

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FÍSICA



“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOHILOS DE
ÓXIDO DE ZINC FABRICADOS POR ROCIADO
PIROLÍTICO Y CRECIDOS EN SOLUCIONES
SUPERSATURADAS DE NITRATO DE ZINC E HIDRÓXIDO
DE SODIO PARA LA DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA
DEL AGUA”

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO FÍSICO

JULIO ENRIQUE ALARCÓN ALVARADO

2008

LIMA - PERÚ

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO	6
3.1. Estructura cristalina de los nanohilos de ZnO	6
3.1.1. Nucleación de los nanohilos de ZnO	7
3.1.2. Crecimiento cristalino de los nanohilos de ZnO	7
3.2. Técnica del rociado pirolítico usada para la fabricación de películas delgadas	8
3.3. Características del ZnO depositado por rociado pirolítico	10
3.4. Fotocatálisis heterogénea	11
3.5. Bacteria Escherichia Coli (E-Coli)	14
3.6. Técnicas de caracterización	16
3.6.1. Caracterización estructural por difracción de electrones	16
3.6.2. Caracterización estructural por difracción de rayos X	18
3.6.3. Caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de transmisión	19
3.6.4. Caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de barrido	21
3.6.5. Caracterización óptica mediante espectroscopía ultravioleta y visible (UV/VIS)	22
4. TRABAJO EXPERIMENTAL	25
4.1. Preparación de los nanohilos de ZnO	25

4.1.1. Preparación de la solución precursora de acetato de zinc	25
4.1.2. Preparación de la solución para el baño con $Zn(NO_3)_2$ y NaOH	28
4.2. Cultivo y mantenimiento de la cepa E-Coli ATCC10536	28
4.3. Preparación del agua contaminada	29
4.4. Cultivo de las muestras por el método de filtración de membrana	30
4.5. Sistema experimental para la evaluación de la degradación fotocatalítica de las bacterias E-Coli	31
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
5.1. Influencia del tiempo de crecimiento de los nanohilos en la solución de $Zn(NO_3)_2$ y NaOH	32
5.2. Influencia del espesor de la película delgada de ZnO	34
5.3. Influencia del pH de la película delgada de ZnO	39
5.4. Degradación fotocatalítica de la bacteria E-Coli	42
6. CONCLUSIONES	45
7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS	46
8. BIBLIOGRAFÍA	47

1. RESUMEN

Se han sintetizado hilos de ZnO con dimensiones transversales (diámetro) en el rango nanométrico y micrométrico. Los nanohilos crecieron en sustratos planos de vidrio. El método propuesto consiste en recubrir previamente los sustratos planos de vidrio con una película de ZnO de diferentes espesores, depositados por rociado pirolítico a partir de soluciones precursoras de acetato de zinc de pH fijo y en una relación de 3:1 de etanol y agua, respectivamente, los mismos que actuarán como solventes. La temperatura de deposición en el rociado pirolítico fue en todos los casos 350⁰ C. Esta película de ZnO actuará como semilla para el crecimiento de los nanohilos. Luego, las películas de ZnO son colocadas en una solución supersaturada 0.15 M de Zn(NO₃)₂ y 2.1 M de NaOH a 90⁰ C a diferentes tiempos para obtener los nanohilos.

El material resultante fue caracterizado estructural y morfológicamente por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido (SEM), respectivamente. Se utilizó la difracción de electrones y rayos X para estudiar su estructura y se realizaron estudios espectroscópicos en el rango ultravioleta-visible para ver su absorbancia.

Se estudiaron los nanohilos preparados de esta manera en la degradación fotocatalítica de E-coli en agua bajo la radiación de una lámpara UV-A, mostrando una correlación entre su morfología y la degradación de las bacterias.

2. INTRODUCCIÓN

El óxido de zinc, ZnO, un componente semiconductor tipo n representativo del grupo II-VI, con una banda prohibida de 3.37 eV y una energía de enlace de 60 meV, es un importante material eléctrico y fotónico. El poder controlar la orientación de los nanocristales de ZnO y poder unirlos en arreglos tridimensionales en varios tipos de sustratos es esencial para la creación de materiales funcionales tales como celdas solares [1], mecanismos fotónicos [2], etc. Recientes estudios se han centrado en la creación de nanoestructuras de ZnO con arreglos de alta orientación cristalina [3,4,5].

Varias técnicas de deposiciones físicas, químicas y electroquímicas han sido estudiadas para crear arreglos orientados de “nanorods” y nanohilos de ZnO con diámetros típicos en el rango de 10 a 200 nm y de longitud desde varias micras hasta 10 μm . Por ejemplo, templado contra membranas anódicas de alúmina [6], deposición por pulso láser [7], descomposición térmica acuosa de complejos Zn^{2+} amino [8], deposición CVD metal-orgánico [9], crecimiento catalítico vía mecanismos epitaxiales vapor-líquido-sólido [10], y electrodeposición epitaxial [11], han sido métodos exitosos en el crecimiento de arreglos de alta orientación cristalina de nanorods y nanohilos de ZnO. Pero estos métodos son limitados a sustratos aislados o caros y requieren preparación en fase gaseosa de la capa de ZnO. Por lo tanto, es muy necesario y significativo un método simple y de bajo costo para fabricar los arreglos de nanorods y nanohilos de ZnO.

Por otro lado, el agua subterránea es la mayor reserva de agua potable de fácil acceso para la humanidad, por lo que su contaminación constituye un problema severo. No existen valores estándar aceptados a nivel mundial para definir el agua potable, ya que estos varían en los distintos países acorde a sus características ambientales, culturales, sociales y económicas. El mayor riesgo de enfermedades transmitidas por el agua se observa en niños, ancianos, personas

débiles o que viven en condiciones insalubres. Las enfermedades transmitidas por el agua pueden tener diferentes vectores; en términos generales, el principal riesgo de enfermedad está asociado con la ingestión de aguas superficiales o subterráneas contaminadas con bacterias provenientes de materia fecal humana o animal. Las enfermedades infecciosas, en su mayoría intestinales, van desde una leve gastroenteritis hasta diarreas severas (a veces fatales), hepatitis y fiebre tifoidea.

Como la variedad de microorganismos que pueden contaminar las aguas es sumamente amplia, para el análisis bacteriológico se utilizan organismos indicadores asociados al tracto intestinal de manera que su presencia en las aguas indica contaminación fecal. El grupo de organismos coliformes, que es el más utilizado, incluye una gran variedad de organismos, en su mayoría habitantes comunes del tracto intestinal de animales de sangre caliente (mamíferos y aves). Este grupo comprende los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Edwardsiella*, que pueden existir como saprobios o como microorganismos intestinales. La especie *Escherichia coli* (E-Coli) es la excepción, ya que vive solamente en el tracto intestinal. Su presencia indica contaminación fecal, mientras que la presencia de coliformes totales indica contaminación, sin especificar su origen. Otros indicadores adicionales de contaminación fecal son los enterococos fecales. También se pueden utilizar *Pseudomonas* como indicadores del deterioro de la calidad del agua o recontaminación, ya que presentan una relativa resistencia al cloro [12].

Las aguas destinadas a consumo humano deben recibir tratamientos previos, que se establecen según la calidad inicial de las aguas. La desinfección, que implica la muerte o inactivación de los microorganismos patógenos [12], es indispensable cuando se detecta la presencia de microorganismos. En lo posible, la desinfección debe impedir la recuperación del crecimiento bacteriano dentro del sistema de almacenamiento y distribución de aguas. Para estos fines, además del tradicional empleo de lavandina, se vuelve muy interesante el uso de la

energía solar como base de procesos sostenibles en regiones de escaso desarrollo socio-económico. Entre estos procesos tenemos la desinfección solar SODIS (Solar Water Disinfection) y la Fotocatálisis Heterogénea. Ambas metodologías son eficientes, económicas y de fácil aplicabilidad, ya que no requieren equipamientos o elementos tecnológicos sofisticados o caros, y no implica costos energéticos. Para su aplicación sólo se necesita disponibilidad de luz solar, botellas de teraftalato de polietileno (PET) y, en el caso de la Fotocatálisis Heterogénea, un óxido semiconductor como fotocatalizador. El método SODIS [13] propone exponer botellas de PET con agua contaminada durante varias horas a la radiación solar. Los rayos solares actúan en la desinfección por el efecto sinérgico de la radiación UVA (315-400 nm) y la radiación infrarroja (IR). Esta última permite alcanzar temperaturas adecuadas para producir efectos térmicos que, sumados al ataque fotónico directo, causan la muerte celular [14].

La Fotocatálisis Heterogénea media en el ataque fotoquímico de la UV-A sobre los componentes esenciales de las células (proteínas, ácidos nucleicos), que conduce a su inactivación y posterior muerte [15]. La radiación UV-A es absorbida por un semiconductor de banda ancha como el TiO_2 , para generar radicales libres como el OH. Estos radicales no sólo atacan a componentes de las células bacterianas, sino también a contaminantes químicos, que en casos favorables son mineralizados totalmente [15]. Se ha sugerido también que la Fotocatálisis Heterogénea, a diferencia de SODIS, provee un efecto de protección residual contra la recuperación de la población bacteriana [12,15]. Es posible inmovilizar el fotocatalizador usando diversos soportes, evitando la necesidad de etapas posteriores de separación del mismo. Como el material es barato y no-tóxico, se vuelve posible aplicar esta técnica en áreas rurales para obtener agua apta para consumo humano.

En este trabajo se presenta un novedoso proceso de crecimiento de partículas agrupadas en forma de nanohilos de ZnO de alta orientación cristalina en soluciones supersaturadas de nitrato de zinc, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, e hidróxido de sodio,

NaOH, a bajas temperaturas. Las películas resultantes de nanohilos con alta alineación son reproducibles y uniformes en grandes áreas, lo que puede ser potencialmente empleado en el desarrollo de catalizadores, sensores fisicoquímicos, celdas solares y otros mecanismos funcionales. Se discuten los parámetros del crecimiento de los nanohilos y el mecanismo de crecimiento, así como su eficiencia en la desinfección fotocatalítica del agua.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. ESTRUCTURA CRISTALINA DE LOS NANOHILOS DE ZnO

Un típico nanorod de ZnO consiste de un plano no polar (1000) con simetría C_{6v} (Figura 1), un plano polar basal de oxígeno ($000\bar{1}$), y una cara polar superior (0001) que consiste en zinc tetraédrico con un ligando OH terminal [16].

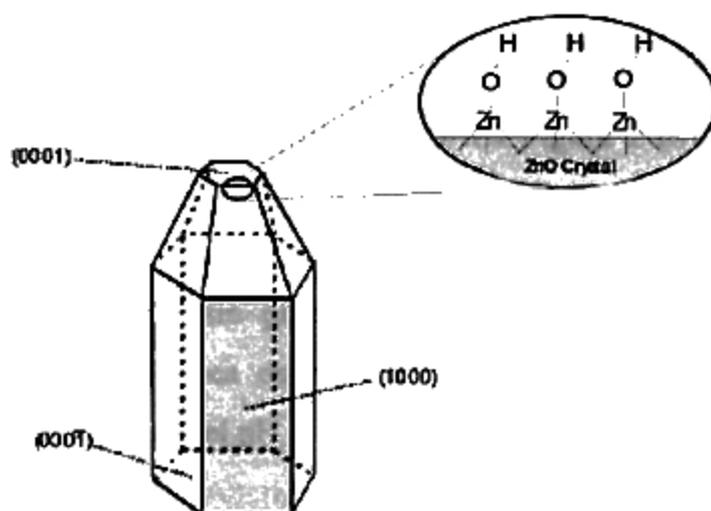


Figura 1. Crecimiento de los nanorods de ZnO. Vista expandida de la superficie del plano (0001)

La cara no polar (1000) de baja simetría es la más estable, mientras que las caras polares son meta estables. Las velocidades de crecimiento bajo condiciones hidrotérmicas son $V_{(0001)} > V_{(000\bar{1})} > V_{(1000)}$ [17]. Bajo estas condiciones, la morfología más estable del nanohilo es hexagonal con la elongación del cristal en el eje c (Figura 1)

Se requieren dos procesos para la cristalización de nanohilos de ZnO en una solución supersaturada: nucleación y crecimiento cristalino de los nanohilos de ZnO.

3.1.1. NUCLEACIÓN DE LOS NANOHILOS DE ZnO

La nucleación es un factor crítico en este método puesto que los nanohilos crecen solamente en los sustratos previamente recubiertos con ZnO [18]. Desde este punto de vista, los sustratos recubiertos con ZnO proveen de semillas de las cuales los nanohilos aparecen como una continuación del grano del sustrato.

