



universidad  
de león



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES**

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-  
QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE  
CIRCONIO PARA RETENER FÁRMACOS EN  
MEDIOS ACUOSOS**

**SYNTHESIS AND PHYSICAL-CHEMICAL  
CHARACTERIZATION OF ZIRCONIUM OXIDE  
NANOPARTICLES TO RETAIN DRUGS IN  
AQUEOUS MEDIA**

Autora: Paula Rodríguez Rodríguez

**GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**Julio, 2022**

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 NANOPARTÍCULAS .....	1
1.1.1 Historia, importancia y principales aplicaciones .....	1
1.1.2 Clasificación de las nanopartículas .....	2
1.1.3 Síntesis de nanomateriales .....	3
1.2 ANTIBIÓTICOS COMO CONTAMINANTES AMBIENTALES.....	5
1.3 JUSTIFICACIÓN .....	6
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>7</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>8</b>
3.1 INSTRUMENTACIÓN .....	8
3.1.1 Instrumentación Analítica .....	8
3.1.2 Aplicaciones de uso común en el laboratorio .....	9
3.2 METODOLOGÍA .....	9
3.2.1 Síntesis de nanopartículas .....	9
3.2.2 Caracterización de las nanopartículas .....	11
3.2.3 Estudios preliminares de detección de Sulfametoxazol.....	11
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>13</b>
4.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS.....	13
4.1.1 Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) .....	13
4.1.2 Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) con microanálisis de Energías Dispersivas de Rayos X (EDX).....	16
4.1.3 Difractómetro de rayos X (XRD) .....	18
4.1.4 Espectrometría Raman .....	20
4.1.5 Espectrometría FT-IR .....	22
4.2 ESTUDIOS PRELIMINARES DE RETENCIÓN DE SULFAMETOXAZOL	
24	
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>26</b>
<b>6. TRABAJOS FUTUROS</b> .....	<b>27</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>28</b>
<b>8. ANEXOS</b> .....	<b>31</b>

## RESUMEN

Uno de los mayores desafíos que se plantea en la actualidad es la necesidad de desarrollar nuevas metodologías de detección de contaminantes en medios acuáticos, para ello las nanopartículas de óxidos metálicos se postulan como una de las mejores alternativas gracias a sus propiedades físico-químicas únicas. En consecuencia, se ha desarrollado una metodología simple y eficiente de síntesis de nanopartículas de óxido de circonio ( $ZrO_2$ ) mediante precipitación de hidróxidos, en la cual, se ha evaluado tanto la concentración de precipitante ( $NH_3$ ) como el tratamiento térmico utilizado. El material resultante se ha caracterizado empleando cinco técnicas instrumentales: TEM, SEM-EDX, XRD, Raman y FTI-IR, y posteriormente, mediante la espectrofotometría UV-Vis, se ha estudiado preliminarmente su viabilidad en la determinación de SMX, al ser uno de los antibióticos más contaminantes del medio ambiente.

Los mejores resultados se obtuvieron de las muestras calcinadas a  $600\text{ }^\circ\text{C}$  a  $2\text{ M}$  de  $NH_3$ , al presentar nanopartículas más pequeñas y con distribuciones más uniformes que a otras temperaturas. En todas ellas, se identificaron fases cristalinas tanto *m-ZrO<sub>2</sub>* como *t-ZrO<sub>2</sub>* y, asimismo, se evidenciaron vibraciones de enlace características del  $ZrO_2$ . Pese a que sea necesario investigar en esta línea, los estudios preliminares de retención en función del pH mostraron resultados óptimos entorno a valores de pH 6.

**Palabras clave:** detección, medio ambiente, nanopartículas, óxido de circonio, síntesis y sulfametoxazol.

---

## ABSTRACT

One of the biggest challenges that is currently being considered is the need to develop new methodologies for detecting contaminants in aquatic environments, for this, metal oxide nanoparticles are postulated as one of the best alternatives based on their unique physical-chemical properties. Consequently, a simple and efficient methodology for synthesis of zirconium oxide ( $ZrO_2$ ) nanoparticles through the precipitation of hydroxides has been developed, in which the concentration of precipitant ( $NH_3$ ) and the thermal treatment have been evaluated. The resulting material has been characterized using five instrumental techniques: TEM, SEM-EDX, XRD, Raman and FT-IR, later, using UV-Vis spectrophotometry, its viability has been preliminarily studied in the determination of SMX, because it's one of the most polluting antibiotics in the environment.

The best results were obtained from samples calcined at  $600\text{ }^\circ\text{C}$  at  $2\text{ M}$  of  $NH_3$ , because they present smaller nanoparticles with more uniform distribution than at other temperatures. In all of them, *m-ZrO<sub>2</sub>* and *t-ZrO<sub>2</sub>* crystalline phases were identified and the characteristic binding vibrations of  $ZrO_2$  were observed. Although it's necessary to investigate in this line, the preliminary retention studies as a function of pH showed optimal results around pH values of 6.

**Keywords:** detection, environment, nanoparticles, synthesis, sulfamethoxazole and zirconium oxide.

## ABREVIATURAS

**a.C.** – Antes de Cristo

**cm<sup>-1</sup>** – Centímetro inverso

**°C** – Grado centígrados

**C** – Concentración

**C<sub>Máx</sub>** – Concentración en el límite superior de sobresaturación

**C<sub>Mín</sub>** – Concentración en el valor crítico

**C<sub>Sol</sub>** – Concentración a valores críticos de solubilidad

**CeNPs** – *Ceramic Nanoparticles* – nanopartículas cerámicas

**CEs** – Contaminantes Emergentes

**DPV** – Diferencial de Impulsos

**EDAR** – Estación Depuradora de Aguas Residuales

**EDX** – Energías Dispersivas de Rayos X

**eV** – Electronvoltio

**FT-IR** – *Fourier Transform Infrared* – Espectroscopía de Infrarrojos por Transformada de Fourier

**h** – Horas

**HPLC** – *High Pressure Liquid Chromatography* – Cromatografía Líquida de Alta Eficacia

**kV** – Kilovoltio

**L** – Litros

**M** – Molar

**μm** – Micrómetro

**μg** – Microgramo

**mg** – Miligramos

**mA** – Miliamperio

**mL** – Mililitro

**mm** – Milímetro

**min** – Minutos

**nA** – Nanoamperio

**nm** – Nanómetro

**nM** – Nanomolar

**ng** – Nanogramo

**NP** – Nanopartículas

**ppb** – Parte por billón

**ppm** – Parte por millón

**PS** – *Photosensitizers* – Fotosensibilizadores

**psi** – Pulgada cuadrada

**PVP** – Polivinilpirrolidona

**ROS** – *Reactive Oxygen Species* – Especies Reactivas de Oxígeno

**rpm** – Revolución por minuto

**SEM** – *Scanning Electron Microscopy* – Microscopio Electrónico de Barrido

**SMX** – Sulfametoxazol

**SWV** – *Square Wave Voltammetry* – Voltamperometría de Onda Cuadrada

**TEM** – *Transmission Electron Microscopy* – Microscopio Electrónico de Transmisión

**TNT** – Trinitrotolueno

**UPLC-MS/MS** – *Ultra Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometer* – Cromatografía Líquida de Ultraalta Eficacia acoplada a Espectrómetro de Masas

**UV-Vis** – *Ultraviolet Visible Spectrophotometer* – Espectrofotómetro Ultravioleta Visible

**XRD** – *X-ray Diffractometer* – Difracción de rayos X

# 1. INTRODUCCIÓN

A continuación, se procede a hablar sobre las nanopartículas, haciendo hincapié en el óxido de circonio ( $ZrO_2$ ) y en sus posibles aplicaciones, principalmente en aquellas centradas en la detección de fármacos.

## 1.1 NANOPARTÍCULAS

### 1.1.1 Historia, importancia y principales aplicaciones

Desde la famosa conferencia de Richard Feynman en 1959, “*There’s Plenty of Room at the Bottom*”, la nanociencia y la nanotecnología han experimentado un gran auge a nivel mundial, convirtiéndose en uno de los campos de conocimiento más importantes en la actualidad (Chattopadhyay and Banerjee, 2010). Sin embargo, y pese a lo que pueda parecer, su huella en la sociedad no es reciente ya que se conocen numerosos ejemplos de su utilización a lo largo de la historia. Este sería el caso del primer pigmento sintético del que se tiene constancia (siglo III a.C.), conocido como “azul egipcio”, mezcla de vidrio y cuarzo nanoscópicos, o las diversas tonalidades de las vidrieras medievales, resultado de suspensiones coloidales de oro y plata (Jeevanandam *et al.*, 2018).

Las nanopartículas (del griego “*nano*” referente a “*pequeño*”), a fin de ser diferenciadas de los niveles atómico y molecular (*Fig. 1*), hacen referencia a aquellas estructuras cuyas dimensiones se encuentran entre 1 y 100 nm (Ealias and Saravanakumar, 2017). La importancia de estos materiales radica en sus propiedades físico-químicas únicas y, derivado de ellas, en el amplio abanico de aplicaciones que suponen un notable beneficio a la sociedad. Entre estas propiedades, debidas fundamentalmente a su elevada relación superficie-volumen (determinada, a su vez, por su pequeño tamaño), destacan las ópticas, mecánicas, magnéticas y eléctricas (Lungu *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2019).

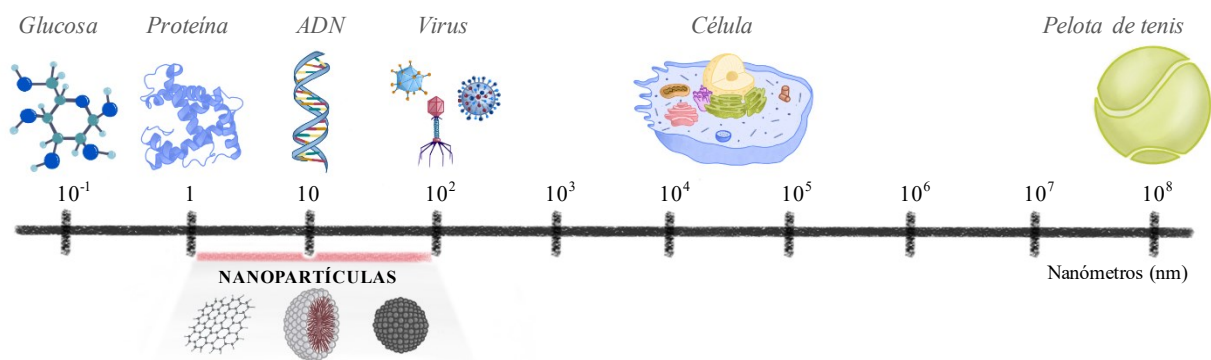


Figura 1. Escala comparativa de tamaños en nanómetros. Fuente: elaboración propia.

