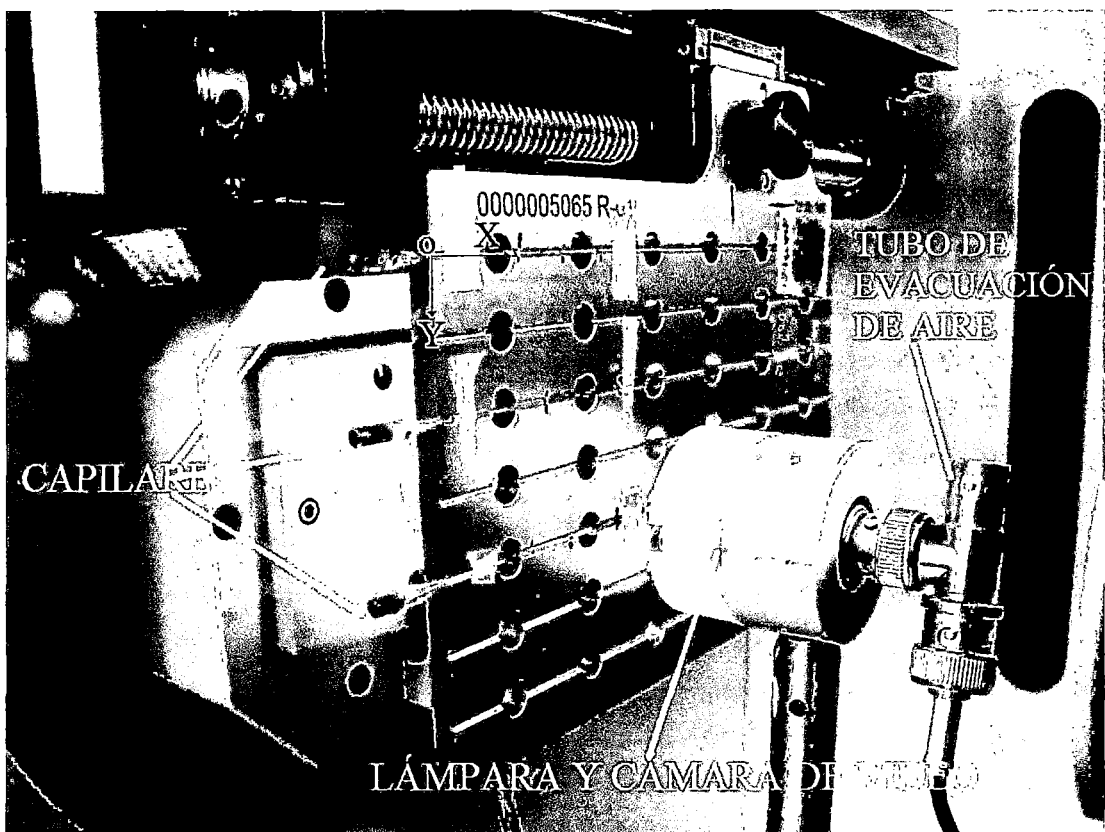


Figura 16. Fotografía del interior de la cámara donde se ubica el soporte de las muestras. Nótese los tres capilares (con las tres muestras) en posición horizontal, el tubo vertical (de evacuación de aire), la lámpara y cámara de video.

El precipitado de las nanopartículas de CuO de la **muestra 3** fue secada a 80° C por ocho horas tanto para las mediciones estructural como morfológica mediante las técnicas XRD y FE-SEM respectivamente.

3.5 Caracterización morfológica mediante FE-SEM

La morfología de las nanopartículas fue investigada por microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FE-SEM) usando un instrumento JEOL JSM-7100FT operado con un Gentle Beam mode a un 1 kV de voltaje de aceleración. Las partículas también fueron analizadas a 30kV usando un detector STEM en SEM. Las muestras de CuO fueron dispersadas en alcohol previamente para luego ser medidas mediante FE-SEM.

3.6 Caracterización estructural mediante Powder XRD

La estructura y tamaño de dominios cristalinos de las nanopartículas de CuO precipitadas fueron determinadas por difracción de rayos X usando un difractómetro Rigaku Miniflex II Desktop operando con radiación CuK_α (0,15045 nm de longitud de onda) a 30 kV y 20 mA con una velocidad de escaneo de 3°min^{-1} . La data de difracción de rayos X fue sujeta a un proceso general de convolución (Topas-Academic) permitiendo, en principio, cualquier combinación de funciones apropiadas para ser empleadas para modelar el perfil del polvo total [60].

3.7 Análisis microbiológico de los cultivos en presencia de CuO

3.7.1 Preparación del inóculo

A partir de un cultivo de 18 horas se preparó una suspensión a la escala de Mc Farland [61] de 0,5; la cual corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC en caldo tripticase de soya (TSA)[62].

3.7.2 Preparación de la muestra

Se pesaron 0,015 g de muestra de CuO cinco veces, una por cada cepa.

3.7.3 Enfrentamiento microbiano

Con un hisopo humedecido con el inóculo se procedió a sembrar, en las placas Petri que contenían previamente agar tripticase de soya (TSA), las cinco siguientes cepas por duplicado: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Bacillus subtilis*. Se dejó reposar dos minutos y se colocó en el centro de la placa un cilindro de acero cuyo diámetro interno fue 6 mm. Dentro del cilindro se colocó los 0,015 g de CuO. Y luego de conseguir distribución uniforme y confinada dentro del cilindro, este fue retirado.

Luego las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas. Después de esto con ayuda de un vernier se midieron dos veces los halos de inhibición formados alrededor de la muestra.

4 RESULTADOS EXPERIMENTALES

4.1 Resultados obtenidos de la caracterización mediante DLS

La presentación de los resultados (como según indican [35] y [59]) por el equipo fueron: ajuste de la función de auto-correlación normalizada, diámetro efectivo de partícula e índice de polidispersidad, ajuste log-normal y distribución multimodal de tamaños. Estos fueron hechos por el software del equipo. En resumen los pasos ejecutados por el equipo son:

- (i) Ajustar los datos medidos (fluctuaciones en el tiempo en la intensidad dispersada) a la función de ajuste normalizada de la auto-correlación de la intensidad dispersada para mostrarlo en una gráfica $C(\tau)$ vs τ .
- (ii) Hallar el diámetro efectivo $\langle d_{1/z} \rangle$ y el índice de polidispersidad Q .
- (iii) Hallar distintos ajustes a las distribuciones de tamaños ponderados por el número de partículas dispersadas, área superficial de partícula, volumen de partícula e intensidad dispersada. Los modelos para estos ajustes fueron la log-normal y la multimodal (histogramas).

Estos tres pasos fueron hechos según este orden, es decir, primero se encontró $C(\tau)$, luego se halló el polinomio de ajuste ' $\ln C(\tau)$ ' y reconociendo que sus coeficientes están relacionados directamente con (son aproximadamente iguales a) los coeficientes de la expansión de cumulantes (ver ecuación (42)) se procedió a hallar por comparación los valores del diámetro efectivo $\langle d_{1/z} \rangle$ y del índice de polidispersidad Q , definidos en las ecuaciones: (45) y (46), respectivamente. Estos resultados, fueron promediados en el tiempo total transcurrido de 60 segundos.

En los siguientes resultados, se consideró solamente el modelo de distribución de tamaños multimodal ponderado por intensidad dispersada (para partículas polidispersas) debido a que el índice de polidispersidad obtenido en cada muestra fue mayor que 0,080 (ver página 18) indicando que las muestras no son monodispersas.

Distribución multimodal; las ecuaciones (8), (10), y (11) junto con (67), (68), (69), (70) y (22) en la ecuación (66) fueron la base de construcción de las distribuciones de tamaños de partícula según sus valores de intensidades dispersadas. El equipo también nos da otras distribuciones de tamaños (según sus valores de número de partículas dispersadas, áreas superficiales de partícula y volúmenes de partícula) ya que a partir de la distribución de tamaños por intensidad dispersada se construyen las demás. La distribución obtenida mediante el algoritmo NNLS es la de intensidad dispersada que está relacionada por ejemplo con la distribución por número por un factor de multiplicación de d^5 .

Las Figuras: 17, 18 y 19 presentan histogramas, en donde la frecuencia relativa es denotada por **Intensidad**, la cual es definida como intensidad dispersada relativa de las poblaciones de partículas dispersadas por unidad de tamaño de clase, matemáticamente: **Intensidad** = $(100/I_0) dI/dD = 100 i_N/1nm$ donde I_0 : intensidad dispersada máxima de partículas dentro de la población total de partículas dispersadas, dI : intensidad de la población de partículas dispersadas de tamaño dD y

i_N : fracción de intensidad dispersada relativa de partículas de una población N cualquiera, respecto al máximo valor de la intensidad de las partículas dispersadas.

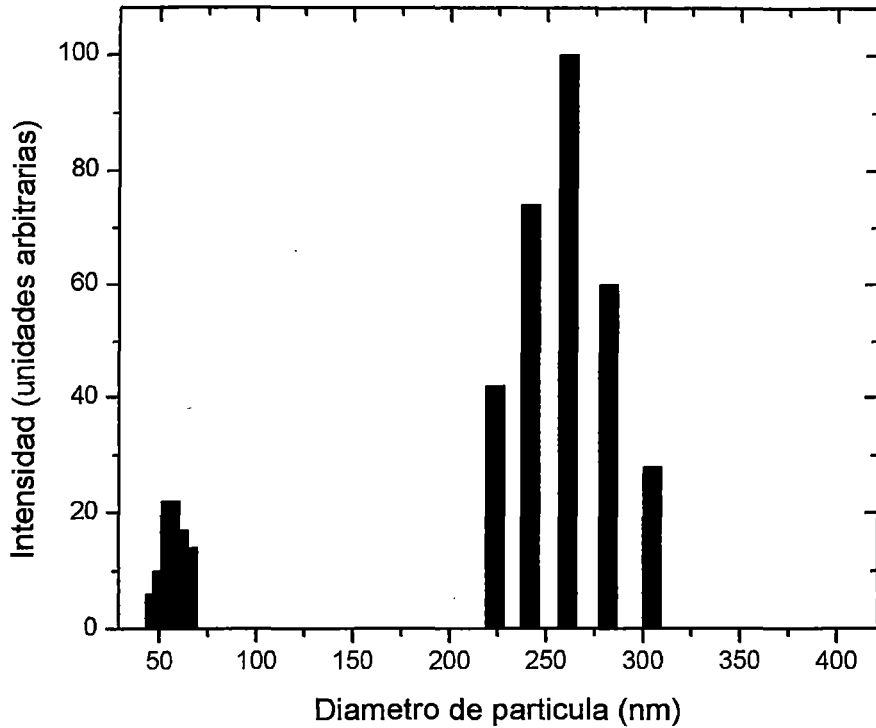


Figura 17. Distribución de tamaños de partícula respecto a la intensidad dispersada relativa de la muestra 1 de CuO. Diámetro efectivo = 171,8 nm, índice de polidispersidad = 0,272, diámetro promedio = 193,7 nm. Note del histograma dos tipos de poblaciones de nanopartículas: una alrededor de 55 nm de tamaño promedio y la otra alrededor de 261 nm de tamaño promedio.

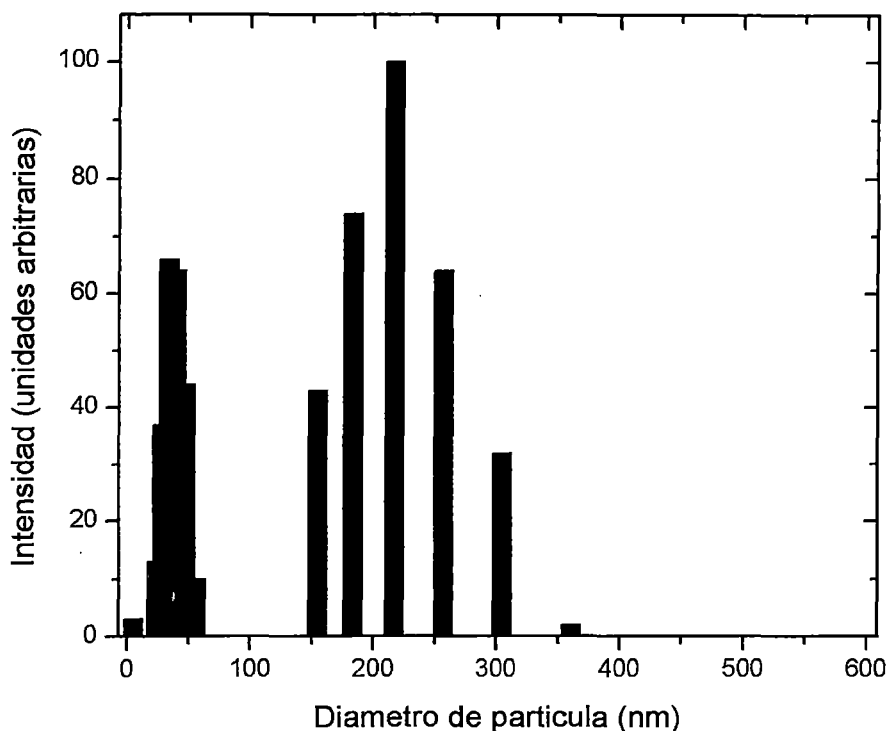


Figura 18. Distribución de tamaños de partícula respecto a la intensidad dispersada relativa de la muestra 2 de CuO. Diámetro efectivo = 79,9 nm, índice de polidispersidad = 0,322, diámetro promedio = 91,9 nm. Note del histograma dos tipos de poblaciones de nanopartículas: una alrededor de 37 nm de tamaño promedio y la otra alrededor de 217 nm de tamaño promedio.

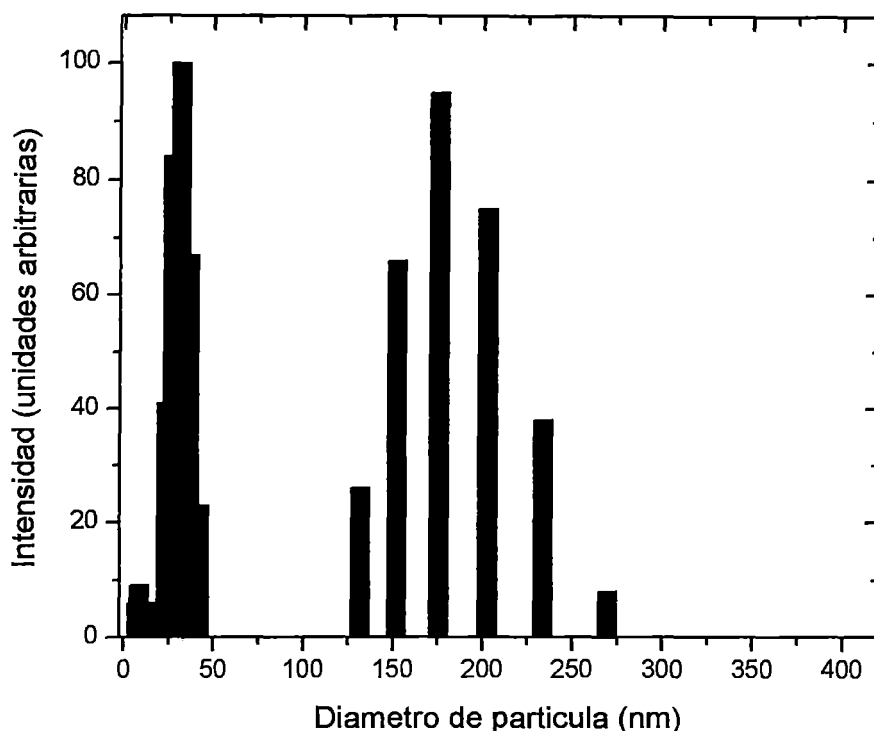


Figura 19. Distribución de tamaños de partícula respecto a la intensidad dispersada relativa de la muestra 3 de CuO. Diámetro efectivo = 55,2 nm, índice de polidispersidad = 0,302, diámetro promedio = 63,0 nm. Note del histograma dos tipos de poblaciones de nanopartículas: una alrededor de 30 nm de tamaño promedio y la otra alrededor de 176 nm de tamaño promedio.

4.2 Resultados obtenidos de la caracterización mediante SAXS

4.2.1 Resultados de los perfiles de dispersión SAXS del solvente y de las muestras

Las siguientes Figuras: 20-23 presentan los perfiles de dispersión obtenidos directamente de los experimentos SAXS para la solvente (agua) y para cada muestra. Las muestras y el solvente han sido colocadas en capilares (una medición por capilar) y el haz de rayos X incidente impacta en un punto (central) del capilar, por lo que los perfiles de dispersión obtenidos provienen de este punto del capilar. A manera de ejemplos representativos solo se han escogido

α es el ángulo azimutal (no ángulo de dispersión) el cual está definido en el plano de detección como el ángulo en posición normal (trigonométrico) cuyo vértice coincide con el punto de impacto entre haz de rayos X y la muestra. Para cada muestra se está considerando varios puntos del capilar pero por razones prácticas, en las siguientes figuras se está mostrando sólo un punto del capilar

Solvente

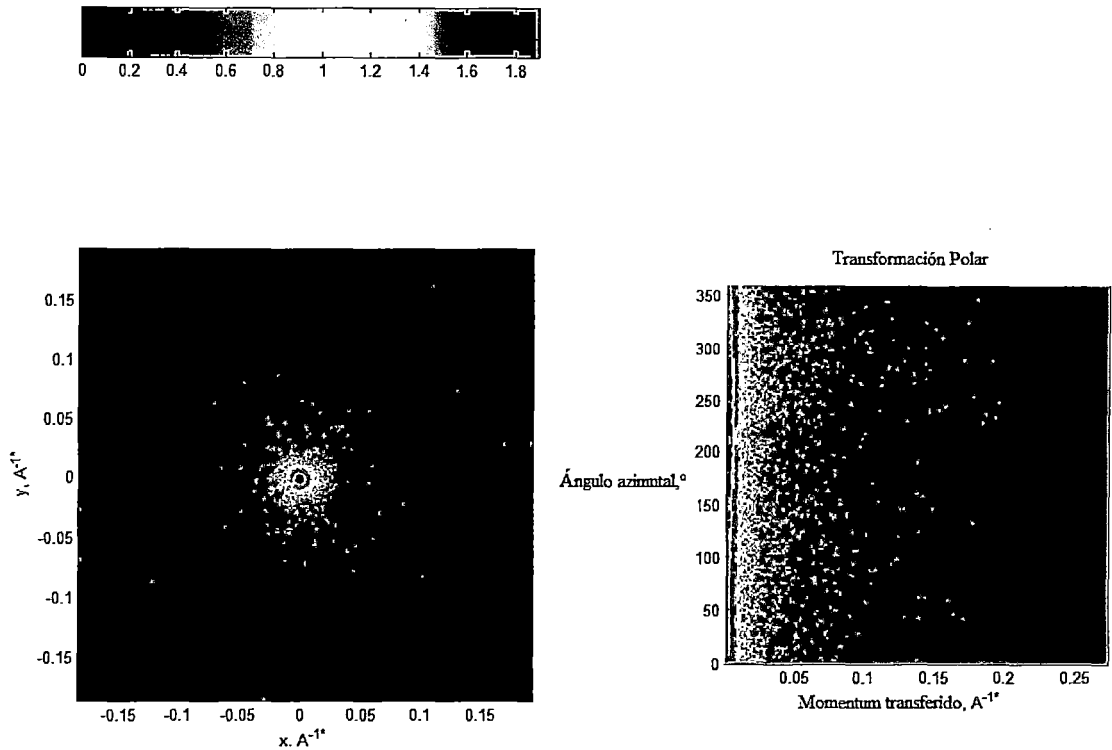


Figura 20. Perfil de dispersión de la matriz o solvente (agua) en un punto central del capilar (de coordenadas: $x = 22,5\text{mm}$, $y = 0,032\text{mm}$) con un tiempo de medición de 1200 segundos. (Izquierda) En coordenadas cartesianas: $x = q_x$, $y = q_y$. (Derecha) En coordenadas polares: $x = q$, $y = \alpha$, $q = \sqrt{q_x^2 + q_y^2}$, $0^\circ < \alpha < 360^\circ$, α es el ángulo azimutal (ángulo central en posición normal del perfil de dispersión). La escala de colores corresponde a los valores de intensidad dispersada. Azul para intensidad: 0, y rojo para intensidad: 2.5. Note que teóricamente la posición del bloqueador del haz primario debería ser mostrada en ausencia de dispersión (como una línea de color azul) a un ángulo ' α ' ligeramente mayor que 200°

Muestra 1

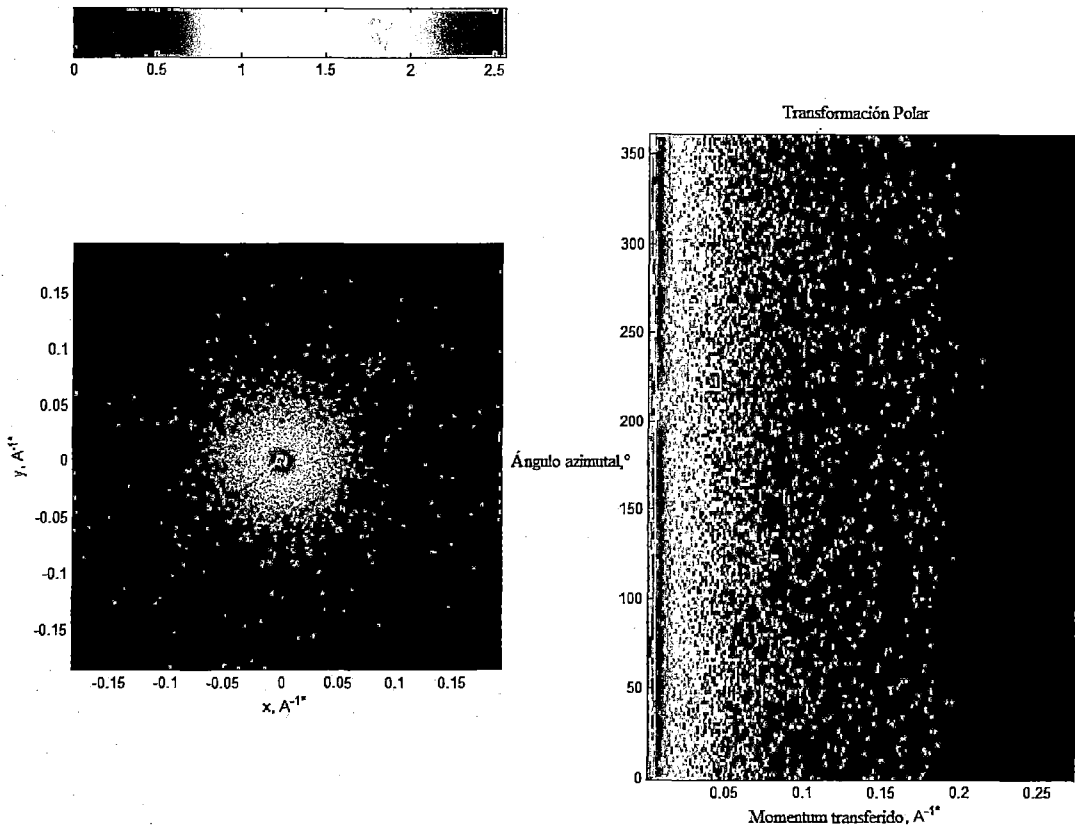


Figura 21. Perfil de dispersión de la muestra 1 en un punto central del capilar (de coordenadas: $x = 22,5\text{mm}$, $y = 0,016\text{mm}$) con un tiempo de medición de 600 segundos. (Izquierda) En coordenadas cartesianas: $x = q_x$, $y = q_y$. (Derecha) En coordenadas polares: $x = q$, $y = \alpha$, $q = \sqrt{q_x^2 + q_y^2}$, $0^\circ < \alpha < 360^\circ$, α es el ángulo azimutal (ángulo central en posición normal del perfil de dispersión). La escala de colores corresponde a los valores de intensidad dispersada. Azul para intensidad: 0, y rojo para intensidad: 2,5. Note que teóricamente la posición del bloqueador del haz primario debería ser mostrada en ausencia de dispersión (como una línea de color azul) a un ángulo ' α ' ligeramente mayor que 200°

