UNIÓN EUROPEA
Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Una manera de hacer Europa

GENERALITAT VALENCIANA

IVACE
INSTITUT VALENCIÀ DE COMPETITIVITAT EMPRESARIAL

INESCOP
INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL CALZADO Y CONEXAS

EXPEDIENTE	IMDEEA/2017/47
ACRÓNIMO	ANTIMICROBIAL II
PROGRAMA	Proyectos de I+D de carácter no económico realizados en cooperación con empresas
TÍTULO DEL PROYECTO	ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA LA EVALUACIÓN DE NUEVOS AGENTES, PRODUCTOS Y MATERIALES CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

ENTREGABLE E2. Funcionalización de diferentes superficies (cuero, plásticos y textiles) mediante nanopartículas con actividad antimicrobiana.
Informe sobre los resultados de la síntesis y funcionalización de materiales de estudio.

ÍNDICE

1. Información del Proyecto 3
2. Detalles del Entregable..... 4
3. T2.1 Preparación de nanopartículas metálicas con actividad antimicrobiana. 5
T2.2 Preparación de nanocápsulas con nanopartículas metálicas. as metálicas de preparación propia 5
T2.3. Funcionalización de superficies (cuero, plástico y textiles): deposición mediante tecnología plasma e incorporación en masa a termoplásticos (TPU)s. 20
T2.4. Caracterización de las nanopartícula 5

1. Información del Proyecto

Titulo del Proyecto: Estrategias biotecnológicas para la evaluación de nuevos agentes, productos y materiales con actividad antimicrobiana. (IMDEEA/2017/47).

Acrónimo: Antimicrobial II

Programa de trabajo: IVACE. Proyectos de I+D de carácter no económico realizados en cooperación con empresas.

Fecha de comienzo: 1 de Enero de 2017

Duración: 12 meses

Lista de Participantes:

Participante	Nombre organización	Nombre abreviado	Lugar
1.	Instituto Español de Calzado y Conexas	INESCOP	Elda

2. Detalles del Entregable.

Entregable Nº:	2
Título del entregable:	Ensayos antibacterianos con los materiales funcionalizados. Informe sobre los resultados de los ensayos antibacterianos con los diferentes materiales funcionalizados.
Periodo	01/2017 – 12/2017
Paquete de Trabajo:	PT2. Funcionalización de diferentes superficies (cuero, plástico y textiles) mediante nanopartículas con actividad antimicrobiana
Tareas:	2.1. Preparación de nanopartículas metálicas con actividad antimicrobiana. 2.2. Preparación de nanocápsulas con nanopartículas metálicas. 2.3. Funcionalización de superficies (cuero, plástico y textiles): deposición mediante tecnología plasma e incorporación en masa a termoplásticos (TPU). 2.4. Caracterización de las nanopartículas.
Autor:	Instituto Tecnológico del Calzado y Conexas INESCOP INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL CALZADO Y CONEXAS
Resumen:	En el presente informe se resumen los resultados obtenidos en la preparación propia de nanopartículas metálicas y su posterior funcionalización en diferentes materiales al largo del año 2017.

3. PT 2. Funcionalización de diferentes superficies (cuero, plástico y textiles) mediante nanopartículas con actividad antimicrobiana.

Tareas:

T2.1. Preparación de nanopartículas metálicas con actividad antimicrobiana.

T2.2. Preparación de nanocápsulas con nanopartículas metálicas.

T2.3. Funcionalización de superficies (cuero, plástico y textiles): deposición mediante tecnología plasma e incorporación en masa a termoplásticos (TPU).

T2.4. Caracterización de las nanopartículas.Ensayos comprobatorios de la actividad antibacteriana de las nanopartículas metálicas de preparación propia.

RESUMEN DE LA ACTIVIDAD:

En este paquete de trabajo se realizó la preparación de muestras de nanopartículas para su posterior funcionalización en las tareas subyacentes. Se ha optado por la preparación de agentes antimicrobianos de origen metálico. En total se han preparado nanopartículas de cinco metales: plata. zinc, hierro, cobre y titanio. Los procedimientos de la síntesis de las nanopartículas de plata como el zinc fueron los mismos que se utilizaron en la primera anualidad del proyecto (Antimicrobial – IMDECA/2016/4). Estos compuestos, en forma de nanopartículas, fueron empleados en las tareas subyacentes para su funcionalización en las diferentes superficies (cuero, plástico y textiles).

NANOPARTÍCULAS DE OXIDO DE HIERO

Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de hierro en medio ácido

Se ha empleado como precursor del hierro para la síntesis de las partículas de óxido de hierro el nitrato férrico. Para las diferentes síntesis realizadas con oxido de hiero se ha variado principalmente la molaridad de nitrato férrico, agitación y temperatura de síntesis a fin de determinar la influencia de estos parámetros en la actividad antimicrobiana.

A partir de una disolución de nitrato férrico en agua (entre 0.05 y 2 M), que se ha llevado a una temperatura entre 75 y 90ºC en reflujo, dependiendo del ensayo en cuestión. Al alcanzar la temperatura se procedió con la acidificación del medio añadido gota a gota ácido acético 1M hasta un pH alrededor de 0.5 manteniendo dicha solución en agitación y temperatura de cada ensayo constante por un período de 6 h. Después de este tiempo de síntesis se ha formado una suspensión con sólido de color naranja oscuro. Se dejó sedimentar hasta el día siguiente y posteriormente se procedió con la filtración y lavado con Etanol absoluto. Finalmente el polvo obtenido se secó en estufa a 60ºC durante 3 h, a 200ºC durante 12 h y en mufla a 500ºC durante 1 h, obteniéndose un sólido de color rojo oscuro.

Según las referencias bibliográficas, la calcinación de óxidos de hierro a temperaturas superiores a 450ºC lleva a la formación de la fase hematita[1]. Durante los ensayos de caracterización se ha procedido con la análisis mediante espectroscopía infrarroja (IR). Para comprabar la presencia de hematita ya que la temperatura de ensayo empleada fue de 500ºC se ha preparado pastillas de KBr, que permitiron confirmar la formación de hematita Fe_2O_3 (Figura 1).

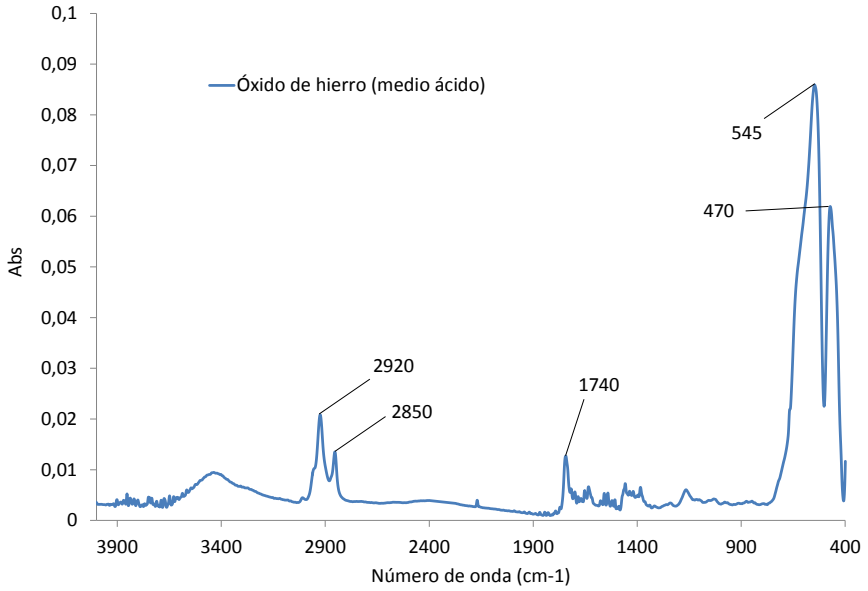


Figura 1. Espectro IR de óxido de hierro obtenido a partir de nitrato férrico en medio ácido.