3.1.2. CRECIMIENTO CRISTALINO DE LOS NANOHILOS DE ZnO

Para el crecimiento cristalino de los nanohilos de ZnO se requiere la supersaturación de la solución de crecimiento. La Figura 2 es un diagrama de estabilidad de fase que muestra el equilibrio entre varias especies acuosas de zinc y ZnO sólido. En este caso, se encontró una pequeña región meta estable que produce columnas de ZnO sin precipitación de otras especies de zinc. Las condiciones dentro de la línea oscura favorece la precipitación de ZnO. El ZnO(s) se forma por encima del pH 9 [19].

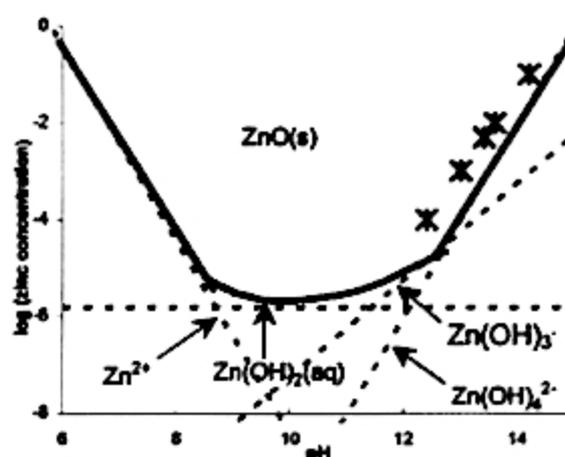


Figura 2. Diagrama de estabilidad de fase para ZnO(s) a 25⁰C. Las líneas punteadas representan el equilibrio entre las especies de zinc y el ZnO (s)

Se estudió la deposición de las columnas en los puntos marcados con una "X" (Figura 2) dentro de la región ZnO(s), y una línea entre estos puntos podrían

formar una porción de una curva de supersolubilidad. Si se baja el pH al área fuera de este rango, la solución se vuelve inestable y precipita el ZnO. Entre la curva de supersolubilidad y la curva de equilibrio se tiene una región meta estable. Las soluciones dentro de la región meta estable son cinéticamente estables a temperatura ambiente por semanas pero eventualmente precipitarán si se calienta [18].

Con esta técnica, el método de limpieza del sustrato no tiene un efecto notable en la uniformidad de los nanohilos. El alto pH de la solución de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y NaOH aparentemente es suficiente para preparar estos nuevos materiales de una manera reproducible.

3.2. TÉCNICA DEL ROCIADO PIROLÍTICO USADA PARA LA FABRICACIÓN DE PELÍCULAS DELGADAS

La técnica del rociado pirolítico ha sido una de las técnicas más usadas durante las tres últimas décadas para la fabricación de materiales en forma de películas delgadas [20].

En el proceso de depósito, una solución llamada “solución precursora” se nebuliza usando un nebulizador; luego la solución nebulizada se transporta hacia el sustrato caliente con la ayuda de un gas (por ejemplo aire) de tal manera que llega al sustrato en forma de pequeñas gotas.

El soluto de la solución reacciona de manera que forma un compuesto químico en la superficie del sustrato. Los componentes químicos de la solución precursora se seleccionan tal que los productos no deseados en la reacción química sean volátiles a la temperatura de deposición.

En la Figura 3 se muestra el sistema usado en el Laboratorio de Películas Delgadas (LPD) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de

Ingeniería. Consiste en un nebulizador, una solución precursora la cual se coloca dentro del pulverizador, un horno en una base móvil con un controlador de temperatura que mantiene al sustrato a una temperatura constante. La base móvil permite que el flujo de gotas llegue al sustrato en forma uniforme, con lo cual se favorece el crecimiento uniforme de la película delgada en la fabricación.

El sistema cuenta también con una tobera que guía el flujo de gotas de solución hacia el sustrato. Se tiene también un sistema neumático el cual permite controlar la presión y el flujo del aire que va hacia el nebulizador.

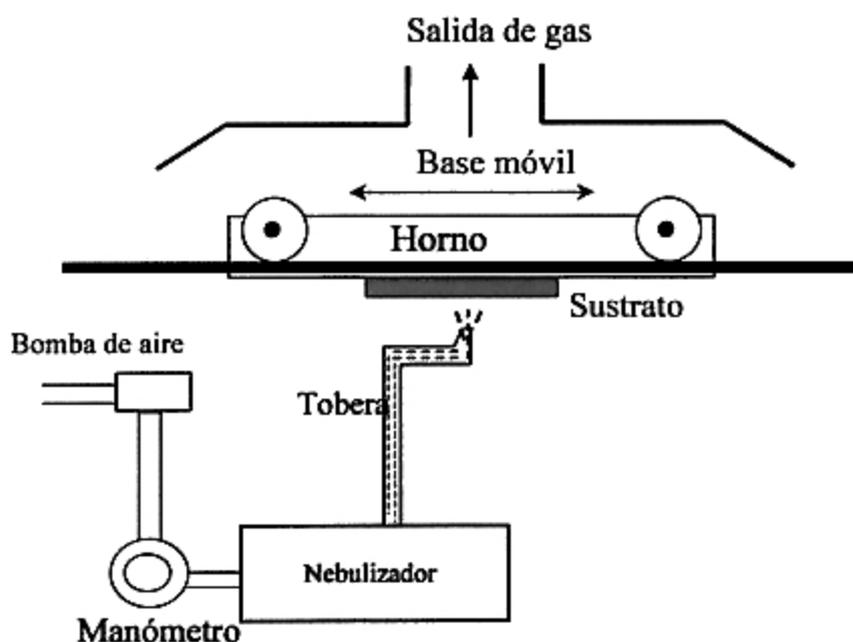


Figura 3. Sistema de rociado pirolítico usado en el LPD.

Fabricando películas delgadas por el sistema de rociado pirolítico, las propiedades de la película delgada fabricada dependen de la razón del rociado, de la temperatura del sustrato, del ambiente de formación, del gas portador (en el presente trabajo el gas portador es aire) y del tamaño de las gotas [20].

El espesor de la película depende de la distancia de separación tobera – sustrato (ver Figura 3), de la temperatura del sustrato, de la concentración de la

solución precursora, de la cantidad de la solución precursora rociada y del tiempo de depósito [20].

3.3 CARACTERÍSTICAS DEL ZnO DEPOSITADO POR ROCIADO PIROLÍTICO

En general, el óxido de zinc puede cristalizarse en varias formas cristalinas; resultados anteriores determinaron que a pesar del pH de la solución precursora de acetato de zinc, la estructura cristalina zincita de las películas delgadas de ZnO aparecen en el rango de temperatura de deposición de 300 a 400⁰ C, con un tamaño de grano de 23 nm en el pico (002) [25]. Las películas obtenidas por rociado pirolítico es del tipo zincita. Las películas delgadas de ZnO muestran una alta transmitancia en el rango visible (80-90%) con una reflectancia del 10-20%. La absorción de interbanda comienza alrededor de 370 nm. El gap de energía del ZnO pirolítico es 3.2 eV [21].

En esta estructura hexagonal (zincita) las posiciones atómicas de los iones Zn⁺² y O⁻² son:

$$\text{Zn}^{+2}: 0\ 0\ 0; 1/3\ 2/3\ 1/2 \quad (\text{a})$$

$$\text{O}^{-2}: 0\ 0\ u; 1/3\ 2/3\ u+1/2 \quad (\text{b})$$

donde la razón entre los ejes cristalinos es aproximadamente $c/a = 1.603$ y el parámetro $u = 0.375$. En la Figura 4 se observa las respectivas ubicaciones de los iones Zn⁺² (círculos pequeños) y O⁻² (círculos grandes). Para la estructura zincita los parámetros de red son:

$$a = b = 3.25 \text{ \AA} \quad (\text{c})$$

$$c = 5.21 \text{ \AA} \quad (\text{d})$$

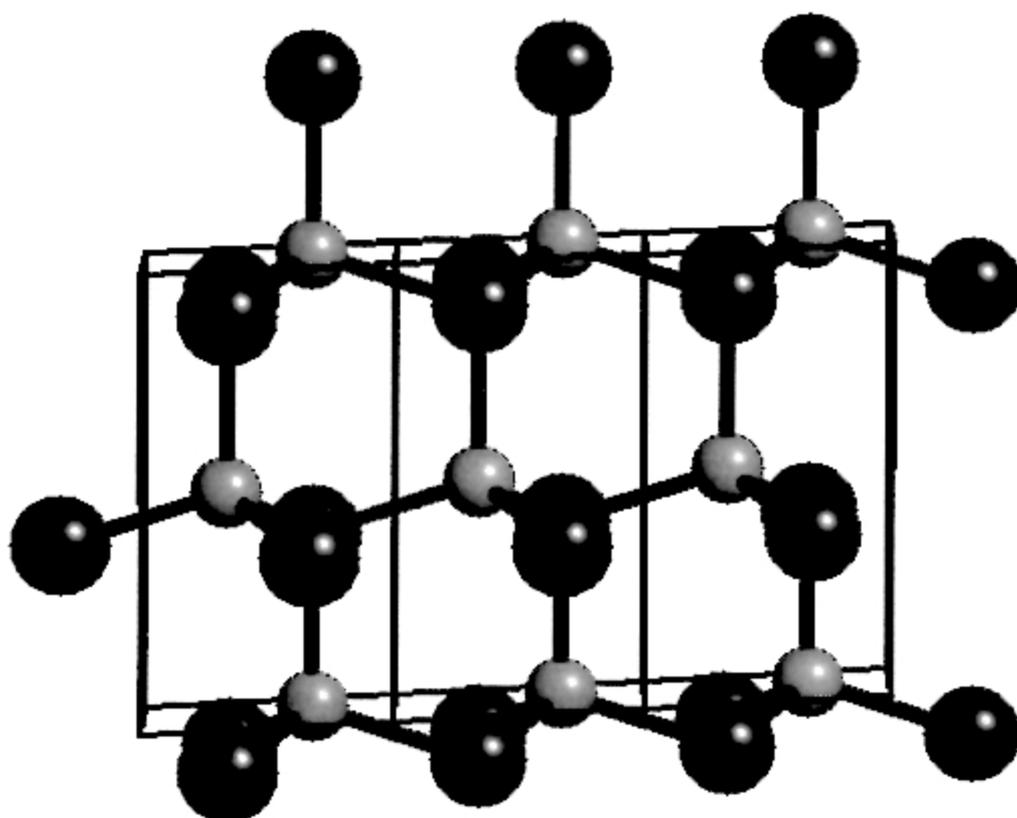


Figura 4. Posición de los átomos en la celda unitaria hexagonal de ZnO. Los átomos de Zn se representan por los círculos pequeños y los de oxígeno por los grandes.

3.4. FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA

La oxidación fotocatalítica presenta numerosas ventajas en el tratamiento de aguas residuales porque se ha comprobado que produce la degradación de una gran variedad de contaminantes orgánicos tóxicos [22] y, además, es posible utilizar luz solar como fuente eficiente de irradiación [23].

La teoría cuántica de los sólidos ha establecido una completa y rigurosa descripción de los niveles de energía de un semiconductor, de la naturaleza de los portadores de carga y de las leyes que gobiernan su movimiento. El espectro de energía de los electrones en un cristal ideal consiste de grupos de estados de energía llenos y estados de energía vacíos, llamados también bandas de valencia

(B.V.) y de conducción (B.C.) respectivamente. Entre estas bandas de energía existe una zona en la que no es posible que permanezca un electrón por falta de estados de energía. A esta zona se le denomina 'Band Gap', banda prohibida o ancho de banda óptico. Del valor de este ancho de banda óptico dependen las características electrónicas del material, si es mayor a 4 eV es denominado dieléctrico y si es cercana o igual a cero se le denomina metal; en cualquier otra circunstancia se le denomina semiconductor.

De acuerdo al potencial de los semiconductores para la oxidación o reducción del agua se pueden dividir en tres grupos [24]

- Reductivos: pueden producir la reducción del agua y generar H_2 , sin embargo su potencial de oxidación es muy débil para oxidarla. Como ejemplos se tiene: CdTe, CdSe y Si.
- Redox: en este caso existe la posibilidad de oxidar y reducir el agua. Como ejemplos se tienen el CdS, SrTiO₃, TiO₂, ZnO, Nb₂O₅
- Oxidativos: pueden producir la oxidación del agua y generar O₂, ya que la banda de valencia esta localizada a un potencial energético suficientemente negativo. Sin embargo, el potencial de reducción de la banda de conducción es muy insuficiente para reducir el agua. Como ejemplos se tiene al MoS₂, F₂O₃, WO₃ y SnO₂

Cuando un catalizador semiconductor SC de tipo calcogenuro (óxidos o sulfuros) es iluminado con fotones cuya energía es igual o superior a la de la banda prohibida E_g ($E_g = h\nu$), ocurre una absorción de estos fotones y una creación dentro del conjunto de pares electrón-hueco, que se disocian en fotoelectrones libres en la banda de conducción y en fotohuecos en la banda de valencia (Figura 5).