Por otro lado, dichas propiedades inusuales permiten desarrollar, en consecuencia, cuantiosos avances en un gran número de disciplinas. Entre ellas destacan la medicina, en la cual se han desarrollado metodologías de detección temprana de diferentes enfermedades, tales como el cáncer o el Alzheimer (Inbaraj and Chen, 2020), o la terapia fotodinámica, donde muestran resultados prometedores como fotosensibilizadores<sup>1</sup> en la eliminación de células enfermas (Bechet *et al.*, 2008); la informática, puesto que permiten optimizar las técnicas de análisis de datos y diseñar nuevos materiales tales como memorias de alta capacidad de almacenamiento y procesamiento (Seqqat *et al.*, 2019); o la ambiental, donde cabe hablar de tres aplicaciones principales (Khan *et al.*, 2019; Alagarsamy *et al.*, 2022):

- a) Procesos de mejora de la calidad del medio ambiente. Se han desarrollado tratamientos de aguas de abastecimiento y residuales, ya sea por retención o degradación de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos.
- b) Síntesis y aplicación de nanocompuestos de mínimo impacto ambiental, tales como las nanopartículas generadas a partir de metodologías de síntesis verde y los nuevos nanomateriales destinados a la transición a energías renovables.
- c) Diseño de metodologías de detección de contaminantes a concentraciones ultratraza, por ejemplo, la utilización de electrodos de pasta de carbono y nanopartículas de óxido de torio (ThO<sub>2</sub>) en la determinación de arsenito y arsénico inorgánico total a concentraciones de 0,1 µg/L mediante la voltamperometría de redisolución anódica<sup>2</sup> (Pereira, Díez, *et al.*, 2015).

### 1.1.2 Clasificación de las nanopartículas

Los nanomateriales se pueden clasificar en función de diferentes criterios, como son su tamaño, origen, morfología o composición química. En el presente Trabajo de Fin de Grado (TFG), se parte de este último criterio, que diferencia entre nanopartículas basadas en carbono, orgánicas e inorgánicas (Ealias and Saravanakumar, 2017).

---

<sup>1</sup> Los fotosensibilizadores son moléculas químicas que, mediante la absorción de fotones, generan la activación, ya sea química o física, de otras entidades de tipo molecular (Berg *et al.*, 2005).

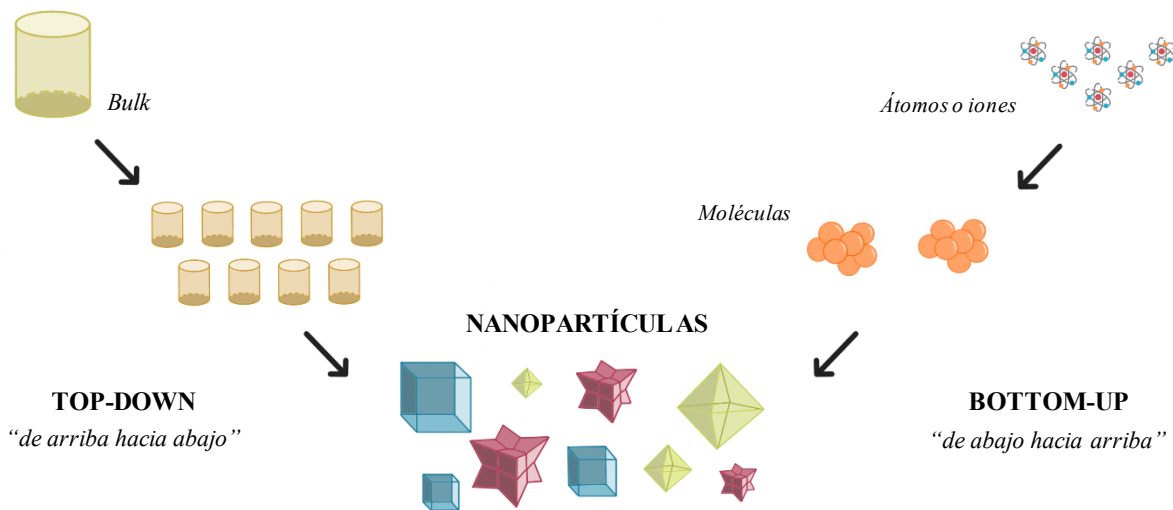
<sup>2</sup> La voltamperometría de redisolución, tanto anódica como catódica, es una técnica electroquímica muy sensible puesto que permite preconcentrar en el electrodo correspondiente el analito y determinarlo posteriormente por voltamperometrías de onda cuadrada (SWV) o diferencial de impulsos (DPV) (Pereira *et al.*, 2016).

De entre las tres categorías, son las inorgánicas las que poseen mayor relevancia al sintetizarse de manera más sencilla tanto a nivel de laboratorio como industrial (Altavilla and Ciliberto, 2011). Pese a que las nanopartículas inorgánicas más utilizadas son las metálicas, las basadas en óxidos metálicos constituyen una gran alternativa, puesto que son muy versátiles debido a sus características físico-químicas únicas, motivo por el cual han despertado gran interés desde la década de 1980 (Raghunath and Perumal, 2017; Malhorta and Ali, 2018).

Dentro de estos nanomateriales, merecen especial atención los basados en  $ZrO_2$  ( $ZrO_2$ -NP), debido, especialmente, a sus elevadas estabildades química, térmica y microbiana (Bhardwaj *et al.*, 2021; Imanova *et al.*, 2021). Además, poseen diversas estructuras cristalinas: monoclinica ( $m-ZrO_2$ ), estable a temperaturas inferiores a 1170 °C, tetragonal ( $t-ZrO_2$ ) entre 1170-2370 °C y cúbica ( $c-ZrO_2$ ) entre 2370 y 2715 °C (Castro *et al.*, 2005).

### 1.1.3 Síntesis de nanomateriales

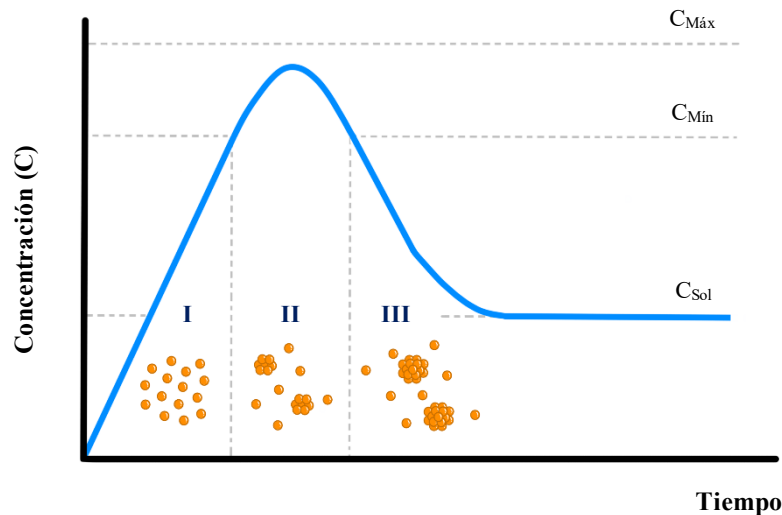
En nanociencia, uno de los mayores retos es la síntesis adecuada de los nanomateriales con el tamaño, forma y propiedades deseados. Para ello, existen dos enfoques, ilustrados en la *Figura 2*: (i) “de arriba hacia abajo” (*top-down*), que engloba metodologías de síntesis por la disgregación de materiales a mayor escala, y (ii) “de abajo hacia arriba” (*bottom-up*), en los que se parte de agrupaciones de átomos o moléculas para generar nanopartículas (Wais *et al.*, 2016).



*Figura 2. Diferencias entre el enfoque “top-down” y “bottom-up”. Fuente: elaboración propia.*

Las metodologías incluidas en el enfoque *bottom-up* permiten generar nanoestructuras más pequeñas, con distribuciones homogéneas de tamaños y con menos defectos (Gao, 2004) en función del Principio de Sobresaturación, descrito por LaMer y Dinegar en 1950. Dicho principio consta de tres etapas (*Fig. 3*) (Christian *et al.*, 2008):

- 1) Prenucleación. En la que la concentración del material crece exponencialmente hasta un valor crítico ( $C_{Min}$ ).
- 2) Nucleación. Se alcanza el límite superior de sobresaturación ( $C_{Máx}$ ) precipitando numerosos núcleos hasta el retorno al valor crítico inicial ( $C_{Min}$ ). Cuanto más extensa sea la nucleación, más núcleos se formarán y menos masa tendrá cada uno.
- 3) Precipitación y crecimiento hasta valores críticos de solubilidad ( $C_{Sol}$ ). Los núcleos crecen conforme a la maduración de Ostwald<sup>3</sup>.



*Figura 3. Esquemización del Principio de Sobresaturación de LaMer y Dinegar (1950). Fuente: elaboración propia.*

Las metodologías de síntesis de nanoestructuras inorgánicas más empleadas son en vía húmeda<sup>4</sup>, principalmente en base a su bajo coste y a la obtención de nanomateriales de menor tamaño. Dentro de ellas, la precipitación por hidróxidos se postula como el método más simple para preparar nanopartículas monodispersas de óxidos metálicos (Gao, 2004). Dichas metodologías se basan en agregar, a una disolución concentrada del catión metálico, una elevada cantidad de grupos  $\text{OH}^-$ , consiguiendo, en consecuencia, la precipitación del hidróxido correspondiente. Tras ello, se procede a centrifugarlas y, finalmente, secarlas y calcinarlas.

<sup>3</sup> La maduración de Ostwald es un proceso por el cual los núcleos de mayor tamaño crecen a expensas de los menores debido a que estos últimos tienen una mayor proporción de átomos superficiales, por lo que exponen una mayor proporción de átomos al disolvente, siendo más inestables en disolución (Christian et al., 2008).

<sup>4</sup> Las metodologías de síntesis por vía húmeda engloban todos aquellos métodos que precisan del empleo de disoluciones (Chaki et al., 2013).



## 1.2 ANTIBIÓTICOS COMO CONTAMINANTES AMBIENTALES

El continuo incremento de la población mundial conlleva un aumento tanto de la demanda como de la contaminación de las aguas, recurso indispensable para el ser humano y los ecosistemas (Sousa *et al.*, 2018). Por ello, uno de los retos más urgentes a los que se enfrenta la comunidad científica es garantizar un suministro adecuado y seguro.

Recientemente, numerosos estudios han reportado la contaminación de las aguas por contaminantes emergentes<sup>5</sup> (CEs) como motivo de gran preocupación (Malakootian *et al.*, 2019; Lu and Astruc, 2020). Dentro de los CEs se encuentran los antibióticos que, junto con los analgésicos y antipiréticos, son los principales fármacos contaminantes de los recursos hídricos (Dhiman and Sharma, 2019). Esto se debe a que, además de que su uso y gestión sean incorrectos, estos compuestos son difícilmente biodegradables, por lo que persisten largos periodos de tiempo en el medio ambiente, pudiendo incorporarse a la cadena alimentaria. Por tanto, el medio se está convirtiendo en un reservorio potencial tanto de antibióticos como de los patógenos resistentes a los mismos (Alduina, 2020).

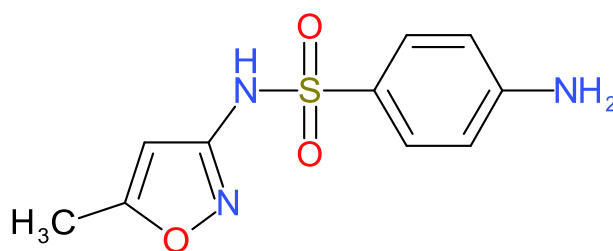
No obstante, la regulación nacional relativa a la contaminación de las aguas por estos CEs es escasa. Tal es así que no se incluye ningún antibiótico dentro del Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios (Ministerio de Sanidad, 2015), ni dentro del Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, donde se listan las sustancias prioritarias y preferentes en materia de calidad ambiental (Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, 2015).