Muestra 2

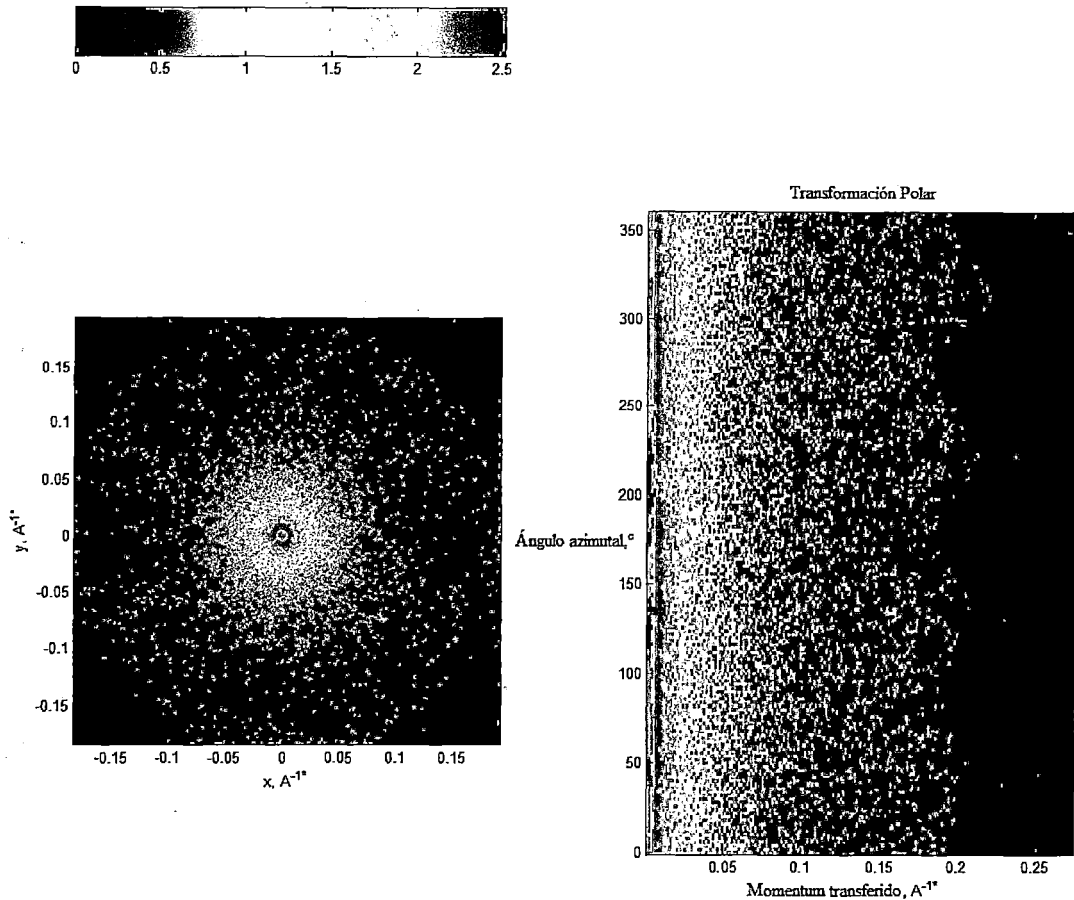


Figura 22. Perfil de dispersión de la muestra 2 en un punto central del capilar (de coordenadas: $x = 21,5\text{mm}$, $y = 25,073\text{mm}$) con un tiempo de medición de 1200 segundos. (Izquierda) En coordenadas cartesianas: $x = q_x$, $y = q_y$. (Derecha) En coordenadas polares: $x = q$, $y = \alpha$, $q = \sqrt{q_x^2 + q_y^2}$, $0^\circ < \alpha < 360^\circ$, α es el ángulo azimutal (ángulo central en posición normal del perfil de dispersión). La escala de colores corresponde a los valores de intensidad dispersada. Azul para intensidad: 0, y rojo para intensidad: 2,5. Note que teóricamente la posición del bloqueador del haz primario debería ser mostrada en ausencia de dispersión (como una línea de color azul) a un ángulo ' α ' ligeramente mayor que 200°

Muestra 3

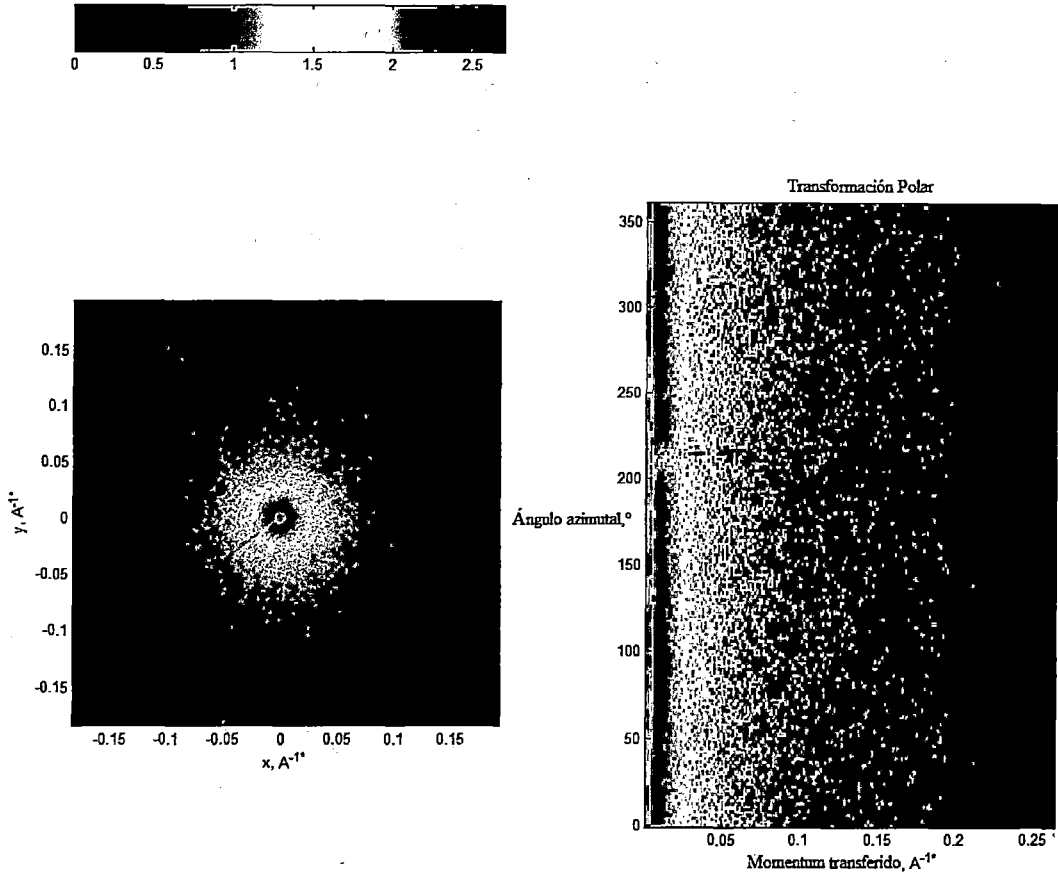


Figura 23. Perfil de dispersión de la muestra 3 en un punto central del capilar (de coordenadas: $x = 23,5\text{mm}$, $y = 50,025\text{mm}$) con un tiempo de medición de 1200 segundos. (Izquierda) En coordenadas cartesianas: $x = q_x$, $y = q_y$. (Derecha) En coordenadas polares: $x = q$, $y = \alpha$, $q = \sqrt{q_x^2 + q_y^2}$, $0^\circ < \alpha < 360^\circ$, α es el ángulo azimutal (ángulo central en posición normal del perfil de dispersión). La escala de colores corresponde a los valores de intensidad dispersada. Azul para intensidad: 0, y rojo para intensidad: 2,5. Note que teóricamente la posición del bloqueador del haz primario debería ser mostrada en ausencia de dispersión (como una línea de color azul) a un ángulo ' α ' ligeramente mayor que 200°

4.2.2 Resultados del tratamiento de la data de los perfiles de dispersión SAXS de las muestras

En lo que sigue se presentan gráficas I vs q y PDDF de los resultados obtenidos de cada patrón de dispersión para cada muestra así como el tamaño promedio $2R$ obtenido del análisis de estas gráficas (ver ecuaciones (85) y (86)).

Muestra 1

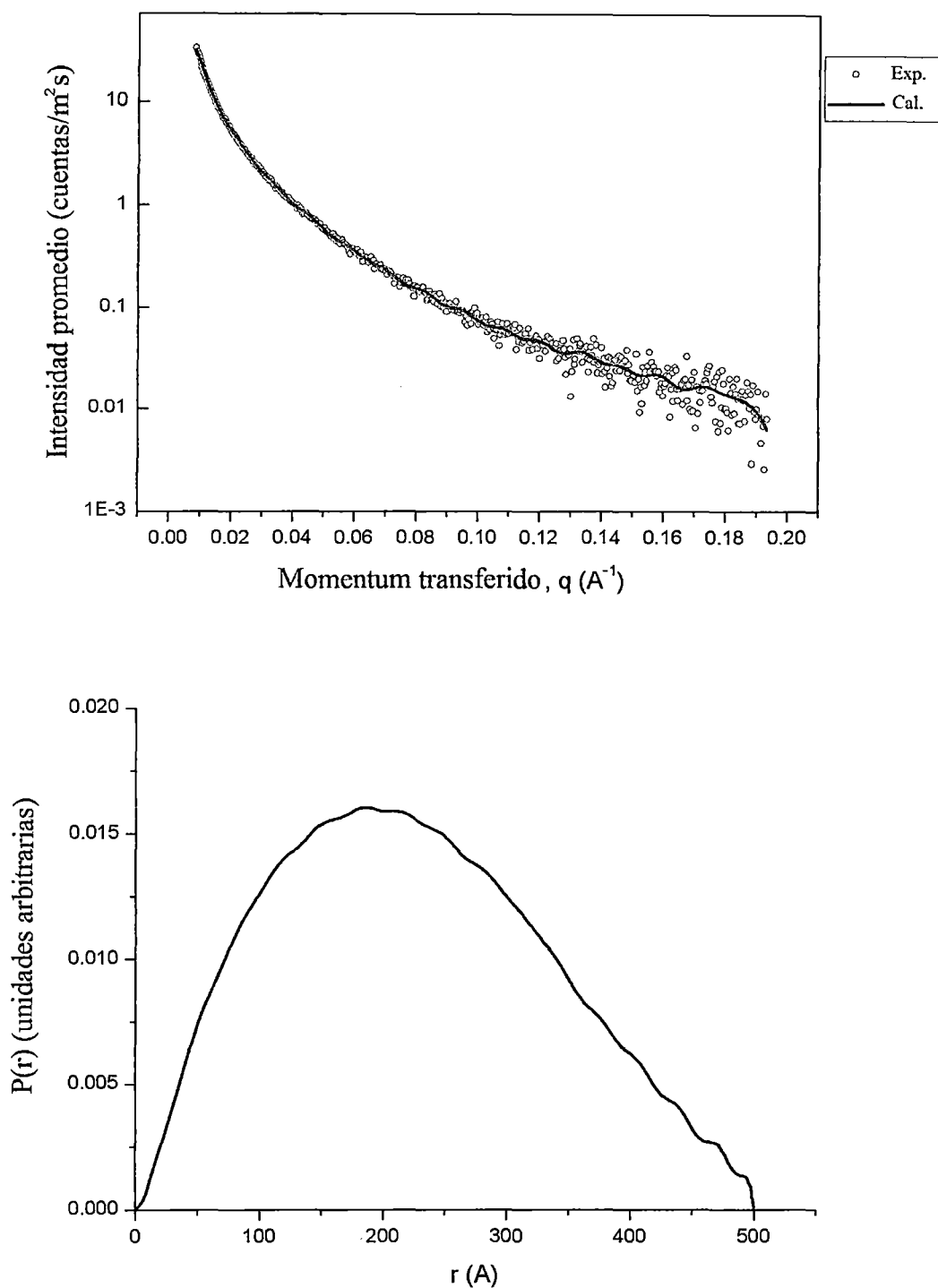


Figura 24. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 23,5\text{mm}$; $y = 0,016\text{mm}$ del capilar con la muestra 1 medido en un tiempo experimental de 1200s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 32,6\text{nm}$.

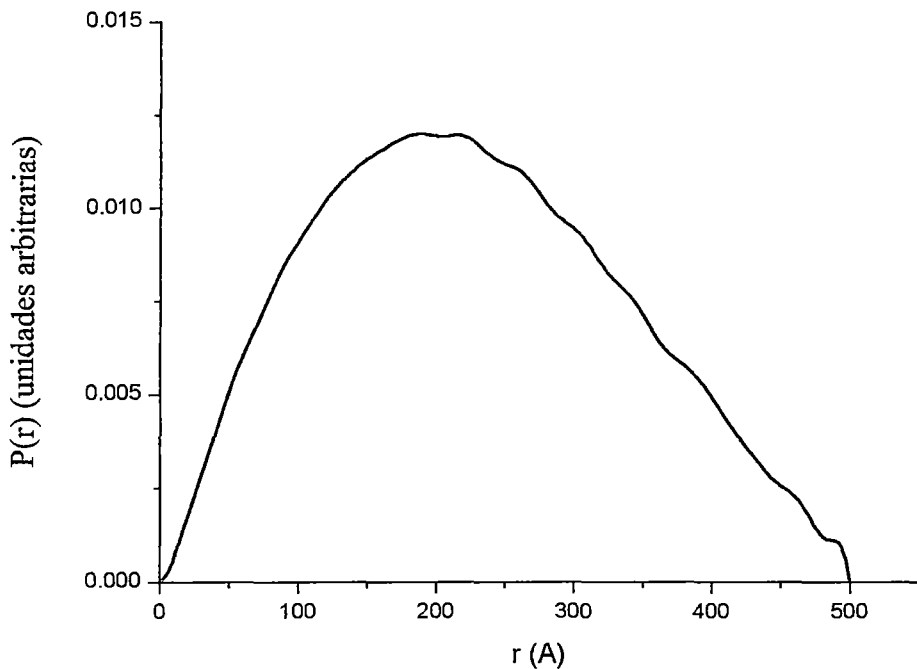
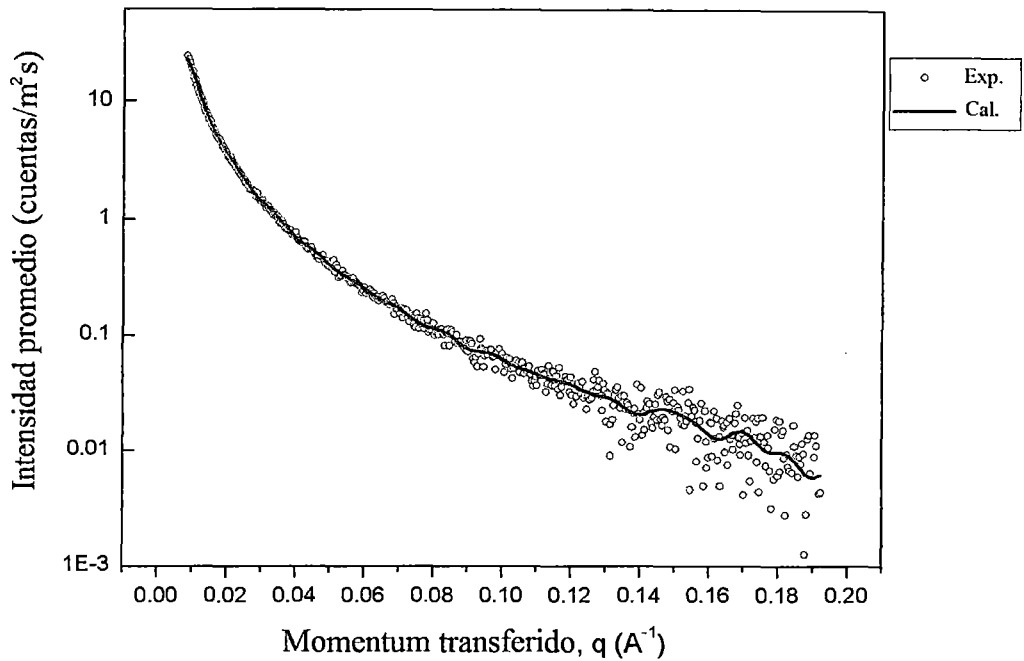


Figura 25. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 45,5\text{mm}$; $y = 0,101\text{mm}$ del capilar con la muestra 1 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 33\text{nm}$.

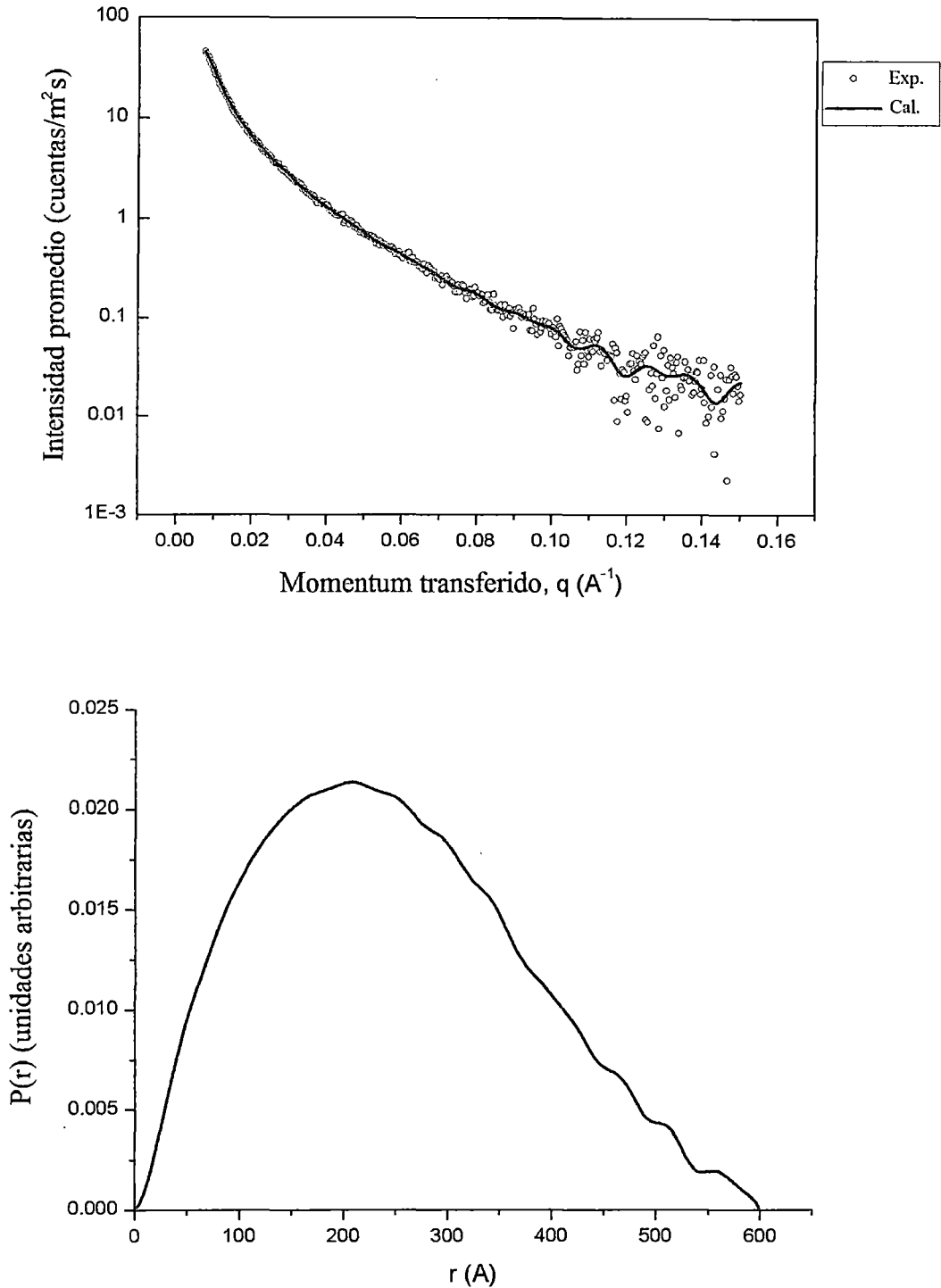


Figura 26. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 22,5\text{mm}$; $y = 0,016\text{mm}$ del capilar con la muestra 1 medido en un tiempo experimental de 600 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 36\text{ nm}$.