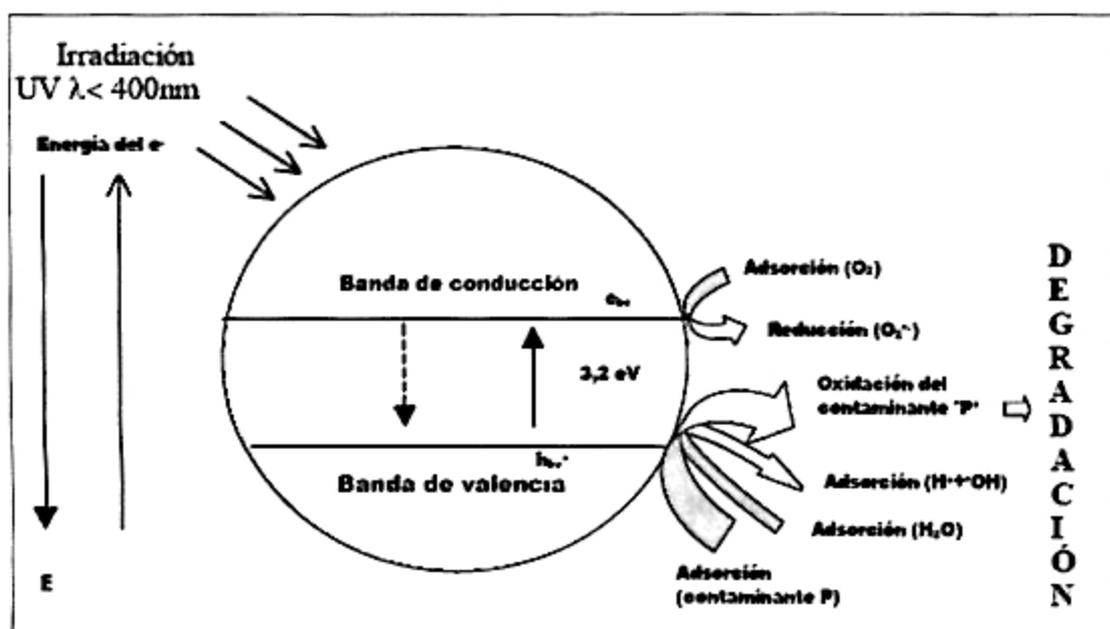
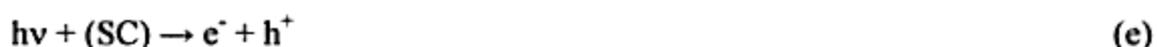


Figura 5. Diagrama de la banda de energía de una partícula esférica de TiO_2

Simultáneamente, en presencia de una fase fluida (gas o líquido), ocurre una adsorción espontánea y, dependiendo del potencial redox (o nivel de energía) de cada adsorbato, se verifica una transferencia de electrones hacia las moléculasceptoras, mientras que un fotohuevo positivo es transferido a una molécula donora (en realidad la transferencia del hueco corresponde a la cesión de un electrón por parte del donor al sólido).



Cada ión formado subsiguientemente reacciona para formar los intermediarios y los productos finales. Como consecuencia de las reacciones e, f, g, la excitación fotónica del catalizador aparece como el primer paso de la activación de todo el sistema de catálisis. De allí que el fotón eficiente debe

considerarse como un reactivo y el flujo de fotones como una fase fluida especial, la fase electromagnética. La energía del fotón debe adecuarse a las propiedades de absorción del catalizador, no de los reactivos. La activación del proceso pasa por la excitación del sólido pero no por la de los reactivos: no hay proceso fotoquímico en la fase adsorbida sino un verdadero régimen fotocatalítico heterogéneo.

Los criterios para seleccionar un buen fotocatalizador son: un adecuado potencial redox de la banda de valencia, de modo que sea suficientemente positivo como para hacer factible la mineralización de la materia orgánica. Sin embargo, su foto-activación debe caer dentro del intervalo luz visible - UV cercano, necesariamente menor a 4.1 eV para poder aprovechar la luz solar. Además debe presentar resistencia a la fotocorrosión, baja toxicidad y elevada área selectiva [24].

3.5. BACTERIA ESCHERICHIA COLI (E-COLI)

La E-Coli es quizás el organismo procarionte más estudiado por el hombre; se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales (incluido el humano) y por ende en las aguas servidas. Ésta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. Además produce vitaminas B y K. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram, es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y su prueba de IMVIC es ++--.



Figura 6. Micrografía de Escherichia Coli, aumento de 200 veces.

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gamma Proteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: Escherichia

Especie: E-Coli

Aunque la mayoría de las cepas de E-Coli son inocuas y viven en los intestinos de los seres humanos y animales saludables, algunas cepas producen una potente toxina y pueden ocasionar graves enfermedades. La E. coli puede causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas, tales como infecciones del aparato excretor, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa.

En el presente trabajo se usaron cepas ATCC 10536.

3.6. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

En este acápite se describen las técnicas de caracterización estructural (difracción de electrones y difracción de rayos x), morfológica (TEM, SEM) y óptica (espectroscopia ultravioleta y visible) que se utilizaron en este trabajo.

3.6.1. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL POR DIFRACCIÓN DE ELECTRONES

La difracción de electrones es una técnica utilizada para estudiar la materia haciendo que un haz de electrones incida sobre una muestra y observando el patrón de interferencia resultante. Este fenómeno ocurre gracias a la dualidad onda-partícula, que establece que una partícula de materia (en este caso el electrón que incide) puede ser descrita como una onda. Esta técnica es similar a la difracción de los rayos-X.

La estructura periódica de un sólido cristalino actúa como una rejilla de difracción, dispersando los electrones de una manera predecible. A partir del patrón de difracción observado es posible deducir la estructura del cristal que produce dicho patrón de difracción. Sin embargo, esta técnica está limitada por el problema de fase.

Aparte del estudio de los cristales, la difracción de electrones es también una técnica útil para el estudio de sólidos amorfos, y la geometría de las moléculas gaseosas.

A diferencia de otros tipos de radiación utilizados en estudios de difracción de materiales, tales como los rayos-X y los neutrones, los electrones son partículas que poseen carga e interactúan con la materia a través de la fuerza eléctrica. Esto significa que los electrones que inciden son influenciados tanto por la carga positiva del núcleo atómico como por los electrones que rodean el núcleo.

La Figura 7 es un esbozo simple del camino que sigue un haz de electrones paralelo en un TEM, iniciando justo por encima de la muestra y hacia abajo hasta la pantalla fluorescente. Conforme los electrones pasan a través de la muestra son dispersados por el potencial electromagnético establecido por los elementos que constituyen la muestra. Después que los electrones abandonan la muestra pasan a través del objetivo (lente) electromagnético, que colecta los electrones dispersados en una misma dirección y los enfoca en un solo punto, este es el plano focal del microscopio y es aquí donde se forma la imagen. Manipulando el lente magnético del microscopio es posible observar el patrón de dispersión proyectado en la pantalla en lugar de la imagen.

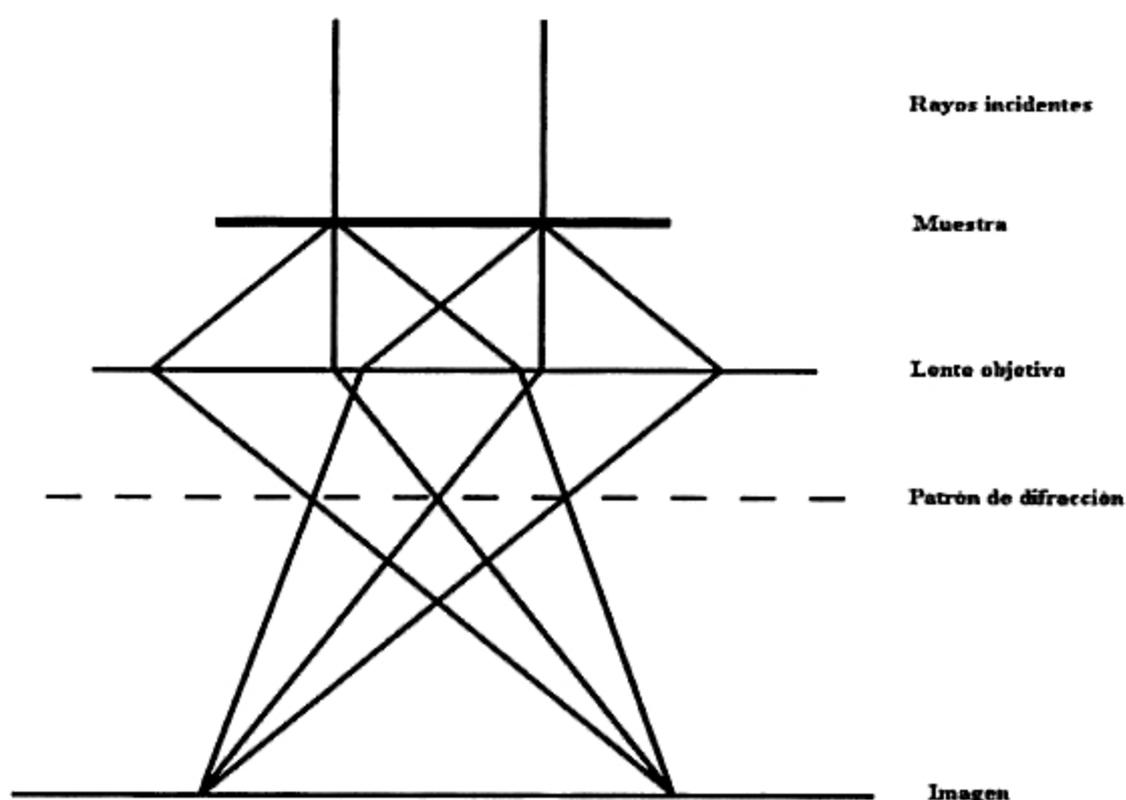


Figura 7. Esquema del recorrido de una haz de electrones en un microscopio TEM

3.6.2. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La difracción de rayos X es una técnica muy útil para analizar materiales cristalinos. Al pasar los rayos X por la estructura ordenada de un cristal, ésta se comporta como una rejilla de difracción porque las distancias entre los centros de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación, dando lugar a interferencias constructivas y destructivas. La difracción se esquematiza en la Figura 8.

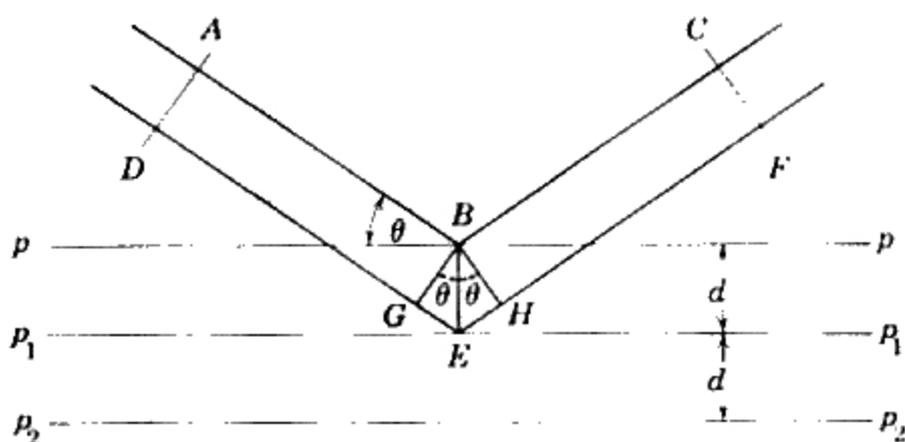


Figura 8. Difracción de rayos X por un cristal.

De este esquema se deduce la llamada ley de Bragg, que nos dice que las condiciones para que la interferencia constructiva se produzca para un haz cuyo ángulo de incidencia θ es:

$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad (h)$$

donde λ es la longitud de onda del rayo incidente, d la distancia interplanar de los planos de difracción, θ es el ángulo entre el haz incidente y el plano del cristal, y n es el orden de difracción.

Encontramos además que un cristal muy pequeño (menos de 0.1 μm) causa un ensanchamiento del rayo difractado. Esto permite determinar el tamaño promedio de grano, usando la ecuación de Debye y Scherrer

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (i)$$

donde D es el tamaño de grano, β es el ancho de la línea de difracción medida a la mitad de la intensidad máxima (radianes).