[1] Ying- Sing Lia, Jeffrey S. Church, Andrea L. Woodhead. Infrared and Raman spectroscopic studies on iron oxide magnetic nano- particles and their surface modifications. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 324 (8) (2012), 1543-1550.

Como se puede observar en la figura 1, hay presencia de bandas a 545 y 470 cm^{-1} que son características de óxido de hierro, y se atribuyen a vibraciones Fe-O en Fe_2O_3. Según referencias bibliográficas, la presencia de estas bandas confirma la presencia de óxido de hierro en forma de hematita[2] , ya que la fase magnetita (óxido de hierro calcinado a temperaturas inferiores a 300 ºC) mostraría bandas en IR en 600 cm^{-1} que no aparecen en este caso.

Por otro lado, también se observan bandas debidas a deformación de enlaces O-H (3460 cm^{-1}) , flexión de enlaces C=O (1740 cm^{-1}), flexión y deformación de enlaces N-H (3460 cm^{-1}).

En definitiva, la banda a 3460 cm^{-1} se puede claramente asignarse a enlaces O-H, aunque debido a que la muestra ha sido secada en estufa y posteriormente en mufla, no es esperable que se deba a trazas de agua adsorbida, sino posiblemente alguna impureza o formación de grupos hidróxido en complejos metálicos[3].

La caracterización mediante Difracción de Rayos X (DRX, Figura 2) confirma también la formación de óxido de hierro en forma de Fe_2O_3.

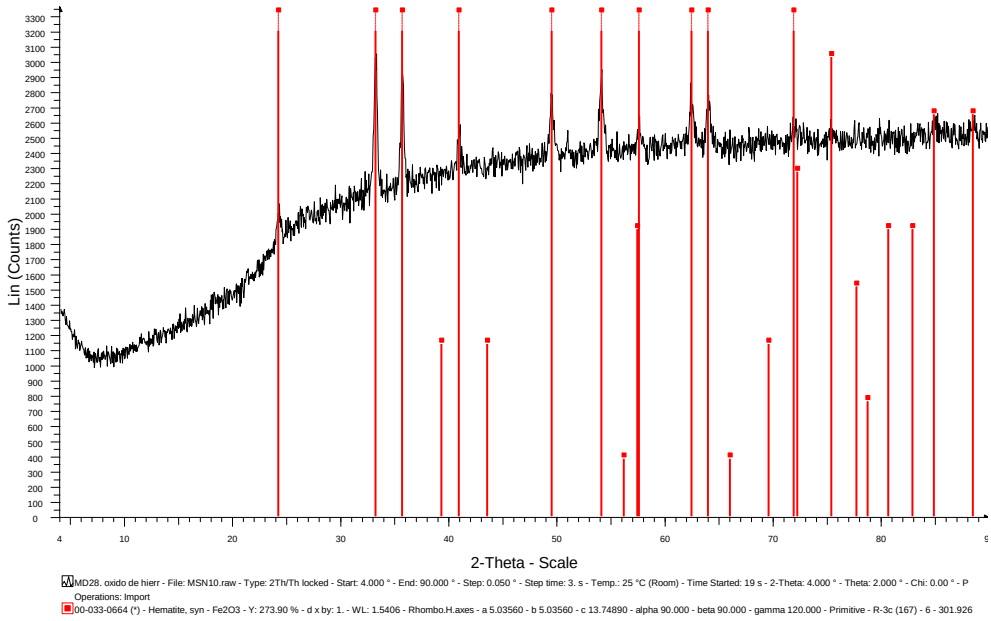


Figura 2. Difractograma del óxido de hierro obtenido a partir de nitrato férrico en medio ácido.

Sin embargo, aunque el método de síntesis empleado en la preparación del óxido de hierro lleva a calcinación en mufla a 500 ºC el producto obtenido para asegurar la formación de

[2] A. F. Betancur, F.R. Pérez, M. del M. Correa, C. A. Barrero. Quantitative approach in iron oxides and oxihydroxides by vibrational analysis. Opt. Pura Apl. 45 (3) 269-275 (2012).
[3] C. Blanco-Andujar, D. Ortega, Q.A. Pankhurstab, N. Thi Kim Thanh. Elucidating the morphological and structural evolution of iron oxide nanoparticles formed by sodium carbonate in aqueous medium. J. Mater. Chem., 22 (2012) 12498-12506.

Fe_2O_3, es complicado mediante espectroscopía IR o difracción de rayos X distinguir si se han obtenido mezclas de Fe_2O_3 y Fe_3O_4, ya que en ambas técnicas, los dos tipos de óxidos presentan bandas similares y difíciles de distinguir.

Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de hierro en medio básico.

Para la síntesis de las partículas de óxido de hierro en medio básico se ha partido de nitrato férrico como precursor del hierro e hidróxido amónico como agente de precipitación. Para ello, se ha preparado una disolución de nitrato férrico en agua (0.05 – 0.2 M), que se ha llevado a temperaturas en reflujo que variaran entre 75-90ºC dependiendo de la sintesis. Al alcanzar la temperatura deseada se procedió con la basificación del medio añadido gota a gota hidróxido amónico al 25% peso y se ha dejado en agitación a temperatura constante durante 6 h. Como resultado de esta síntesis se formado una suspensión con sólido de color naranja oscuro, marrón. Se ha dejado sedimentar en overnight y posteriormente la solución fue filtrado y lavado con Etanol absoluto. Finalmente el polvo obtenido se secó en estufa a 60ºC durante 3 h, a 200ºC durante 12 h y en mufla a 500ºC durante 1 h, obteniéndose un sólido de color rojo oscuro, casi negro.

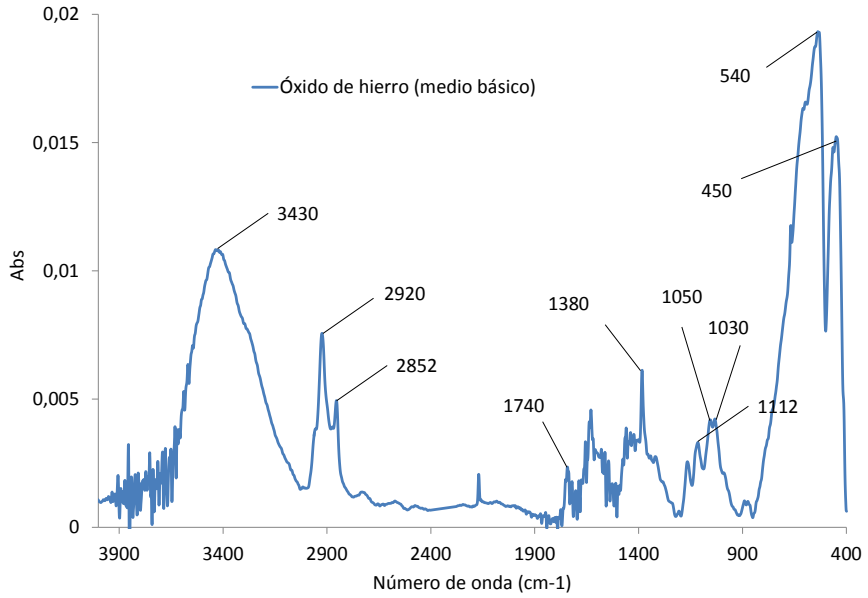


Figura 3. Espectro IR de óxido de hierro obtenido a partir de nitrato férrico en medio básico.