Muestra 2

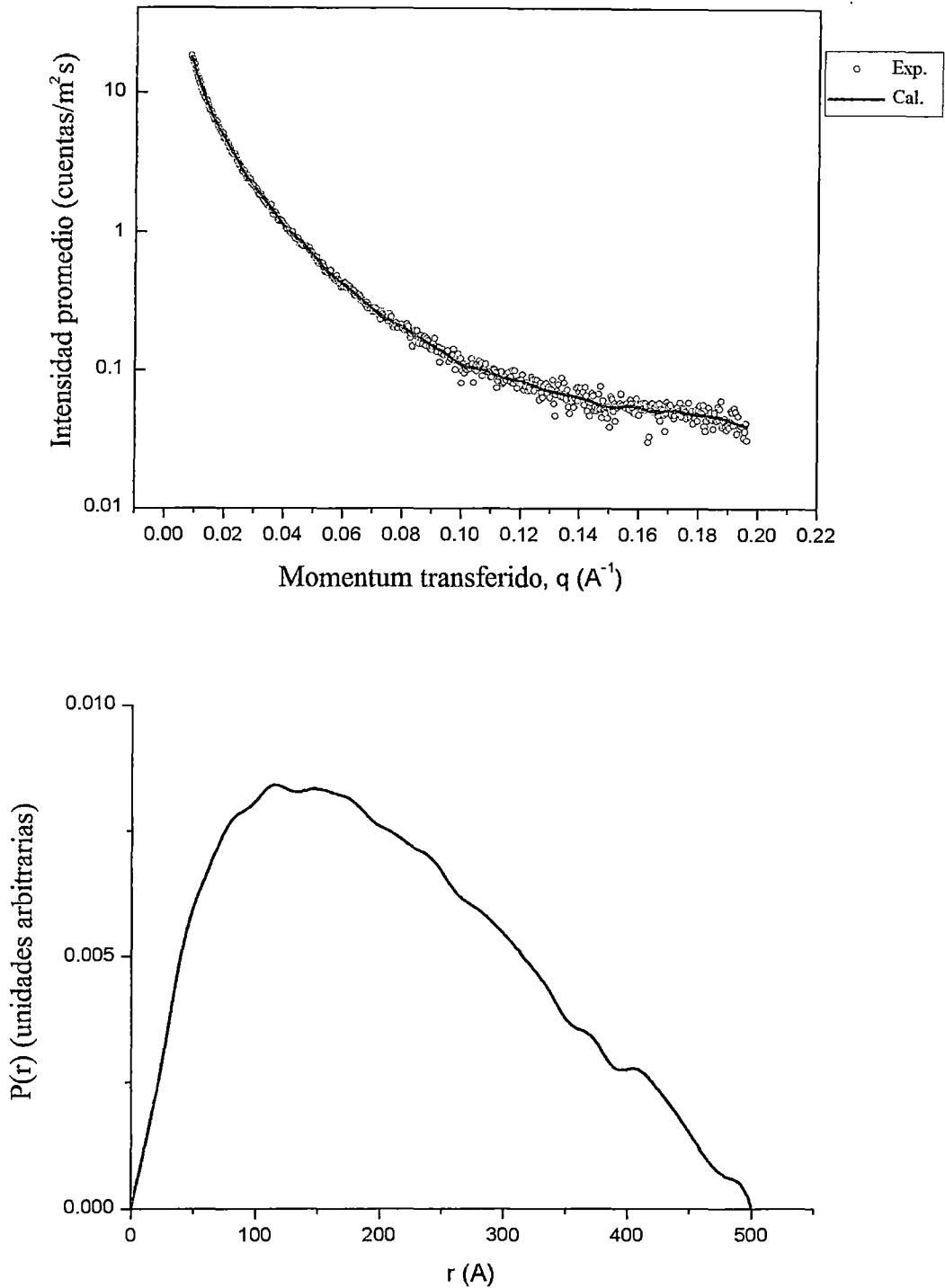


Figura 27. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 21,5\text{mm}$; $y = 25,073\text{mm}$ del capilar con la muestra 2 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 30,4\text{ nm}$.

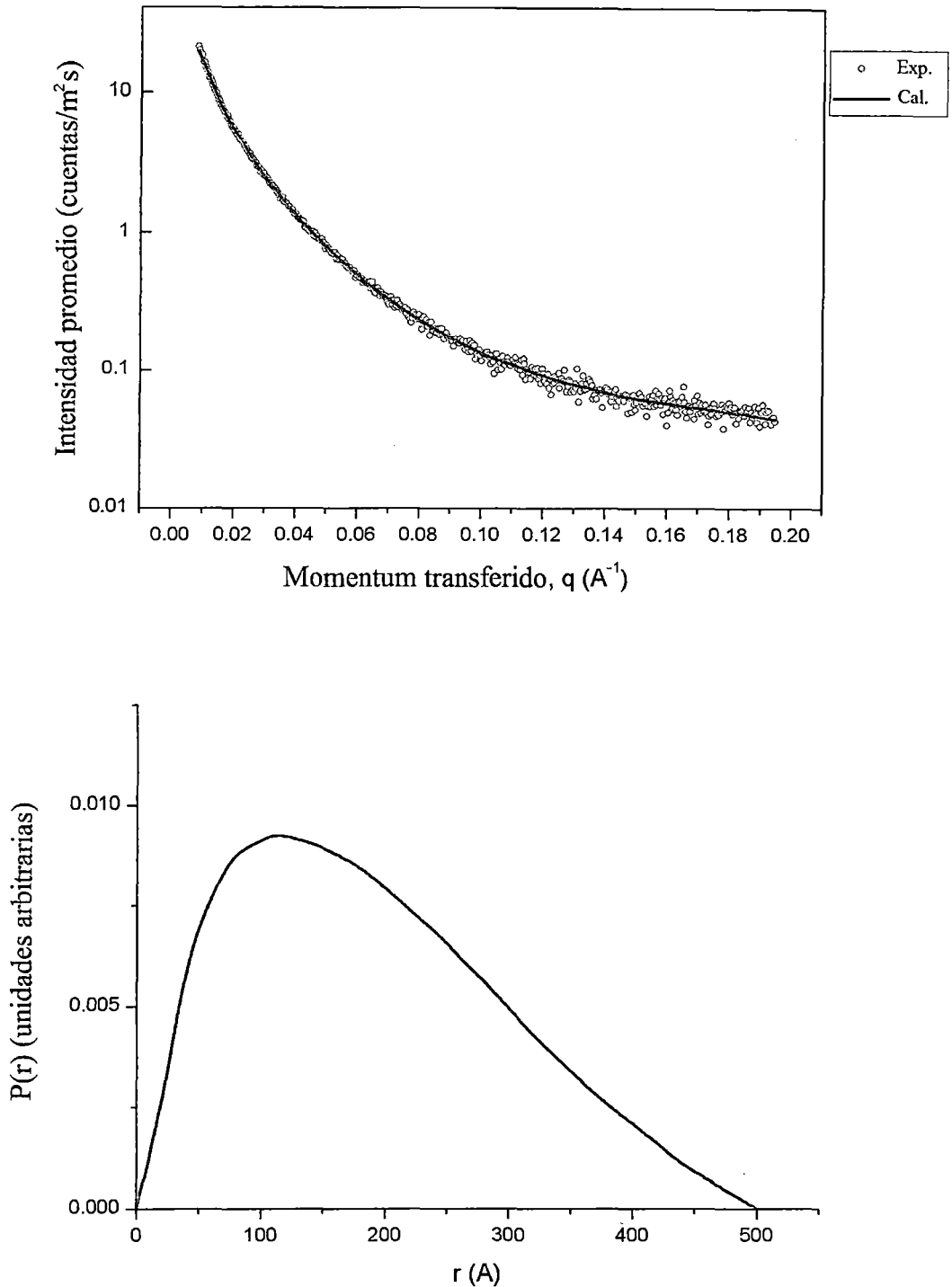


Figura 28. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 22,5\text{mm}$; $y = 25,073\text{mm}$ del capilar con la muestra 2 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 28,3 \text{ nm}$.

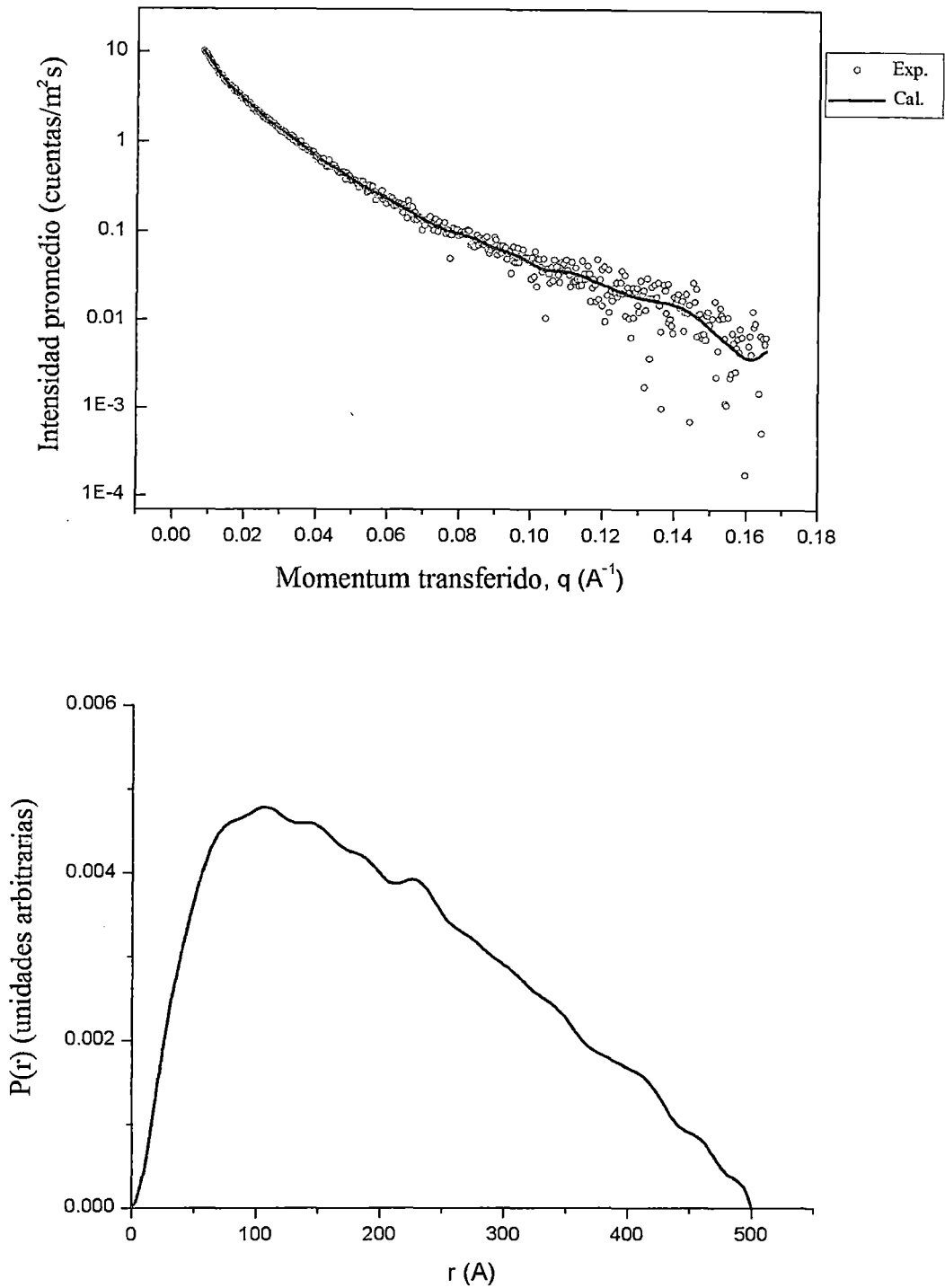


Figura 29. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 23,5\text{mm}$; $y = 25,073\text{mm}$ del capilar con la muestra 2 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 30,4 \text{ nm}$.

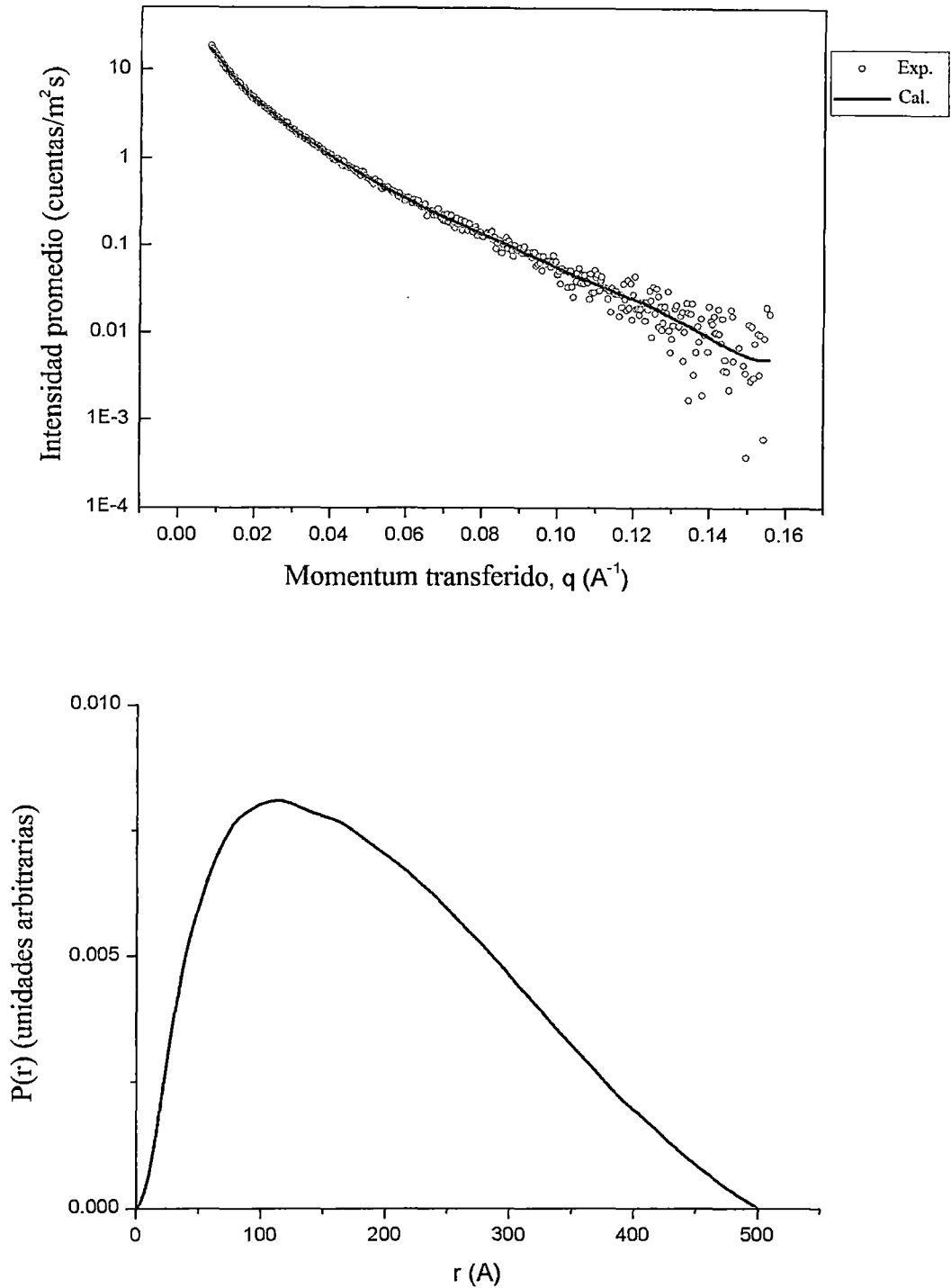


Figura 30. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 43,5\text{mm}$; $y = 24,975\text{mm}$ del capilar con la muestra 2 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 28,7 \text{ nm}$.

Muestra 3

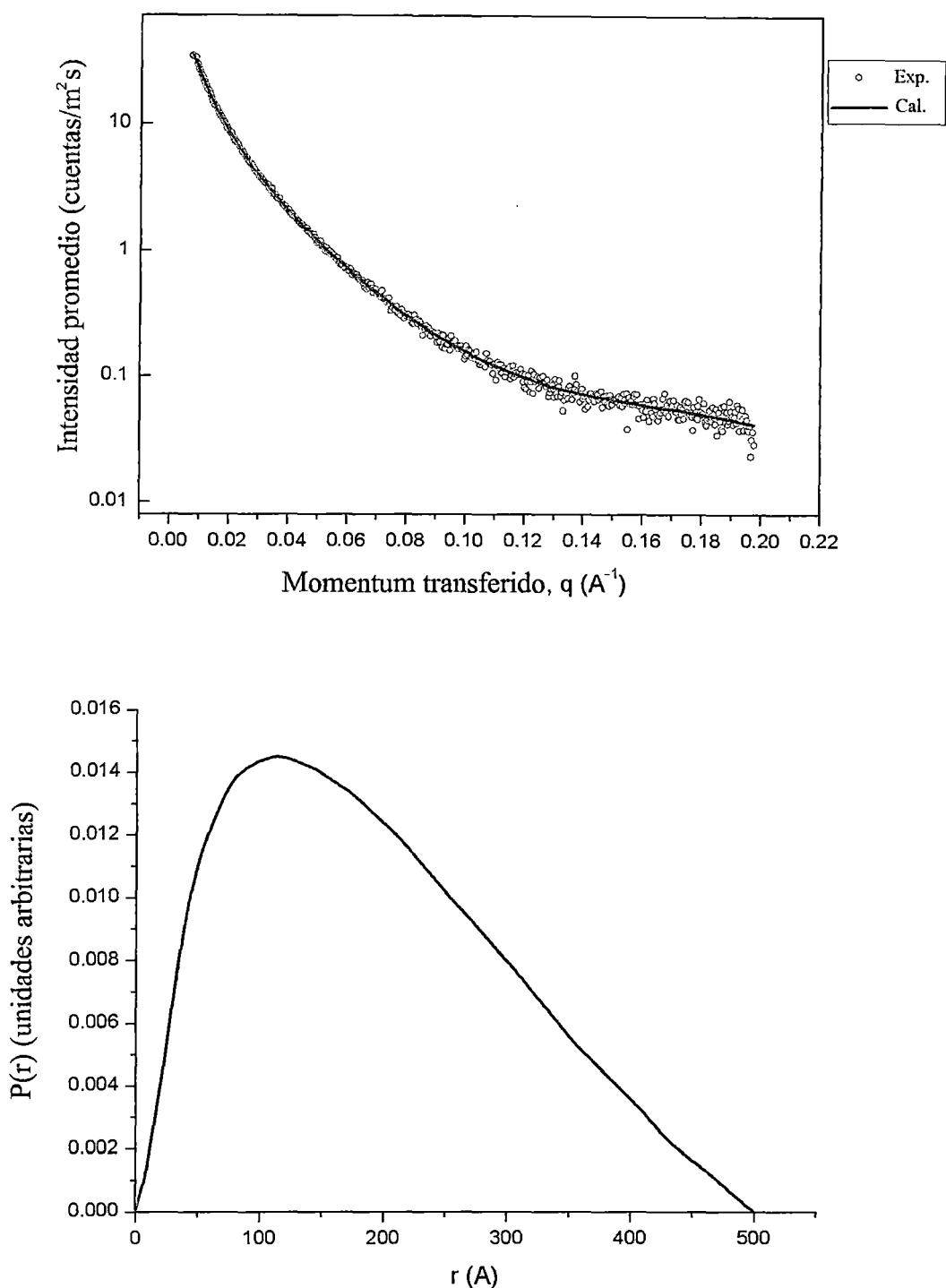


Figura 31. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 22,5\text{mm}$; $y = 50,025\text{mm}$ del capilar con la muestra 3 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 28 \text{ nm}$.

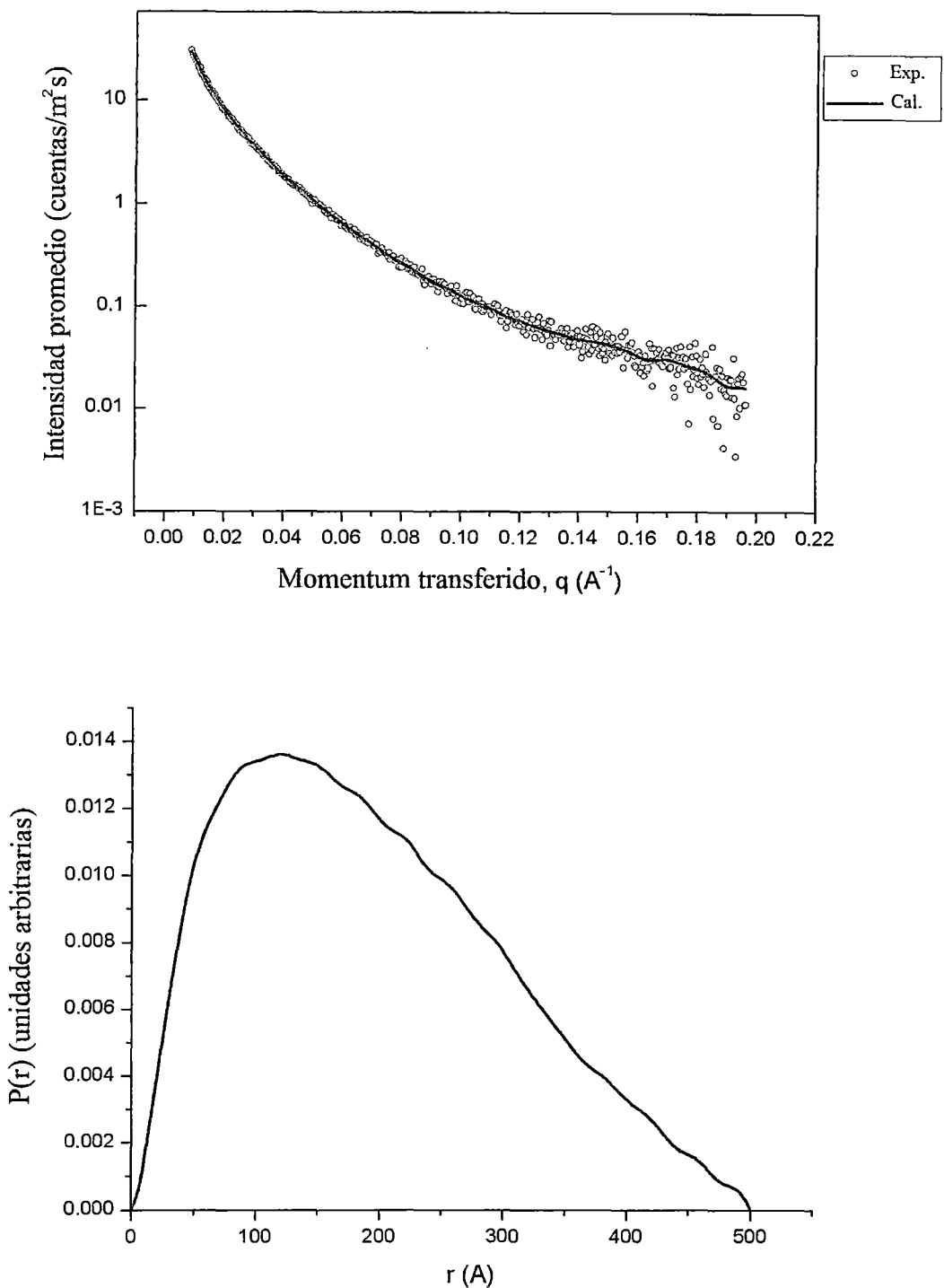


Figura 32. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 23,5\text{mm}$; $y = 50,025\text{mm}$ del capilar con la muestra 3 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 28,7 \text{ nm}$.