3.6.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

Un microscopio electrónico de transmisión es un microscopio que utiliza un haz de electrones para visualizar un objeto debido a que la potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. Debido a que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. Las partes principales de un microscopio electrónico son:

- Cañón de electrones, que emite los electrones que chocan contra el espécimen, creando una imagen aumentada.
- Lentes magnéticas para crear campos que dirigen y enfocan el haz de electrones, ya que las lentes convencionales utilizadas en los microscopios ópticos no funcionan con los electrones.
- Sistema de vacío es una parte muy importante del microscopio electrónico. Debido a que los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire, se debe hacer un vacío casi total en el interior de un microscopio de estas características.

- Placa fotográfica o pantalla fluorescente que se coloca detrás del objeto a visualizar para registrar la imagen aumentada.
- Sistema de registro que muestra la imagen que producen los electrones, que suele ser una computadora.

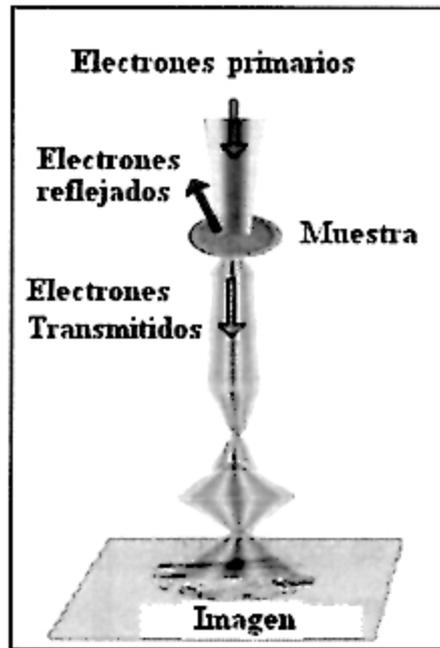


Figura 9. Esquema de un microscopio electrónico de transmisión

El microscopio electrónico de transmisión emite un haz de electrones dirigido hacia el objeto que se desea aumentar. Una parte de los electrones rebotan o son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada de la muestra. Para utilizar un microscopio electrónico de transmisión debe cortarse la muestra en capas finas, no mayores de un par de miles de ángstroms. Los microscopios electrónicos de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces.

3.6.4 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es usado comúnmente para obtener imágenes morfológicas de la superficie de una muestra. Una de las principales ventajas del uso del SEM sobre un microscopio óptico es que el SEM tiene mayor resolución y profundidad de campo, además nos da una apariencia de tener la imagen en tres dimensiones e intuitivamente pueden ser fáciles de interpretar. El esquema de un microscopio electrónico de barrido se muestra en la Figura 10.

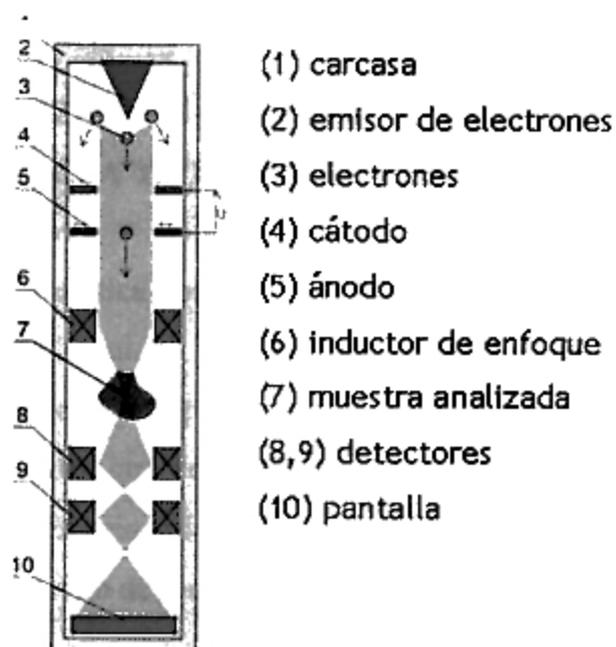


Figura 10. Esquema de un microscopio electrónico de barrido

Esta técnica se basa en el hecho de barrer la muestra con un haz electrónico de sección transversal pequeña, de alta energía, el cual interacciona con la muestra y genera una imagen punto a punto de ella en una pantalla de rayos catódicos.

La incidencia del haz electrónico sobre el sólido puede generar varios procesos, todas estas señales pueden ser detectadas y amplificadas convenientemente con dispositivos adecuados en cada caso, proveyendo de información importante acerca del material en estudio. La manera en que se forman las imágenes consiste en enfocar el haz sobre un área muy reducida de la muestra y rastrear la superficie de la misma, moviendo el haz, el mismo generador de barrido hace lo mismo con el haz que se ve en la pantalla de rayos catódicos. Al detectar en cada punto o localización temporal del haz, una intensidad promedio la cual alimenta el filamento del tubo de rayos catódicos, lo cual da una imagen de la muestra en la pantalla. Este proceso da el nombre de microscopía electrónica de barrido (SEM)

3.6.5. CARACTERIZACIÓN ÓPTICA MEDIANTE ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA Y VISIBLE (UV/VIS)

Una técnica analítica común para el análisis cuantitativo y cualitativo de las muestras sólidas, líquidas y gaseosas, es la espectroscopia ultravioleta y visible (UV-VIS), la cual se aplica a conjugados no saturados como carbonilos, nitro, bromo, y/o yodo, que contengan compuestos y complejos orgánicos del metal de transición. El principio de esta técnica es la absorción de la energía de un compuesto en el rango de longitud de onda de 200 a 800 nm.

La luz en el rango ultravioleta y visible posee energía suficiente para promover electrones externos a niveles de energía superiores. Las posiciones de las bandas y las intensidades de las transiciones electrónicas que ocurren consecuentemente no brindan información concerniente al tipo y extensión de los sistemas conjugados π . Las tablas pueden dar lugar a la identificación de muchas estructuras cromóforas aisladas, dependiendo de la naturaleza de la transición electrónica. Los efectos esféricos, inductivos y mesoméricos (como la incorporación de un cromóforo en un sistema conjugado superior) influyen

fuertemente en la posición de la banda. La absorbancia A , a una determinada longitud de onda es proporcional a la concentración C . Por la ley de Beer:

$$A = \epsilon bC \quad (j)$$

donde ϵ es la absorptividad molar ($\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) y b es la longitud de la celda expresada en cm.

Entonces la luz absorbida por una muestra nos proporciona medios muy sensibles y reproducibles para determinar la concentración de la especie absorbente. Los datos espectrales de absorción se presentan como gráficas de absorción versus longitud de onda.

En la Figura 11 se tiene un diagrama de un espectrofotómetro UV/VIS. La fuente de luz es una lámpara halógena de tungsteno de 20 W para el rango visible y Deuterio para el rango UV. Esta fuente es enfocada por una lente de cuarzo sobre la ranura de entrada de un monocromador de barrido digital. La luz es reflejada por un espejo hacia un espejo esférico donde es colimada y enviada a la rejilla de difracción, obteniéndose la dispersión radial, la cual regresa al espejo esférico y de ahí a la ranura de salida.

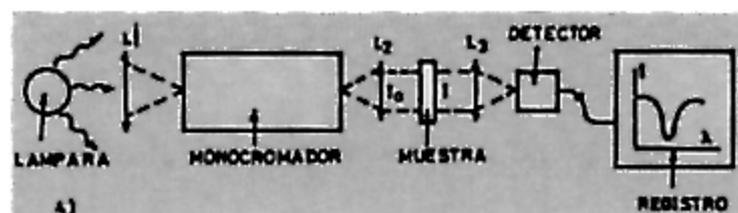


Figura 11. Diagrama esquemático de un espectrofotómetro UV/VIS

Una luz monocromática es enfocada a la salida. La longitud de onda de esta luz monocromática depende de la posición angular de la rejilla de difracción. La radiación monocromática pasa a través de la apertura e ingresa al compartimiento que contiene la muestra y es enfocada en el centro de la celda

por una lente de cuarzo, una segunda lente de cuarzo enfoca el haz sobre el detector.

4. TRABAJO EXPERIMENTAL

En este capítulo se describe el procedimiento para obtener los nanohilos; asimismo el proceso de cultivo y mantenimiento de las bacterias E-Coli, la preparación del agua contaminada, el método de filtración de membrana para el conteo de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC) y la exposición de las muestras a la radiación de la lámpara U.V.

4.1. PREPARACIÓN DE LOS NANOHILOS DE ZnO

4.1.1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN PRECURSORA DE ACETATO DE ZINC

En el caso de películas delgadas es altamente recomendable que tengan una alta porosidad para que sean capaces de tener una mayor interfaz con los fluidos. El rociado pirolítico deposita la mayoría de la película intrínseca del ZnO por descomposición pirolítica de la solución alcohólica del acetato de zinc. Se prefieren soluciones alcohólicas debido a que su baja tensión superficial y viscosidad facilita la formación de pequeñas gotas de rociado mientras que su bajo punto de ebullición permite que el solvente sea eficientemente removido. Estudios anteriores demostraron que agregando agua al solvente incrementará la porosidad de la película [25].

Se fabricó una solución de acetato de zinc 0.1 M y pH 5.8, diluido en una relación de etanol-agua de 3:1, respectivamente, que actuarán como solventes. Esta relación etanol agua se utilizó porque en un estudio previo se determinó que películas fabricadas bajo esta relación en volumen presentan las mejores características especulares, así como una morfología más uniforme [25]

Se utilizó: acetato de zinc dihidratado $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ PA 100 % de Fermont. Los demás agentes: agua tridestilada, alcohol etílico anhidro y ácido acético, se utilizaron sin un grado mayor de purificación.

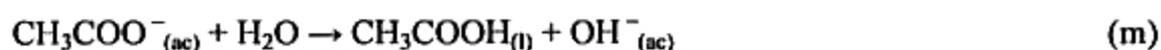
Para el cálculo de la masa W del acetato de zinc a usarse se utilizó la siguiente fórmula

$$W = V * M * \overline{M} \quad (k)$$

Donde V : volumen de la solución precursora que se desea preparar
 M : molaridad de la solución precursora (0.1 M)
 \overline{M} : peso molecular del acetato de zinc (219.5g/mol)

Al acetato de zinc en forma de cristales se le agrega agua; luego de agitarlo y disolverlo completamente se le agrega etanol. Al agregarle etanol se observa que la solución que era transparente se vuelve blanquecina, debido a la poca solubilidad del acetato de zinc en el etanol. Es por ello que se agrega unas gotitas de ácido acético, para aumentar la solubilidad y para variar el pH de la solución precursora.

La película que se forma en el sustrato a partir del acetato de zinc sigue las siguientes reacciones [26]:



Resultados anteriores determinaron que a pesar del pH de la solución precursora de acetato de zinc, la estructura cristalina zincita de las películas delgadas de ZnO aparecen en el rango de temperatura de deposición de 300 a 400⁰ C, con un tamaño de grano de 23 nm en el pico (002) Al incrementar la temperatura de depósito, se incrementa el tamaño de partículas hasta transformarlo en nódulos redondos reduciendo en ese sentido el área superficial. De estos resultados se concluye que la temperatura óptima de depósito es 350⁰ C [27].

El cambio de pH en la solución precursora produce un cambio en la forma de las partículas, de planas a pH 2 a redondas, a pH 5. Se observa un incremento en el área superficial de las películas en este último caso.

En general, las películas depositadas a bajo pH muestran ser más compactas y no presentan mucha fotoactividad, comparadas a las depositadas a valores más altos de pH. Una pequeña disminución en la fotoactividad puede ser observada en las películas depositadas a 400⁰ C comparadas a aquellas depositadas a 350⁰ C debido al crecimiento del cristal y a una más pequeña área superficial. Los compuestos formados a 350⁰ C y pH 4.5 son zincita. El tamaño de grano depende de la relación etanol/agua en la solución precursora [25].

Todos los sustratos fueron lavados primero con detergente; luego se llevaron a ultrasonido, primero en agua destilada (10 minutos) y luego en etanol (20 minutos), para finalmente llevarlos al horno para secado (60⁰ C) [27]. No es necesaria una estricta limpieza y/o preparación del sustrato debido al alto pH de la solución de Zn(NO₃)₂ y NaOH en donde crecerán las partículas depositados por rociado pirolítico [18]. Se usó aire comprimido como gas portador, con un flujo mantenido a 15 l/min y una presión de aire de 1.7x10⁵ Pa. La solución precursora se roció en el sustrato a 350⁰ C.

4.1.2. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN PARA EL BAÑO CON $Zn(NO_3)_2$ Y NaOH

Las películas obtenidas por rociado pirolítico se colocaron en un baño con una solución 0.15 M de $Zn(NO_3)_2$ ($\bar{M} = 261.44\text{g/mol}$) y 2.1 M de NaOH ($\bar{M} = 40\text{ g/mol}$) a 90°C a diferentes tiempos, para obtener los nanohilos [18]. Las masas a emplearse se calcularon de la fórmula (k), mencionada en el acápite 4.1.1. Primero se disuelve el $Zn(NO_3)_2$ en el agua y luego se va echando lentamente el NaOH (tener presente que el NaOH reacciona violentamente con el agua). Se utilizó nitrato de zinc $Zn(NO_3)_2$ 100 % PA de Fermont e hidróxido de sodio NaOH 98% PA de EKA Chemicals.