Uno de los antibióticos más contaminantes para el medio ambiente es el sulfametoxazol (SMX) (Wang and Wang, 2018). Este fármaco, cuya estructura química se aprecia en la *Figura 4*, es el integrante de la familia de las sulfamidas más utilizado a nivel mundial, principalmente en el tratamiento de infecciones respiratorias humanas, así como en la ganadería y acuicultura. Recientemente ha sido incorporado dentro de las listas europeas de observación de sustancias a efectos de seguimiento en la Decisión de Ejecución (UE) 2020/1161 (Comisión Europea, 2020). Entre otros, son destacables los siguientes motivos de preocupación (Prasannamedha

---

<sup>5</sup> Los CEs son sustancias químicas (e incluso fenómenos físicos) de origen sintético o natural, orgánicos e inorgánicos, generalmente persistentes en el medio ambiente y cuyo descubrimiento o el conocimiento de sus consecuencias es reciente (Noguera-Oviedo and Aga, 2016).

and Kumar, 2020; Iftikhar *et al.*, 2022): (i) es resistente a los tratamientos convencionales llevados a cabo en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR); (ii) puede generar subproductos tóxicos a través de reacciones de transformación; y (iii) puede bioacumularse<sup>6</sup> en peces comestibles, como por ejemplo en la carpa común (*Cyprinus carpio*), en la cual, además de generar estrés oxidativo<sup>7</sup> a nivel cerebral y branquial, produce alteraciones en el hígado y en la morfología branquial.



*Figura 4. Estructura química del sulfametoxazol. Fuente: elaboración propia.*

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

De lo comentado anteriormente se desprende la necesidad de desarrollar nuevas metodologías de detección de contaminantes en medios acuáticos, postulándose las basadas en nanopartículas como muy eficientes gracias a su elevada superficie específica, que deriva en numerosos sitios disponibles de unión (Malhorta and Ali, 2018; Dhiman and Sharma, 2019). Es decir, sería interesante la aplicación del nanomaterial sintetizado como extractante en fase sólida de contaminantes ambientales para mejorar su determinación analítica posterior.

Investigaciones previas respaldan dicha eficiencia, mostrando mejoras notables en la detección de SMX como, por ejemplo, estudios basados en el óxido de grafeno presentan límites de detección (LOD) de 3,0 ng/L mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento (UHPLC-MS/MS) (Gao *et al.*, 2018) o de 1,0 nM en el caso de nanopartículas de óxido de níquel modificadas utilizadas como sensores electroquímicos (Salmanpour *et al.*, 2019). Asimismo, esta amplificación de la señal analítica permite determinar este antibiótico con técnicas menos

---

<sup>6</sup> La bioacumulación es un proceso por el cual un tóxico presente en el medio, orgánico o inorgánico, es absorbido y se almacena en el organismo (Yancheva *et al.*, 2015).

<sup>7</sup> El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre las fuerzas oxidativas y los antioxidantes, como consecuencia, se incrementan las especies reactivas de oxígeno (ROS), los cuales a su vez pueden interaccionar con otras moléculas, provocando su muerte celular (Yoshikawa and Naito, 2002).

sensibles, pero de amplia utilización en laboratorios de todo tipo, como la espectroscopía UV-Vis, ya sea empleando un espectrofotómetro o un detector acoplado a un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Presión (HPLC, *High Pressure Liquid Chromatography*).

Por ende, teniendo en cuenta la gran versatilidad que prestan las ZrO<sub>2</sub>-NP, se procede a probar su eficacia en la determinación de SMX. Para ello, se parte de la metodología de adsorción<sup>8</sup>, método más utilizado en estudios de aplicación ambiental en base a su gran eficiencia, sencillez y bajo coste sin generar potenciales contaminantes secundarios (Dhiman and Sharma, 2019; Lu and Astruc, 2020).

## 2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente estudio es **desarrollar una metodología, basada en la precipitación de hidróxidos, simple y eficiente de síntesis de nanopartículas de ZrO<sub>2</sub> con aplicación futura a la detección sensible de sulfametoxazol**. Con el propósito de alcanzar este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- 1) Estudiar el efecto de la concentración de precipitante y la temperatura del tratamiento térmico sobre la síntesis de nanopartículas de ZrO<sub>2</sub>.
- 2) Caracterizar morfológica, estructural y espectroscópicamente el material resultante mediante diversas técnicas analíticas.
- 3) Probar la eficacia de las nanopartículas en la adsorción de sulfametoxazol con la pretensión futura de optimizar su detección en medios acuosos.

---

<sup>8</sup> Fenómeno por el cual se transfieren moléculas o iones de una disolución a una superficie sólida, quedando retenidas en ella por interacciones físicas (fisisorción) o químicas (quimisorción) (Crawford and Quinn, 2017).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 INSTRUMENTACIÓN

A continuación, se detalla la instrumentación analítica (*Tabla 1 y Anexo 1*) y el material de uso común del laboratorio (*Tabla 2*) que han sido utilizados para desarrollar este TFG.

##### 3.1.1 Instrumentación Analítica

*Tabla 1. Descripción de los diferentes equipos analíticos utilizados. Fuente: elaboración propia.*

TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS	
Técnica analítica	Especificaciones del equipo y condiciones de uso
<b>Microscopía electrónica de transmisión (TEM)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Modelo:</b> “JEOL, GATAN – 1010”</li> <li>* <b>Voltaje de operación:</b> 90 kV</li> <li>* <b>Cámara:</b> Gatan CCD de 1k x 1k (MegaScan modelo 794)</li> <li>* <b>Muestras:</b> en rejilla de cobre y recubierta de carbono</li> </ul>
<b>Microscopía electrónica de barrido (SEM) con espectrometría por energías dispersivas de rayos X (EDX)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Modelo:</b> “JEOL, JSM – 6480 LV”</li> <li>* <b>Voltaje de aceleración:</b> 20 kV</li> <li>* <b>Distancia de trabajo:</b> 10 mm</li> <li>* <b>Corrientes:</b> de electrones a 5 nA y del filamento a 300 mA</li> <li>* <b>Muestras:</b> en base de paladio sobre un adhesivo de grafito</li> </ul>
<b>Difractometría de rayos X (XRD)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Modelo:</b> “PANalytical X-Pert Pro”</li> <li>* <b>Radio del goniómetro:</b> 240 mm</li> <li>* <b>Intervalo de escaneo:</b> 10° - 60°</li> </ul>
<b>Espectrometría Raman</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Modelo:</b> “BW-TEK i-Raman”</li> <li>* <b>Láser:</b> longitud de onda de 785 nm / potencia del 100 % (excepto fluorescencia)</li> <li>* <b>Resolución espectral:</b> 4 cm<sup>-1</sup></li> <li>* <b>Tiempo de adquisición:</b> de 10 a 60 segundos</li> <li>* <b>Número de espectros:</b> más de 10</li> <li>* <b>Región de estudio:</b> de 150 a 3300 cm<sup>-1</sup></li> </ul>
<b>Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) con reflectancia total atenuada (ATR)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Modelo:</b> “JASCO FT/IR 4700”</li> <li>* <b>ATR:</b> diamante monoclinico</li> <li>* <b>Resolución espectral:</b> 4 cm<sup>-1</sup></li> <li>* <b>Media de barridos:</b> 100 barridos/espectro</li> <li>* <b>Región de estudio:</b> 400 a 4000 cm<sup>-1</sup></li> </ul>
<b>Espectrofotometría de absorción ultravioleta visible (UV-Vis)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Modelo:</b> “PG T92+”</li> <li>* <b>Sistema óptico:</b> de doble haz</li> <li>* <b>Resolución espectral:</b> 2 nm</li> </ul>

### 3.1.2 Aplicaciones de uso común en el laboratorio

Como instrumentación de uso común de laboratorio se utilizó el material que se especifica en la *Tabla 2*.

*Tabla 2. Instrumentación y material de uso común en el laboratorio. Fuente: elaboración propia.*

INSTRUMENTACIÓN Y MATERIAL DE USO COMÚN	
Instrumentación de uso común	Modelo
Agitadores magnéticos	<i>H03D – Lbx instruments</i>
Balanza semi-microanalítica	<i>Mettler AE 240</i>
Centrífuga	<i>Allegra 21R Centrifuge</i>
Horno eléctrico	<i>Emison MOD.-E02</i>
Mufla	<i>Heraeus D-6450 Hanau</i>
pH-metro	<i>Crison micropH 2000</i>
Sonicador	<i>Brasonic modelo B-5</i>
Material de uso común	

- Buretas
- Matracas aforados
- Matracas Erlenmeyer
- Probetas
- Pipetas
- Vasos de precipitados
- Vidrios de reloj
- Micropipetas
- Jeringas
- Filtros de jeringa (0,45  $\mu\text{m}$  de poro)
- Tubos de centrifuga
- Mortero de ágata

## 3.2 METODOLOGÍA

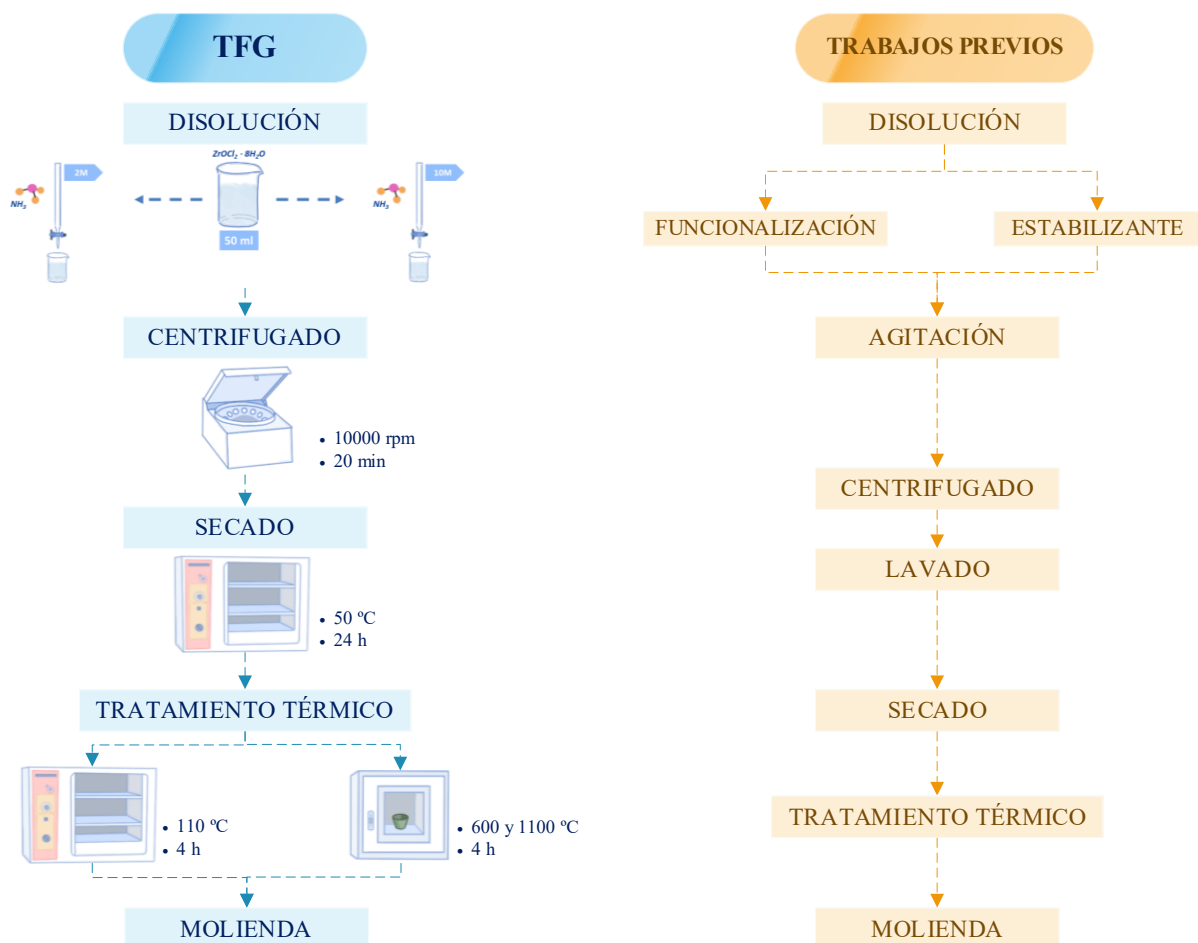
### 3.2.1 Síntesis de nanopartículas

Tal y como se comentó con anterioridad, las nanoestructuras se prepararon en base a una metodología de precipitación de hidróxidos a partir de un precursor inorgánico a fin de simplificar, en la medida de lo posible, los procedimientos de preparación convencionales. Es necesario tener en cuenta que se han realizado tres réplicas del procedimiento a diferentes tratamientos térmicos a fin de hacer un análisis comparativo. A continuación, se describen los pasos a seguir:

- 1) Se disolvió la masa requerida de la sal precursora, cloruro de circonilo ( $\text{ZrOCl}_2$ ), en un volumen determinado de agua desionizada. Se enrasó en el matraz aforado para obtener una disolución 0,2 M de  $\text{Zr}^{4+}$ .