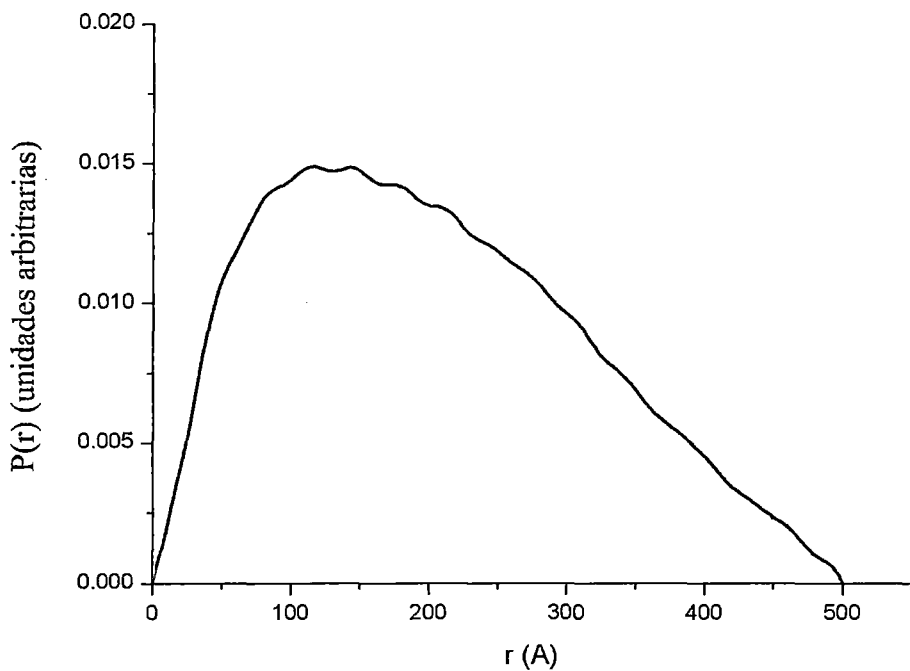
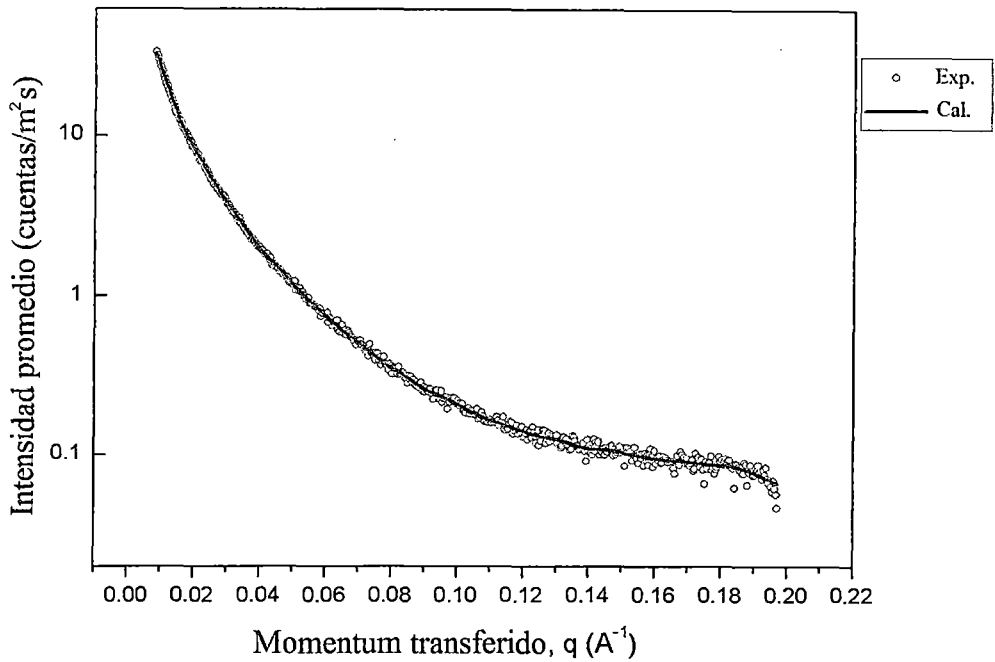


Figura 33. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 44,5\text{mm}$; $y = 49,775\text{mm}$ del capilar con la muestra 3 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 30 \text{ nm}$.

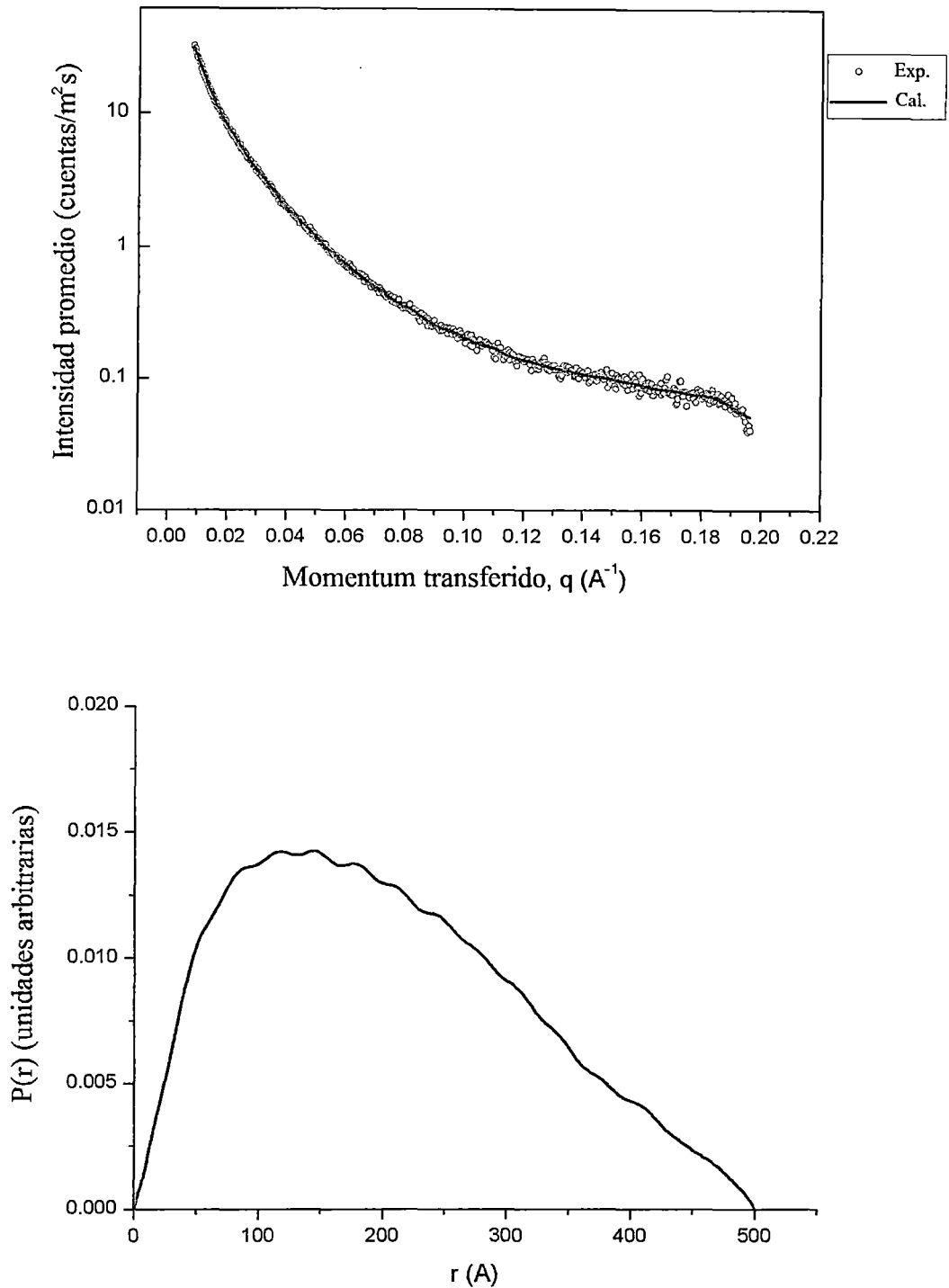


Figura 34. (Arriba) Gráfica Intensidad dispersada promedio vs momentum transferido en el punto de coordenadas: $x = 45,5\text{mm}$; $y = 49,775\text{mm}$ del capilar con la muestra 3 medido en un tiempo experimental de 1200 s. (Abajo) Gráfica Pair Distance Distribution Function $P(r)$ obtenida a partir de la gráfica anterior. Bajo la hipótesis de partículas esféricas y de la gráfica $P(r)$ (considerando la ecuación (86) dividida por 100), se obtiene el tamaño de partícula: $2R = 30 \text{ nm}$.

4.3 Resultados de la caracterización morfológica mediante FE-SEM

La siguiente figura muestra las imágenes de las nanopartículas de CuO obtenidas por SEM:

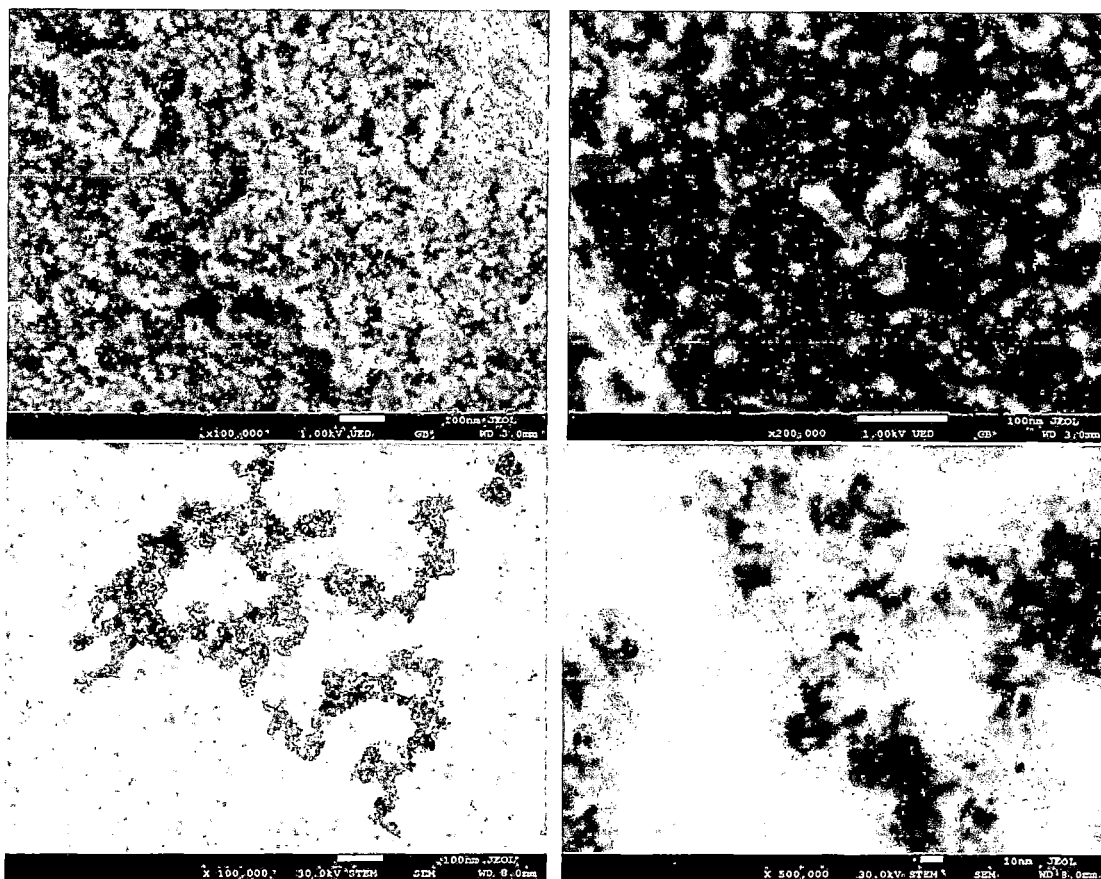


Figura 35. Micrografías de las nanopartículas de CuO. En la parte superior dos imágenes obtenidas bajo la modalidad de SEM y en la parte inferior dos imágenes obtenidas bajo la modalidad de STEM, y de izquierda a derecha se aumenta la escala.

Como puede observarse en la Figura 35, las nanopartículas de CuO más dispersadas presentan un tamaño aproximado de 10 nm y están formando partículas más grandes de 30 nm de tamaño aproximadamente y a su vez éstas forman cúmulos más grandes de varios cientos de nanómetros.

4.4 Resultados de la caracterización estructural mediante Powder XRD

En la siguiente gráfica se muestra el patrón de difracción de las nanopartículas de CuO en polvo de la muestra 3.

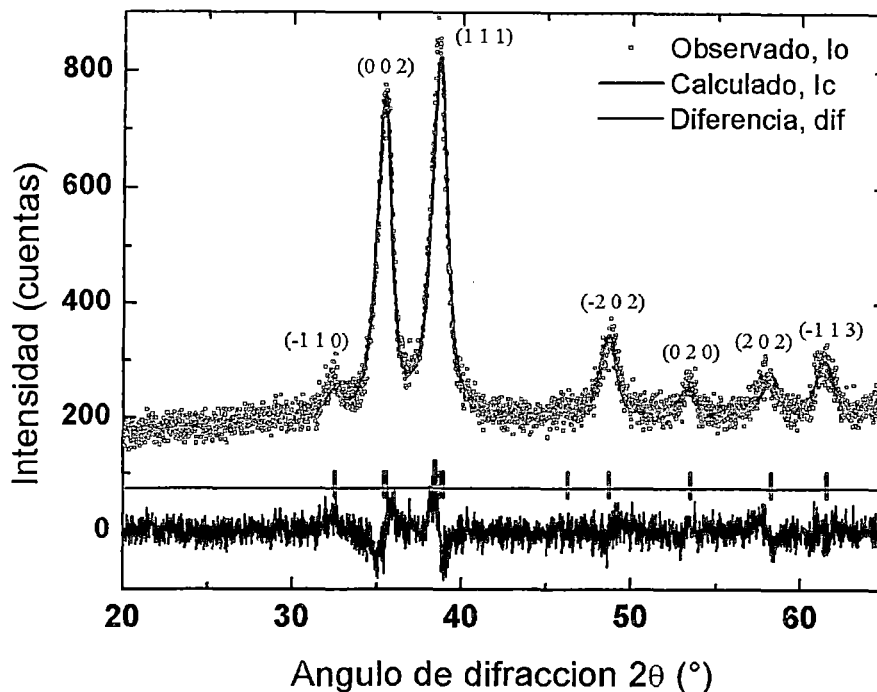


Figura 36. Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de CuO.

Como muestra la Figura 36 todos los picos pudieron ser indexados perteneciendo a la fase tenorita de acuerdo al card JCPDS número 45-0937. De aquí que las muestras en polvo fueron de alta pureza. Los tamaños de los dominios cristalinos fueron determinados a partir del ancho de las líneas (picos) de difracción de rayos X asumiendo una función Voigt [60]. El tamaño del dominio cristalino promedio para las nanopartículas de CuO sintetizadas por el método de precipitación rápida fue encontrado que es aproximadamente 8 nm.

4.5 Resultados del análisis microbiológico de los cultivos en presencia de CuO

Los resultados obtenidos de este análisis están resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 1. Diámetros D1 y D2 de inhibición microbiana para cada cepa. Los números 1 y 2 indican el orden de la medición.

Cepas	D1(mm)	D2(mm)
Escherichia coli	15,5	14,0
Pseudomonas aeruginosa	8,0	9,0
Staphylococcus aureus	18,0	16,5
Candida albicans	0	0
Bacillus subtilis	0	0

En lo que sigue se muestran las fotografías tomadas para cada muestra:

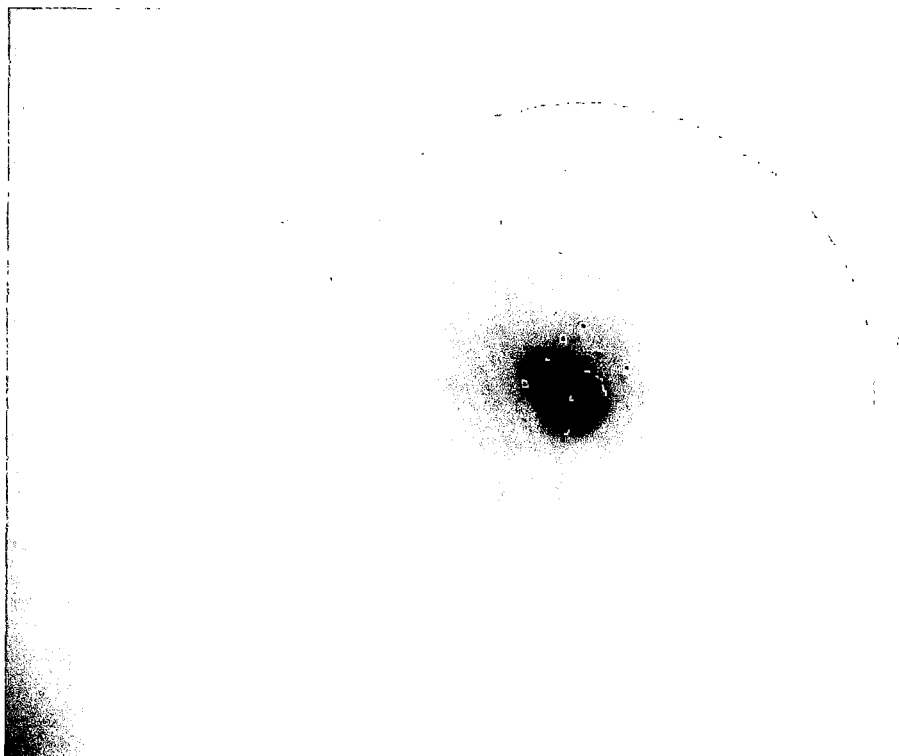


Figura 37. Fotografía de una muestra de CuO en polvo en el centro de una placa Petri (conteniendo agar tripticase y la cepa de *Escherichia coli*). Obsérvese la aureola de color azul cuyo diámetro es medido dos veces ($D = 15,5$ y 14 mm).

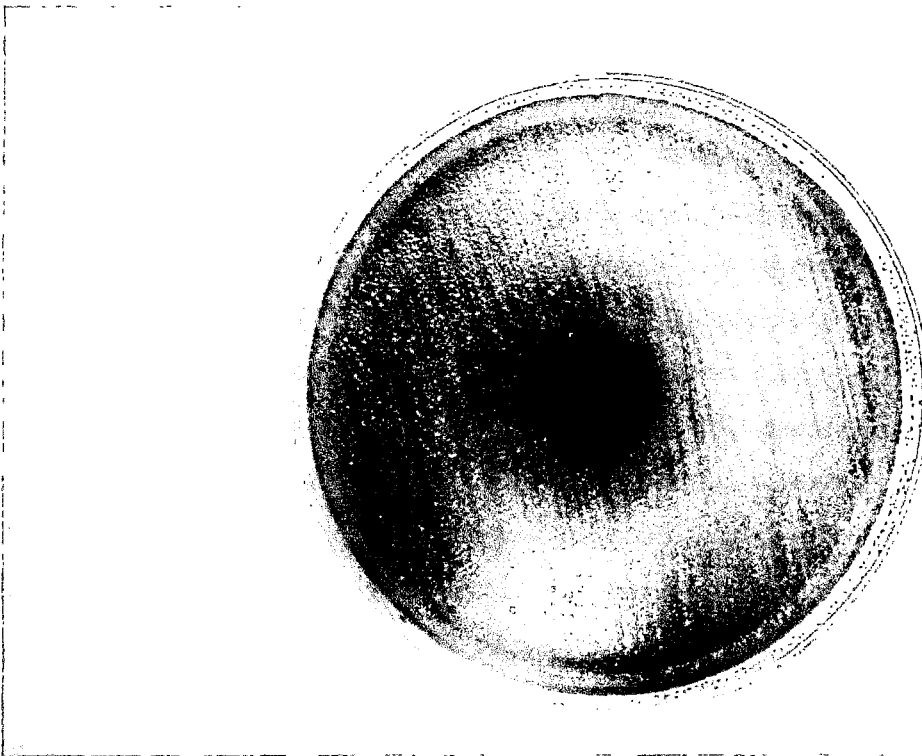


Figura 38. Fotografía de una muestra de CuO en polvo en el centro de una placa Petri (conteniendo agar tripticase y la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*). Obsérvese la aureola de color azul cuyo diámetro es medido dos veces ($D = 8$ y 9 mm).

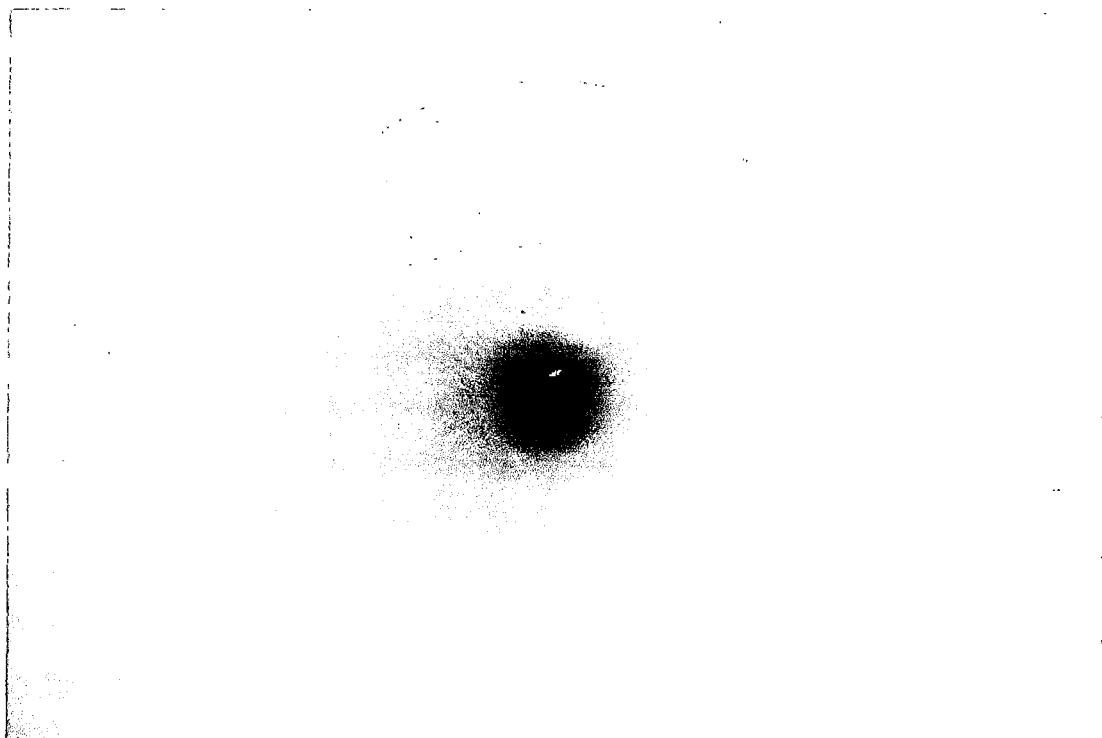


Figura 39. Fotografía de una muestra de CuO en polvo en el centro de una placa Petri (conteniendo agar tripticase y la cepa de *Staphylococcus aureus*). Obsérvese la aureola de color azul cuyo diámetro es medido dos veces ($D = 18$ y 16 mm).