Como esta solución es supersaturada, durante la preparación se forman sólidos que precipitan. Estos sólidos se retiran fácilmente usando un papel filtro. La solución filtrada debe ser completamente transparente.

Se debe tener cuidado en la manipulación de esta solución ya que tiene un pH muy alto ($\text{pH} = 12.5$)

Una vez terminado el tratamiento en la solución, las muestras se enjuagan con abundante agua destilada y etanol, para retirar las sales residuales de la solución. Luego se lleva al horno a 60°C para su secado.

4.2. CULTIVO Y MANTENIMIENTO DE LA CEPA E-Coli ATCC10536

La preparación del material (medios de cultivo) se realiza cada dos semanas. Se preparan con anticipación los medios de cultivo según especificaciones descritas. La cepa se renueva aproximadamente cada 20 días.

Para sembrar la cepa de E-Coli ATCC10536 se prepara un medio de cultivo Luria Broth Base Millar y Agar, en una proporción de 5 g. de Luria Broth

Base Miller más 3 g. de Agar para 200 ml de agua. Se mezcla ambos medios con los 200 ml de agua destilada. Se agita lo suficiente para disolver los medios. Luego se lleva a una autoclave por 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión, y se deja enfriar; luego se coloca el agar en placas petri estériles, se sella adecuadamente y se guarda en la refrigeradora para usar cada vez que se necesite.

Para el cultivo en Membrana se prepara un medio de cultivo caldo Lauril Sulfato con agua destilada, según especificaciones, se lleva a autoclave por 15 minutos a 121 °C y 15 psi, se deja enfriar, se etiqueta y se guarda en la refrigeradora [28].

4.3. PREPARACIÓN DEL AGUA CONTAMINADA

Se siembra las placas con cepas de E-Coli ATCC10536 un día antes de la prueba fotocatalítica. La siembra se realiza tomando un inóculo con el asa de siembra; luego se realiza un cultivo por dispersión, extensión y agotamiento en toda la placa sin dejar espacio vacío. Las placas sembradas se dejan en la incubadora a 37° C por espacio de 24 h.

Se colecta 5 l. agua de tubería un día antes; para evaporar el cloro presente en el agua de tubería se deja reposando al aire libre hasta el día siguiente en que se realizará el ensayo.

Se preparó la contaminación artificial con cepas de E-Coli ATCC10536 retirando de la incubadora la placa que contiene el cultivo y dejando en el ambiente unos 10 minutos, acto seguido se coge 3 ml de agua del depósito que se contaminará, se mezcla suavemente el agua con el cultivo con la ayuda de una asa de kőlle para preparar un concentrado de bacterias. Con la ayuda de una micropipeta se coge unos 100 μ l de este concentrado y se mezcla con aproximadamente 160 ml del agua que se contaminará (cargará con bacterias). Se realiza una mezcla y luego de agitar bien dicha muestra se echa al balde que

contiene los 5 l. de agua. Se mezcla bien batiendo el agua con ayuda de una varilla de vidrio durante 15 minutos aproximadamente, para asegurar la distribución uniforme de bacterias en el volumen de agua [28]

Se trabaja al lado de un mechero bunsen para crear un ambiente estéril en el área de trabajo.

4.4. CULTIVO DE LAS MUESTRAS POR EL MÉTODO DE FILTRACIÓN DE MEMBRANA

Se toma la muestra inicial para lo cual se rotulan 2 frascos que contienen 9.9 ml de agua destilada estéril para realizar las diluciones; se coge 100 μ l del agua contaminada con la ayuda de una micropipeta y se añade al primer frasco. Se mueve suavemente para mezclar la muestra, correspondiendo esto a la dilución 10^{-2} , de esta dilución se vuelve a coger otros 100 μ l y se agrega al segundo frasco de 9.9 ml de agua destilada estéril. Esto corresponde a la dilución 10^{-4} . Esta dilución se lleva a sembrar en la membrana, donde previamente se prepararon las placas colocando el pad (almohadilla) al que se añade 1.75 ml. de Lauril sulfato con la ayuda de una micropipeta. El sembrado de la muestra se realiza por filtración al vacío siguiendo el procedimiento del equipo Oxfam-DelAgua.

Después de colocar la membrana con la muestra en la placa se deja unos minutos al ambiente y luego se lleva a la incubadora a 37 °C por espacio de 19 a 20 h, al cabo del cual se realiza el conteo o lectura de las unidades formadoras de colonia por 10 ml (UFC/10ml), expresando el número de colonias por la dilución a la que se ha trabajado.

Se realiza una esterilización por incineración del equipo de filtración para lo cual se usa alcohol metílico. Para desinfectar superficies y otros se utiliza alcohol etílico de 70°.

Se preparan las placas colocando los pads con la ayuda de un dispensador, se agrega 1.75 ml de caldo Lauril Sulfato sobre las cuales se colocaran las membranas conteniendo el cultivo, para luego ser incubadas por un espacio de 19 a 20 horas. Al cabo de este tiempo serán contadas, anotadas y expresadas el número contado por la dilución a la que se realizó el trabajo. Los datos son reportados inmediatamente [28]

En todo el trabajo se tiene especial cuidado con la limpieza e higiene del material y el ambiente de trabajo.

4. 5. SISTEMA EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACIÓN DE LA DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DE LAS BACTERIAS E-Coli

Se separa alícuotas de 500 ml de agua contaminada artificialmente con bacterias E-Coli (5 cm de altura) en tres vasos de precipitado de 1000 ml de capacidad en dos de los cuales se sumerge el material a ser probado, con el lado de la película hacia arriba. El tercero corresponde a un control, blanco o testigo que no contiene ningún material salvo el agua contaminada; luego son evaluadas e irradiadas por lámparas UV-A las cuales son calibradas previamente.

El tiempo total de irradiación es de 60 minutos, tomándose una muestra después de 20 minutos y otra muestra a los 60 minutos. Para realizar la toma de esta muestra se dispone de una micropipeta y frascos debidamente rotulados. La muestra se toma en diluciones de 10^{-4} para cada muestra, las cuales son trasladados al laboratorio con el cuidado respectivo para ser procesados según el procedimiento Oxfam- DelAgua que es el mismo que el del Standart Methods, en los cuales las muestras son incubadas a 37° C por espacio de 20 horas al cabo de los cuales se hacen las lecturas o conteos [28]

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1. INFLUENCIA DEL TIEMPO DE CRECIMIENTO DE LOS NANOHILOS EN LA SOLUCIÓN DE $Zn(NO_3)_2$ Y NaOH

Se fabricaron películas delgadas de ZnO que actuarán como semillas para el crecimiento de los rods. En este caso se prepararon sustratos con 10 capas (el tiempo de depósito por capa es de 8 s) de solución precursora de acetato de zinc depositadas por rociado pirolítico a $350^{\circ}C$. El pH de la solución precursora es de 5.8. Las muestras fueron tratadas a diferentes tiempos en la solución 0.15 $Zn(NO_3)_2$ y 2.1 M NaOH a $90^{\circ}C$.

Las muestras fueron caracterizadas con un microscopio TEM PHILIPS 500. Se estudió su microestructura y morfología.

Los resultados se muestran en la Figura 12. Se observa claramente que sin tratamiento no hay crecimiento de los rods. Del patrón de interferencia se observa una estructura $Zn(OH)_2 \cdot 0.5H_2O$. Sin embargo, cuando la película delgada se trata a $90^{\circ}C$ por una hora en la solución, se observa una población de rods de aproximadamente 30 nm de diámetro, y del patrón de interferencia se tiene una estructura ZnO y trazas de $Zn(OH)_2$. Después de 9 horas de tratamiento, los rods de ZnO se vuelven más anchos, de aproximadamente 100 nm de diámetro, y su estructura también es de ZnO con trazas de $Zn(OH)_2$. La estructura cristalina es zincita con trazas de $Zn(OH)_2$, debido a restos de sales residuales de la solución.

Podemos concluir entonces que un tiempo óptimo de crecimiento de los nanohilos es de tan solo 1 h, a $90^{\circ}C$ en la solución de crecimiento.