- 2) A 25 mL de esta disolución se le añadieron 5 mL de una disolución de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) 2 M o 10 M. Para ello, se procedió en condiciones de constante agitación y a una temperatura de 37 °C. A medida que aumentaba el pH, comenzó a generarse  $\text{Zr}(\text{OH})_4$ , precipitando en forma de sólido blanco.
- 3) Las suspensiones se centrifugaron a 10000 rpm durante 20 minutos.
- 4) Seguidamente, se secó el precipitado en estufa durante 24 horas a 50 °C.
- 5) Se trataron térmicamente los precipitados a 110, 600 o 1100 °C durante 4 horas.
- 6) Por último, se molieron los materiales preparados mediante un mortero de ágata para obtener un polvo nanoparticulado.

Cabe destacar que en la mayoría de estudios, además de precisar de estabilizantes para reducir el crecimiento de los núcleos, es necesario efectuar varios lavados sucesivos (Siddiqui and Chaudhry, 2019; Horti *et al.*, 2020) con su consecuente centrifugado, mientras que, en este TFG, no se han realizado partiendo de la premisa de que el  $\text{NH}_3$  utilizado como precipitante es volátil, reduciéndose la carga de trabajo considerablemente.



*Figura 5. Metodología de síntesis de nanopartículas llevada a cabo en el TFG frente a la realizada en trabajos previos. Fuente: elaboración propia.*

### 3.2.2 Caracterización de las nanopartículas

Posteriormente, cada una de las réplicas se caracterizó morfológica, estructural y espectroscópicamente (*Tabla 3*) mediante el empleo de cinco técnicas analíticas.

*Tabla 3. Información resultante de las técnicas analíticas de caracterización. Fuente: elaboración propia.*

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ESTRUCTURAL	
Técnica analítica	Información resultante
TEM	<ul style="list-style-type: none"><li>* Distribución promedio de tamaños de las nanopartículas (nm)</li><li>* Morfologías características</li><li>* Tamaños de las nanopartículas (nm)</li></ul>
SEM	<ul style="list-style-type: none"><li>* Composición química elemental</li><li>* Pureza de las nanopartículas</li></ul>

CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA	
Técnica analítica	Información resultante
XRD	<ul style="list-style-type: none"><li>* Fases cristalinas: <i>m-ZrO<sub>2</sub></i>, <i>t-ZrO<sub>2</sub></i> y/o <i>c-ZrO<sub>2</sub></i></li><li>* Tamaño de cristalito</li></ul>
Raman	<ul style="list-style-type: none"><li>* Enlaces característicos</li><li>* Interacciones moleculares</li><li>* Fases cristalinas: <i>m-ZrO<sub>2</sub></i>, <i>t-ZrO<sub>2</sub></i> y/o <i>c-ZrO<sub>2</sub></i></li></ul>
FT-IR	<ul style="list-style-type: none"><li>* Enlaces característicos</li><li>* Interacciones moleculares</li></ul>

### 3.2.3 Estudios preliminares de detección de Sulfametoxazol

Como última etapa del trabajo, se evaluó la viabilidad de las nanopartículas sintetizadas para detectar SMX y, así, aplicarlas como extractantes de este antibiótico.

En primer lugar, se estudió la aplicabilidad de las nanopartículas sintetizadas en función del pH, fijando el resto de variables: 0,5 ppm de SMX, 25 mg de nanopartículas en 50 mL de disolución, temperatura ambiente y, tiempo de contacto entre el antibiótico y las NP de 1 h en constante agitación. Por consiguiente, se siguen los pasos reflejados en la *Figura 6* para los tres tipos de nanopartículas sintetizadas (tratadas térmicamente a 110, 600 y 1100 °C):

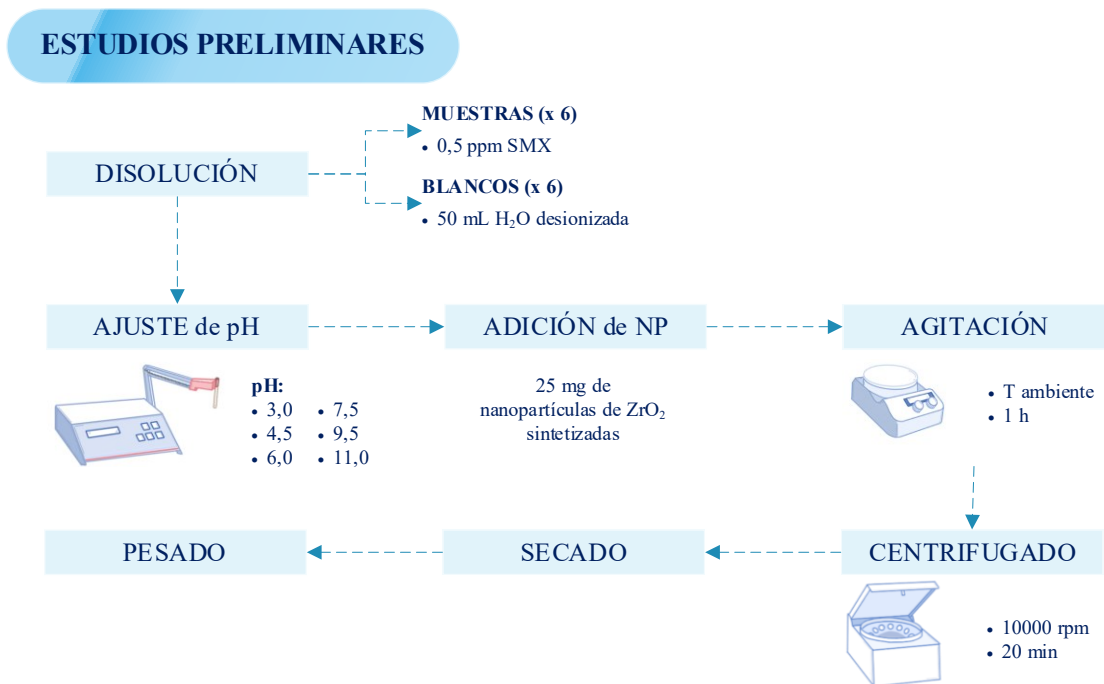
- 1) Se prepararon seis disoluciones de SMX de concentración 0,5 ppm con sus consecuentes blancos (seis disoluciones de 50 mL de agua desionizada). Todas ellas se ajustaron a seis pH diferentes: 3,0; 4,5; 6,0; 7,5; 9,5 y 11,0 mediante disoluciones de hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl).

- 2) Seguidamente, a cada disolución resultante, se le añadieron 25 mg de nanopartículas sintetizadas y se agitaron de forma constante durante 1 hora a temperatura ambiente.
- 3) Una vez finalizada la agitación, se centrifugaron a 10000 rpm durante 20 minutos, recogiendo el sobrenadante de cada muestra.
- 4) Finalmente, se sometieron a un proceso de secado a durante 24 horas a 40 °C y se pesó el material resultante.

La concentración de SMX en los sobrenadantes, es decir, la concentración no retenida de SMX, se midió con el espectrofotómetro UV-Vis, previa preparación de una recta de calibrado. Para ello, se obtuvo el espectro UV-Vis del SMX y se seleccionaron las longitudes de onda de máxima absorción (196 y 260 nm).

En última instancia, con el fin de conocer la cantidad adsorbida, se desorbió el SMX de las nanopartículas previamente secadas. Dicho proceso cuenta con las siguientes etapas:

- 1) Tanto a los blancos como a las nanoestructuras con SMX adsorbido se les añadieron 3 mL de una disolución 1 M de HCl y se procedió a agitarlos de manera constante durante 1 hora a temperatura ambiente.
- 2) Se extrajeron 1,5 mL de cada muestra empleando jeringas y filtros de jeringa.
- 3) Por último, se analizaron, previo calibrado, mediante el espectrofotómetro UV-Vis.



*Figura 6. Metodología llevada a cabo en los estudios preliminares de síntesis. Fuente: elaboración propia.*



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS

Seguidamente, se exponen los resultados derivados de la caracterización morfológica, estructural y química de las nanopartículas sintetizadas en base a las cinco técnicas analíticas anteriormente descritas.