Para la caracterización de las nanopartículas se ha empleado metodología mediante espectroscopía infrarroja y preparación con pastillas de KBr (Figura 3) Como se puede observar en la figura, además de las bandas características a 540 y 450 cm^{-1} características de óxido de hierro, que se atribuyen a vibraciones Fe-O en Fe_2O_3., es posible visualizar, en este caso, presencia de varias bandas en el espectro IR que no se corresponden al óxido de hierro, y que pueden deberse a la formación de algún complejo con hierro, debido a la presencia de bandas a 3430 cm^{-1} (deformación de enlaces O-H), 1740 cm^{-1} de deformación de grupos C=O, y banda en el intervalo 1050-1100 cm^{-1} de grupos C-O. También aparecen bandas en 2920 y 2852 cm^{-1}

que se deben a vibración de enlaces C-H. Sin embargo, estos grupos no se encuentran en los reactivos de partida utilizados para la síntesis del óxido de hierro, por lo que deben corresponderse con impurezas o contaminación en el proceso de síntesis.

Finalmente se ha realizado el análisis de la composición atómica de la muestra mediante Energía Dispersiva de Rayos X (EDX), en diferentes puntos de la muestra. Los datos obtenidos revelan la presencia de átomos de Fe y O. Sin embargo, no se ha detectado C en el análisis de la muestra con EDX (Tabla 1).

Tabla 1. Composición atómica (EDX) del óxido de hierro obtenido a partir de nitrato férrico en medio básico.

	COMPOSICIÓN ATÓMICA (% atómico)	
	Fe	**O**
Punto 1	37.69	62.31
Punto 2	36.66	63.34
Punto 3	40.85	59.15
Punto 4	36.89	63.11
Punto 5	39.27	60.73

La Figura 4 muestra el difractograma de Rayos X del óxido de hierro obtenido en medio básico. En este caso también aparecen los picos de difracción correspondientes al óxido de hierro en forma de Fe_2O_3, aunque es posible que también haya partículas de Fe_3O_4 ya que los picos de difracción de ambos óxidos son similares y difíciles de diferenciar.

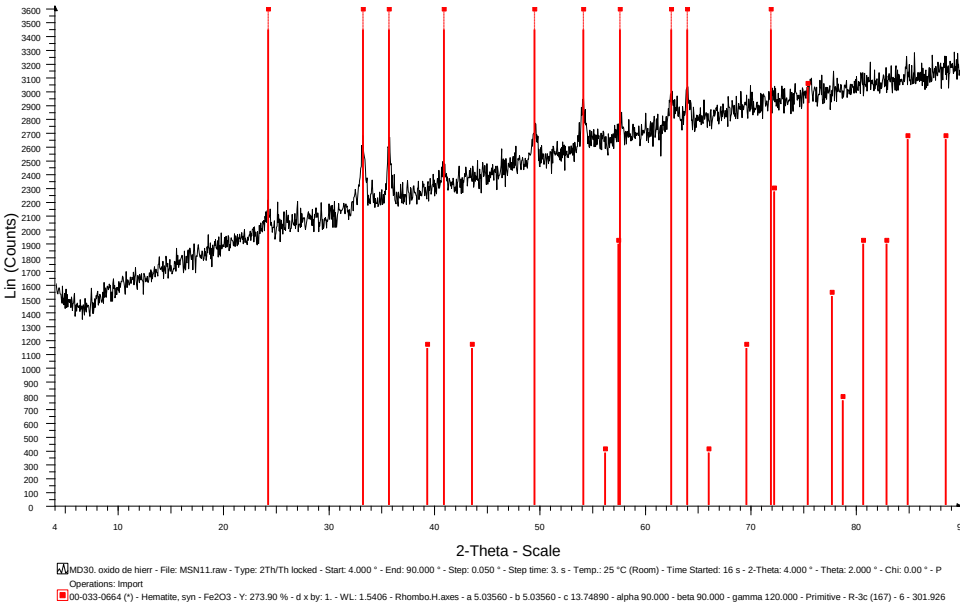


Figura 4. Difractograma del óxido de hierro obtenido a partir de nitrato férrico en medio básico.

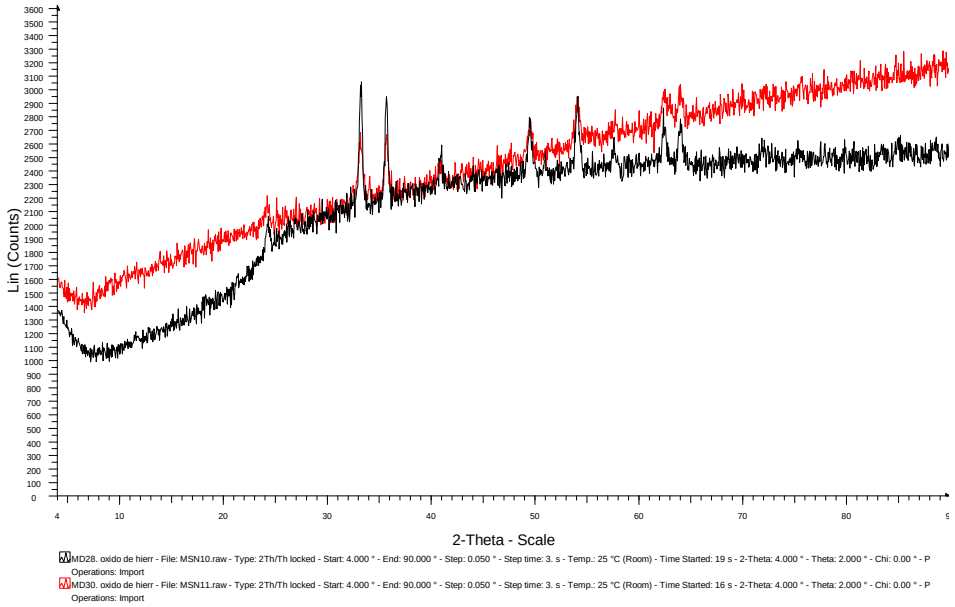


Figura 5. Comparación de los difractogramas de óxido de hierro obtenido a partir de nitrato férrico en medio ácido y básico.

Como comparativa ilustrativa de las síntesis empleado acidificación y basificación, la Figura 5 muestra la comparación de los óxidos de hierro obtenidos a partir de nitrato férrico en medio ácido y básico. En la figura es posible observar que las fases cristalinas obtenidas son similares en ambos casos.

Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de cobre en medio básico.

Para la síntesis de las partículas de óxido de cobre se ha empleado la metodología de basificación y como precursor cloruro de cobre ($CuCl_2$, color azul claro) como fuente de cobre.

Para ello se ha preparado una disolución de cloruro de cobre ($CuCl_2$) entre 0.1 – 0.2M. Para la realización de la síntesis se ajustó el pH, hasta 12.5, a partir de una disolución de NaOH-1M como agente de precipitación. La disolución permanece en agitación constante durante 1 hora donde se puede observar al final de este periodo la formación de un precipitado azul turquesa. El precipitado se queda en overnigth en reposo a fin de permitir una mayor sedimentación y posteriormente es filtrado a vacío y lavado con etanol absoluto. El precipitado resultante es posteriormente secado en estufa a 60ºC por un periodo de 48 h y posteriormente calcinado en mufla a 500ºC por un periodo de 4 h. Finalmente el producto que se obtiene es un polvo negro.

En la Figura 6 se incluye el espectro IR realizado a la muestra de óxido de cobre.

Se puede observar la presencia de una banda de vibración del enlace Cu-O en el intervalo 450-650 cm^{-1}. Otra banda, 1384 cm^{-1} se corresponde con la deformación de enlaces Cu^{+2}-O^{-2}. Según

algunos autores, dependiendo del método de síntesis utilizado[4], esta banda es observada en compuestos CuO. Por otro lado, la absorción de bandas a 1630 y 3430 cm^{-1} se debe la flexión de enlaces H-O-H y deformación de grupos O-H respectivamente[5] de agua absorbida e hidróxidos superficiales[6,7]. De forma similar, la banda de deformación de enlaces C-H aparece en el intervalo 2800-2950 cm^{-1}.