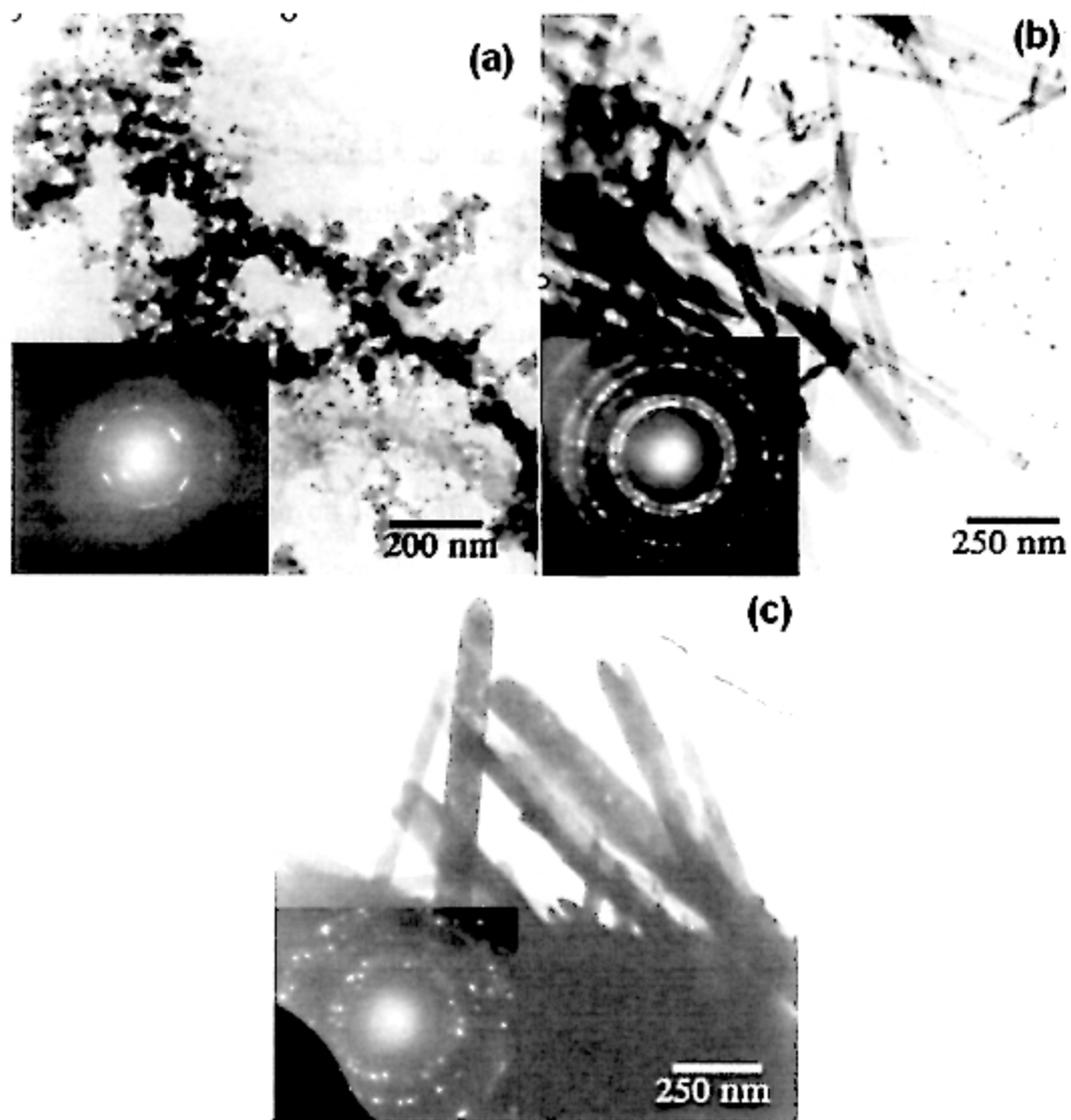


Figura 12. Imágenes TEM de nanorods de ZnO a) sin solución b) 1 h c) 9 h

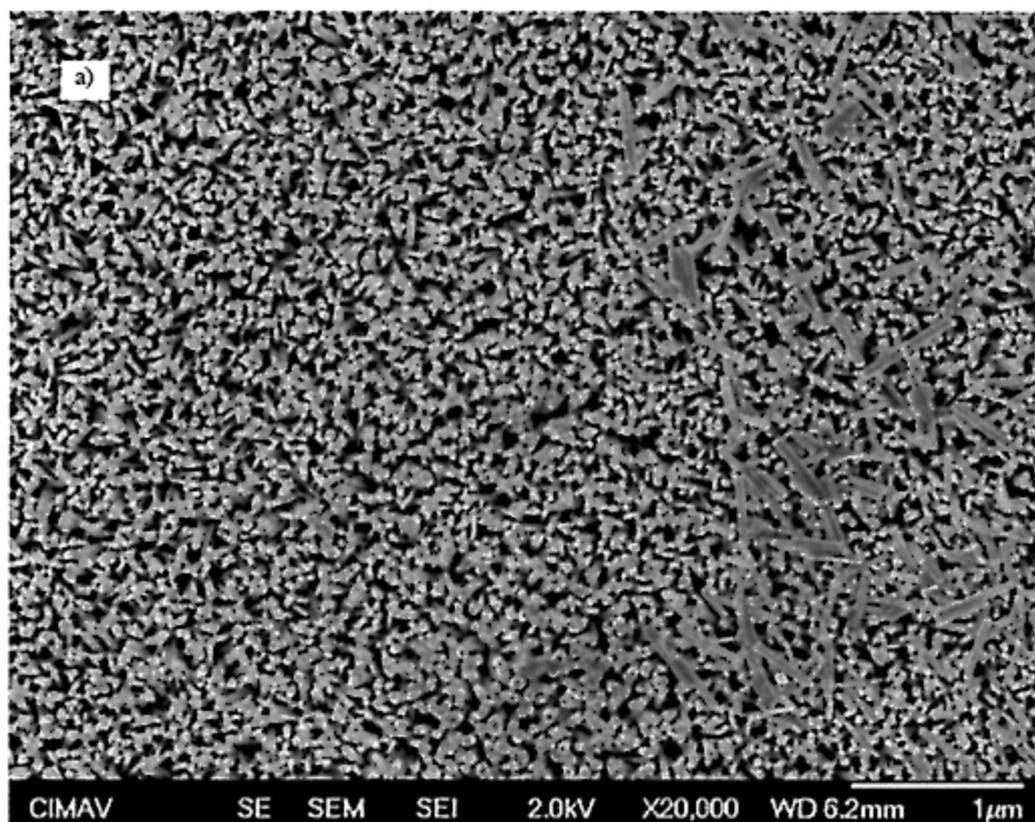
Tiempo de crecimiento (h)	Diámetro (nm)
0	-
1	30
9	100

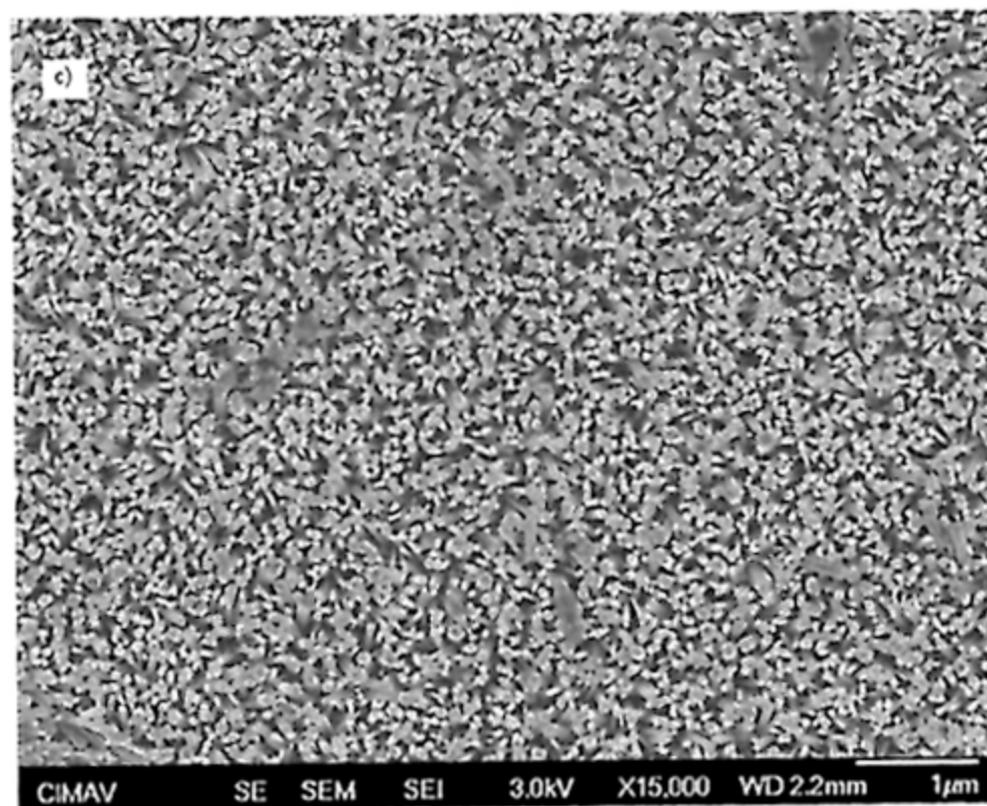
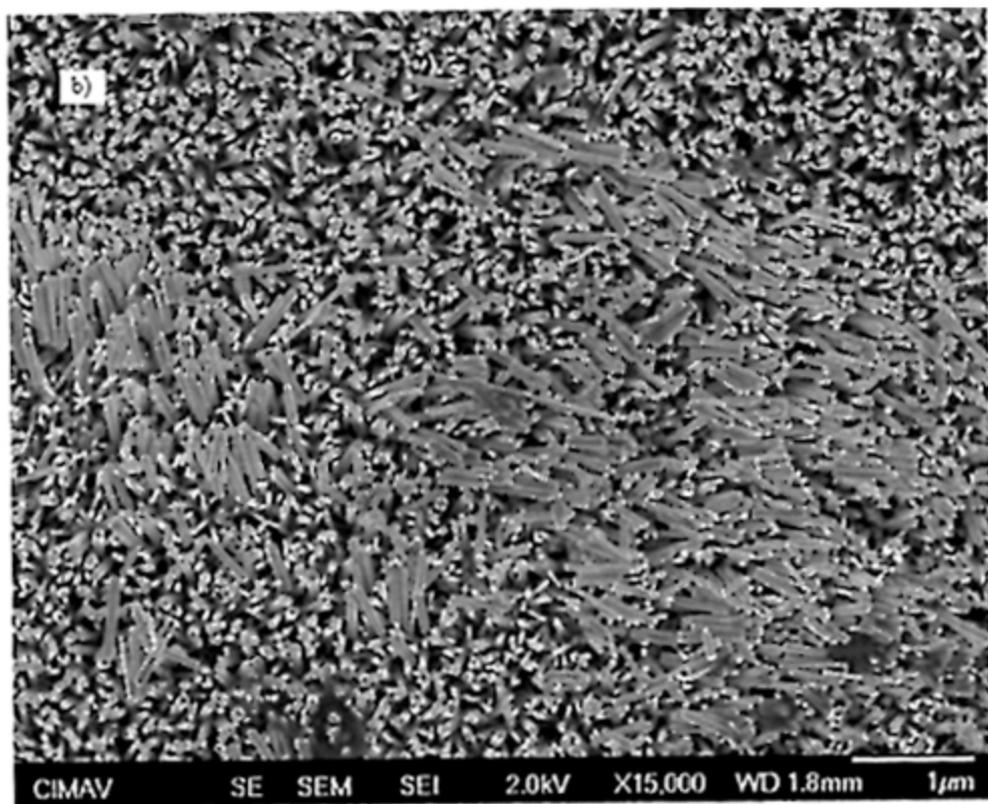
Tabla 1. Resumen de la influencia del tiempo de crecimiento en el diámetro de los rods

5.2. INFLUENCIA DEL ESPESOR DE LA PELÍCULA DELGADA DE ZnO

Este factor se estudió durante la deposición de las capas en el rociado pirolítico. Habíamos encontrado que el tiempo óptimo de tratamiento es de 1h a 90° C en la solución de crecimiento. Veremos ahora como varía con el espesor de la película delgada, variando el número de capas depositadas. El pH de la solución precursora es 5.8. Los nanohilos se caracterizaron morfológica y estructuralmente con un microscopio SEM JEOL modelo J5800LV. Los resultados se observan en la Figura 13. Se observa que el número de capas de ZnO depositados como semillas en el sustrato influye en la homogeneidad del crecimiento.

Los nanohilos tienen un diámetro nanométrico y parecen crecer más alineadamente cuando se usan 4 u 8 capas que cuando se usan 12 o 16 capas. La homogeneidad de los nanohilos disminuye en estos casos.





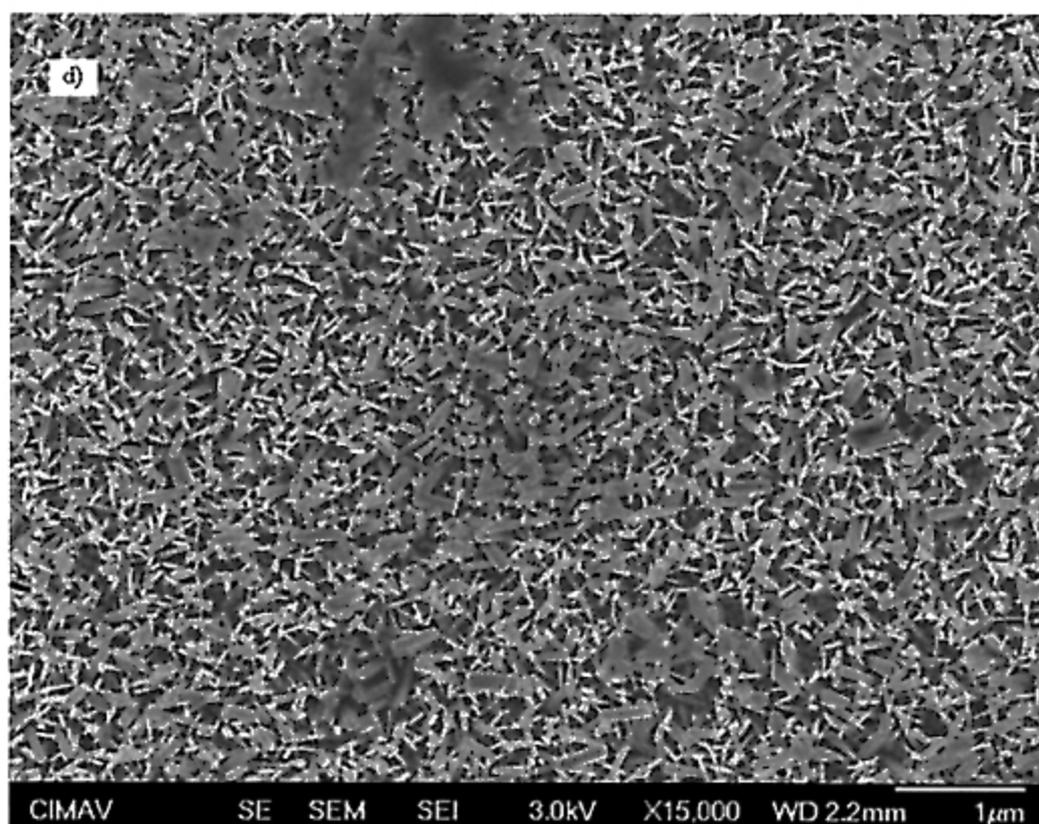


Figura 13. Micrografías SEM a diferentes espesores a) 4 capas, b) 8 capas, c) 12 capas, d) 16 capas

Se concluye entonces que la película necesita ser muy delgada y que la homogeneidad y la porosidad de la película precursora que actuará como semilla es importante, además que disminuye a mayor número de capas, haciéndolos crecer en diferentes direcciones, como se observa en la Figura 13.

Por consiguiente, un número razonable de capas que garanticen su alta orientación cristalina es de 10.

En la Figura 14 se muestra el espectro de transmitancia para diferentes espesores. Se observa una menor transmitancia en las películas a medida que aumenta su espesor.