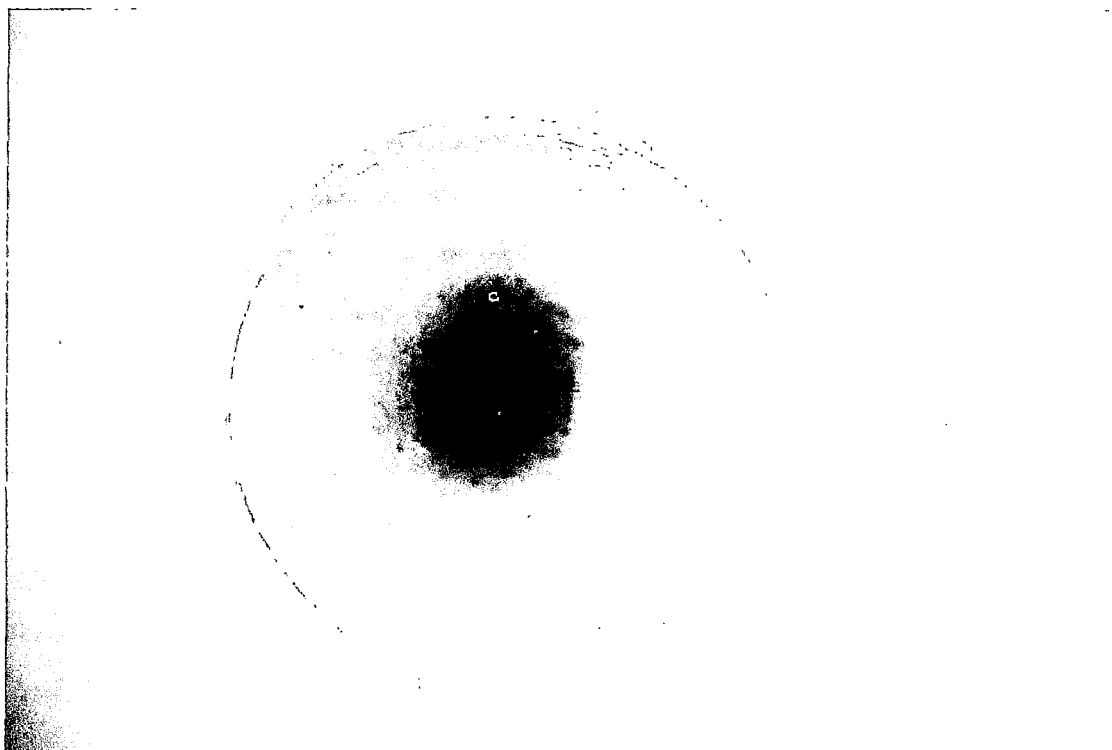


Figura 40. Fotografía de una muestra de CuO en polvo en el centro de una placa Petri (conteniendo agar tripticase y la cepa de *Candida albicans*). Obsérvese que esta muestra no presenta una aureola clara (debería haber un anillo simétrico de células

mueras que se pudiera medir su diámetro), por lo que no se considera efecto del CuO en *Candida albicans*.

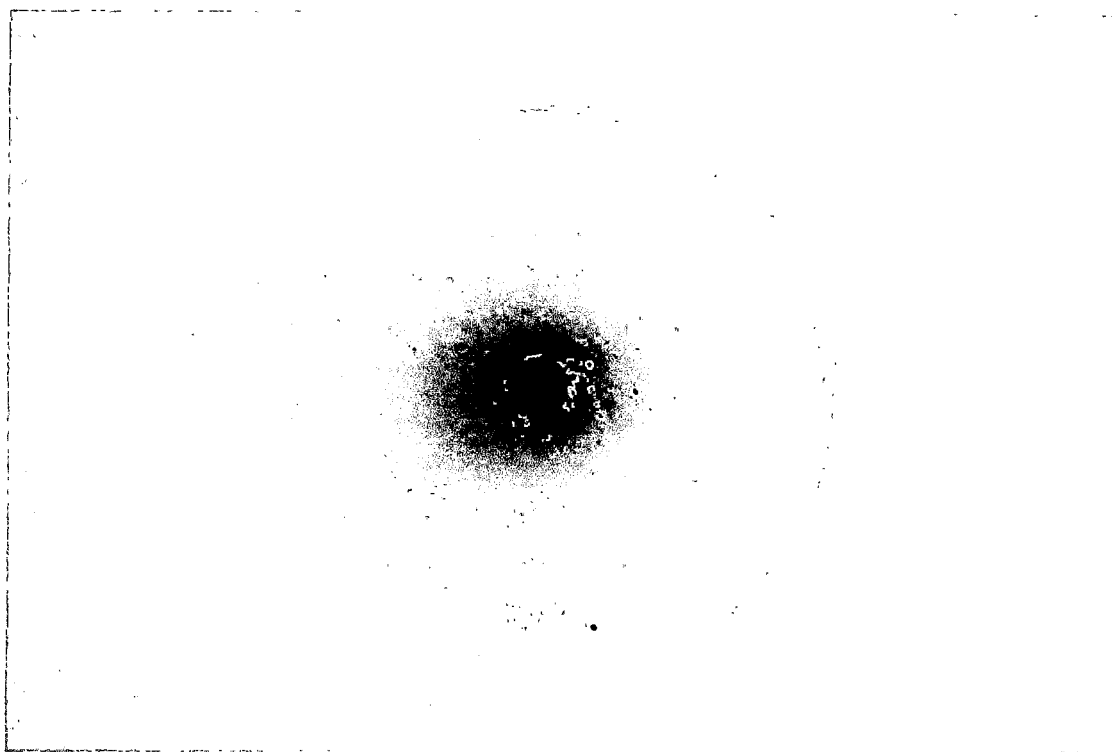


Figura 41. Fotografía de una muestra de CuO en polvo en el centro de una placa Petri (conteniendo agar tripticase y la cepa de *Bacillus subtilis*). Obsérvese que esta muestra no presenta aureola, la mancha oscura son partículas de CuO y no células muertas por lo que no se considera efecto del CuO en *Bacillus subtilis*.

5 DISCUSIONES

5.1 Discusión sobre los resultados de las caracterizaciones

Los experimentos de caracterización fueron consecutivos (DLS, SAXS, XRD y FE-SEM, en ese orden) teniendo diferentes fechas de realización. Por lo que se tuvo en cuenta la formación de conglomerados al transcurrir el tiempo. El experimento DLS fue realizada inmediatamente después de la síntesis, SAXS fue realizada 10 a 12 días después. FE-SEM y XRD varios meses después. De las tres muestras de CuO la que presentaba mejores características (menor tamaño y más estable) fue la muestra 3 por lo que se utilizó para realizar las caracterizaciones FE-SEM y XRD además esta muestra fue también utilizada para el análisis de toxicidad.

Las gráficas 17, 18, y 19 muestran que las nanopartículas de CuO que dispersan más luz en el agua son aquellas que se encuentran en las poblaciones de tamaños promedios: 261 nm, 217 nm, y 30 nm en las muestras 1, 2, y 3, respectivamente, siendo únicamente la muestra 3 la que presenta coincidencia entre su población de tamaños más pequeños y la que dispersa más luz (por lo que desde un principio se puede observar que esta muestra presenta mejores características). No obstante, esto no indica que estas partículas sean las que tengan mayor presencia en la solución, sino

que estas partículas son las que presentan mayor desviación en sus valores de índice de refracción respecto al del agua, como es sabido la técnica DLS no discrimina a las partículas por su tipo de material que las constituye sino por el valor que presenta su diferencia del índice de refracción de la partícula respecto al del agua y el valor de la intensidad de la luz dispersada detectada depende del tamaño y la forma que tienen las nanopartículas dispersoras.

El programa GNOM calculó la función PDDF en las mediciones SAXS, considerando a las partículas como si fueran monodispersas y esféricas, pero no se calculó la función de distribución de volumen (como sería lo usual para partículas polidispersas, ver Anexo 5) debido al desconocimiento del factor de forma, sin embargo, no hubo ningún error con este procedimiento ya que como es sabido, matemáticamente no hay efecto en el cálculo si consideramos que la intensidad dispersada por todas las partículas polidispersas de distintos tamaños es igual a la suma de todas las contribuciones de intensidades dispersadas por partículas esféricas más pequeñas y de igual tamaño (monodispersas) equivalentes que estarían aglomeradas como si formaran a las partículas polidispersas anteriores. Los resultados SAXS sólo pudieron arrojar valores de tamaños promedios solo dentro de su rango de aplicabilidad (< 100 nm), dándonos los valores de tamaño promedio de 36 nm; 30,4 nm, y 30 nm para las muestras 1, 2, y 3, respectivamente.

Comparando los resultados SAXS con los de DLS puede ser visto que, en particular para las muestras 2 y 3 (partículas con diámetro alrededor de 30 nm en promedio), el diámetro promedio de partícula obtenido por SAXS está en buen acuerdo con el diámetro promedio de partícula en la intensidad vs diámetro obtenido de DLS. Efectivamente, la configuración SAXS usado para el experimento no es muy sensible para partículas más grandes que 100 nm (a causa de los 2,2 m de distancia muestra-detector y los 5,5 mm de dimensión del bloqueador del haz primario de rayos X), así que la población de partículas con tamaños más grandes en cada muestra básicamente no es esperado que contribuya en la señal SAXS. Una comparación consistente entre los datos DLS y SAXS debería hacerse entonces considerando solamente la población de partículas de tamaño medio comprendido entre el rango común de 1-100nm. En el caso de la muestra 1 un diámetro promedio de partícula en el rango 33 - 36 nm fue derivado desde SAXS, el cual debería ser comparado con el diámetro promedio de 55 nm derivado por DLS para la población de tamaños más pequeños. Esta discrepancia en tamaños puede ser explicada debido a una posible aglomeración ocurrida (al transcurrir el tiempo desde la medición DLS a la medición SAXS) de las partículas de 55 nm formando cúmulos de tamaños más grandes que escapan del rango de sensibilidad del equipo SAXS quedando únicamente las poblaciones de nanopartículas más estables de 34 nm de tamaño promedio.

A manera de resumen se muestra la comparación de los resultados DLS y SAXS en la siguiente tabla:

Tabla 2. Comparación entre los resultados DLS y SAXS.

Muestra (CuO)	Diámetro efectivo DLS (nm)	Diámetro medio DLS (nm) (Distribución de tamaños multimodal)	Diámetro DLS (nm) En el rango del instrumento SAXS (ver histogramas)	Diámetro SAXS (nm)
1	172	222	57	34
2	80	141	37	29
3	55	102	30	29

Por lo tanto, de los resultados anteriores se puede observar que la muestra 3 presenta mejores características, y debido a esto es que fue utilizada para el análisis de toxicidad. Los resultados FE-SEM confirmaron que las nanopartículas de CuO son más o menos esféricas de diámetro aproximado de 30 nm que a su vez forman cúmulos más grandes (es un sistema polidisperso), además mediante la modalidad STEM se observaron monocristales de 10 nm de tamaño. Los resultados XRD mostraron que la muestra 3 posee alta pureza y que las esferitas de CuO de 30 nm están constituidas de dominios cristalinos de 8 nm. Estos dominios cristalinos como es sabido presentan estructuralmente cadenas de $(\text{CuO}_4)^{6-}$, formando una red monoclinica de base centrada.

5.2 Discusión sobre el análisis microbiológico

Aunque no se hicieron estudios detallados de los mecanismos de toxicidad que pudieron haber ocurrido, se puede suponer [63] que solamente las nanopartículas más pequeñas de CuO contribuyeron en la inhibición debido a su tamaño muy pequeño (30 nm) en comparación con el tamaño de los microbios bacterianos (500-5000 nm, aproximadamente, ver Anexo 6): *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Staphylococcus aureus*, las nanopartículas de CuO pudieron por difusión penetrar la pared celular microbiana de estas bacterias destruyéndolas. Otra posibilidad adicional debido a que los arreglos de coordinación $(\text{CuO}_4)^{6-}$ son muy reactivos con el ADN es que éstos pudieron juntarse entre los enlaces puente de hidrógeno del compuesto Citosina-Guanina del ADN microbiano alterando su replicación además de dañar a las proteínas bacterianas (después de haber penetrado previamente la pared celular). Es decir, pudieron haber ocurrido varios mecanismos de toxicidad, dando como resultado la inhibición total de estas bacterias.

Por otro lado, el hongo *Candida Albicans* y la bacteria *Bacillus subtilis* no tuvieron efectos quizás porque éstas al no estar estandarizadas (es decir, por haber sido tomadas directamente de pacientes en el hospital Cayetano), pudieron haber desarrollado un mecanismo de resistencia al CuO previamente evitando así la toxicidad ya sea por la formación de complejos que se adhieren eléctricamente con las partículas de CuO volviéndolas más pesadas y grandes de tal manera que no pudieran penetrar la pared celular o por tener una pared celular más permeable que haya impedido la penetración de las nanopartículas de CuO. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que una pequeña parte de las nanopartículas (más pequeñas) hayan podido penetrar la pared celular y que después éstas hayan sufrido inhabilitamiento químico mediante un mecanismo de aislamiento dentro del microorganismo.

6 CONCLUSIONES

Considerando los resultados de la muestra 3 por ser aquella que presenta las mejores características (partículas más estables y pequeñas), se concluye:

- (i) **De las caracterizaciones:** La muestra de CuO es un sistema polidisperso y está formada estructuralmente por dominios cristalinos de 8 nm de tamaño promedio. Algunos de estos dominios cristalinos están dispersados como monocristales libres y otros forman partículas esféricas de 30 nm de diámetro promedio. Muchas de estas partículas esféricas a su vez forman cúmulos de tamaños más grandes.
- (ii) **Del análisis de Toxicidad:** Se observaron efectos de inhibición en las bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* pero en el hongo *Candida albicans* y la bacteria *Bacillus subtilis* no se observaron efectos.

7 TRABAJOS FUTUROS

Los mecanismos de toxicidad en microorganismos como bacterias y hongos en presencia de las nanopartículas de CuO pueden ser estudiados en mayor detalle y luego como una aplicación industrial estas nanopartículas podrían ser utilizadas como materia prima para tintes en textiles antimicrobianos, con el fin de utilizarlas en la prevención de enfermedades transmitidas por bacterias y hongos en los hospitales, clínicas, centros de salud, etc. El uso de estos textiles por el personal de salud podría en algo contribuir con la disminución del riesgo de contagio de infecciones intrahospitalarias.

También a partir de la base teórica de la técnica DLS, se podría diseñar y construir un equipo medidor de tamaños de partícula.

A partir de la experiencia adquirida en este trabajo, es posible utilizar estas técnicas de caracterización para estudiar otras nanopartículas de forma esférica con la condición de que sean más o menos estables, es decir, que las nanopartículas no presenten cambios bruscos de tamaños ni de forma. Sin embargo si se quisiera estudiar la evolución en el tiempo del cambio de tamaño de las nanopartículas, sería mejor utilizar en las mediciones SAXS, el sincrotrón del LNLS en Campinas (Sao Paulo, Brasil).

8 REFERENCIAS

- [1] Zhu Junwu, Dan Li, Haiqun Chen, Xujie Yang, Lude Lu, Xin Wang. Highly dispersed CuO nanoparticles prepared by a novel quick-precipitation method. *Materials Letters* 58, pag. 3324-3327, (2004).
- [2] Raul Marino, Jr., M.D., Marco Gonzales-Portillo, M.D. Preconquest Peruvian Neurosurgeons: A Study of Inca and Pre-Columbian Trephination and the Art of Medicine in Ancient Peru. *Neurosurgery*. Vol 47, No 4, pag. 940-950, (2000).
- [3] Academia Aduni. Historia del Perú, proceso económico, social y cultural. Colección de letras y humanidades. Curso integral Teoría y práctica, pag: 81-85. Segunda edición, Lumbreras Editores S.R.L. (2001).
- [4] J.J Hostynek, H.I. Maibach. Copper Hypersensitivity: Dermatologic Aspects. An Overview, *Rev. Environ. Health*, Vol 18, No 3, pag. 153–183 (2003).
- [5] J. Gabbay, G. Borkow, J. Mishal, E. Magen, R. Zatzoff, Y. Shemer-Avni. Copper oxide impregnated textiles with potent biocidal activities. *Journal of Industrial Textiles*, Vol 35, No 4, pag. 323-335, (2006).
- [6] T. Ben-Moshe, I. Dror, B. Berkowitz. Oxidation of organic pollutants in aqueous solutions by nanosized copper oxide catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental* 85, pag 207–211. Elsevier B.V (2009).
- [7] A.O. Musa, T. Akomolafe, M.J. Carter. Production of cuprous oxide, a solar cell material, by thermal oxidation and a study of its physical and electrical properties. *Solar Energy Mater, Solar Cells* 51, pag. 305-316, (1998).
- [8] S.T. Shishiyanu, T.S. Shishiyanu, O.I. Lupan. Novel NO₂ gas sensor based on cuprous oxide thin films, *Sensors and Actuators B* 113, pag. 468-476, (2006).
- [9] J. Bandara, I. Guasaquillo, P. Bowen, L. Soare, W. F. Jardim, and J. Kiwi. Photocatalytic Storing of O₂ as H₂O₂ Mediated by High Surface Area CuO. Evidence for a Reductive-Oxidative Interfacial Mechanism, *Langmuir* 21, pag. 8554-8559, (2005).
- [10] P. Podhajecky, B. Scrosati. Copper oxide cathodes for lithium organic electrolyte batteries, *Journal of Power Sources* 16, pag. 309–317, (1985).
- [11] A.S. Lanje, S.J. Sharma, R.B. Pode, R.S. Ningthoujam. Synthesis and optical characterization of copper nanoparticles. *Advances in Applied Science Research* 1(2), pag. 36-40, (2010).
- [12] A.E. Bianchi, S.J. Stewart, G. Punte, R. Viña, T.S. Plivelic, I.L. Torriani. Grain growth of CuO nanocrystal activated by high energy ball milling. *Physica B* 389, pag. 135–139, (2007).
- [13] C. Deng, H. Hub, X. Ge, C. Han, D. Zhao, G. Shao. One-pot sonochemical fabrication of hierarchical hollow CuO submicrospheres. *Ultrasonics Sonochemistry* 18, pag. 932–937, (2011).
- [14] J.F. Xu, W. Ji, Z.X. Shen, S.H. Tang, X.R. Ye, D.Z. Jia, X.Q. Xin. Preparation and Characterization of CuO Nanocrystals. *Journal of Solid State Chemistry* 147, pag. 516-519, (1999).
- [15] S.W. Oh, H.J. Bang, Y.C. Bae, Y.-K. Sun. Effect of calcination temperature on morphology, crystallinity and electrochemical properties of nano-crystalline metal oxides (Co₃O₄, CuO, and NiO) prepared via ultrasonic spray pyrolysis. *Journal of Power Sources*, 73, pag. 502-509, (2007).
- [16] http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Método_Kirby_Bauer&oldid=7739236
5. Consultado el 26/01/15.
- [17] http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%93xido_de_cobre_%28II%29. Consultado el 27/01/15

- [18] http://henke.lbl.gov/optical_constants/. Consultado el 27/01/15
- [19] Instituto de Ciencias y Humanidades. Química, análisis de principios y aplicaciones. Tomo I, Asociación Fondo de Investigadores y Editores, Pag. 322 (2008).
- [20] S. Asbrink, L.J. Norby. A refinement of the crystal structure of copper (II) oxide with a discussion of some exceptional E.s.d.'s. *Acta Crystallogr. B* 26, pag. 8-15, (1970).
- [21] J. Ghijsen, L. H. Tjeng, J. van Elp, H. Eskes, J. Westerink, and G. A. Sawatzky. Electronic structure of Cu₂O and CuO. *Physical Review B*, Vol 38, No 16, pags: 11322-11330, (1988).
- [22] W.Y. Ching and Yong-Nian Xu. Ground-state and optical properties of Cu₂O and CuO crystals. *Physical Review B*, Vol 40, No 11, pags: 7684-7695, (1989).
- [23] International Union of Crystallography. *Space-Group Symmetry, International Tables for Crystallography, Volume A*, pag. 192-199. Fifth edition, Corrected Reprint, Springer (2005).
- [24] Milton Kerker. The scattering of light and other electromagnetic radiation. Volume 16 of *Physical chemistry*, pag. 27-96, Academic Press (1969).
- [25] Mirosław Jonasz, and Georges Fournier. *Light Scattering by Particles in Water. Theoretical and Experimental Foundations*, pag. 271-273, Elsevier USA (2007).
- [26] Roberto Candal. Presentación-Candal DLS. *Workshop Internacional: X-Ray and Electron Diffraction applied to Nanomaterials and Nanomedicine*. Universidad Nacional de Ingeniería. Lima-Peru, pag. 1-18, (2013).
- [27] Benjamin Chu. *Laser Light Scattering. Basic Principles and Practice*, pags: 94-117, Academic Press, Inc. Second Edition (1991).
- [28] P. Stepanec, and C. Konak. Quasielastic Light Scattering from Polymers, Colloids and Gels. *Advances in Colloid and Interface Science*, Vol 21, pag.195-274, (1984).
- [29] Walther Tscharnuter. Photon Correlation Spectroscopy in Particle Sizing. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, pag.1-18. R.A. Meyers (Ed.) Copyright, John Wiley Sons Ltd. (2000).
- [30] Clive Washington. Particle size analysis in pharmaceuticals and other industries theory and practice, pag. 19-23, 133-141, 145-155. Ellis Horwood Limited (1992).
- [31] R. Pecora (ed.). *Dynamic Light Scattering-Applications of Photon Correlation Spectroscopy*, pag. 36-40. Plenum Press (1985).
- [32] Bruce J. Berne and Robert Pecora, *Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology and Physics*, pag. 48-50. Wiley-Interscience (1976).
- [33] Redouane Borsali and Robert Pecora (Eds.). *Soft Matter Characterization*. Vol 1, pag. 3-38. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2008).
- [34] H.Z. Cummins and E.R. Pike (Eds.). *Photon Correlation and Light Beating Spectroscopy*. NATO ADVANCED STUDY INSTITUTES SERIES, Series B: Physics, Vol 3, pag. 75-151. Springer Science+Business Media New York (1974).
- [35] Brookhaven Instruments and Nova Instruments. 90 Plus Nanoparticle Size Analyzer In Progress Current, pag.1-4.
- [36] George D.J. Phillies. Quasielastic Light Scattering. *Analytical Chemistry*, Vol 62, No 20, pag. 1049A - 1057A, (1990).
- [37] <http://mathworld.wolfram.com/cumulant.html>. Consultado el 10/10/14
- [38] Sow-Hsin Chen, Benjamin Chu and Ralph Nossal (Eds.). *Scattering Techniques Applied to Supramolecular and Nonequilibrium Systems*. Series B: Physics, Vol 73, pags: 87-160. Plenum Press, New York and NATO Scientific Affairs Division (1981).