#### 4.1.1 Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)

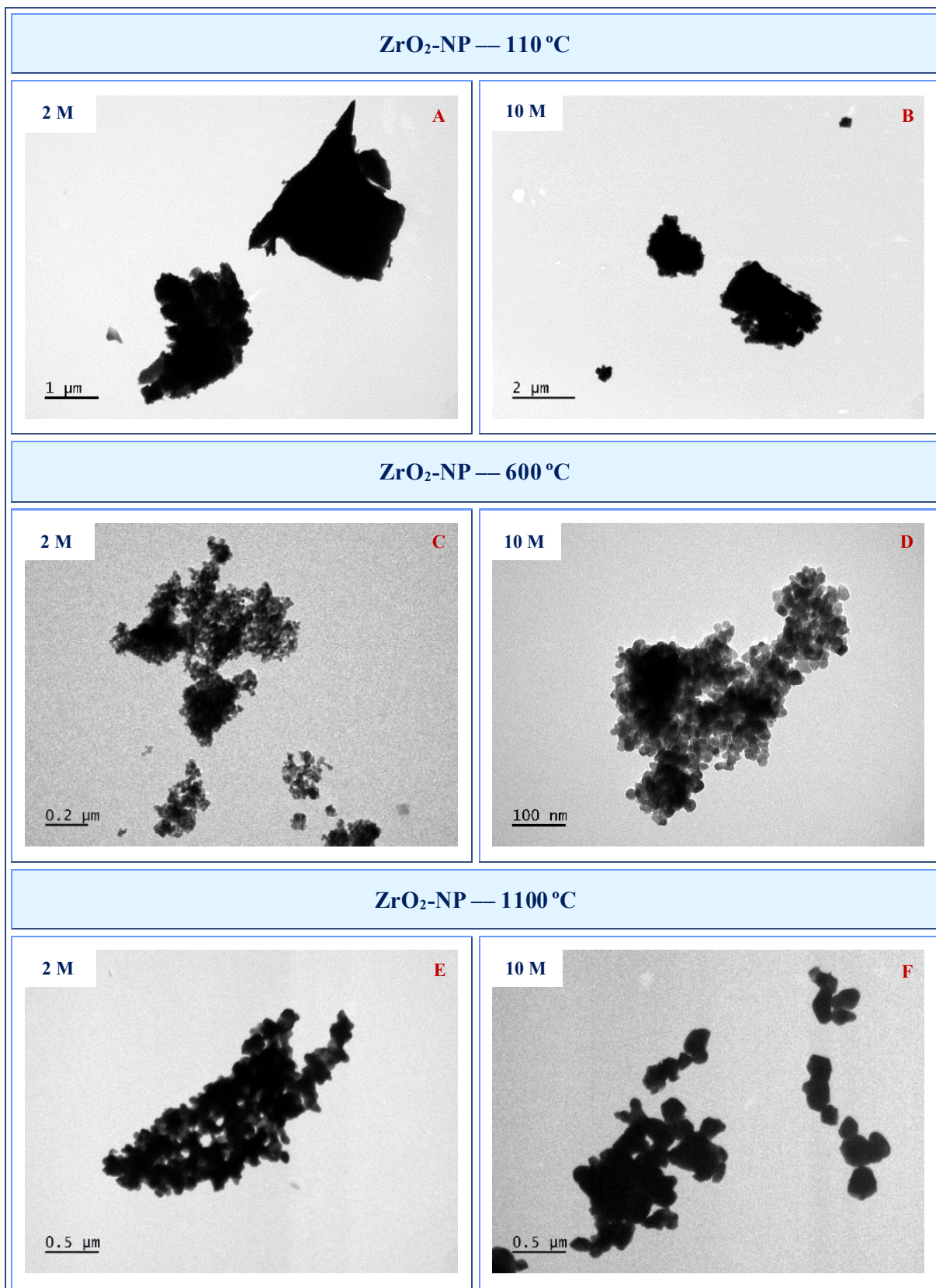
Mediante la utilización del TEM se generan micrografías del material sintetizado, de las cuales se puede extraer información relativa al tamaño promedio, a la distribución de tamaños y a la morfología característica de las nanoestructuras.

En la *Figura 7.A* y *7.B* se observan las muestras tratadas térmicamente a 110 °C. Se pone de manifiesto que las partículas difieren significativamente en tamaño y forma, resultando una distribución muy heterogénea de tamaños, sin importar la concentración de NH<sub>3</sub>. Asimismo, no se aprecia que dichas partículas estén formadas por nanoestructuras agregadas. Estos resultados apuntan a que la calcinación es necesaria para formar nanomateriales.

Por el contrario, de las muestras calcinadas a 600 (*Fig. 7.C* y *7.D*) y 1100 °C (*Fig. 7.E* y *7.F*), se obtuvieron nanopartículas generalmente monodispersas con tendencia a la esfericidad. Además, se puede deducir que, a mayor temperatura (1100 °C), ha tenido lugar un proceso de sinterización<sup>9</sup> que se pone de manifiesto debido a que, en las partículas aglomeradas, no se observan límites entre las nanopartículas. Estos materiales sinterizados presentan notables propiedades mecánicas, por lo que su estudio resulta interesante de cara a diferentes aplicaciones (Koparde and Cummings, 2005).

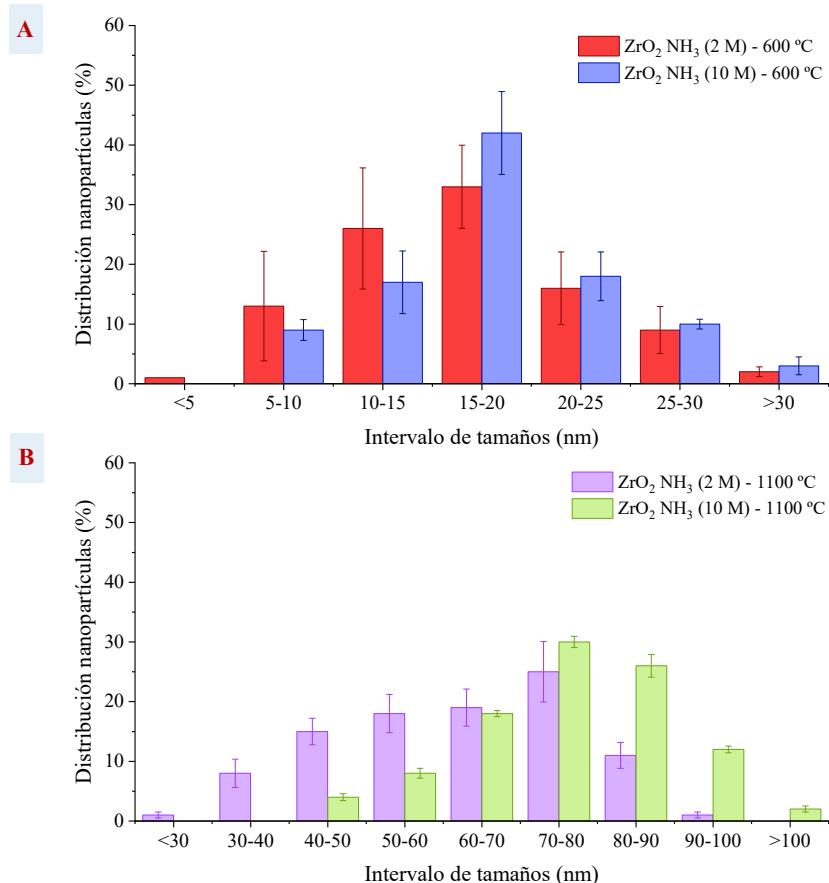
---

<sup>9</sup> La sinterización es un proceso térmico por el cual partículas finas e individualizadas se convierten en una masa coherente y sólida mediante la aplicación de calor y/o presión hasta alcanzar el punto de fusión (Lu and Ishiyama, 2015).



*Figura 7. Micrografías TEM de las nanopartículas tratadas a 110 °C, a (A) 2 y (B) 10 M de NH<sub>3</sub>; a 600 °C, a (C) 2 y (D) 10 M de NH<sub>3</sub>; a 1100 °C, a (E) 2 y (F) 10 M de NH<sub>3</sub>. Fuente: elaboración propia.*

En lo que respecta al tamaño, los mejores resultados corresponden a las nanopartículas sintetizadas a 600 °C, ya que presentan una distribución de tamaños más estrecha, comprendida principalmente entre los 5 y 25 nm (*Fig. 8.A*). En cambio, en el caso de las sometidas a mayor temperatura, a 1100 °C, la distribución es menos uniforme, abarcando tamaños que oscilan entre los 30 y los 100 nm (*Fig. 8.B*). Cabe destacar que, para ambas temperaturas se aprecian pequeñas diferencias en función de la concentración de NH<sub>3</sub> al obtenerse menores distribuciones de tamaños a 2 M que a 10 M.



**Figura 8.** Distribución de tamaños de las nanopartículas calcinadas a (A) 600 y (B) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.

Finalmente, cabría pensar que, en la búsqueda de un procedimiento más sencillo donde no se han realizado lavados ni se han utilizado estabilizantes, se obtuviera un nanomaterial de mayor tamaño con distribuciones poco uniformes. Sin embargo, los resultados han sido satisfactorios, por lo que se demuestra que es posible sintetizar nanopartículas cerámicas precipitando los hidróxidos metálicos sin estabilizante orgánico. Aunque previamente se hayan realizado procedimientos semejantes para otros óxidos, como es el caso del óxido de zinc (ZnO) (Srivastava *et al.*, 2013), es importante recalcar que apenas existe bibliografía previa que parta del ZrO<sub>2</sub> y de la cual se obtengan resultados significativos (Petrunin *et al.*, 2004).

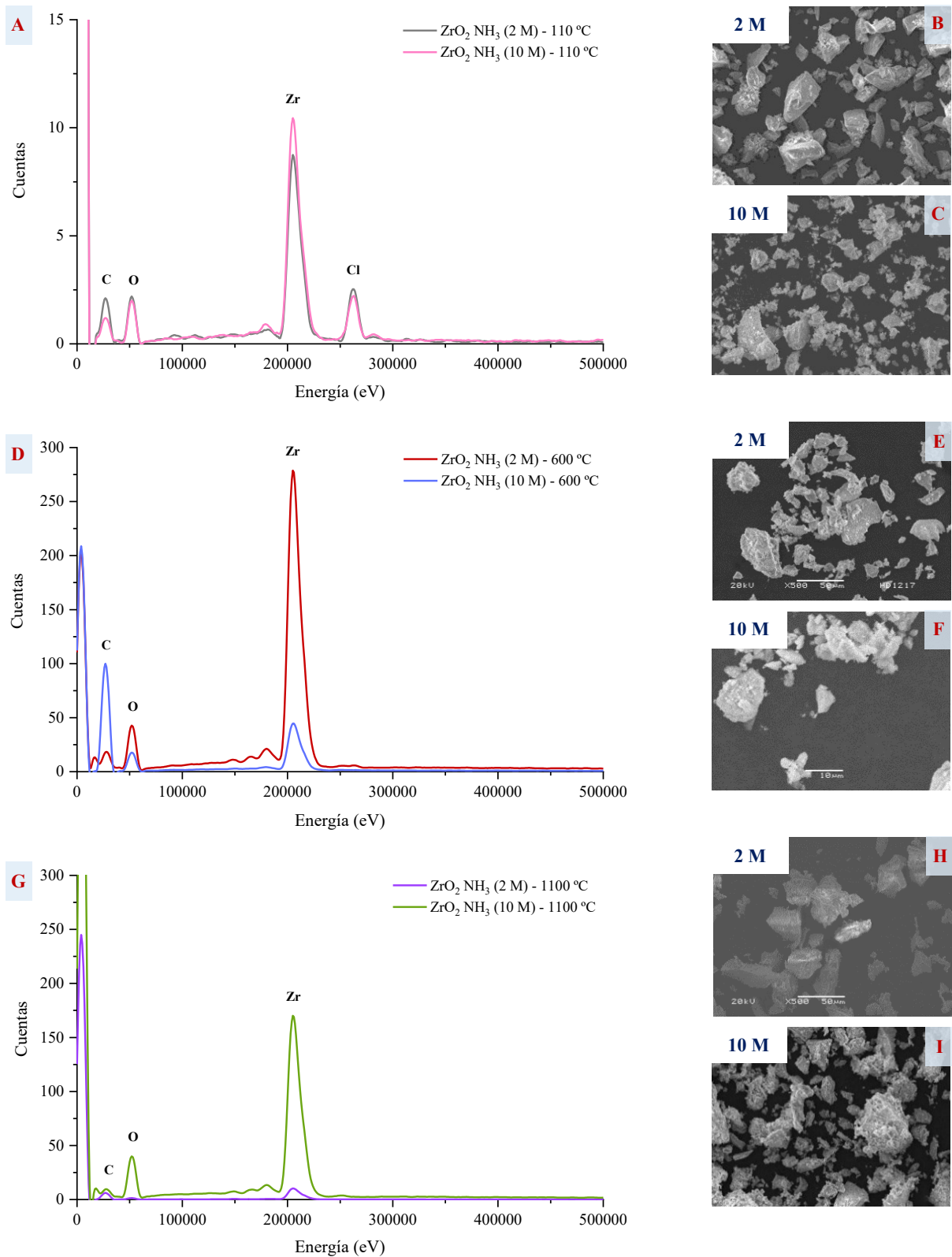
#### 4.1.2 Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) con microanálisis de Energías Dispersivas de Rayos X (EDX)

A diferencia del TEM, el SEM permite caracterizar la estructura externa de las muestras y, además, gracias a estar asociado a un detector de Energías Dispersivas de Rayos X (EDX), se puede conocer su composición elemental de forma simultánea.