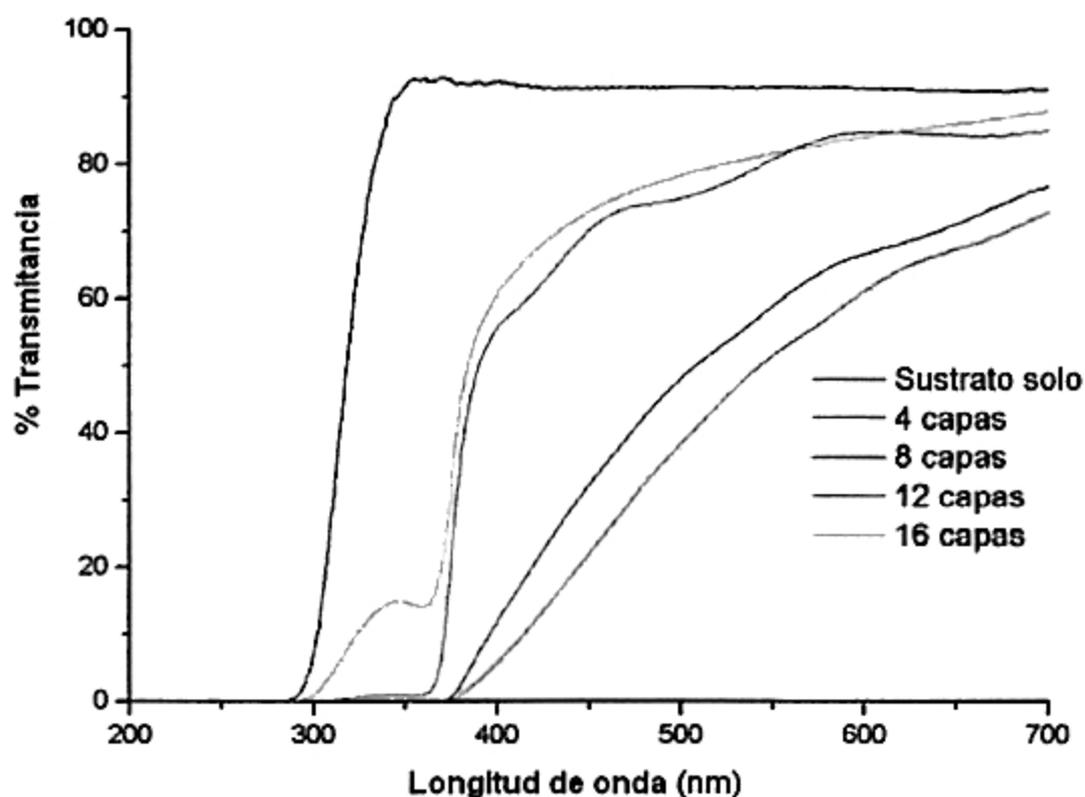


Figura 14. Espectro de transmittancia de nanorods de ZnO a diferentes espesores

La estructura cristalina se analizó por difracción de rayos X. Se utilizó un difractómetro de rayos X Panalitical. Los resultados se muestran en la Figura 15.

Los difractogramas muestran que la estructura cristalina es mayormente zincita. Se pueden observar planos paralelos en las direcciones (100), (002), (101), (102) y (103), teniendo la dirección (002), como preferida en su crecimiento.

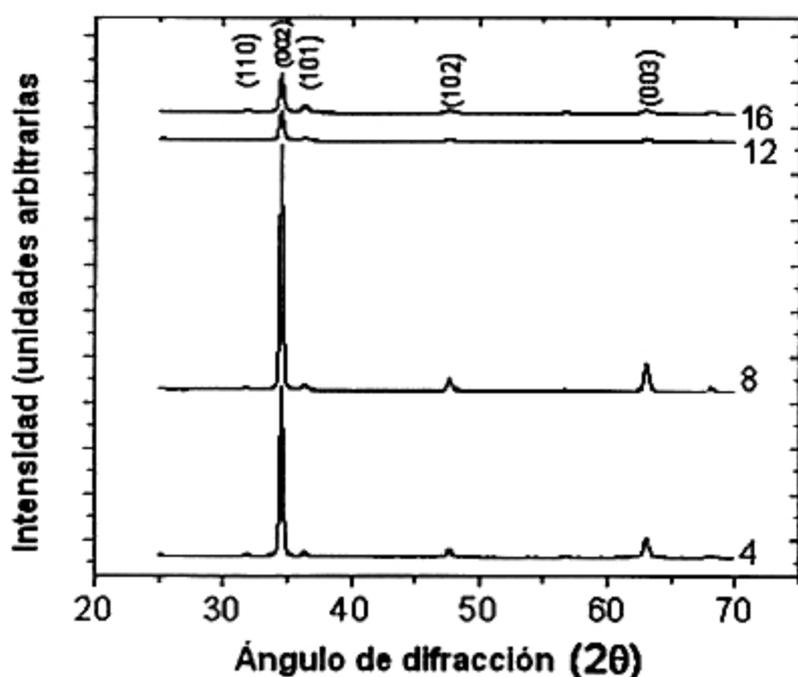


Figura 15. Difracción de rayos X para diferentes capas de ZnO

Se realizó un estudio del tamaño de grano cristalino a partir de la ecuación de Debye y Scherrer (i), mencionado en el acápite 3.6.2, y del difractograma. Los resultados se resumen en la tabla 2.

# de capas	2θ ($^{\circ}$)	θ (rad)	β (rad)	D (nm)
4 capas	34,56	0.30159	0.00489	29,70
8 capas	34,55	0.30151	0.00524	27,72
12 capas	34,55	0.30151	0.00506	28,68
16 capas	34,56	0.30159	0.00489	29,70

Tabla 2. Influencia del espesor de la película delgada de ZnO en el diámetro de los nanohilos

Como se puede apreciar de la Tabla 2, los valores calculados de la fórmula (i) concuerdan bastante bien con los hallados de las micrografías TEM (30 nm), con un tamaño medio de 28 nm para 1h de crecimiento.

5.3. INFLUENCIA DEL pH DE LA PELÍCULA DELGADA DE ZnO

Se había reportado el efecto del pH de la solución precursora de acetato de zinc en el rango de 2 a 5. A mayor pH, mayor incremento de la porosidad y de la forma de las partículas de la película delgada [25]. Queremos ver como influye la forma de las partículas en el crecimiento de los rods.

Los rods se caracterizaron morfológica y estructuralmente con un microscopio SEM JEOL modelo J5800LV. En la Figura 16 se observa que a pH 3.5, los rods se ven irregulares y más anchos en comparación al fabricado a 4.0. Esta tendencia parece afectar el crecimiento de los rods de ZnO, en los cuales se observa una estructura compacta a pH = 4.8.

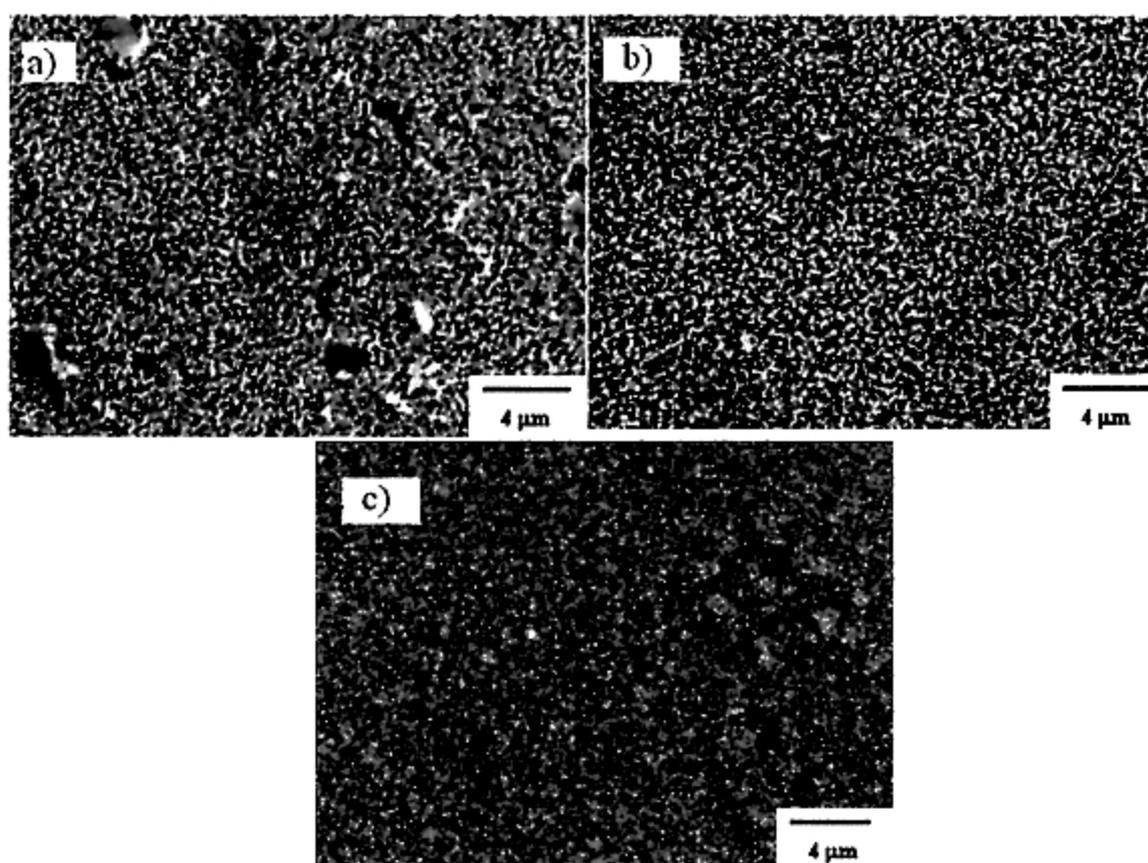


Figura 16. Nanorods fabricados a diferentes ph a) 3.5 b) 4.0 c) 4.8

En la Figura 17 se muestra el espectro de transmitancia para diferentes pH. Se observa mayor transmitancia en películas a pH 4.8 que a 3.5, esto es debido a que las películas compactas de ZnO no difunden la luz como lo hacen los nanohilos.

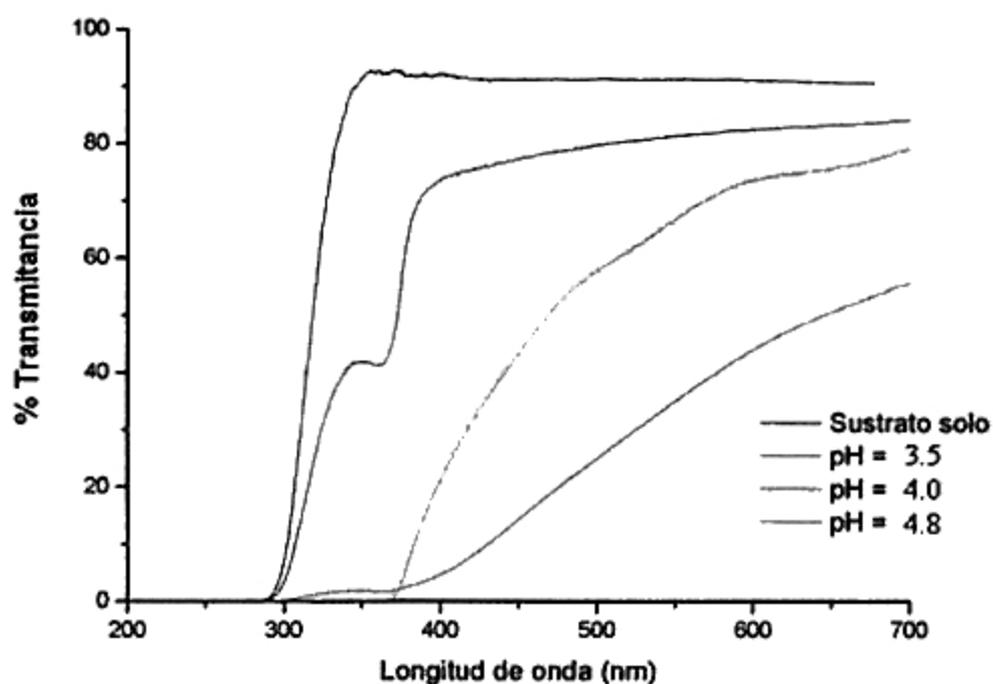


Figura 17. Espectro de transmitancia de nanorods de ZnO a diferentes pH

La estructura cristalina se analizó por difracción de rayos X. Se utilizó un difractómetro de rayos X Panalitical. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 18.

Los difractogramas muestran una estructura cristalina zincita con planos paralelos en las direcciones (100), (002), (101), (102), (110) y (103), teniendo la dirección (002) como preferida. Como vemos, los difractogramas de rayos X difieren de la difracción de electrones, debido, aparte de lo mencionado, a que mientras la difracción de electrones lo hace en una pequeña área selecta, la difracción de rayos X lo hace barriendo todo el material, pues analiza al milímetro toda la zona de la muestra.