En la Figura 7 se incluye el difractograma de DRX obtenido para el óxido de cobre sintetizado de forma experimental.

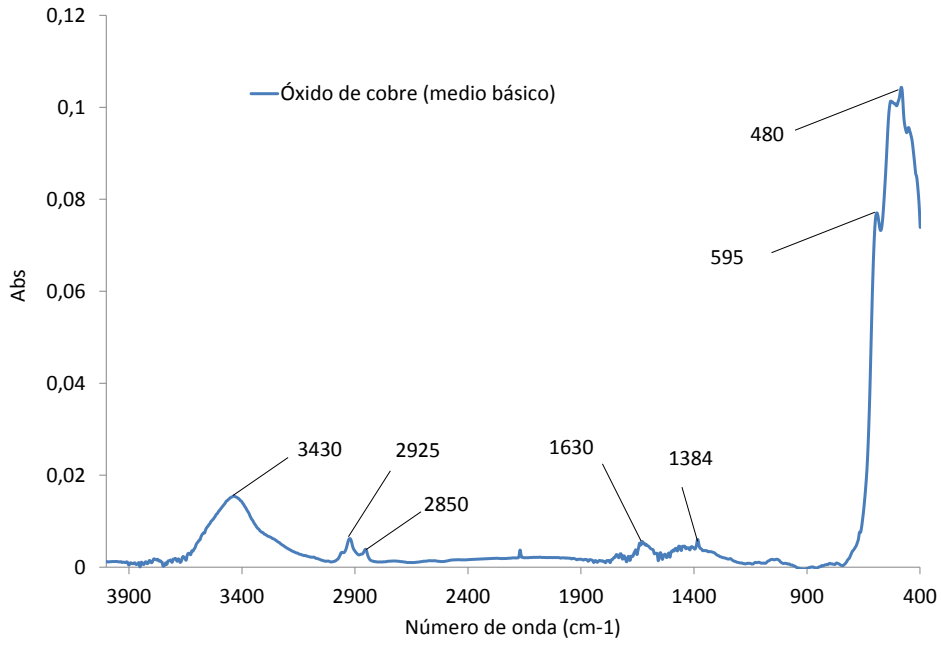


Figura 6. Espectro IR de óxido de cobre obtenido a partir de cloruro de cobre en medio básico.

[4] V. Prakash, R.K. Diwan, U.K. Niyogi. Characterization of synthetized copper oxide nanopowders and their use in nanofluids for enhancement of thermal conductivity. Indian Journal of Pure & Applied Physics 53 (2015) 753-758.

[5] Zohra Nazir Kayani, Maryam Umer, Saira Riaz, Shahzad Naseem. Characterization of Copper Oxide Nanoparticles Fabricated by the Sol–Gel Method. J. Electronic Materials, 44 (10), October 2015, 3704-3709.

[6] N. R. Dhineshbabu, V. Rajendran, N. Nithyavathy, R. Vetumperumal. Study of structural and optical properties of cupric oxide Nanoparticles. Appl Nanosci. 6 (2016) 933–939.

[7] S. Gandhi, R.H.H. Subramani, T. Ramakrishnan, A. Sivabalan, V. Dhanalakshmi, M.R.G. Nair MRG, R. Anbarasan. Ultrasound assisted one pot synthesis of nano-sized CuO and its nanocomposite with poly(vinyl alcohol). J Mater Sci 45 (2010) 1688–1694.

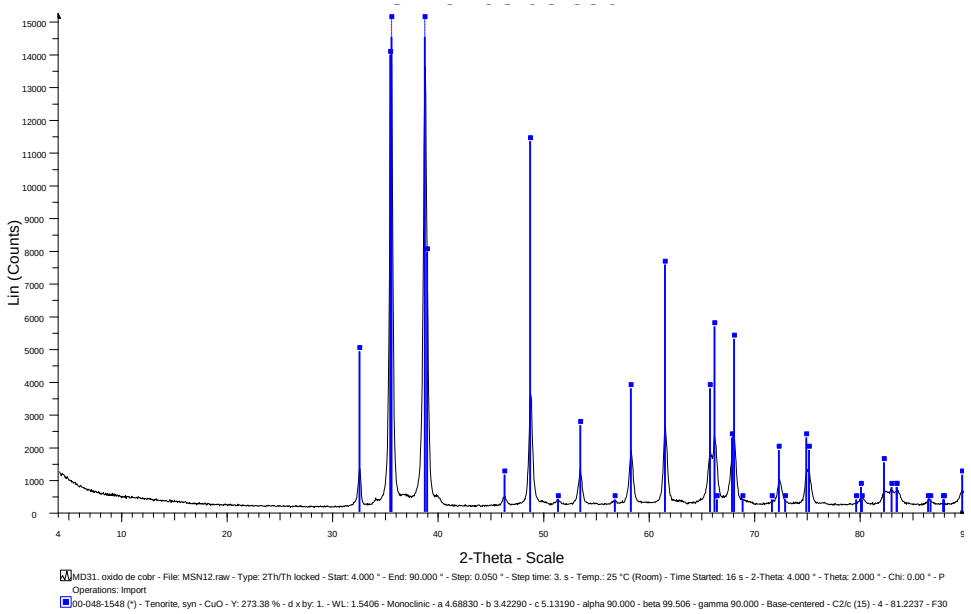


Figura 7. Difractograma del óxido de cobre obtenido a partir de cloruro de cobre en medio básico.

La Figura 8 el difractograma del óxido de cobre CuO obtenido por otros autores en bibliografía. Se puede observar con la comparación de ambas gráficas, que los picos obtenidos son similares, por lo que el óxido de cobre sintetizado se corresponde con CuO[5,8].

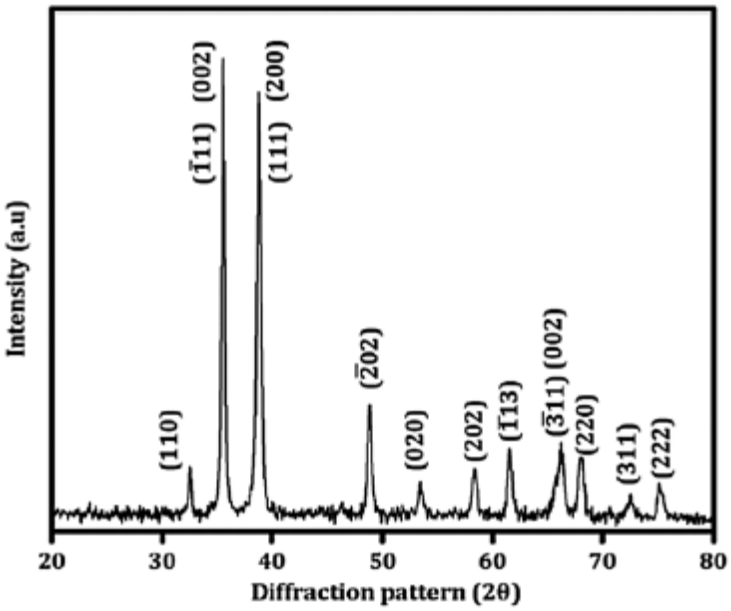


Figura 8. Difractograma del óxido de cobre CuO obtenido en bibliografía[6].