En la *Figura 9.A*, correspondiente al espectro de las muestras tratadas a 110 °C, se observa la presencia de circonio (Zr) y oxígeno (O) correspondiente a las propias nanopartículas, de carbono (C) debido al adhesivo utilizado para fijar las muestras, y de cloro (Cl) debido a la ausencia de un tratamiento térmico a elevadas temperaturas. Asimismo, en las *Figuras 9.B* y *9.C* se pone de manifiesto una elevada heterogeneidad tanto en el tamaño como en la forma de los conglomerados de nanopartículas, corroborando lo observado en TEM.

Seguidamente, de los espectros de las nanopartículas sintetizadas a 600 (*Fig. 9.D*) y a 1100 °C (*Fig. 9.G*), se puede deducir que el tratamiento térmico ha sido efectivo en la eliminación del Cl, sin precisar de lavados durante el procedimiento de síntesis. Además, de forma semejante al TEM, se observan nanopartículas pequeñas con distribuciones homogéneas tanto en las micrografías a 600 (*Fig. 9.E* y *9.F*) como a 1100 °C (*Fig. 9.H* y *9.I*).

Cabe destacar que, en todas las muestras, se denota la ausencia de nitrógeno (N) procedente del NH<sub>3</sub> (compuesto utilizado como disolvente en el proceso de síntesis). Como la técnica EDX no es sensible al N (Gazulla *et al.*, 2013), estos resultados deben ser contrastados con otras técnicas analíticas, como las espectrometrías Raman y FT-IR, por lo que, se podría confirmar que el tratamiento térmico, incluso a bajas temperaturas (110 °C), fue suficiente para su eliminación sin la necesidad de realizar lavados sucesivos. Por ende, se puede deducir que el método utilizado es más simple y menos costoso en cuanto a tiempo y esfuerzo.



**Figura 9.** Espectros ED-XRS de las nanopartículas sintetizadas a (A) 110, (D) 600 y (G) 1100 °C. Micrografías correspondientes a (B) 2 y (C) 10 M de NH<sub>3</sub> para 110 °C; (E) 2 y (F) 10 M de NH<sub>3</sub> para 600 °C; (H) 2 y (I) 10 M de NH<sub>3</sub> para 1100 °C. Fuente: elaboración propia.

### 4.1.3 Difractómetro de rayos X (XRD)

Por medio del análisis de los difractogramas de rayos X y la correspondencia de los picos obtenidos con fuentes previas, se obtiene información relativa a la estructura cristalina característica de cada muestra.

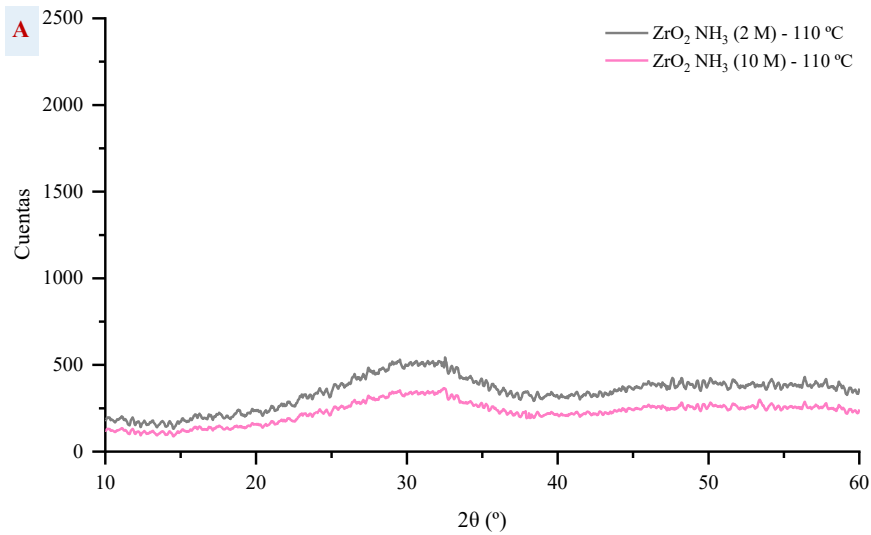
En la *Figura 10.A*, donde se muestran los difractogramas de las muestras sometidas a 110 °C, se identifica una única banda ancha entre los 25° y 37°, tanto para 2 como para 10 M de NH<sub>3</sub>, lo cual permite intuir una estructura amorfa (Verma *et al.*, 2013; Horti *et al.*, 2020).

Derivado del difractograma de las nanopartículas calcinadas a 600 °C (*Fig.10.B*), se pone de manifiesto, para ambas concentraciones de NH<sub>3</sub> (2 y 10 M), la obtención de un nanomaterial compuesto por una mezcla de fases, tanto *m-ZrO<sub>2</sub>* como *t-ZrO<sub>2</sub>*. Dos de los picos más intensos, 28,42° y 31,65°, son característicos de la fase *m-ZrO<sub>2</sub>* (Horti *et al.*, 2020), estable a temperaturas inferiores de 1170 °C, sin embargo, también es notoria la presencia de picos a 30,45° y 50,39°, correspondientes a la fase *t-ZrO<sub>2</sub>* (Verma *et al.*, 2013; Pereira, Díez, *et al.*, 2015).

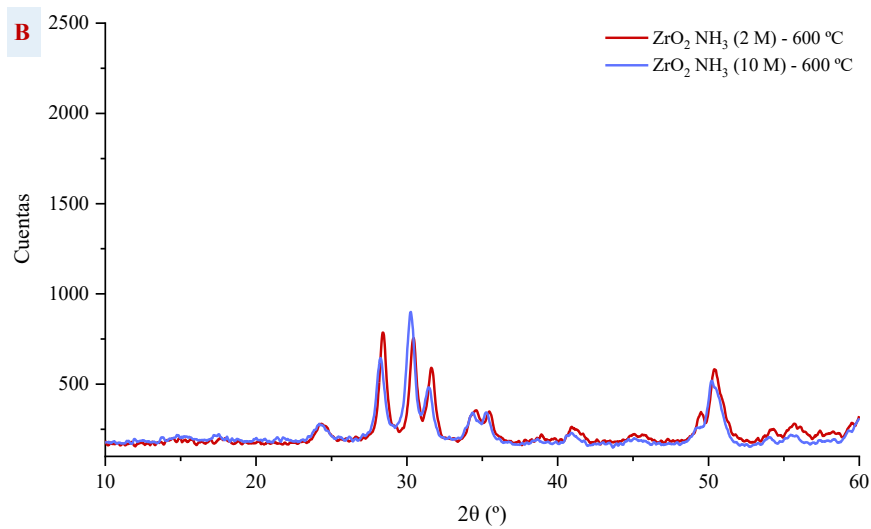
La presencia de la fase tetragonal a 600 °C, temperatura inferior a su temperatura mínima de cristalización en dicha fase (1170 °C), puede deberse a que el tamaño nanométrico estabiliza las fases de alta temperatura de ZrO<sub>2</sub>, como se ha reportado en estudios previos (Petrunin *et al.*, 2004). De hecho, en trabajos previos de nuestro laboratorio, se sintetizaron nanomateriales de *t-ZrO<sub>2</sub>* puros empleando estabilizante orgánico (1,2-etanodiol) (Pereira, Díez, *et al.*, 2015) y calcinando a 600 °C, a diferencia de la mezcla de fases monoclinica y tetragonal obtenida en este TFG.

Por el contrario, tal y como se puede comprobar en la *Figura 10.C*, en aquellas calcinadas a 1100 °C, igualmente para ambas concentraciones de NH<sub>3</sub>, únicamente se percibe la presencia de la fase *m-ZrO<sub>2</sub>*, visible en los picos a 17,53°, 24,18°, 31,54°, 40,90°, 49,38° y 55,44°, entre otros, (*Anexo 2*) (Verma *et al.*, 2013; Basahel *et al.*, 2015; Pereira, Díez, *et al.*, 2015).

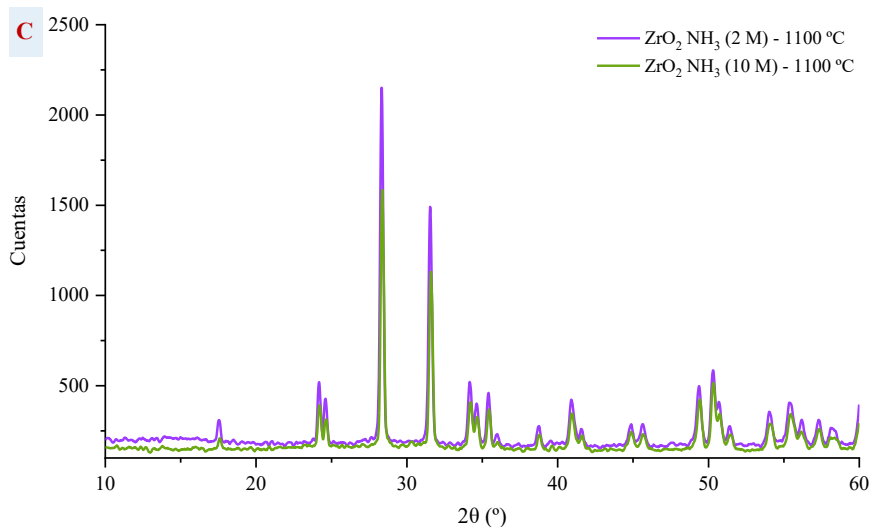
Además de identificarse las fases cristalinas, la anchura de los picos de difracción está relacionada con el tamaño de los cristalitos: cuanto más anchos son los picos, menor tamaño (Yogamalar *et al.*, 2009). Como se puede apreciar, los picos son más anchos para las nanopartículas calcinadas a 600 °C, refrendando los resultados observados por TEM.



NP	Picos (°)	Fase
2 M y 10 M	25 a 37	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i> / <i>t-ZrO<sub>2</sub></i>



NP	Picos (°)	Fase
2 M y 10 M	28,42 31,65	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>
	30,45 50,39	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>



NP	Picos (°)	Fase
2 M y 10 M	17,53 24,18 31,54 40,90 49,38 55,44	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>

**Figura 10.** Difractogramas y principales asignaciones de picos XRD de las nanopartículas sintetizadas a 2 y a 10 M de NH<sub>3</sub> y tratadas a (A) 110, (B) 600 y (C) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.

#### 4.1.4 Espectrometría Raman

A pesar de que, al igual que la XRD, aporta información sobre la cristalización, la función principal de la espectrometría Raman es la identificación de enlaces, comparando las señales obtenidas con la bibliografía preexistente.