- [39] R.S. Stock and W.H. Ray. Interpretation of Photon Correlation Spectroscopy Data: A Comparison of Analysis Methods. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, Vol 23, pag. 1393-1447 (1985).
- [40] Wolfgang Schärfl. Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions. *Springer Laboratory Manuals in Polymer Science*, pag. 16-24. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2007).
- [41] Instruction Manual for 90Plus/BI-MAS Multi Angle Particle Sizing Option Operation Manual, pag. 1-53. Brookhaven Instruments Corporation.
- [42] Malvern Instruments presentation. Protein sizing by light scattering, molecular weight and polydispersity, pag.17- 34.
- [43] Dennis E Koppel. Analysis of Macromolecular Polydispersity in Intensity Correlation Spectroscopy: The Method of Cumulants. *THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS*, Vol 57, No 11, pag. 4814-4820, (1972).
- [44] E. Limpert, W. A. Stahel, and M. Abbt. Log-normal Distributions across the Sciences: Keys and Clues. *BioScience*, Vol 51, No 5, pags. 341-352. University of California Press on behalf of the American Institute of Biological Sciences (2001).
- [45] John C. Thomas. The Determination of Log Normal Particle Size Distributions by Dynamic Light Scattering. *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol. 117, No. 1, pag. 187-192. Academic Press, Inc. (1987).
- [46] D.G. Dalgleish and F.R. Hallett. Dynamic light scattering: applications to food systems. Elsevier Science Ltd. Canadian Institute of Food Science and Technology. *Food Research International*, Vol 28, No 3, pag. 181-193, (1995).
- [47] I.D. Morrison and E.F. Grabowski. Improved Techniques for Particle Size Determination by Quasi-Elastic Light Scattering. *American Chemical Society. Langmuir*, Vol 1, pag. 496-501, (1985).
- [48] Bruce B. Weiner. What is the Size Distribution Weighting: How to get Fooled about What was Measured and What it means?. Brookhaven Instruments Corporation White Paper, pag. 1-4 (2011).
- [49] Anton Paar GmbH, The SAXS Guide Getting acquainted with the principles. Anton Paar. (2011). Pags: 13-29, 30-66.
- [50] D. Altamura, R. Lassandro, F. A. Vittoria, L. De Caro, D. Siliqi, M. Ladisa and C. Giannini. X-ray microimaging laboratory (XMI-LAB), *J. Appl. Cryst.* 45, pag. 869–873 (2012).
- [51] O. Glatter and O.Kratky. *Small Angle X-ray Scattering*, Pags-3-51. Academic Press (1982).
- [52] Max Born and Emil Wolf. *Principles of Optics. Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*, pag. 695-703. 7th (expanded) edition, Cambridge University Press (2003).
- [53] André Guinier and Gérard Fournet. *Small-Angle Scattering of X-rays*, pag. 1-23. John Wiley and Sons (1955).
- [54] L.A. Feigin and D.I. Svergun. *Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering*, pag. 1-55. Plenum Press (1987).
- [55] A Sakka (Editor). *Handbook of Sol-Gel Science and Technology. Volume II: Materials characterization. 'Small-angle X-ray scattering by nanostructured materials'*. A.F. Craievich, Chapter 8, pag. 161-189. Kluwer Academic Publishers (2005).
- [56] N. Striebeck. *X-Ray Scattering of Soft Matter. Springer Laboratory Manuals in Polymer Science*, Pag. 8-71. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2007).
- [57] H. Brumberger. *Modern Aspects of Small-Angle Scattering. NATO ASI Series C: Mathematical and Physical Sciences. Vol. 451*, pag. 107-125. Springer Science+ Business Media, LLC (1995).

- [58] A. El-Trass, H. ElShamy, I. El-Mehasseb, M. El-Kemary. CuO nanoparticles: Synthesis, characterization, optical properties and interaction with amino acids, *Applied Surface Science* 258, pag. 2997-3001 (2012).
- [59] Brookhaven Instruments Corporation. NanoBrook 90Plus Particle Size Analyzer. Nanoparticle sizing, pag. 1-4.
- [60] R.W. Cheary and A. Coelho. Fundamental parameters approach to x-ray line-profile fitting, *J. Appl. Crystallogr.* 25, pag. 109-121 (1992).
- [61] http://es.wiki.org/wiki/Est%C3%A1ndar_de_McFarland. Consultado el 10/10/14
- [62] http://en.wikipedia.org/wiki/Trypticase_soy_agar. Consultado el 10/10/14
- [63] Gadi Borkow and Jeffrey Gabbay. Coper as a Biocidal Tool. *Current Medicinal Chemistry*, Vol 12, No 18, pag. 2163-2175 (2005).
- [64] Jens Als-Nielsen and Des McMorrow. *Elements of Modern X-ray Physics*. Pag. 18-25, 69-75. Second Edition. John Wiley and son, Ltd Publication (2011).
- [65] B.D.Cullity. *Elements of X-Ray Diffraction*. A Volume in Addison-Wesley Series in Metallurgy and Materials, pag. 1-5. Addison-Wesley (1959).
- [66] Yoshio Waseda, Eiichiro Matsubara and Kozo Shinoda. *X-Ray Diffraction Crystallography. Introduction, Examples and Solved Problems*, pag. 5-6, 21-30, 123-127. Springer (2011).
- [67] Ryong-Joon Roe. *Methods of X-Ray and Neutron Scattering in Polymer Science*. Pag. 1-17. Oxford University Press, Inc (2000).
- [68] René Guinebrière. *X-Ray Diffraction by Polycrystalline Materials*, pag. 127-153. ISTE Ltd (2007).
- [69] Joseph Goldstein, Dale E. Newbury, David C. Joy. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, pag. 21-60. Kluwer Academic, Third Edition (2003).
- [70] R. Egerton. *Physical Principles of Electron Microscopy An Introduction to TEM SEM and AEM*, pag. 125-129, 177-180. Springer (2008).
- [71] Ludwig Reimer. *Scanning Electron Microscopy, Physics of Image Formation and Microanalysis*, pag. 1-9, 13-20, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1985).
- [72] Daisuke Shindo, Tetsuo Oikawa. *Analytical Electron Microscopy for Materials Science*, Pag. 1-6, 125-129. Springer Japan (2002).
- [73] Shannon D. Manning. *ESCHERICHIA COLI INFECTIONS*, Pag.15-23. CHELSEA HOUSE PUBLISHERS (2005).
- [74] Michael Wilson, Rod McNab and Brian Henderson. *Bacterial Disease Mechanisms An introduction to cellular microbiology*, Pag. 46-54. Cambridge University Press (2007).
- [75] http://es.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis. Consultado el 13/10/14
- [76] Viroj Wiwanitkit. *Escherichia Coli infections*, Pag. 1-54. Internet Medical Publishing(2011).
- [77] Lidia Ruiz Martínez. Tesis doctoral: *Pseudomonas aeruginosa: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos*. Unidad de Microbiología, Pag. 3-180. Departamento de Patología y terapéutica experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona (2007).
- [78] R. Prasad. *CANDIDA ALBICANS Cellular and Molecular Biology*, Pag. 1-56. Springer-Verlag (1991).
- [79] Dlawer A.A. Ala'Aldeen. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS Molecular and Clinical Aspects*, Pag. 1-53. HORWOOD PUBLISHING LIMITED (2009).

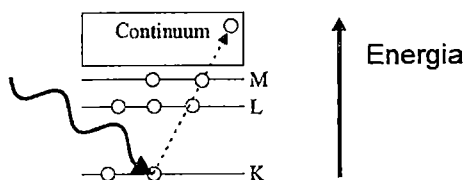
9 ANEXOS

9.1 ANEXO 1

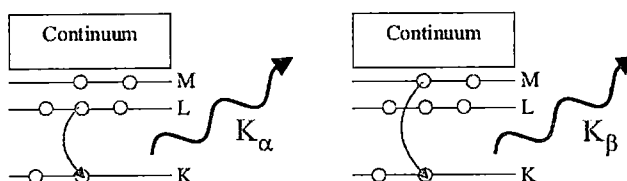
9.1.1 Interacción Rayos X-materia

El proceso de interacción 'rayos X - materia' puede ocurrir de maneras distintas, dependiendo de si la energía de los rayos X incidentes es capaz de provocar transiciones electrónicas en los niveles atómicos de la muestra o no. El primer caso es conocido como **absorción fotoeléctrica** y el segundo se conoce como **dispersión** (que puede ser elástica o inelástica, la difracción está incluida en la dispersión elástica). En la absorción fotoeléctrica, un fotón de rayos X es absorbido por un átomo, y el exceso de energía es transferido a un electrón, el cual es expulsado del átomo, dejándolo ionizado (ver Figura 42). El hueco creado en la capa más interna puede ser ocupado mediante uno de dos procesos distintos. (i) Emisión de rayos X fluorescentes, en donde uno de los electrones de la capa más externa ocuparía este nivel vacío, creando un fotón. En el caso de la Figura 42 b este electrón puede venir o de la capa L o de la capa M. En el primer caso la radiación fluorescente es referida como línea K_{α} , y en el segundo como K_{β} . (ii) Otro proceso es la emisión de un electrón de Auger, en donde el átomo puede relajarse a su estado de energía fundamental liberando un electrón.

(a) Absorción fotoeléctrica



(b) Emisión de rayos X fluorescentes



(c) Emisión de electrones de Auger

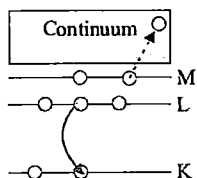


Figura 42. Esquema del proceso de absorción fotoeléctrica. (a) Parte inicial del proceso. (b) y (c) Describen dos posibles caminos para compensar el hueco generado por la transición electrónica. Figura tomada de [64].

9.1.2 Dispersión elástica e inelástica de rayos X

En la **dispersión elástica**, el módulo del vector de onda \vec{k} de la radiación dispersada ($k = \frac{2\pi}{\lambda}$) por un obstáculo es igual al de la radiación incidente, por lo que no existe transferencia de energía del fotón incidente a los electrones (ni por ende transición electrónica en los niveles atómicos internos) de los átomos que constituyen al obstáculo (es decir, el obstáculo sólo provocó la desviación de los rayos X de su dirección original). Este tipo de dispersión es la utilizada en XRD y SAXS. La condición para que ocurra esto es que el valor de la energía de la radiación monocromática incidente debe estar **muy lejos del valor de la energía en el borde de absorción** del material del obstáculo, evitando que los átomos de éste alcancen su **nivel de energía de excitación característica** y por ende empiecen a absorber a la radiación incidente. Esto garantiza que todos los electrones dispersores sean analizados para obtener información completa y estadística de la estructura y morfología local de la materia.

Lejos del borde de absorción, para los rayos X, las energías que poseen los electrones atómicos son tan débiles que éste los considera como si fueran electrones libres, entonces la intensidad dispersada total por cualquier sistema material de partículas se puede considerar como la suma de todas las contribuciones de intensidades de todos sus electrones constituyentes. La dispersión de un electrón libre individual es conocida como dispersión de Thomson. La intensidad dispersada de un electrón individual es determinada teóricamente (fórmula de Thomson [64-67]) y es un factor constante en la intensidad dispersada total de las partículas de la muestra, por lo tanto, este factor es considerado como una unidad (así como la constante de Avogadro en el número de moles), así todas las intensidades de rayos X dispersadas elásticamente de cualquier material pueden ser escritas en unidades de intensidad del electrón libre.

La **dispersión inelástica**, por otro lado, ocurre como consecuencia de la transferencia de energía del fotón al electrón. Provocando un cambio en el valor del módulo del vector de onda k de la onda dispersada respecto al del incidente. Con este tipo de dispersión ninguna información acerca de la estructura de la muestra es obtenida de ella.

9.2 ANEXO 2

9.2.1 La ley de Bragg para la difracción de rayos X

La difracción de rayos X (y en general, de cualquier onda electromagnética) por la materia ocurre de la combinación de dos fenómenos diferentes: (i) Dispersión de rayos X por electrones individuales en la muestra e (ii) Interferencia entre las ondas dispersadas por estos electrones en la muestra.

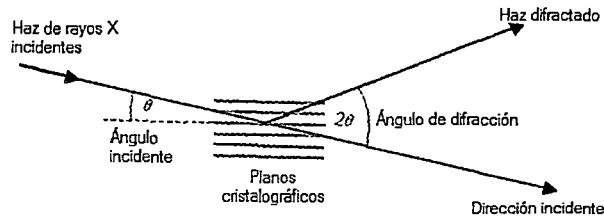


Figura 43. Geometría de la difracción de rayos X. Note que es la misma geometría de la dispersión.

Considere haces de rayos X de longitud de onda λ incidentes a los planos cristalográficos de una muestra irradiada (un haz por cada plano cristalográfico) como se muestra en la Figura 43. En este proceso, las longitudes de camino de las ondas difractadas son idénticas cuando provienen de un mismo plano cristalográfico ($\overline{AB} = \overline{BC}$, ver Figura 44) y de aquí que todas las ondas difractadas individuales en aquel plano cristalográfico están en fase. Los haces difractados en diferentes planos cristalográficos también deben estar en fase para evitar la interferencia destructiva. Por lo tanto, la diferencia de camino entre dos haces en dos planos cristalográficos consecutivos: $\overline{AB} + \overline{BC}$ debe ser igual a un múltiplo entero de la longitud de onda y este a su vez igual a: $2d_{hkl} \sin \theta_{hkl}$ según la geometría de la Figura 44, es decir:

$$\overline{AB} + \overline{BC} = n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} \quad (90)$$

Donde n es un entero, θ_{hkl} es la mitad del ángulo de difracción (o igual al ángulo de incidencia), d_{hkl} es el espaciado entre los planos cristalográficos (hkl). Esta ecuación es la conocida **ley de Bragg**.

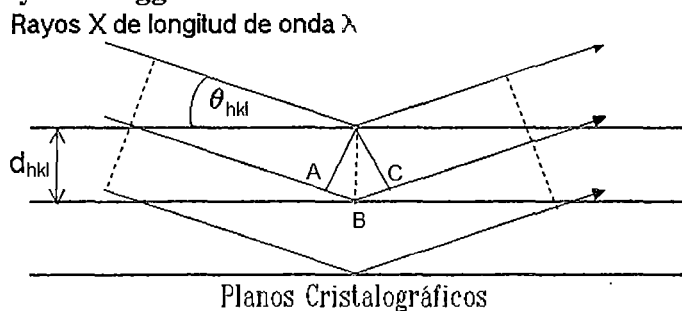


Figura 44. Haces de rayos X incidentes a un conjunto de planos cristalográficos (hkl) paralelos con un espaciado interplanar d_{hkl} y desviados luego por éstos.

La ley de Bragg puede ser expresada convenientemente en términos de los vectores en el espacio recíproco. En la Figura 45, la ley de Bragg es satisfecha si:

$$\vec{k}' - \vec{k} = \vec{g} \quad (91)$$

Dónde: $k = k' = \frac{2\pi}{\lambda}$ y $g = \frac{2\pi}{d_{hkl}}$. La expresión (91), es conocida como la **condición de Laue**.

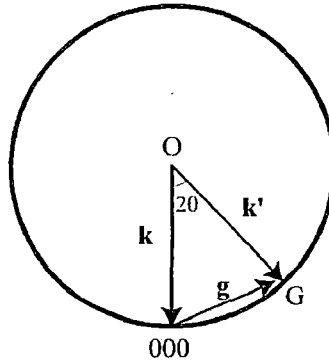


Figura 45. Construcción de la esfera de Ewald en el espacio recíproco. Donde \vec{k} representa la dirección del haz incidente, \vec{k}' la del haz difractado, \vec{g} la normal a los planos difractados. \vec{k} y \vec{k}' tienen magnitud λ^{-1} y \vec{g} tiene magnitud d_{hkl}^{-1} . El haz de rayos X es incidente a un cristal el cual está representado por su red recíproca con origen en (0,0,0).

Aquí \vec{g} es un vector de la red recíproca cuyo origen se encuentra en (0,0,0) y representa al cristal el cual está siendo iluminado por la radiación incidente \vec{k} .

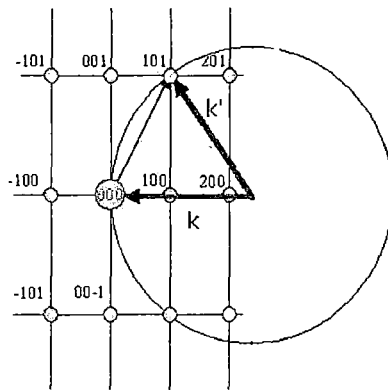


Figura 46. Otra ilustración de la esfera de Ewald superpuesta a la red recíproca. En este caso solamente los planos 101 y $10\bar{1}$ satisfacen la condición de Bragg. Los vectores de la red recíproca que no tocan la esfera no presentarán picos de difracción.

9.2.2 La ley de Bragg para la dispersión

9.2.2.1 La ley de Bragg para la dispersión de rayos X

La ley de Bragg que fue definida primero en la difracción puede ser generalizada para la dispersión de rayos X, para esto en la ecuación (90), la distancia d_{hkl} entre los planos cristalográficos (hkl) debe ser cambiada por la distancia r entre dos puntos

dispersores (en la difracción los entes dispersores fueron los planos cristalográficos), desapareciendo consigo los subíndices hkl. Entonces, la geometría sigue siendo esencialmente la misma. Como puede verse en la Figura 47, los puntos dispersores son B y O. Haciendo un cambio en la notación anterior para los vectores de onda ($\vec{k} \leftrightarrow \vec{Q}$, $\vec{k} \leftrightarrow \vec{Q}_0$ y $\vec{g} \leftrightarrow \vec{q}$), el módulo del vector diferencia de vectores de onda q, ahora está relacionado con r, según:

$$q = 2\pi/r \quad (92)$$

En donde extrapolando conceptos, podemos establecer que los valores de q pertenecen a cierto espacio recíproco al espacio de distancias r. En el fenómeno de dispersión obtenemos experimentalmente **perfiles de dispersión** (y no patrones de difracción); estos son generados debido a la interferencia (constructiva, destructiva e intermedia a éstas dos, ver Figura 48) entre las ondas incidente y dispersada como funciones del vector de dispersión \vec{q} . El perfil de dispersión es llamado '**la estructura en el espacio recíproco**', mientras que las partículas son dichas que tienen una '**estructura de tamaños en el espacio real**'.

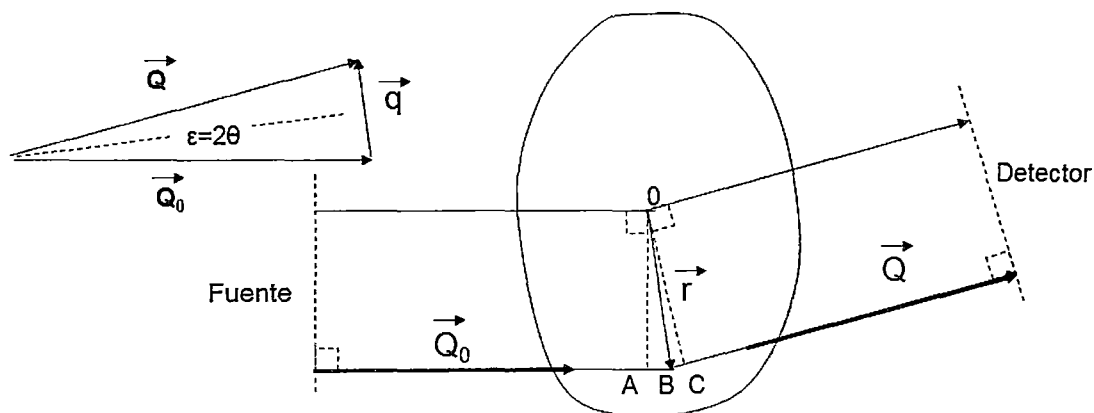


Figura 47. Esquema de la geometría de la dispersión de rayos X. Una fuente emite un haz de rayos X incidentes (de vector de onda \vec{Q}_0) desviándose al interactuar con una partícula en su camino convirtiéndose en un nuevo haz de rayos X dispersados (de vector de onda \vec{Q}) y trayendo consigo información de la estructura (arreglo) de sus puntos dispersores (electrones de la partícula). Las intensidades registradas por el detector son debidas al haz dispersado. Note del triángulo de vectores que: $\vec{q} = \vec{Q} - \vec{Q}_0$, siendo $\varepsilon = 2\theta$, el ángulo de dispersión.

Por lo tanto, considerando los cambios de notación y reemplazando la ecuación (92) en la ecuación (90) con $n = 1$ (por comodidad), obtenemos la ley de Bragg para la dispersión:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \times \sin \theta \quad (93)$$

Recuerde (ver Figura 47) que, q es el módulo del vector diferencia entre los vectores de onda incidente y dispersado; θ es la mitad del ángulo de dispersión; λ es la longitud de onda de la radiación incidente en un medio de índice de refracción n (que para los rayos X: $n < 1$, mientras que para la luz: $n > 1$).

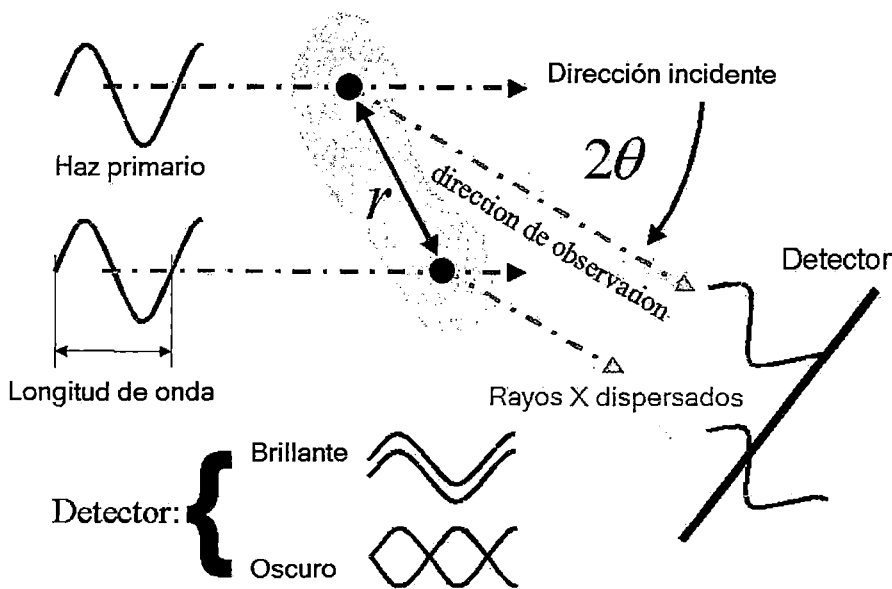


Figura 48. La intensidad detectada de las ondas dispersadas depende de la distancia r entre los átomos emisores y de sus orientaciones con respecto a las direcciones de incidencia y observación (2θ). Cuando las ondas llegan paralelas (arreglo constructivo), la interferencia causa una mancha brillante en el detector y cuando las ondas llegan anti paralelas (arreglo destructivo), entonces las ondas se extinguen mutuamente produciendo una mancha oscura en el detector. El resultado es un patrón de interferencia 2D, donde la intensidad varía de posición a posición en el plano de detección. Figura tomada de [49].

9.2.2.2 La ley de Bragg para la dispersión de la Luz

Análogamente, podemos generalizar aún más la ley de Bragg para que incluya la dispersión de la luz, esto lo podemos hacer reemplazando en la ecuación (93) la longitud de onda λ de los rayos X incidentes por el de la luz, bajo esta consideración el índice de refracción n del medio donde se propaga la luz, ahora jugaría un rol importante en la dispersión debido a la dependencia de λ con ésta (es decir, $\lambda = \lambda_0/n$, donde λ_0 es la longitud de onda de la luz en el vacío). De lo dicho anteriormente tendríamos:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \times \sin \theta \quad (94)$$

9.3 ANEXO 3

9.3.1 Introducción a la Difracción de rayos X de polvos (Powder X-ray Diffraction)

Un material policristalino (como los polvos de una muestra de CuO) es aquel constituido por billones de pequeños sólidos cristalinos (cristalitos) aleatoriamente orientados. Cuando un haz monocromático de rayos X pasa a través de un espécimen pequeño de un material policristalino, todos los planos cristalográficos de todos sus cristalitos interactuarán con el haz generando picos de difracción en todas direcciones. Sin embargo, la difracción en cada tipo de plano cristalográfico (de la contribución de muchos cristalitos) podrá ser detectado dependiendo de si se conoce el valor de su respectivo ángulo de difracción 2θ (ver Figura 49).