<u>Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de titanio en medio básico.</u>

[8] Amrut. S. Lanje, Satish J. Sharma, Ramchandara B. Pode, Raghumani S. Ningthoujam. Synthesis and optical characterization of copper oxide nanoparticles. Advances in Applied Science Research 1 (2) 2010, 36-40.

Para la síntesis de las partículas de óxido de titanio se ha partido de isopropóxido de titanio como precursor del titanio empleando para ello la metodología de sol-gel. Para la nanocapsulas de sílice se ha utilizado tetraetil ortosilicato (TEOS) como precursores del SiO_2.

Para ello, se ha preparado una disolución de isopropóxido de titanio en isopropanol, que se ha llevado en reflujo en temperatura ambiente. Posteriormente se procedió con la acidificación del medio añadido gota a gota acido clorhídrico y se ha dejado en agitación a temperatura constante durante 2 h. Como resultado de esta síntesis se formado una suspensión con sólido de color emblanquecido que se ha dejado secar en estufa a 40ºC durante 24 horas y posteriormente se calcinó a 500 ºC durante 1 h para sinterización y formación de anatasa como fase cristalina del TiO_2.

Para la caracterización de las nanopartículas de titanio (TiO_2) y de las nanocapsulas de sílice con nanoparticulas de titanio (TiO_2-SiO_2) se han utilizado metodología de espectroscopía infrarroja (método de transmisión con pastillas de KBr) para la determinación de los grupos químicos, y Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FESEM) para análisis de la morfología de las partículas.

En la figura 9 se observa un espectro infrarrojo de nanopartículas de titanio.

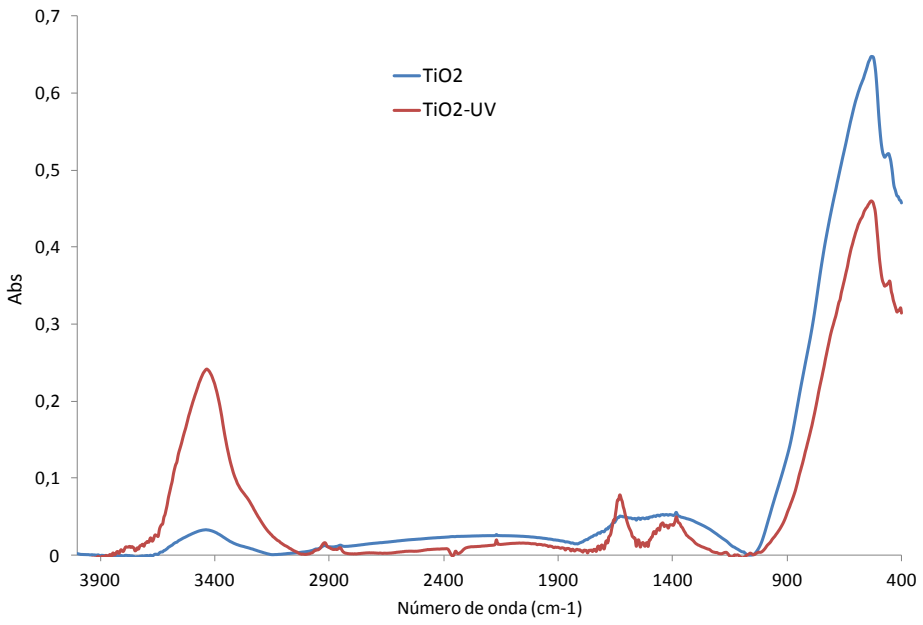


Figura 9. Espectro infrarrojo de nanopartículas de TiO_2 sin activar y activadas bajo radiación UV.

En el espectro infrarrojo de las nanopartículas de TiO_2 se observa la presencia de la banda típica de vibración del enlace Ti-O a 700-500 cm^{-1}, así como una pequeña banda debido a los grupos –OH a 3400 cm^{-1}. La activación de dichas nanopartículas bajo radiación UV produce algunas modificaciones en el espectro IR, con la presencia de bandas de grupos oxigenados C=O y C-OH a 1650 y 1450 cm^{-1} y el incremento de la intensidad relativa de la banda de grupos O-H a 3400 cm^{-1}.

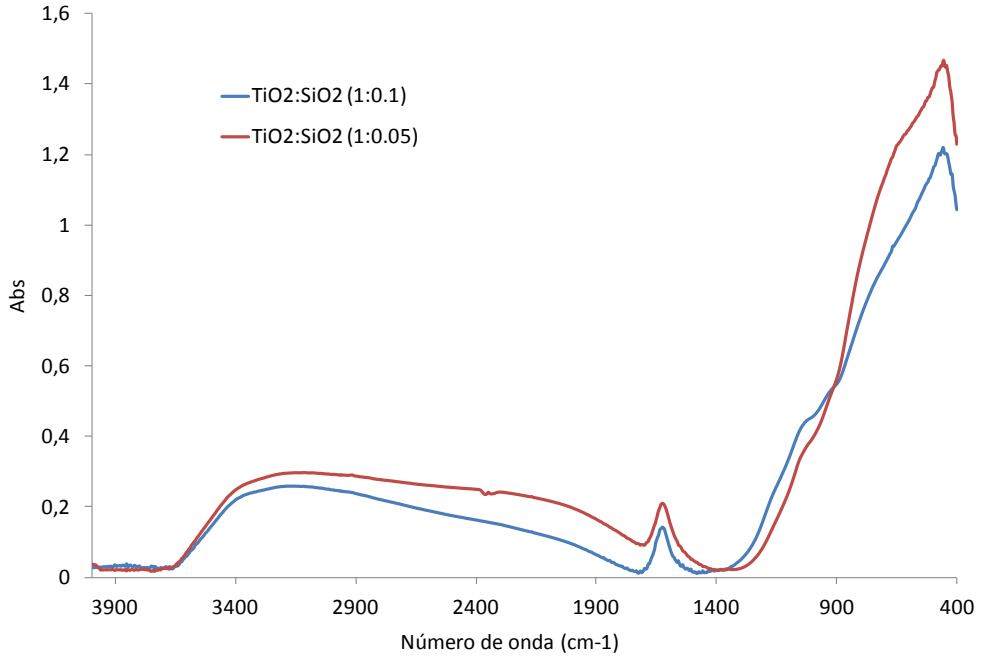


Figura 10. Espectro infrarrojo de nanopartículas de TiO_2-SiO_2 en proporción 1:0.1 y 1:0.05.

En la figura 10 se observa el espectro IR de las nanopartículas de TiO_2-SiO_2 muestran además de las bandas típicas de TiO_2 a 3450, 1650 y 500-700 cm^{-1}, la banda de SiO_2 a 1050 cm^{-1}, más marcada cuanto mayor es la proporción de SiO_2 utilizada (1:0.1).

Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata.

Para la síntesis de las partículas de óxido de plata se ha utilizado nitrato de plata ($AgNO_3$) como precursor de la plata, extracto de granada como agente reductor y polivinilpirrolidona (PVP) como agente estabilizante. Para ello, se ha preparado una disolución de nitrato de plata en agua (0.01 – 0.09 M) y PVP (0.1 – 0.3 gramos), donde posteriormente se ha añadido extracto de granada (0.5 – 2 ml) donde se ha procedido la agitación vigorosa en condiciones de temperatura ambiente durante 8 h. Como resultado de esta síntesis se formado una suspensión con sólido de color rojo. Finalmente el polvo obtenido se secó en estufa a 60ºC durante 4 h, a 200ºC durante 12 h y en mufla a 500ºC durante 1 h, obteniéndose un sólido de color rojo-marrón oscuro.

Para la caracterización de las nanopartículas de plata por Espectrometria de masas mediante plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) se requiere, en primer lugar, una digestión de las muestras por microondas.