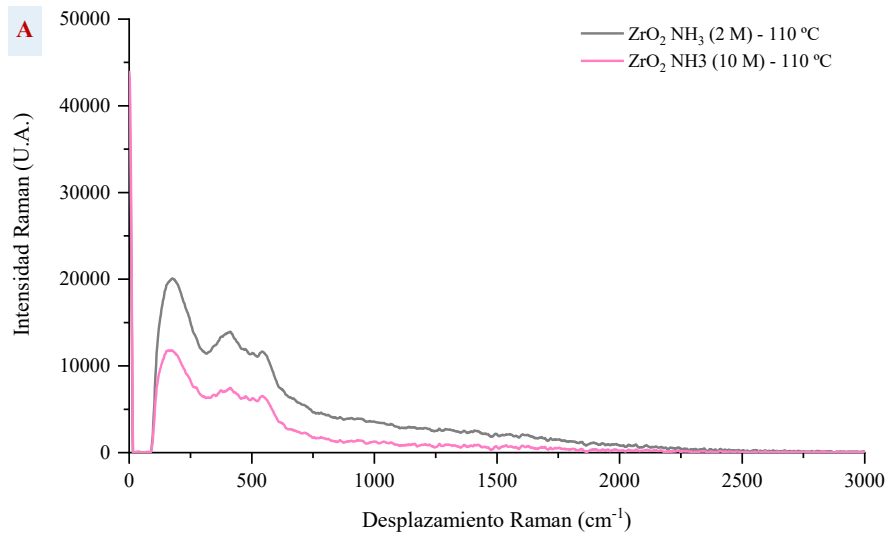
En la *Figura 11.A* se representa el espectro Raman de las muestras sometidas a 110 °C. La gran anchura de las bandas Raman indica una falta de estructura cristalina ordenada, como se comprobó con XRD. Además, se encuentran presentes ambas fases cristalinas al ponerse de manifiesto las dos en la región entre 350 y 480  $\text{cm}^{-1}$ , e identificarse tanto el pico a 176  $\text{cm}^{-1}$  como la región entre 500 y 560  $\text{cm}^{-1}$  como señales exclusivas de la *m-ZrO<sub>2</sub>* (Barberis *et al.*, 1997), no obstante, el pico a 176  $\text{cm}^{-1}$  también puede ser asignado a la vibración de enlace del Zr-Zr (Kumari *et al.*, 2009). Por otro lado, cabe resaltar que tanto la primera como la tercera bandas pueden tener participación de cloruros (Hayez *et al.*, 2005), claramente reflejados en EDX.

Por otro lado, en las *Figuras 11.B y 11.C* se observan los espectros de las muestras calcinadas. De forma similar que en XRD, para las nanopartículas sometidas a 600 °C (*Fig. 11.B*) se da una mezcla de fases cristalinas para ambas concentraciones de NH<sub>3</sub>, lo cual puede observarse en los picos a 185, 385 y 560  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a la fase *m-ZrO<sub>2</sub>*, así como, a 150, 269, 339, 476 y 642  $\text{cm}^{-1}$  debidos a la fase *t-ZrO<sub>2</sub>* (Castro *et al.*, 2005; Yi *et al.*, 2021). Por el contrario, en aquellas tratadas a mayor temperatura, a 1100 °C (*Fig. 11.C*), los principales picos encontrados (183, 222, 305, 382, 562, 618, 642 y 758  $\text{cm}^{-1}$ ) evidencian la presencia única de la fase *m-ZrO<sub>2</sub>* (Barberis *et al.*, 1997; Basahel *et al.*, 2015). En lo que respecta a los enlaces, para ambos tipos de muestras calcinadas se pueden identificar las vibraciones de enlace correspondiente al Zr-Zr, Zr-O y O-O (*Anexo 3*).

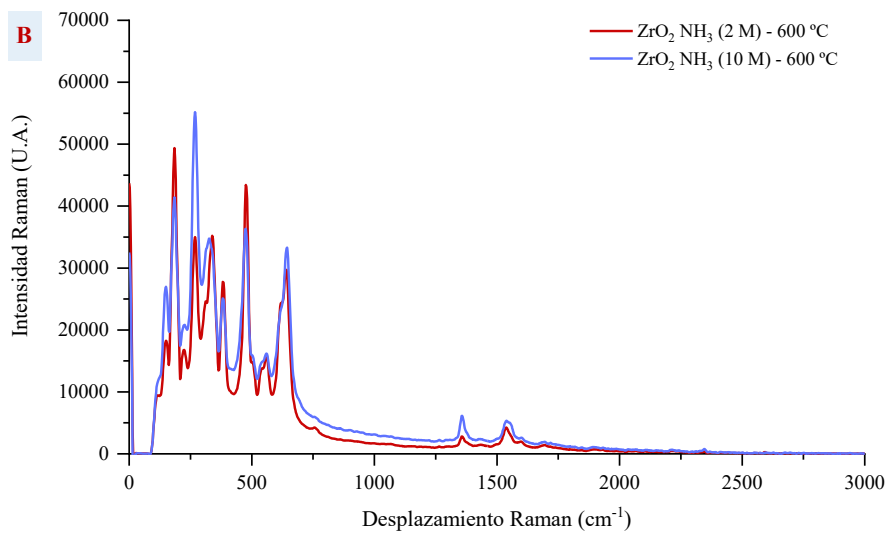
Como punto más relevante, y de forma contraria a lo obtenido en el resto de técnicas, los espectros Raman tanto a 600 (*Fig. 11.B*) como a 1100 °C (*Fig. 11.C*) evidencian en el pico a 1538  $\text{cm}^{-1}$  la presencia de nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), lo que demuestra la necesidad de lavar el nanomaterial a fin de perfeccionar la metodología de síntesis.

Es preciso aclarar que, para los dos espectros (*Fig. 11.B y 11.C*), únicamente se detallan en las gráficas contiguas aquellos picos más representativos de cada fase, el resto de asignaciones se reflejan en el *Anexo 3*.

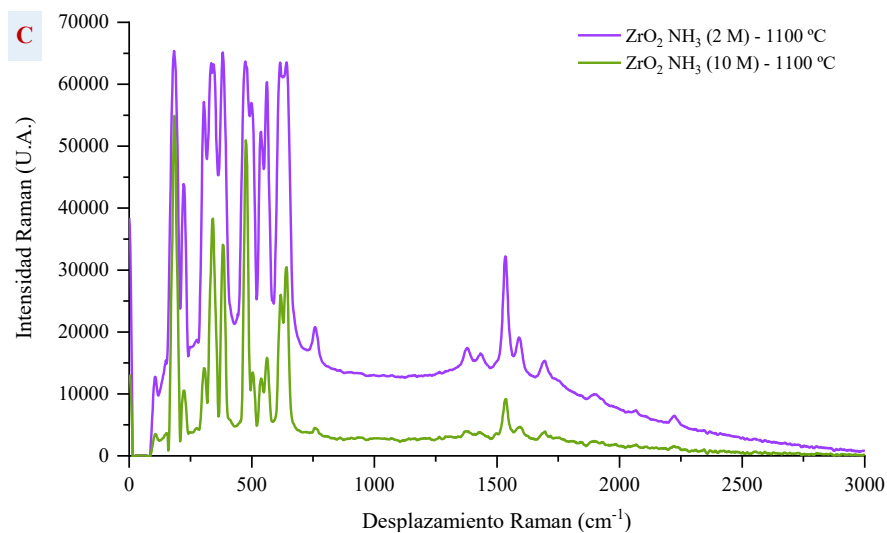




NP	Picos ( $cm^{-1}$ )	Fase
2 M y 10 M	176	$m-ZrO_2$
	350 a 480	$m-ZrO_2$ / $t-ZrO_2$
	500 a 560	$m-ZrO_2$



NP	Picos ( $cm^{-1}$ )	Fase
2 M y 10 M	185 385 560	$m-ZrO_2$
	150 269 339 476 642	$t-ZrO_2$
	1358	$\delta OH$
	1538	$NO_3^-$



NP	Picos ( $cm^{-1}$ )	Fase
2 M y 10 M	183 222 305 382 562 618 640 758	$m-ZrO_2$
	1538	$NO_3^-$
	1696	$H_2O$

**Figura 11.** Espectros Raman de las nanopartículas sintetizadas tanto a 2 como a 10 M de  $NH_3$  y tratadas a (A) 110, (B) 600 y (C) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.

#### 4.1.5 Espectrometría FT-IR

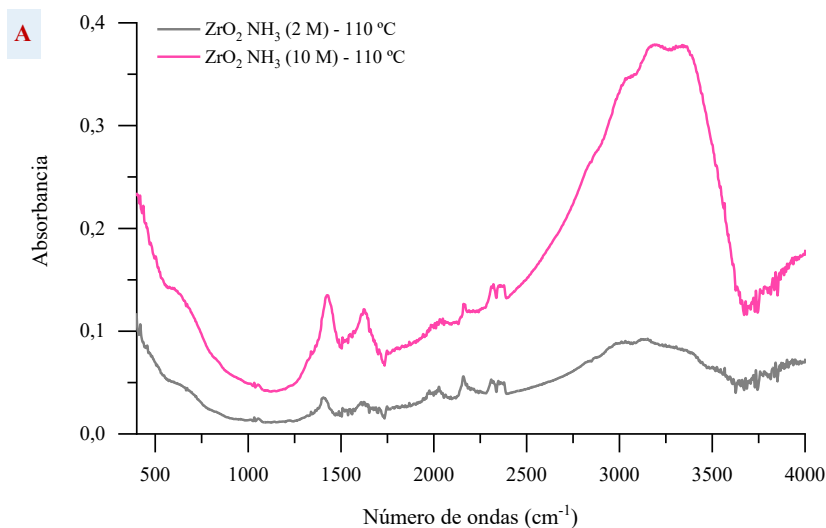
Como último paso de la caracterización, se realizó un estudio mediante la espectrometría FT-IR a fin de complementar los resultados obtenidos en Raman, para lo cual también se precisa comprobar bibliografía previa.

En la *Figura 12* se representan los espectros obtenidos para las tres muestras. Para los tres casos, a ambas concentraciones de  $\text{NH}_3$ , destacan las bandas en torno a los  $600$  y  $730\text{ cm}^{-1}$ , las cuales hacen referencia a la vibración de enlace característica del Zr-O-Zr (Kumaresan *et al.*, 2018) y del Zr-O (Pereira, Díez, *et al.*, 2015), respectivamente. Asimismo, se identifican las regiones entre  $2000$  y  $2400\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a la vibración de tensión del enlace Zr-OH (Horti *et al.*, 2020) y entre de  $2750$  a  $3100\text{ cm}^{-1}$ , comúnmente asignada al grupo  $-\text{OH}$  (Kumaresan *et al.*, 2018).