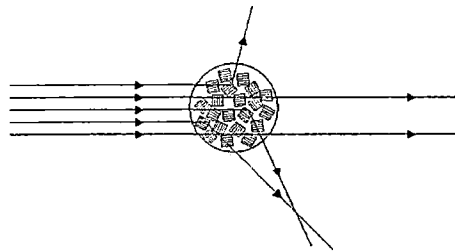


Figura 49. Haz monocromático de rayos X paralelos, incidentes a un espécimen policristalino pequeño (polvo) constituido de cristalitos aleatoriamente orientados y desviados por éstos (difractados).

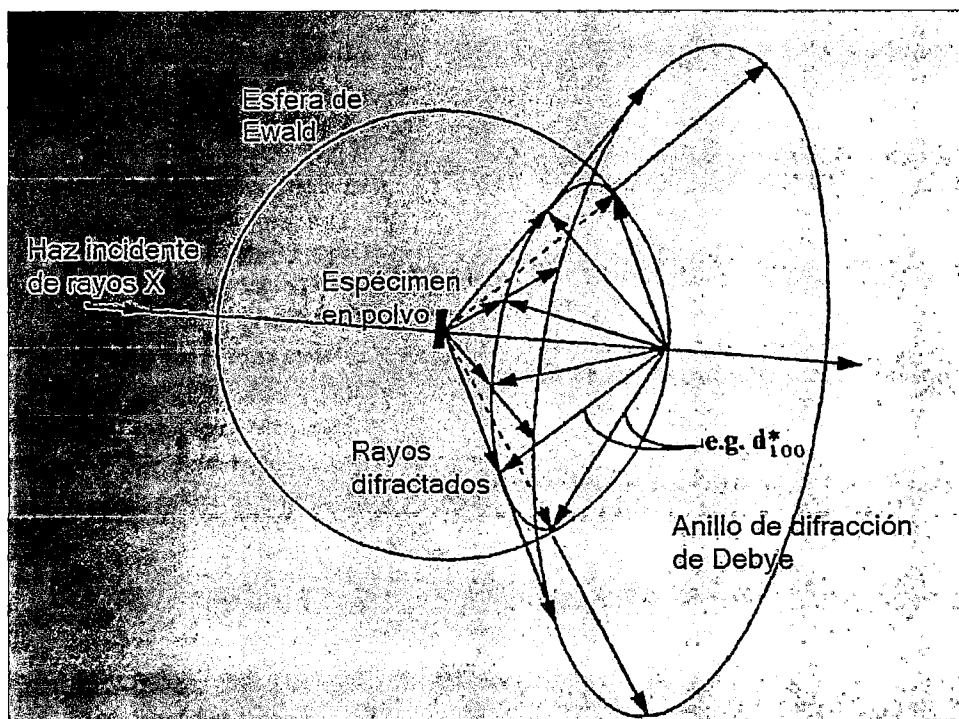


Figura 50. Intersección de los vectores \vec{d}_{100}^* con la esfera de Ewald.

9.3.2 Cámara de Debye-Scherrer

Entonces haciendo un seguimiento completo de todos los valores posibles del ángulo experimental de difracción 2θ podremos detectar todos los picos de difracción posibles que pueden ser producidos por todos los tipos de planos cristalográficos de todos los cristalitos en el polvo. Por lo tanto, emergerán con cada ángulo de difracción 2θ muchos conos formados a partir de los haces difractados desde el espécimen. Cada cono está asociado a sólo un tipo de plano cristalográfico. Estos conos pueden ser registrados como arcos en una porción de una película cilíndrica sensible (detector) perpendicular al haz incidente y que rodea al espécimen (cámara de Debye-Scherrer) como se muestra en la Figura 51.

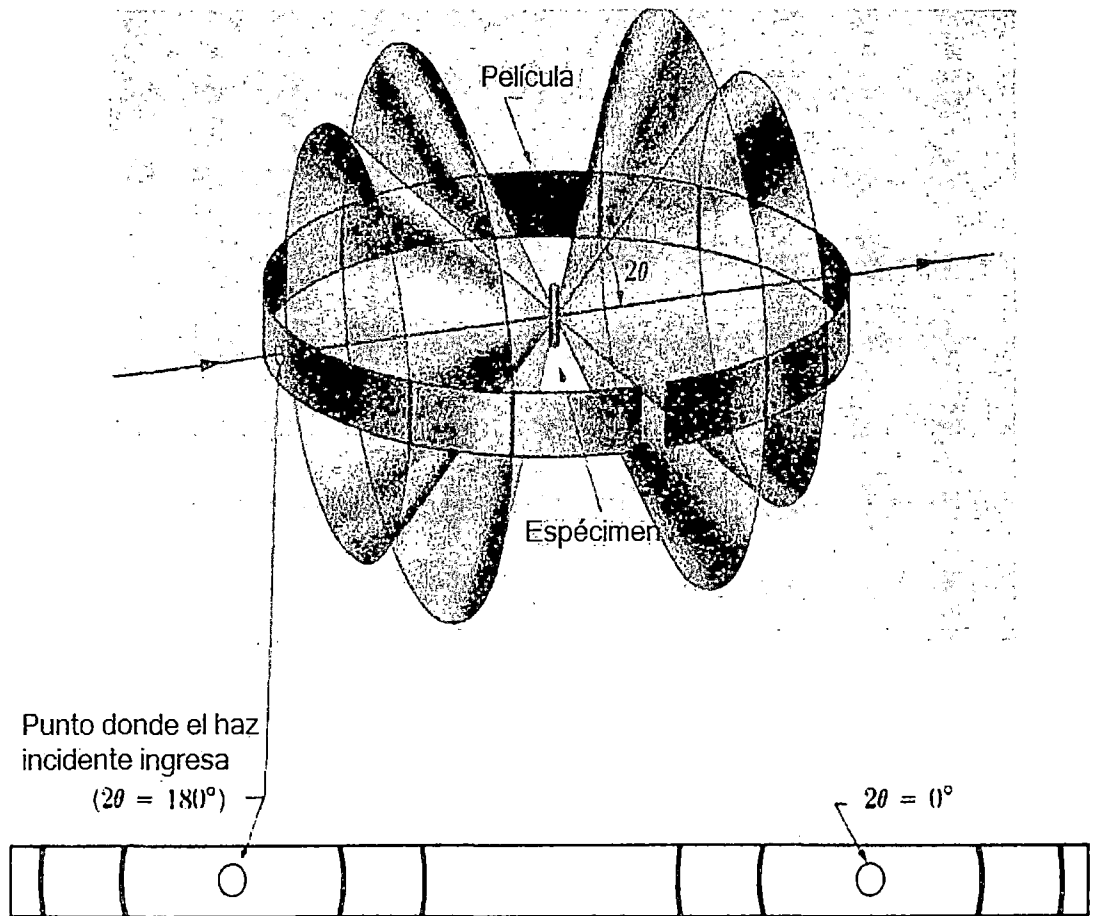


Figura 51. Cámara de Debye-Scherrer. Figura tomada de [65].

9.3.3 Ecuación de Debye-Scherrer

Recordemos que la expresión de la ley de Bragg (ecuación (90)) tiene la forma $\lambda = 2d \sin \theta_B$. Sin embargo, los rayos X incidentes que cumplen esta condición usualmente lo hacen también para ángulos de difracción ligeramente diferentes de θ_B . Este detalle con el cumplimiento de la ley de Bragg por las ondas dispersadas, está relacionado con el tamaño finito de los cristalitos. Como consecuencia de ello son observados ensanchamientos en los picos de difracción, como puede notarse en la Figura 52, cierta anchura B en un pico de difracción es observada en la región angular

alrededor de θ_B . Note que cuando el tamaño de los cristalitas decrece, la intensidad dispersada de rayos X es no nula en la región angular entre un ángulo ligeramente más pequeño $2\theta_1$ cercano a $2\theta_B$ y un ángulo ligeramente más grande $2\theta_2$. Tal perfil de pico está caracterizado por una distribución con valores intermedios entre cero y el máximo en $2\theta_B$.

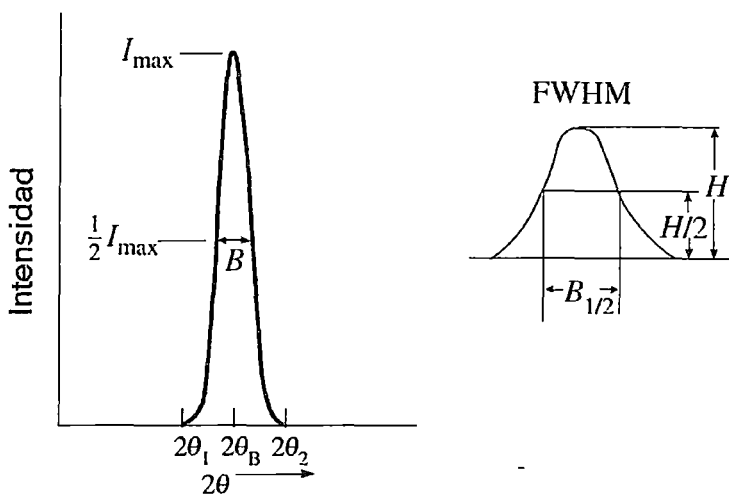


Figura 52. Diagrama esquemática para el perfil de un pico de difracción de rayos X de una muestra policristalina fina. Figura tomada de [66].

La siguiente ecuación llamada ecuación de Scherrer es ampliamente usada para estimar el tamaño de los cristalitas a partir del perfil del pico de difracción medido.

$$d = \frac{K\lambda}{B_{1/2} \cos \theta} \quad (95)$$

Donde $K = 0,9$ es el factor de forma, λ es la longitud de onda de los rayos X de la radiación Cu K_α ($1,54 \text{ \AA}$), θ es el ángulo de difracción de Bragg, y $B_{1/2}$ es FWHM (del inglés full width at half its maximum intensity) del pico de difracción respectivo. El valor de 'd' representa al diámetro (promedio) de los cristalitas que es perpendicular al plano cristalográfico correspondiente al pico de difracción medido.

Sin embargo, debemos saber que todos los picos de difracción tienen su ancho medible debido también a la contribución de otros factores tales como la divergencia del haz incidente y el ancho de la fuente de rayos X. En otras palabras el ancho en la ecuación (95) se refiere únicamente al efecto del tamaño de los cristalitas. Por esta razón, cuando queremos calcular el valor promedio del tamaño de los cristalitas d a partir del ancho medido, es deseable conocer previamente el valor del factor de ensanchamiento instrumental debido a la contribución de todos los demás factores. Para esto es necesario usar muestras estándar (por ejemplo, cuarzo- α cristalino [66]) en medidas previas al experimento de difracción y así determinar estos factores.

La forma de un pico de difracción puede ser ajustada usando modelos matemáticos [68], en donde la función representativa del pico de difracción medido experimentalmente es descompuesta en una suma de funciones que representan a todos los factores que contribuyen al ensanchamiento y así una vez conocidos estos es posible extraer sólo el factor (función) del tamaño de cristalitas [60]. A éste factor le aplicamos la ecuación de Scherrer y obtenemos el tamaño promedio de los cristalitas.

9.4 ANEXO 4

9.4.1 Introducción a la técnica: Microscopía electrónica de Barrido SEM (Scanning Electron Microscopy)

Los microscopios ópticos y electrónicos comparten los mismos principios fundamentales, sin embargo, a diferencia de los microscopios ópticos que usan luz visible como fuente, los microscopios electrónicos usan electrones muy energéticos. La longitud de onda de los electrones puede volverse tan pequeña (en comparación con la longitud de onda de la luz) que nos permite ‘ver’ características muy pequeñas (estructuras atómicas) de la materia que con los microscopios ópticos no pudiéramos. Los microscopios electrónicos tienen mayor resolución (ver Figura 53). Debido a que los electrones presentan velocidades cercanas al de la luz, la longitud de onda λ de los electrones puede volverse extremadamente pequeña dependiendo de cuanto sea el voltaje V aplicado a ellos, según:

$$\lambda = \sqrt{\frac{1,5}{V(1 + V \times 10^{-6})}} \quad [\text{nm}] \quad (96)$$

Por ejemplo para un voltaje de aceleración de 10 kV, la longitud de onda de los electrones será 0,0122nm.

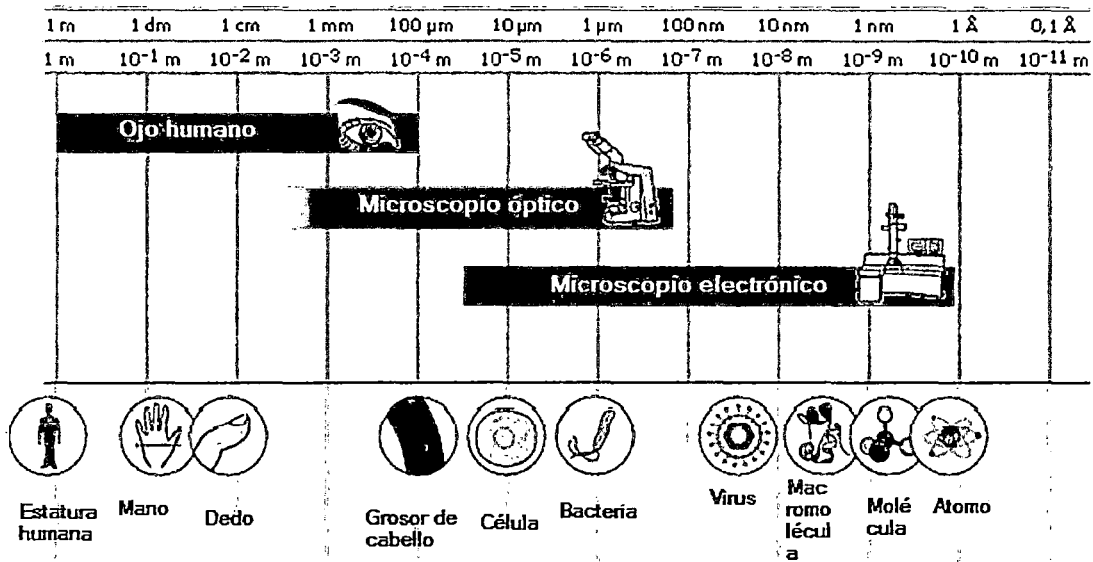


Figura 53. Comparación de escalas y tamaños posibles de poder ser vistos mediante distintos tipos de microscopios desde el ojo humano hasta los microscopios electrónicos.

9.4.1.1 Microscopio electrónico de barrido por emisión de campo, microscopio FE-SEM (Field Emission-Scanning Electron Microscopy)

El principio de funcionamiento de un microscopio FE-SEM es mostrado en la Figura 54. La fuente de electrones usados en un microscopio FE-SEM es una punta de tungsteno. Los electrones provenientes del cátodo de un cañón de emisión de campo son acelerados por un voltaje de 1-50 kV entre el cátodo y los ánodos de éste. La sección eficaz del haz más pequeño en el cañón con un diámetro del orden de 10-100

nm para los cañones de emisión de campo es magnificada por un sistema de lentes electrónicas distanciados ampliamente desde el espécimen. Hay dos o tres **lentes condensadores** usualmente arriba del espécimen que controlan el diámetro y la corriente final del haz de electrones [69]. El haz incidente de electrones en un microscopio FE-SEM usualmente tiene un diámetro de 1 nm. Los lentes finales que enfocan este muy estrecho haz incidente son llamados **lentes objetivos** y requieren de mayor corriente de alimentación que los lentes condensadores por lo que deben ser enfriados constantemente; su performance (incluyendo aberraciones) determina ampliamente la resolución espacial del instrumento. De hecho, la resolución de un SEM nunca puede ser mayor que el diámetro de su haz incidente, como una consecuencia del método usado para obtener la imagen. Así que un haz incidente de diámetro 1nm porta una corriente de 10^{-10} - 10^{-12} A que es formada en la superficie del espécimen. Para modos de operación que necesitan una corriente de haz incidente más alta de 10^{-9} - 10^{-8} A, el diámetro del haz incidente se incrementa a 0,1-1 μm .

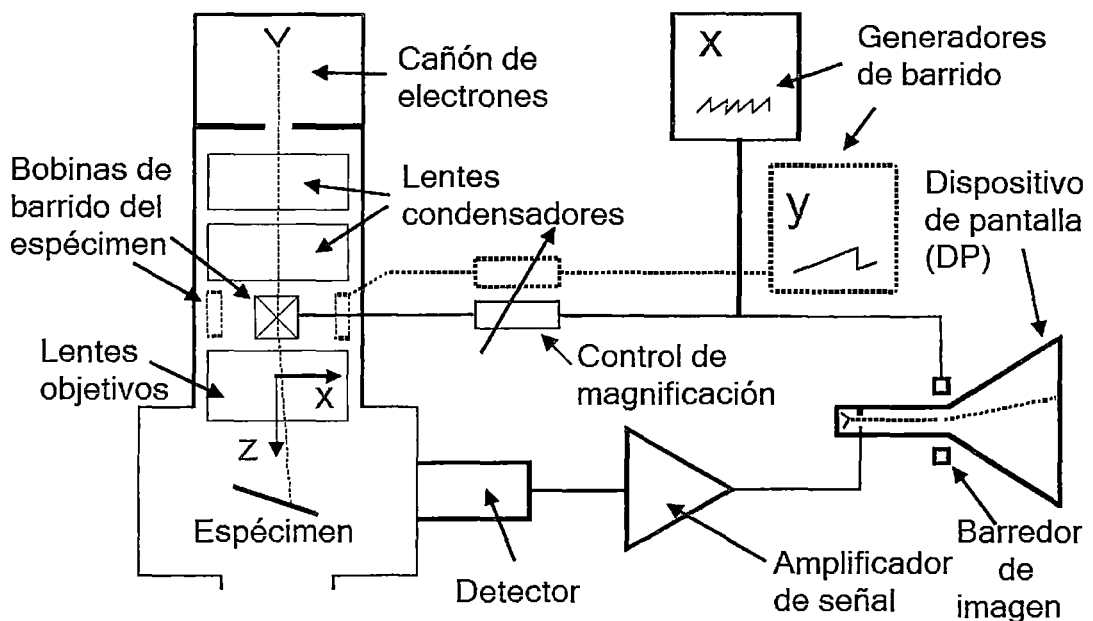


Figura 54. Diagrama esquemático de un microscopio electrónico de barrido con una pantalla CRT. Figura tomada de [70].

El haz incidente en un microscopio FE-SEM barre la superficie del espécimen de un lado a otro en dos direcciones perpendiculares (x e y). El **barrido x** es relativamente rápido y es causado por un generador de onda del tipo diente de sierra operando a una frecuencia lineal f_x ; ver Figura 55a. Este generador suministra corriente a dos bobinas llamadas **bobinas de deflexión**, conectadas en serie y localizadas arriba de los **lentes objetivos**. Las bobinas generan un campo magnético en la dirección y, creando una fuerza magnética en los electrones (que están viajando en la dirección z) que los desvía en la dirección x (ver Figura 54). El **barrido y** es mucho más lento (ver Figura 55b) y es causado por un segundo generador de onda tipo diente de sierra corriendo a una **frecuencia de marco** $f_y = f_x/n$, donde n es un entero. Este procedimiento del haz de barrer secuencialmente en dos direcciones perpendiculares cubriendo un área cuadrada o rectangular del espécimen es conocido como **raster de barrido** (ver Figura 55d).

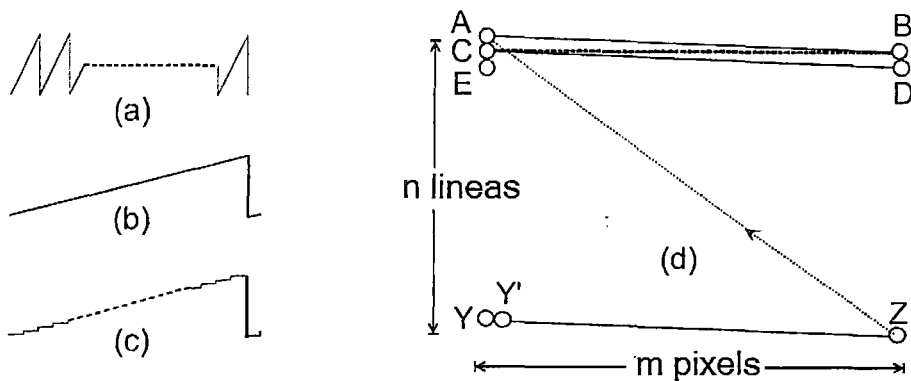


Figura 55. Procedimiento de construcción de las imágenes SEM mediante el barrido electrónico. (a) Forma de onda de barrido de una línea (barrido de corriente vs tiempo), (b) Forma de onda de barrido de un marco, y (c) Su equivalente digital. (d) Elementos de un raster de barrido de un marco: AB y YZ son el primero y último barrido de líneas en un marco, respectivamente. Y e Y' representan píxeles adyacentes. Figura tomada de [70].

Durante su señal de desviación x , el haz de electrones se mueve en línea recta, desde A hacia B como en la Figura 55d, formando un barrido lineal individual. Después de alcanzar B, el haz es desviado de vuelta a lo largo del eje x muy rápidamente. Pero debido a que el generador del **barrido y** ha incrementado su periodo durante el barrido x , este retorna no a A sino al punto C, desplazado en la dirección y . Una segunda línea de barrido lleva al haz de electrones hacia el punto D, después lo retorna hacia E y el proceso es repetido hasta que n líneas hayan sido barridas y el haz llegue finalmente al punto Z. Esta secuencia entera constituye un **marco** individual del barrido del raster. Desde el punto Z, el haz de electrones rápidamente retorna a A y el siguiente marco es realizado. Este proceso puede seguir continuamente para muchos marcos, como sucede en la tecnología de TV o video.

La salida de los dos generadores de barrido son también aplicados para un dispositivo de pantalla (DP), tal como el de una TV tipo-tubo de rayos catódicos (CRT), en el que la imagen FE-SEM aparecerá. El haz de electrones en el CRT barre en sincronismo exacto con el haz en el microscopio FE-SEM, entonces para cada punto en el espécimen (dentro del área del raster) hay un punto equivalente en el DP, mostrado en el mismo instante de tiempo.

En un microscopio FE-SEM moderno, las señales de barrido son generados digitalmente, por computadora, y las formas de onda del barrido x y el barrido y son exactamente funciones escalera con niveles m y n respectivamente (ver Figura 55c). Este procedimiento divide la imagen en un total de mn elementos de cuadro (píxeles) y el haz de electrones del microscopio FE-SEM permanece estacionario para un cierto tiempo de vida antes de saltar al siguiente píxel. Una ventaja del barrido digital es que la computadora del microscopio FE-SEM 'sabe' la dirección (x, y) de cada píxel y puede registrar el valor de intensidad-imagen apropiada (también como un dígito numérico) en la correspondiente ubicación en la memoria de computadora. Una imagen digital, en la forma de posición e intensidad, puede entonces ser almacenada.