Para pieles y polímeros, como textiles, se pesan entre 0.150 y 0.200 g, y se añade 4,5 mL de ácido nítrico. Dependiendo del tipo de muestra se utiliza uno de los dos sistemas de digestión siguientes:

Si es necesario la digestión completa del material inorgánico y se necesita la comprobación de la presencia de cualquier carga de tipo silícea se debe añadir entre 0 y 1 mL de peróxido de hidrógeno, entre 0 y 1 mL de ácido clorhídrico y entre 0,5 y 1,5 mL de ácido fluorhídrico, en el vaso de teflón (en campana extractora). En caso de no sea necesario digerir todo el material inorgánico se debe añadir entre 0 y 1 mL de peróxido de hidrógeno, entre 0 y 1 mL de ácido clorhídrico en el vaso de cuarzo o teflón.

Para evitar una sobrepresión, una vez añadidos los reactivos al vaso que contiene la muestra, se ha dejado el vaso abierto hasta que no se observara vapores ni burbujeo. Cuando no haya más indicios de burbujeo o vapores se ha procedido con la digestión en sistema cerrado

En el caso de las muestras de plástico (TPU con nanopartículas de plata) se ha añadido entre 0 y 1 mL de peróxido de hidrógeno, entre 0 y 1 mL de ácido clorhídrico, entre 1 y 5 ml de ácido nitrico y entre 0,5 y 1,5 mL de ácido fluorhídrico, en el vaso de teflón (en campana extractora). Posteriormente, una vez encajados los tapones en los vasos, se ha introducido cada vaso en su funda y se ha colocado en el rotor en su posición correspondiente. En seguida se introduce el rotor en el microondas y se carga el método necesario en función de la naturaleza de la muestra. El programa nominal de temperatura utilizado para cada muestra debe alcanzar al menos 200 ºC a los 20 minutos y permanecer, a al menos 200 ºC, mínimo 15 minutos más. Eventualmente, y también dependiendo del tipo de muestra se añadió ácido bórico para acomplejar el exceso y proteger la antorcha de cuarzo (7 mL de una disolución saturada de ácido bórico por cada ml de ácido fluorhídrico que se haya utilizado en el proceso de digestión en cada vaso de teflón). En seguida se someten los vasos a una potencia de 900 W manteniendo durante 15 minutos y se enfría en otros 15 minutos. Por último, una vez finalizada la digestión se lleva la disolución de cada tubo a un matraz aforado de plástico de 50 ml. Las muestras son entonces filtradas con filtros de nylon de 0,45 µm y se pasan a tubos de ensayo para su posterior análisis en el espectrofotómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP). La análisis de las muestras por ICP-MS fue realizada a una

longitud de onda de 328,068 nm que fue donde se ha observado presencia de pico bien definido de la plata. Para la determinación cuantitativa por ICP en las muestras de Ag filtradas se ha realizado un calibrado con distintas concentraciones de Ag. Se utiliza una suspensión madre de patrón de plata de 1000 ppm y se obtiene una disolución intermedia de 40 ppm. A partir de ella se hace el calibrado para la determinación de Ag en la muestra como se puede ver en la tabla abajo.

Tabla 1.Patrones de Ag

patrón	V. final(ml)	V. SI (ml)	con.(mg/l)
ICP 1	50	2,5	2,0039
ICP 2	50	1,2	0,9619
ICP 3	50	0,6	0,4809
ICP 4	50	0,3	0,2405
ICP 5	50	0,15	0,1202
ICP 6	50	0,06	0,0481
ICP 7	50	0,03	0,0240

En la figura 11 se puede observar la recta de calibración realizada.

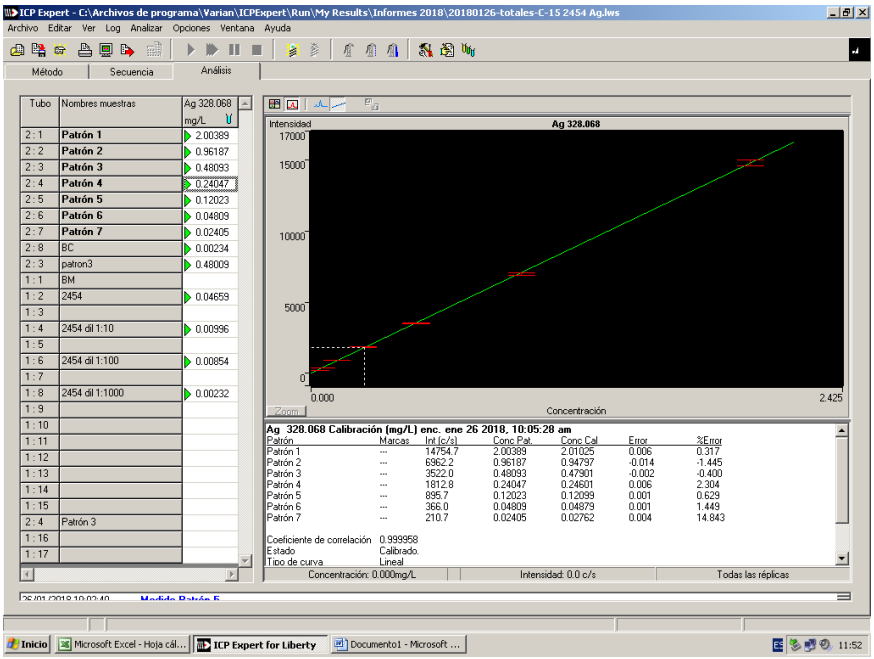


Figura 11. Recta de calibrado de patrones de ICP

Como se puede observa en la Figura 12 el calibrado realizado con los patrones de Ag se ajusta a una línea de tendencia de recta.

Una vez realizada la calibración, fueron realizadas los análisis por ICP de las diferentes muestras empleando el mismo procedimiento. Obteniéndose los siguientes gráficos:

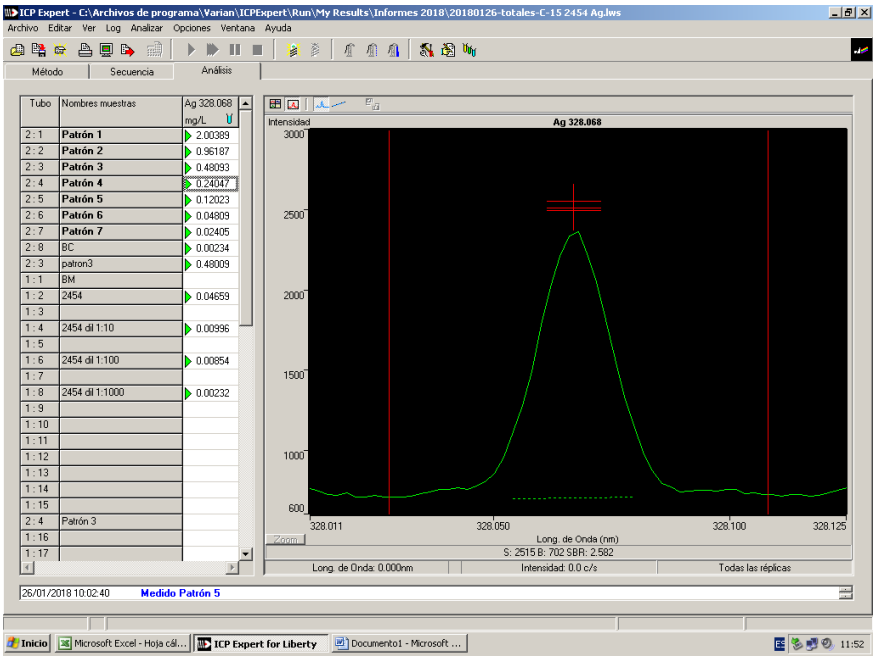


Figura 12. Gráfico de Ag a Λ= 328,068 nm

---

[1] Alvarado R, Solera F, Vega-Baudrit J. Síntesis sonoquímica de nanopartículas de óxido de zinc y plata estabilizadas con quitosano. Evaluación de su actividad antimicrobiana (2014). Revista Iberoamericana de Polimeros 15(3).