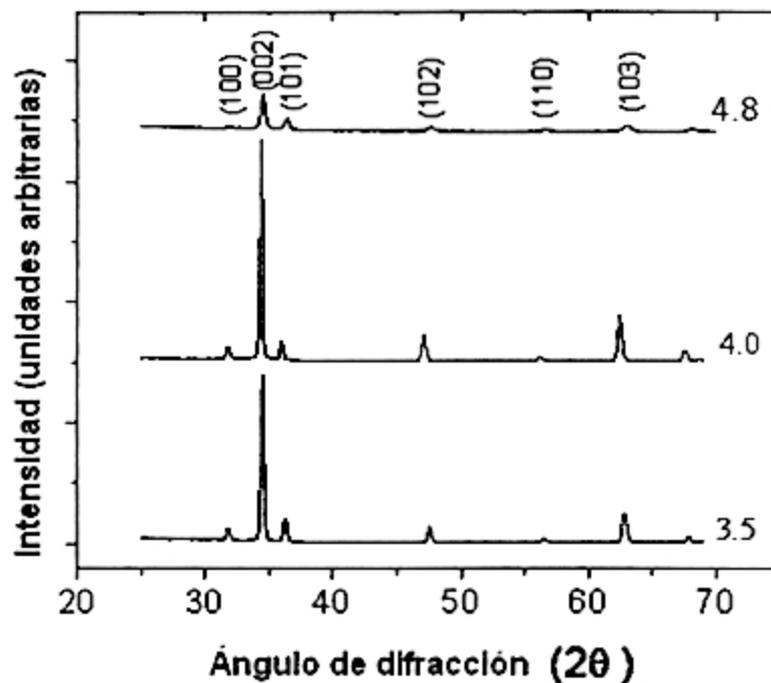


Figura 18. Difracción de rayos X de nanorods de ZnO a diferentes pH.

Se realizó un estudio del tamaño de grano cristalino a partir de la ecuación de Debye y Scherrer (i), mencionado en el acápite 3.6.2, y del difractograma. Los resultados se resumen en la tabla 3.

pH	2θ ($^{\circ}$)	θ (rad)	β (rad)	D (nm)
3.5	34.56	0.30159	0.00559	25,98
4.0	34.37	0.29993	0.00314	46,18
4.8	34.49	0.30098	0.00489	29,69

Tabla 3. Influencia del espesor de la película delgada de ZnO en el diámetro de los nanohilos.

Como se puede apreciar de la Tabla 3, nuevamente los diámetros hallados a partir del difractograma tiene una gran concordancia con el hallado por la micrografía TEM (30 nm), salvo para pH 4.0, en el cual se observa un mayor crecimiento respecto a los demás.

5.4. DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DE LA BACTERIA E-Coli

Los análisis de la degradación fotocatalítica de bacterias en agua se hicieron usando 500 ml de agua contaminada en un vaso de precipitado de 1000 ml y bajo la irradiación ultravioleta cercana, UV-A (310, 400 nm) de una lámpara OSRAM Ultravitalux de 230 W. La radiación fue filtrada con un filtro de agua de 2 cm para evitar componentes infrarrojos.

Los sustratos con los nanohilos fabricados a diferentes pH se colocaron en el fondo de los vasos de precipitados de 1000 ml que contiene el agua contaminada con E-Coli durante el tiempo de irradiación. Las medidas de la irradiación fueron de 15 W/m² en el rango UV-A.

Las pruebas de la bacteria en agua se hicieron con el equipo Oxfam-DelAgua. Este equipo está diseñado para dar información sobre la calidad bacteriológica del agua.

Tiempo	Fotólisis UFC/ 10 ml E-coli	pH = 4.8 UFC/10ml E.coli	pH = 4.0 UFC/10ml E.coli	pH = 3.5 UFC/10ml E.coli
Control inicial	6860000	6860000	6860000	6860000
20 min.	incontable	incontable	13800	incontable
60 min.	incontable	1200	0	1500

Tabla 4. Fotocatálisis en condiciones de luz de los nanohilos fabricados a diferente pH. El control final sin tratamiento fue de 7080000 UFC/10 ml.

De la Tabla 4 se puede observar que se parte con la misma población inicial (control inicial) de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) 6860000 de E. coli. Luego de 20 minutos de exponer las muestras a la radiación de las lámparas, observamos que en el caso de la muestra que fue fabricada a pH 4.0, la población decrece drásticamente; así mismo después de 60 minutos de exposición en el caso de esta misma muestra se elimina toda la población de E-

coli, es decir que se llegó a una desinfección total. Comparado con el comportamiento de las otras dos muestras fabricadas a pH 4.8 y pH 3.5, se observa un descenso en la población de E-coli. Es posible que con un poco más de tiempo de irradiación se hubiera logrado la desinfección total, sin embargo es claro que el de pH 4.0 mostró las mejores propiedades de desinfección.

En el caso de fotólisis se observa que la población no disminuye, al punto que ya no se puede contar las colonias; no ocurrió nada porque observamos que luego del mismo tiempo de exposición la población de E-coli se mantiene vigente. El control final se hizo como un control a esa misma muestra que quedó y que no fue sometida a ningún tratamiento. La razón por la cual no hay degradación por fotólisis bajo la presente radiación UV-A es que la intensidad utilizada (15W/m^2) en el UV-A fue elegida para asegurar que los efectos en las bacterias se deban principalmente al material utilizado y no a la radiación UV-A exclusiva sobre las bacterias.

Tiempo	Fotólisis UFC/ 10 ml E-coli	pH = 4.8 UFC/10ml E.coli	pH = 4.0 UFC/10ml E.coli	pH = 3.5 UFC/10ml E.coli
Control inicial	6860000	6860000	6860000	6860000
Control final	7080000	7080000	7080000	7080000
Control, en oscuridad después de 30 min	incontable	incontable	incontable	incontable
Control, en oscuridad después de 60 min	incontable	incontable	incontable	incontable

Tabla 5. Fotocatálisis en condiciones de oscuridad.

La Tabla 5 corresponde al ensayo que se realizó en condiciones de oscuridad. Se forraron los envases con papel platino para crear las condiciones deseadas. Se procedió del mismo modo sólo que las muestras no fueron expuestas

a las lámparas U.V. Se cuantificó el control inicial y se tomó una muestra a los 30 y 60 minutos; luego de este tiempo, se observa que no ocurre nada pues la población de E-coli se mantiene vigente. No se observa ningún efecto del material probado frente a la población bacteriana, no hay un efecto bactericida en ausencia de irradiación.

Esto corrobora los resultados que se obtuvo cuando se expuso las muestras a irradiación UV-A. Se concluye también que para que el material probado (ZnO) pueda tener un efecto fotocatalítico necesita de la radiación ultravioleta cercana.

Como conclusión, se observa una dependencia de las bacterias muertas respecto al pH de la solución precursora de acetato de zinc donde crecieron los nanohilos de ZnO. Considerando además la dependencia de la morfología de los nanohilos de ZnO con el pH (Figura 16), es posible argumentar una correlación entre la morfología y la degradación de la bacteria. Parece ser plausible asumir que el principal factor que influye en la degradación de la bacteria es el incremento del área superficial de las semillas crecidas a pH 3.5 y 4.0. Sin embargo, para el caso de pH 4.8, las semillas parecen ser inapropiadas para el crecimiento de nanorods de ZnO y se observa por SEM (Figura 16c) y del espectro de transmitancia (Figura 17) que la estructura obtenida es compacta, reduciendo su capacidad de degradación fotocatalítica de las E-Coli en agua.

6. CONCLUSIONES

Han sido fabricados nanohilos de ZnO con alta orientación cristalina depositados sobre sustratos planos de vidrio por rociado pirolítico a partir de una solución precursora de acetato de zinc y sometidos a baño térmico en una solución supersaturada 0.15 M de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y 2.1 M de NaOH a 90°C . Se observa en la difracción de rayos X una estructura zincita y el crecimiento preferencial en la dirección (002) es una característica de los nanohilos de ZnO, sin variación en la intensidad de los planos cuando se usan diferentes espesores y pH en la fabricación. Las películas obtenidas se usaron exitosamente en la degradación fotocatalítica de las bacterias E-Coli en agua.

7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS

Se hacen necesarias otras pruebas a diferentes concentraciones en las soluciones de crecimiento de $Zn(NO_3)_2$ y NaOH para la obtención de los nanohilos de ZnO. También otras temperaturas en el baño térmico para ver cual es el umbral de crecimiento de los nanohilos de ZnO.

Se sugiere hacer más pruebas fotocatalíticas para las nuevas condiciones de crecimiento de los nanohilos, y ver cuáles son las más eficientes. En el presente trabajo sólo se evaluó la dependencia del pH con la actividad fotocatalítica de los nanohilos.

Probar nuevas técnicas, como la del spin coating, para la deposición de la capa de ZnO que actuará como semillas en la nucleación.

Finalmente, se hicieron pruebas con muestras contaminadas artificialmente en laboratorio. Se recomienda hacer pruebas con muestras contaminadas *in situ*.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Kannan, K. Castelino, A. Majumdar, *Nano Lett.* 3 (2003) 1729
- [2] J. Y. Lee, Y. S. Choi, J. H. Kim, M. O. Park, S. Im, *Thin Solid Films* 404 (2002) 553
- [3] M. Law, L. E. Greene, J. Goldberger, J. C. Johnson, R. J. Saykally, P. Yang, *Nat. Mater.* 4 (2005) 455
- [4] L. E. Greene, M. Law, J. Goldberger, F. Kim, J. C. Johnson, Y. Zhang, R. J. Saykally, P. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 3031
- [5] R. B. Peterson, C. L. Fields, B. A. Gregg, *Langmuir* 20 (2004) 5114
- [6] Y. Li, G. W. Meng, L. D. Zhang, F. Phillip, *Appl. Phys. Lett.* 76 (2000) 2011
- [7] J. H. Choi, H. Tabata, T. Kawai, *J. Cristal Growth* 226 (2001) 493
- [8] L. Vayssieres, *Adv. Mater.* 15 (2003) 464
- [9] S. Liu, J. J. Wu, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* 7003 (2002) 241
- [10] M. Huang, Y. Wu, H. Feick, N. Tran, E. Weber, P. Yang, *Adv. Mater.* 13 (2001) 113
- [11] R. Liu, A. A. Vertegel, E. W. Bohannon, T. A. Sorenson, J. A. Switzer, *Chem. Mater.* 13 (2001) 508
- [12] M. Blesa, J. Blanco, *Solar Safe Water: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua.* Escuela de Posgrado UNSAM, San Martín (2005)
- [13] R. Mercierehofer, M. Wegelin, *Solar Water Disinfection: a Guide for the Application of SODIS.* SANDEC Report N° 06/02, Suiza. 88 pp. (2002)
- [14] M. Litter, A. Jiménez, *Avances en Tecnologías económicas solares para desinfección, descontaminación y Remoción de Arsénico en Aguas de Comunidades Rurales de América Latina (Métodos FH y RAOS) Proyecto OEA AE 141* (2004).
- [15] M. Blesa, B. Sanchez, *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea.* CIEMAT, Madrid (2004).

- [16] L. Vayssieres, K. Keis, S. E. Lindquist, *A. Chem. Mater* 2001, 13, 4395-4398
- [17] R. A. Laudise, A. A. Ballman, *J. Phys. Chem. B* 1960, 64, 688
- [18] R. B. Peterson, C. L. Fields, B. A. Gregg, Epitaxial chemical deposition of ZnO nanocolumns form NaOH solutions, *Langmuir* 2004, 20, 5114-5118
- [19] S. Yamabi, H. Imai, *J. Mater. Chem* 2002, 12, 3773-3778
- [20] P. S. Patil, Versatility of chemical spray pyrolysis technique, *Materials Chemistry and Physics* 59 (1999) 185-198
- [21] F. Paraguay, Obtención de películas delgadas de óxido de zinc: caracterización estructural y óptica, *Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ciencias*, 1993
- [22] D. Ollis, E. Pelizzetti, N. Serpone, *Environ. Sci. Technol.* 1991, Vol 25, 1523-1529
- [23] A. Feitz, B. Boyden, T. Waite, 2000, Evaluation of two solar pilot scale fixed-bed photocatalytic reactors, *Wat. Res.*, Vol. 34, 3927-3932
- [24] J. Rodríguez, R. Candal, J. Solís, W. Estrada, M. Blesa, El fotocatalizador: síntesis, propiedades y limitaciones, *Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua*, (2005) Cap. 9
- [25] M. Quintana, J. Rodríguez, J. Solís, W. Estrada, The influence of the ethanol-water molar ratio in the precursor solution on morphology and photocatalytic activity of pyrolytic ZnO films, *Photochemistry and Photobiology*, 2005, 81: 783-788
- [26] M. Quintana, E. Ricra, J. Rodríguez, W. Estrada, Spray pyrolysis deposited zinc oxide films for photo-electrocatalytic degradation of methyl orange: influence of the pH, *Catalysis Today* 76 (2002) 141-148
- [27] Z. Chen, L. Gao, A facile route to ZnO nanorod arrays using wet chemical method, *Journal of Crystal Growth* 293 (2006) 522-527
- [28] Water Environment Federation (WEF), *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 20th Ed. 1998