El cambio en la brillantez de la imagen surge cuando la señal colectada de la interacción haz-espécimen varía. Cuando el haz de electrones impregna en el espécimen, muchos tipos de señales son generadas, y cualquiera de estas puede ser mostrada como una imagen. La electrónica del sistema detector convierte las señales a cambios de intensidad punto por punto en el DP produciendo una imagen. Las dos señales frecuentemente usadas para producir imágenes SEM son electrones secundarios (ES, electrones atómicos expulsados desde el espécimen como un resultado de dispersión inelástica, emitidos en un rango de energías: $E_{ES} \leq 50$ eV) y electrones retro-dispersados (ERD, electrones incidentes dispersados elásticamente más de 90° , emitidos en un rango de energías: $E_{ERD} > 50$ eV) [71]. El detector estándar Everhart-Thornley (E-T) colecta ambas señales cuando un voltaje positivo es aplicado en la pantalla del detector. Con un voltaje negativo en la pantalla del detector, una señal ERD pura es capturada porque la baja energía de los ES es repelida. Los electrones capturados por el Centellador/Foto-multiplicador son amplificados y mostrados en el DP del CRT.

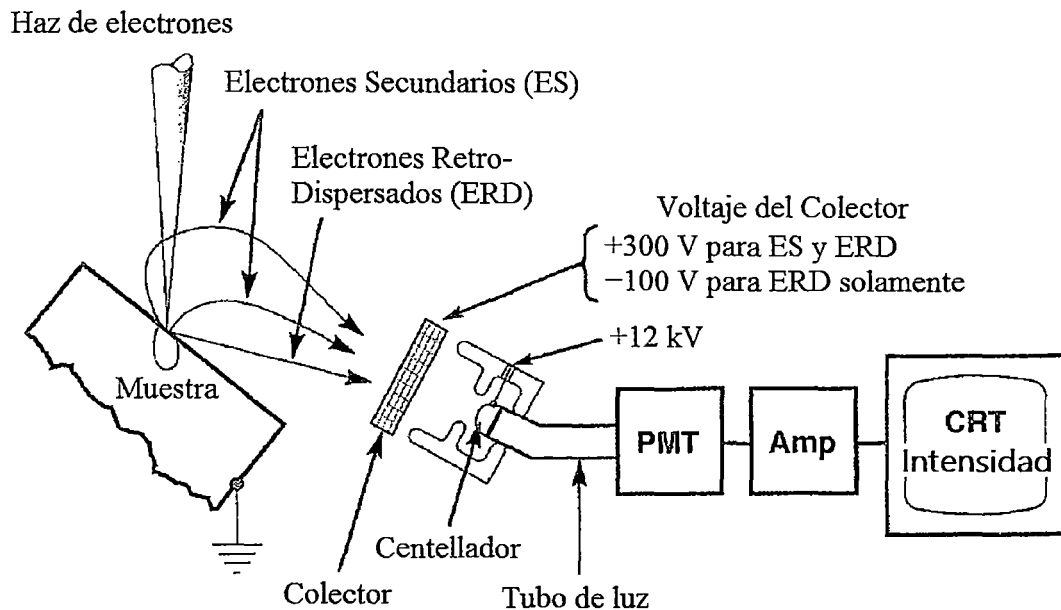


Figura 56. Diagrama mostrando la colección de señales de electrones secundarios y retro-dispersados por el detector Everhart-Thornley. Figura tomada de [69].

9.4.2 Microscopía electrónica de transmisión-barrido STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy)

Como es sabido, los electrones dispersados elásticamente se distribuyen en ángulos de dispersión grandes, mientras que los electrones dispersados inelásticamente se distribuyen en ángulos de dispersión pequeños. Entonces se pueden seleccionar solamente a los electrones dispersados elásticamente detectando únicamente a los electrones que tienen ángulos de dispersión grandes. Las imágenes STEM son registradas en modo campo-oscuro, es decir, usando un detector anular campo-oscuro (ACO). El detector ACO colecta electrones que son transmitidos a través del espécimen y dispersados dentro de un cierto rango angular ($\theta_1 - \theta_2$) determinado por sus diámetros interno y externo (ver Figura 57). Por lo tanto, haciendo θ_1 grande son colectados solamente ángulos grandes (principalmente de dispersión elástica). El

término campo-oscuro es debido a que los electrones transmitidos que están en el centro de un patrón de difracción (campo-brillante), no son detectados (la mayoría de electrones difractados tienen un ángulo de dispersión menores que θ_1 y pasan a través del hueco central en el detector).

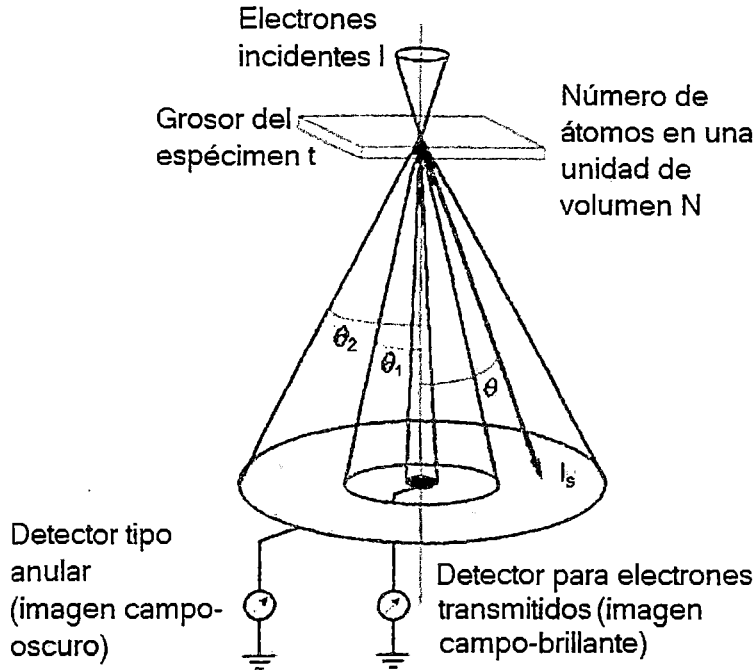


Figura 57. Principio de la microscopía STEM basado en un detector anular de campo oscuro de altos ángulos de dispersión. Figura tomada de [72].

La intensidad de dispersión I_s de los electrones dispersados (transmitidos) en un área de forma anular de radios interno y externo comprendidos entre los ángulos de dispersión θ_1 y θ_2 , respectivamente (ver Figura 57) es:

$$I_s = NtI \left(\frac{m}{m_0}\right)^2 \frac{Z^2 \lambda^4}{4\pi^3 a_0^2} \left(\frac{1}{\theta_1^2 + \theta_0^2} - \frac{1}{\theta_2^2 + \theta_0^2} \right) \quad (97)$$

Dónde m es la masa del electrón, λ es la longitud de onda del electrón, m_0 es la masa de reposo de electrón, a_0 es el radio de Bohr, Z es número atómico del material del espécimen, θ_0 es el ángulo de dispersión de Born, N es el número de átomos en un volumen unitario del espécimen de grosor t , e I indica la intensidad del electrón incidente. De la ecuación (97) se ve que la intensidad de la señal de electrones en un STEM es proporcional al cuadrado del número atómico Z . Entonces, el contraste de imagen depende fuertemente de Z . Aunque la señal es débil, el diseño del detector anular provee alta eficiencia de colección, como todos los ángulos azimutales de dispersión son registrados (a diferencia del caso de la construcción de imágenes por campo-oscuro en un TEM convencional).

Porque la imagen es formada con electrones incoherentes, la interpretación de la imagen mediante el detector ACO es directa. Si el grosor del espécimen es uniforme, el contraste de imagen brillante indica directamente elementos pesados. La imagen ACO ha llamado mucho la atención a causa de su facilidad de interpretación y amplificación de la imagen electrónicamente.

9.5 ANEXO 5

9.5.1 PROGRAM PACKAGE GNOM

* PROGRAM PACKAGE GNOM *

Small-Angle Scattering Data Processing
by Means of the Regularization Technique

----- Version E4.5a 11/03/03 -----
----- for Wintel, UNIX, Linux and Mac -----

GNOM is written by D.Svergun & A.Semenyuk
EMBL c/o DESY Notkestrasse 85
D-22603 Hamburg, GERMANY
and
Institute of Crystallography
Academy of Sciences of Russia
117333 Leninsky pr.,59 Mocsow, RUSSIA

Version 4.5 released by D.Svergun
Tel. (+49) (0)40 89902 125
Fax. (+49) (0)40 89902 149
E-mail Svergun@EMBL-Hamburg.DE
URL <http://www.embl-hamburg.de/ExternalInfo/Research/Sax/>

CONTENT

Introduction
What is new in version 4.5
What is new in version 4.4
What is new in version 4.3
Structure of input data file
Output file
Standard deviations
Integral kernel and job type
Experimental conditions
Regularization parameter
Perceptual criteria
Error estimates
Graphics
Next job
On-line help

Configuration file
Practical advises
Hardware and software requirements
References

Introduction

GNOM is an indirect transform program for small-angle scattering data processing. It reads in one-dimensional scattering curves (possibly smeared with instrumental distortions) and evaluates the particle distance distribution function $p(r)$ (for monodisperse systems) or the size distribution function $D(R)$ (for polydisperse systems). The main equations relating the scattering intensity to the distribution functions and describing the smearing effects one can find in the text-books (e.g. [0]).

GNOM is similar to the known programs of Glatter [1], Moore [2] and Provencher [3]. There are, however, some points, which make GNOM more convenient in application. GNOM is a dialogue program; the user instructions presented here explain how to answer the questions properly. The versions E4.0 and higher make use of the "configuration file", where some or all the parameters can be pre-defined; this allows to work with GNOM in different modes, ranging from fully interactive to batch mode. The names of the parameters in the following description refer to the configuration file names.

The algorithms used in the program are described elsewhere [4-6]. They are based on the Tikhonov's regularization technique [7]; several subroutines published in [8] are modified and used in GNOM. The value of the regularization parameter is estimated by the program automatically using the perceptual criteria [9].

What is new in version 4.5

1. Version 4.5 is Linux-compatible, and Linux executable will be distributed along with the Wintel, SGI and Alpha DEC versions. The Linux versions requires Gnuplot for graphics. MacOS X version is also available (Gnuplot graphics).
2. The version 4.4 will properly read input data files where the numbers are separated by TABs, and it also sorts the input data within the run in the ascending order of the scattering vector (acknowledgment to V.Volkov).

3. Minor bug in data reading corrected (NSKIP2=1 caused failure)

What is new in version 4.4

1. Version 4.4 for Wintel platform (Win95/98 or WinNT) does not require Gnuplot. Instead of the directory c:\gnom the program searches for the configuration file in the directory C:\Atsas directory Atsas (stands for "All That SAS") will contain also other programs from the EMBL program suite. It is recommended to copy the Gnom executable to c:\Atsas and make a shortcut to it. The program will run from the desktop and includes file chooser to select the working directory and input file. The last working directory is saved onto a file c:\Atsas\gnom.ini so that this directory will be default when the program is started again. A classic command-line style Gnom 4.4 version for Wintel using Gnuplot is also available.

The Unix version runs from a command line using Gnuplot as before. It is, however, recommended to make the GNOM environment variable pointing to \$HOME/Atsas/ and to copy the gnom.cfg file into it. This directory will contain all the EMBL program suite modules for UNIX in future.

2. The version 4.4 will properly read input data files where the numbers are separated by TABs, and it also sorts the input data within the run in ascending order of the scattering vector (acknowledgment to V.Volkov).

What is new in version 4.3

1. Version 4.3 WILL NOT run under DOS or Win3.x on IBM PC, it requires Win95/98 or WinNT.
2. Version 4.3 is a double precision version.
3. Maximum numbers of experimental points in the input data file, of the data points after joining and of the points in the characteristic function are increased to 2048, 512 and 101, respectively.
4. Version 4.3 searches for the input of the data stream in a smarter way. When reading in the input data, GNOM searches for THREE valid lines containing increasing s and positive I(s). Due to this, GNOM is able to read e.g. files in sasCIF format or those in the ILL or LOQ format without editing.
5. A possibility is added to omit data points in the beginning

and at the end of the input file(s).

6. The angular scale can optionally be reduced to the units of $4\pi \sin(\theta)/\lambda$ [Angstrom].
7. An option AH (or LH) < 0 is added to emulate the case of infinite slit collimation (e.g. Kratky camera geometry)
8. Both IBM-PC and UNIX versions of GNOM4.3 use now the GNUPLOT graphics and support several printer formats for hardcopy output.
9. Version 4.3a: a bug in version 4.3 corrected (program crashed when employing all three types of smearing for IDET=1)

Structure of input data file

Input file (parameter INPUT1) is a sequential ASCII file containing the experimental data. First line is always treated as a problem title (comment). Then the program searches for the first data line. Valid data line should contain momentum transfer, non-zero intensity, and, optionally, standard deviation in a free format (that is, separated by blanks or commas). After this all valid lines are treated as data; invalid line or end-of-file are considered as the end of the input stream. Maximum number of data points is 1024.

This way to read data is rather flexible, allowing to skip additional headers and to use the data with or without the standard deviations. However, long files will take some time to read (especially on VAX'es).

With modern devices one can measure lots of data points with tiny angular step. This is not always good, and sometimes might become harmful when using indirect methods, because each angular point gives rise to a separate equation, which are, in fact, linear dependent. Note that the angular step $\Delta(s) = D_{\text{samp}} / 6$, where $D_{\text{samp}} = (\pi)/D_{\text{max}}$ is a sampling distance, is claimed to be optimum. To optimize the performance, GNOM joins neighbouring data points when it finds the number of points to be unreasonably high.

The program can handle simultaneously two data sets corresponding to the same sample but recorded with different conditions (see below). The second input file (parameter INPUT2) should have the same structure. Default answer to the question 'Input file name, second run' is NO second run.

Note, that the momentum transfer is assumed to be

$$s = 4 (\pi) \sin (\theta) / (\text{average wavelength}),$$

where theta is a half of the scattering angle.

Example of the input file :

```
.....  
PROBLEM #13  
This line is skipped because of error, the next because of zero intensity :  
0.0001 0.0 17.1  
This is again skipped: the next is the first valid data line:  
0.05564 , 1.2323e10 11111111.  
0.05574 1.1323e10  
0.05584 18303353, 1e10 , This is the text which does not change anything!  
1.e-1 1.0323e10, 8E8 It is just not read.  
0.07 0.0 17.1  
The previous line indicates the end of the data set  
.....
```

Output file

This is a sequential disk file where all the information from GNOM will be printed in ASCII form (parameter OUTPUT, default file name is gnom.out)

Standard deviations

If some standard deviations (or all of them) are not specified, negative or equal to zero, the user will be prompted for their estimation (parameter DEVIAT). A positive number means constant relative deviation per point. If the user enters zero (default answer), the program will estimate the errors automatically with the help of a polynomial smoothing procedure.

Example

```
.....  
3 means that for each point with a non-positive standard  
deviation a relative deviation  $0.03 \cdot A$  is assumed, where A is  
the intensity in this point  
.....
```

Integral kernel and job type

The program searches for a distribution function in real space

(characteristic function for monodisperse systems or size distribution function for polydisperse systems). These functions are related to the experimental intensity by corresponding Fourier transform followed by some convolutions representing smearing effects (if the latter exist). The integral equation is represented in a form of a linear system and solved with respect to the distribution function. The matrix of the system is called "design matrix". To evaluate it, the user must specify several parameters:

*** JOBTYP

0 - calculation of distance distribution function for a monodisperse system (default job). The function $p(r) = \gamma(r) \cdot r^2$ is evaluated, where $\gamma(r)$ is the characteristic function of the particle.

1 - calculation of volume distribution function $D(R) = (4 \cdot \pi / 3) \cdot R^3 \cdot N(R)$ for polydisperse system of solid spheres (R is the sphere radius, $N(R)$ relative number of particles with this radius in the system)

2 - calculation of size distribution function of particles with the user-supplied form factor (parameter FORFAC). In this case the form factor of particles should be supplied in a separate file. The first line of this file should contain three values in free format:

NFORM - number of points in the formfactor
 NDIM - number of dimensions (NDIM=1 long particles, NDIM=2 plane particles, NDIM=3 globular particles)
 DELSR - increment in the $s \cdot R$ units (s scattering vector, R characteristic particle size). The form factor is to be given in the points 0., DELSR, 2DELSR, ...
 ... (NFORM-1) * DELSR.

This should be followed by the form factor values (NFORM values in 8E10.3 format, NFORM < 2500)

The function $D(R) = N(R) \cdot R^{NDIM}$ is evaluated; R is a user-defined characteristic size (e.g. radius of gyration)

3 - calculation of the distance distribution function of thickness assuming monodisperse system of flattened particles. The function $p(r) = \gamma(r)$ is evaluated, where $\gamma(r)$ is the characteristic function of thickness. In this case the experimental intensity as well the errors are multiplied by s^2 which corresponds to the thickness scattering factor.

4 - calculation of the distance distribution function of the

cross-section assuming monodisperse system of rod-like particles. The function $p(r) = \text{gamma}(r) \cdot r$ is evaluated, where $\text{gamma}(r)$ is the characteristic function of thickness. In this case the experimental intensity as well as the errors are multiplied by s , which corresponds to the cross-section scattering factor.

5 - calculation of the length distribution function $p(r)$ for a polydisperse system of long cylinders $p(r) = H \cdot N(H)$, where H is the length of the cylinder, $N(H)$ number of rods of the lengths H . Radius of the cylinder is assumed to be a constant (see parameter RAD56 below).

6 - calculation of the surface distribution function $p(r)$ for a polydisperse system of spherical shells $p(r) = 4 \cdot \pi \cdot R^2 \cdot N(R)$, where R is the outer radius of the shell, $N(R)$ number of the shells of the outer radius R . The shells are assumed to have the same relative thickness (see parameter RAD56 below).

*** RMIN (for JOB=1,2,5,6), RMAX

Maximum diameter of the particle	(for JOB=0)
Minimum and maximum radii of spheres	(for JOB=1)
Minimum and maximum characteristic particle sizes	(for JOB=2)
Maximum diameter of the particle thickness	(for JOB=3)
Maximum diameter of the particle cross-section	(for JOB=4)
Minimum and maximum heights of cylinders	(for JOB=5)
Minimum and maximum outer radii of shells	(for JOB=6)

- define the interval in real space, where the distribution function is assumed to be non-zero

*** For JOB=5 or 6, the parameter RAD56 is to be specified:

JOB=5: RAD56 means the radius of a cylinder (RAD56=0 means infinitely thin rods)

JOB=6: RAD56 means the relative thickness of a shell (its inner radius is $\text{RAD56} \cdot (\text{outer radius})$). RAD56=0 means infinitely thin shells.

*** Number of real space points (parameter NREAL)
- number of points, in which the distribution function will

be specified (less than 72). Default number of NR is evaluated by GNOM in order to have reasonable ratio (number-of-data-points)/(number-of-parameters-to-be-found).

*** Boundary conditions (parameters LZRMIN, LZRMAX)
- it is possible to fix the values of the distribution function to zero at the ends of the interval by answering "Yes".

*** Kernel-storage file name (parameter KERNEL)
- name of the file, where the design matrix is saved

9.6 ANEXO 6

9.6.1 Resumen de las características de los microorganismos utilizados como inóculos

Las siguientes tablas describen algunas características más importantes [73-79] de los microorganismos utilizados como inóculos.

Tabla 3. Características físicas de los inóculos utilizados y síntomas en el cuerpo humano causados por éstos.

Especie	Temperatura de crecimiento	tamaño	Fuentes de prevalencia y/o lugares de colonización	Síntomas
<i>Escherichia coli</i>	37°C y Temperatura de ambiente	3 µm	Flora intestinal del hombre y de animales. Suelo, agua, plantas, etc.	Mayormente inofensiva, sin embargo, al contaminar alimentos que luego digerimos provocan diarreas vómitos, dolor agudo de estómago y/o fiebre, etc.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37-42°C	1.5 µm	Común en el medio ambiente, heces, suelo, agua (residuales), Intrahospitalarias, ambientes húmedos, etc.	Causa infecciones, rara vez enfermedades graves. Coloniza partes dañadas del organismo: quemaduras y heridas quirúrgicas, lesiones respiratorias, lesiones físicas en los ojos.
<i>Staphylococcus aureus</i>	37°C	0.5-1.5 µm	En humanos (portadores sanos): fosas nasales, heridas, úlceras crónicas, heridas en fase de cicatrización, etc.	Infecciones, fiebres, supuración, etc.
<i>Bacillus subtilis</i>	10-48°C(más óptima: 28-35°C)	2-5 µm	Encontrada en el suelo (crece y se multiplica alrededor del área de las raíces de los cultivos).	No es considerado patógeno humano, sin embargo puede contaminar los alimentos, pero raramente causa intoxicación severa.
<i>Candida albicans</i>	37°C	3-5µm	Aire, agua, suelo, animales. En humanos: tubo digestivo desde la	Infecciones, fiebres, supuración, etc.

			cavidad bucal hasta el recto, vagina, uretra, piel y bajo las uñas del pie y la mano, etc.	
--	--	--	--	--

9.7 ANEXO 7

9.7.1 Poster presentado

CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE OXIDO DE COBRE ACUOSO, MEDIANTE LAS TECNICAS DE DISPERSION: DLS Y SAXS

José L. Solís¹, Mónica M. Gómez¹, Gabriel B. Rios-Valer¹, Rómulo Cruz-Simbron¹, Cinzia Giannini², Dritan Siliqi², Davide Altamura², Teresa Sibillano²

1. Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Lima (Peru)
2. Istituto di Cristallografia , CNR, Bari (Italia)
novaringrv@gmail.com

RESUMEN

Se han utilizado dos técnicas de dispersión, Dispersión dinámica de la luz (DLS) y Dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS), para la caracterización de tres muestras de óxido de cobre acuoso con la misma concentración ($\approx 1\text{ mg/ml}$), pero obtenidos con diferentes pHs (6.04, 5.85, y 6.07), con el fin de estudiar la concordancia de los resultados de ambas técnicas. En el experimento DLS, se midió las fluctuaciones en el tiempo de las intensidades de luz dispersada y bajo la suposición de que las partículas polidispersas son esféricas a partir del comportamiento individual (exponencial) de sistemas monodispersos de partículas también esféricas, se han obtenido: los tamaños promedios representativos (diámetros eficaces) y las distribuciones de tamaños hidrodinámicos promedios de partícula (histogramas) para cada una de las muestras mediante la expansión de cumulantes, y el empleo del Algoritmo NNLS (Non-Negatively constrained Least Squares), respectivamente. Estos histogramas fueron comparados con los resultados del análisis de polidispersidad mediante las respectivas funciones de distribución de distancias Par (PDDF), obtenidas mediante el programa GNOM para cada muestra en los experimentos SAXS bajo la misma suposición que todas las partículas son esféricas.