Síntesis y caracterización de nanopartículas de Zinc.

Se han preparado muestras de ZnO y de nanopartículas de ZnO-SiO_2. Como precursor de SiO_2 se ha utilizado tetraetilortosilicato (TEOS). Para ello, se han utilizado dos procedimientos diferentes: proceso sol-gel con acetato de zinc como precursor del ZnO y precipitación directa con nitrato de zinc como precursor. Finalmente se centrifuga y lava 2 veces. Calcinación a 500 º C, durante 1 h. Producto en polvo. Se han preparado en distintas relaciones molares del precursor ZnO:TEOS (ej. 1:0; 1:1; 1:2, etc.)

Para la caracterización de las nanopartículas de zinc se ha empletado la técnica de espectro por infrarrojo (IR). Como se observa en la figura el IR muestra las bandas de deformación típica del enlace Zn-O a 388 cm^{-1} (wurtzita hexagonal[9,10]) y de O-H a 3460 cm^{-1} (Figura 13). El pico a 1530 cm^{-1} puede corresponderse a flexión O-H y/o deformación Zn-O. Además, las bandas a 1630, 1531 y 1404 cm^{-1} se corresponden a deformación asimétrica y simétrica de carboxilato de zinc, como impurezas. El pico a 1395 cm^{-1} puede deberse a flexión en el plano de enlaces C-H y/o C-OH. La calcinación a mayores temperaturas podría haber transformado el carboxilato en ZnO.

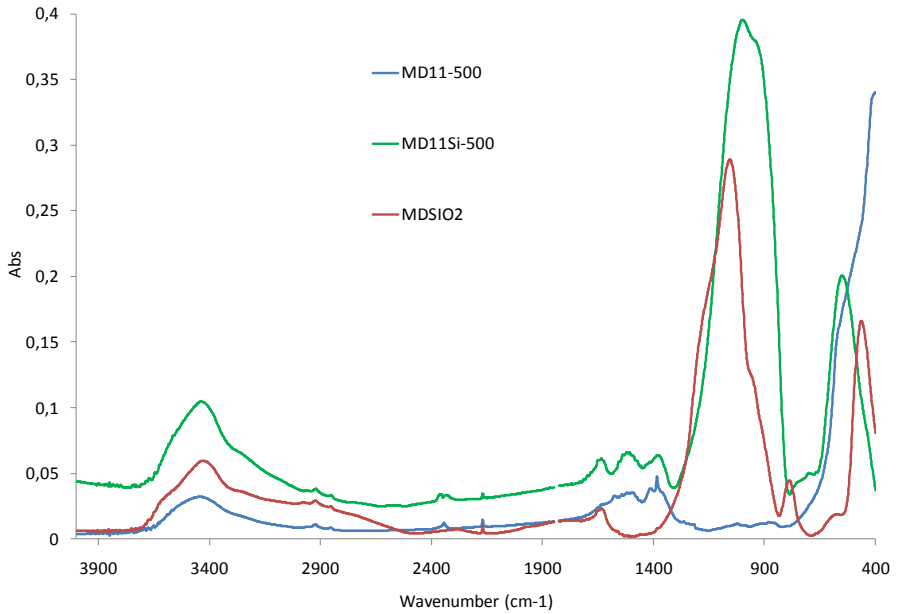


Figura 13. Espectros IR de las muestras de MD11 (ZnO) y de nanopartículas ZnO-SiO_2 con relación molar 1:1. Se incluye el espectro IR de SiO_2 para su comparación.

Por otro lado, el espectro IR de una síntesis con otro ratio de ZnO:TEOS muestra las bandas correspondientes al ZnO (1540, 1390 y 560 cm^{-1}) al igual que bandas debidas a SiO_2 (1650 y 1012 cm^{-1}). Sin embargo, el enlace Si-O que aparece a 1012 cm^{-1} se ha desplazado respecto a la banda de 1060 cm^{-1} de la muestra de SiO_2. De forma similar, la banda de Zn-O a 398 cm^{-1} en la muestra ZnO se ha desplazado a 560 cm^{-1} en la muestra MD11Si, que también puede incluir la

[9] M. Farbod, E. Jafarpoor. Hydrothermal synthesis of different colors and morphologies of ZnO nanostructures and comparison of their photocatalytic properties. Ceramics International 40 (2014) 6605–6610.

[10] A. Khorsand Zak, R. Razali, WH. Abd Majid, M. Darroudi. Synthesis and characterization of a narrow size distribution of zinc oxide nanoparticles. Int J Nanomedicine. 6 (2011) 1399-1403.

contribución de la banda Si-O. En la Figura 14 se incluyen los espectros IR de las nanopartículas sintetizadas de ZnO-SiO_2 con distintas relaciones molares.

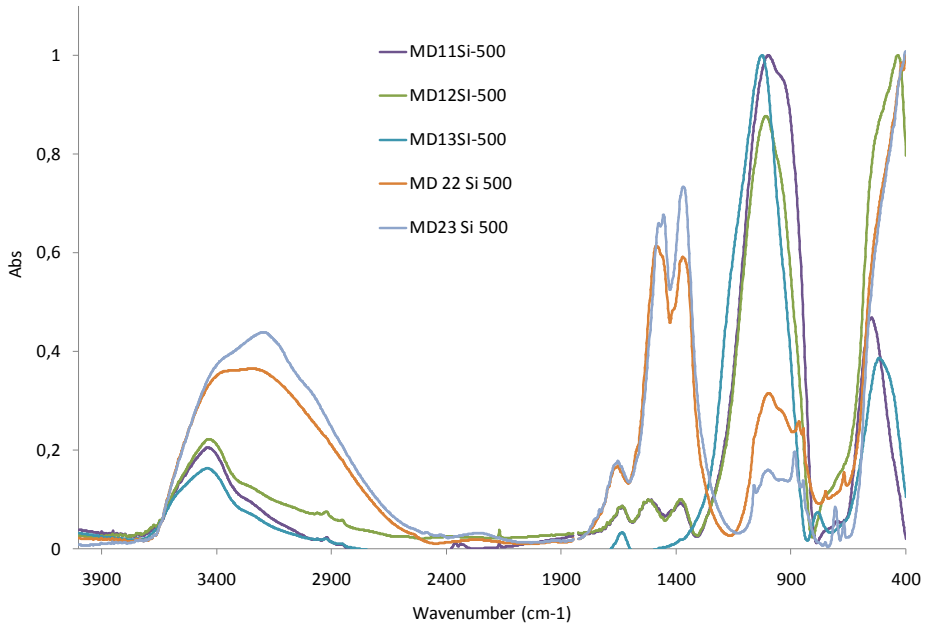


Figura 14. Espectros IR de las nanopartículas ZnO-SiO_2 con distinta relación molar.

La intensidad relativa de las bandas típicas de ZnO (560 cm^{-1}) y SiO_2 (1060 cm^{-1}) cambia según la cantidad de TEOS utilizada como precursor de SiO_2. Además, la banda a 1060 cm^{-1} puede ser contribución de la vibración del enlace Zn-O-Si. Es importante destacar que las ciertas síntesis con diferentes relacions de ZnO:TEOS muestran las bandas correspondientes al enlace Zn-O a 398 cm^{-1} (de forma similar a la muestra ZnO sin SiO_2) pero también bandas muy intensas a 1480 y 1375 cm^{-1}, que no son tan intensas en las muestras con mayor contenido de SiO_2, indicando que en este caso, las impurezas de residuos inorgánicos non han sido eliminadas. Estas bandas pueden corresponderse a flexión de enlaces C-H y/o Si-O, Zn-O a 1375 cm^{-1} y flexión C-O-H a 1480 cm^{-1}. Como indican varios autores en bibliografía, la posición y el desplazamiento de las bandas de deformación de los enlaces Zn-O en espectroscopia IR dependen de la morfología y la relación axial de las partículas de ZnO[11].

[11] K. Sowri Babu, A. Ramachandra Reddy, Ch. Sujatha, K. Venugopal Reddy, A. N. Mallika. Synthesis and optical characterization of porous ZnO. Journal of Advanced Ceramics, 2(3) (2013) 260–265.

Funcionalización de superficies (cuero, plástico y textiles): deposición mediante tecnología plasma e incorporación en masa a termoplásticos (TPU).

Se ha utilizado dos tipos de procedimientos para la funcionalización de los diferentes materiales: incorporación en masa y por plasma.

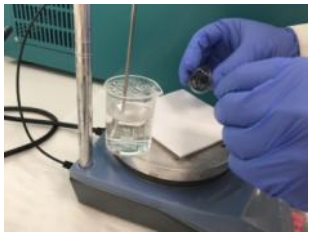
INCORPORACIÓN EN MASA

La incorporación en masa es una técnica utilizada para funcionalizar determinados materiales de uso en la industria del calzado a través de la mezcla de un compuesto que se quiera añadir a un TPU. En nuestro caso se ha utilizado nanopartículas metálicas mezcladas con termoplástico (TPU). Esta técnica permite una buena mezcla de las nanopartículas metálicas en el TPU donde gran parte de estos compuestos antimicrobianos quedan expuestos en la superficie del material y firmemente adherido lo que facilita el contacto con los microorganismos.

PROCEDIMIENTO:

Para la funcionalización de los termoplásticos se ha pesado una determinada cantidad de TPU y de nanopartículas metálicas a fin que al final de la funcionalización la concentración de nanopartículas en el TPU fuera de acuerdo a las necesidades de cada uno de los ensayos realizados en las subyacentes tareas.

En primer lugar sobre una plancha de teflón, depositada sobre una placa con temperatura entre 80 – 110ºC, se depositaba el termoplástico. Las nanopartículas eran depositadas ya mezcladas al termoplástico o introducidas a la mezcla, con ayuda de una pipeta de 1 ml, después de que este se fundiera. En seguida se procedía una mezcla manual mediante empleo de espátulas, hasta que la mezcla TPU-nanopartículas fuese lo más homogénea posible. Finalmente se retiraba la plancha de teflón del calor y se procedía a dar forma plana a la mezcla antes que la misma se endureciera nuevamente. A partir de estos TPU funcionalizados se realizaban los ensayos de citotoxicidad con células HaCat y ensayos antimicrobianos, tanto con bacterias como hongos (figura 15).



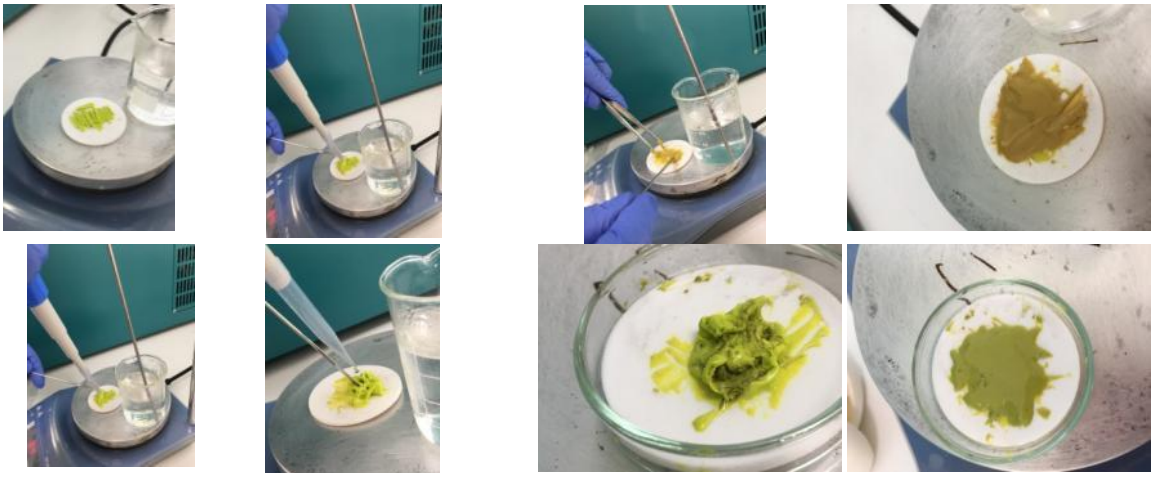


Figura 15. Funcionalizacion en masa de diferentes nanoparticulas metálicas en termoplásticos.

INCORPORACIÓN POR LA TECNOLOGÍA DE RECUBRIMIENTO POR PLASMA

La incorporación de nanopartículas metálicas por la tecnología de recubrimiento por plasma es poco utilizada en la industria del calzado pero con una larga utilización en otros sectores como por ejemplo la industria de automoción o de ordenadores. Su utilización en materiales y componentes del calzado puede ser de gran utilidad para viabilizar la inclusión de determinados compuestos, como las nanopartículas, sin afectar las propiedades del calzado, como por ejemplo, no alterando la coloración de los mismos, ya que el recubrimiento realizado por esta técnica es de orden nanométrica, lo que implica tambien en una reducción de costes en estos compuestos antimicrobianos.

PROCEDIMIENTO:

Para la funcionalización de los diferentes materiales de estudio con la tecnología de recubrimiento por plasma se ha realizado en primer lugar una limpieza de la superficie de las muestras empleando isopropanol y posteriormente se ha dejado a temperatura ambienta por un periodo de entre 20-40 minutos para que la eliminación de los residuos del isopropanol fuese completa.

Posteriormente, con las muestras limpias, se ha procedido la activación de la superficie de dichos materiales con el plasma. Para esta finalidad se empleado como gases de activación dos tipos de gases distintos, argón y oxígeno, a una potencia de 50% por un periodo de entre 5 - 10 minutos a fin de verificar cuales de los dos resulta ser el más apropiado para la activación. Al final de cada una de estos ensayos de activación se ha comprobado el ángulo de contacto de los gases en el material y se ha observado valores de <10 º y 45º, respectivamente para el oxígeno y argón. Los resultados obtenidos sugieren que el oxigeno, en este caso, es el gas más indicado para realizar la activación de las nanopartículas.

Para la deposición de recubrimientos con plasma las nanopartículas fueron primeramente diluidas en Hexamethyldisiloxane (HMDSO). Posteriormente, para mejorar la dispersión de las nanopartículas metálicas, cada una de las diferentes suspensiones, ha sido sonicada por una periodo de 10 minutos con pulsos de 1 minuto a 50%, para que al final fuera posible obtener una suspensión homogénea de cada una de las diferentes nanopartículas.

En siguiente paso fue introducción de las muestras de los materiales, ya cortadas con los tamaños adecuados para los ensayos biológicos, en el equipo de plasma para finalmente proceder con el recubrimiento con las diferentes nanopartículas metálicas, como se puede observar en las figuras 16. Para comprobar que la deposición del recubrimiento ha sido efectiva, se procedió con la medida de los ángulos de contacto en las muestras. Para que el recubrimiento sea considerado adecuado los ángulos de medida deben ser de la orden entre 90-100 º.

Figura 16. Procedimiento de funcionalización de diferentes materiales y componentes del calzado por tecnología de recubrimiento por plasma.