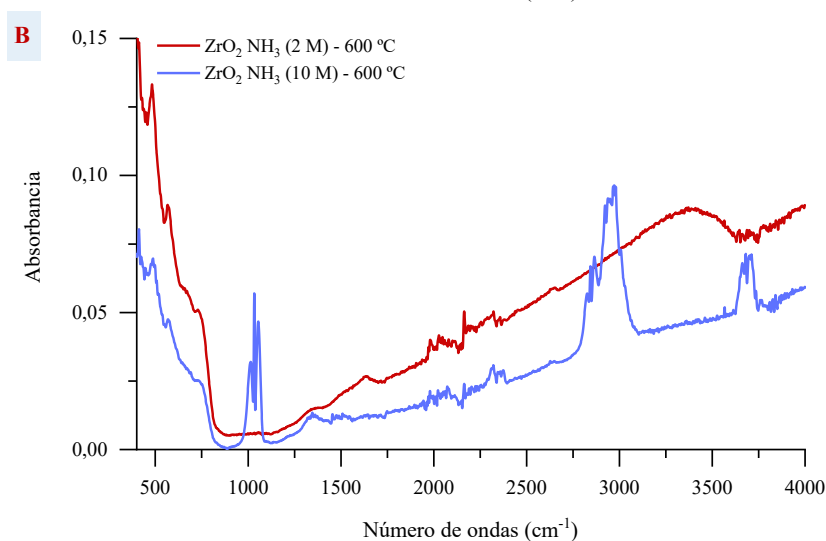
En el caso particular de las muestras tratadas a  $110\text{ °C}$  (*Fig. 12.A*), destacan tanto para  $2$  como para  $10\text{ M}$  de  $\text{NH}_3$ , los picos a  $1429$  y  $1625\text{ cm}^{-1}$ , ambos relativos a la vibración de flexión del grupo  $-\text{OH}$  (Arico *et al.*, 2003; Pereira, Díez, *et al.*, 2015). A pesar de encontrar cloruros con las técnicas EDX y Raman, no se han encontrado referencias que indiquen vibraciones relativas a los cloruros, por lo que se procederá a realizar un estudio más detallado en trabajos futuros.

En lo que respecta a las muestras calcinadas, tanto a  $600$  (*Fig. 12.B*) y  $1100\text{ °C}$  (*Fig. 12.C*), es notorio el hecho de que únicamente a  $10\text{ M}$  de  $\text{NH}_3$  se evidencia la presencia de  $\text{NO}_3^-$  en la región entre  $1000$  y  $1100\text{ cm}^{-1}$  (Singh *et al.*, 2019), señal claramente ausente en las muestras a  $2\text{ M}$  de dicho compuesto (*Anexo 4*). Derivado de ello, al igual que en Raman, se reitera la necesidad de llevar a cabo un proceso de lavado durante el procedimiento de síntesis en futuros proyectos.

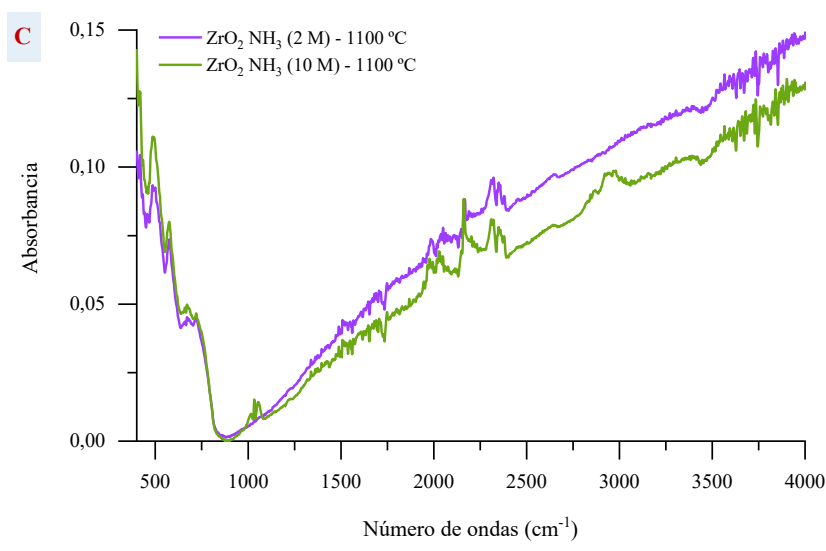
Por último, cabe resaltar que las señales identificadas a partir de  $3600\text{ cm}^{-1}$  tienden a asignarse en base a la bibliografía consultada a nuevamente a vibraciones típicas del grupo  $-\text{OH}$  (Horti *et al.*, 2020).



NP	Picos (cm <sup>-1</sup> )	Asignación
2 M y 10 M	600	Zr-O-Zr
	700	Zr-O
	1429 1625	-OH
	2000 a 2400	Zr-OH
	2750 a 3100	-OH



NP	Picos (cm <sup>-1</sup> )	Asignación
2 M y 10 M	600	Zr-O-Zr
	733	Zr-O
	2000 a 2400	Zr-OH
	3100 a 3600	-OH
10 M	1000 a 1100	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
	2750 a 3100	-OH



NP	Picos (cm <sup>-1</sup> )	Asignación
2 M y 10 M	600	Zr-O-Zr
	700	Zr-O
10 M	2000 a 2400	Zr-OH
	1000 a 1100	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
10 M	2750 a 3100	-OH

**Figura 12.** Espectros FT-IR de las nanopartículas sintetizadas tanto a 2 como a 10 M de NH<sub>3</sub> y tratadas a (A) 110, (B) 600 y (C) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.

## 4.2 ESTUDIOS PRELIMINARES DE RETENCIÓN DE SULFAMETOXAZOL

Como se comentó en el *Apartado 1.3*, se desea utilizar las  $ZrO_2$ -NP sintetizadas como extractantes de SMX para mejorar su determinación analítica con espectrofotometría UV-Vis, técnica de uso común en cualquier laboratorio ambiental. Estos primeros resultados son fruto de trabajos preliminares, por lo que es necesario continuar investigando para poder desarrollar el método analítico. Dichos ensayos preliminares se efectuaron con las nanopartículas sintetizadas con 2 M de  $NH_3$  y tratados térmicamente a 600 °C puesto que son las más pequeñas, por lo que cabría esperar que proporcionen mejores resultados.

En primer lugar, se obtuvo un espectro UV-Vis (*Anexo 5*) para conocer la longitud de onda de máxima absorción del SMX. A la vista de los resultados, se comprueba que este compuesto presenta dos máximos de absorción de radiación ultravioleta, a 196 y 276 nm. La banda de absorción a 196 nm es mucho más intensa, lo que mejoraría la sensibilidad<sup>10</sup> (mayor pendiente de la línea de calibrado) (*Anexo 6.A*), permitiendo detectar concentraciones muy pequeñas de este antibiótico. Sin embargo, se selecciona la longitud de onda de 270 nm (*Anexo 6.B*), puesto que, a esa longitud de onda, se absorben menos sustancias, y, por ende, el método analítico sería más selectivo<sup>11</sup>.

A continuación, se realizó un estudio de la adsorción de SMX en función del pH inicial: se pusieron en contacto 25 mL de diferentes disoluciones acuosas de concentración 0,5 ppm del antibiótico, preparadas a diferentes pH, con 25 mg de nanopartículas durante 1 h, en un intervalo comprendido entre 3,0 y 11,0. Posteriormente, el fármaco ligado a la superficie del nanomaterial se desorbió con una disolución 1 M de HCl durante 1 hora en agitación constante y a temperatura ambiente, extrayéndose en última instancia 1,5 mL de cada muestra. En la *Figura 13* se representa la absorbancia frente al pH inicial de la disolución de SMX.

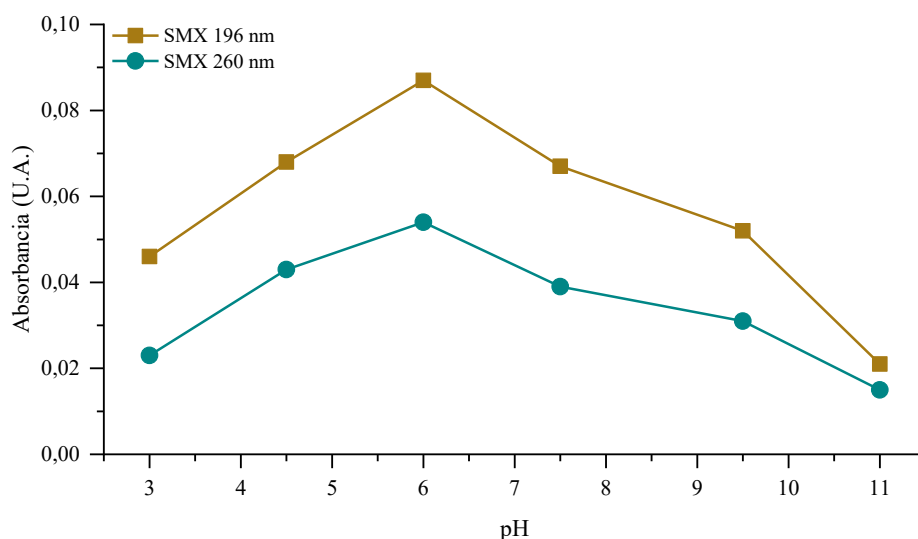
En esta *Figura 13* se pone de manifiesto que la señal analítica es máxima a valores ligeramente ácidos, por lo que se deduce que la retención se optimiza a pH 6,0. Sin embargo, en la bibliografía se ha reportado que estos óxidos nanoestructurados hidrolizan al agua, adsorbiéndose los  $OH^-$  a su superficie y acidificando las suspensiones (Pereira, Vázquez, *et al.*,

---

<sup>10</sup> La sensibilidad es la capacidad de un método o de una técnica analíticas de distinguir entre pequeñas diferencias de concentración de un analito (Skoog *et al.*, 2019).

<sup>11</sup> La selectividad es el grado de interferencias, debido a la presencia de otras especies químicas, al cual está sujeto el análisis de un determinado analito (Skoog *et al.*, 2019).

2015). Es decir, el pH final tras la retención será menor que el inicial, consecuentemente, el proceso de retención tiene lugar a pH menores que los aquí representados.



**Figura 13.** Retención de SMX por parte de las nanopartículas de  $ZrO_2$  en función del pH. Fuente: elaboración propia.

La retención es menor a valores altos de pH debido a la especiación del sulfametoxazol en disolución acuosa (*Anexo 7*). Este antibiótico es un ácido débil diprótico, cuyas  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$  son, respectivamente, 1,7 y 5,6 (Dodd and Huang, 2004): a pH menores de su  $pK_{a1}$  la especie predominante es la catiónica ( $SMXH^+$ ) puesto que se protona el grupo amino terminal, la forma neutra (SMX) domina entre sus dos  $pK_a$  y, por encima de su  $pK_{a2}$ , predomina la especie aniónica ( $SMX^-$ ) al desprotonarse el amino interno (*Anexo 8*). Por ello, a pH básicos no hay retención debido a que tanto el SMX como las nanoestructuras presentan carga negativa, repeliéndose.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este TFG arrojan las siguientes conclusiones:

- 1) Se ha desarrollado una metodología de síntesis de  $ZrO_2$ -NP mediante precipitación de  $Zr(OH)_4$  sin emplear estabilizante orgánico, por lo tanto, más sencilla que las reportadas anteriormente.
- 2) La etapa de lavado es importante, como ponen de manifiesto los resultados de EDX relativos al Cl y los de Raman y FT-IR relativos a la aparición de  $NO_3^-$ . Por ello, se debe evaluar el número de etapas de lavado que se incorporarán a esta metodología con el propósito de que sean puras de  $ZrO_2$ .
- 3) Con el tratamiento térmico a 110 °C no se obtiene material nanoestructurado. No obstante, los mejores resultados se generan a 600 °C y a 2 M de  $NH_3$ , al obtenerse nanopartículas más pequeñas y con distribuciones más uniformes que a 1100 °C, donde, además, se tiende a producir sinterización.
- 4) Mediante XRD y Raman se evidenció la presencia de una mezcla de fases cristalinas,  $m-ZrO_2$  y  $t-ZrO_2$  para 600 °C, mientras que a 1100 °C únicamente se identificaron picos correspondientes a la fase  $m-ZrO_2$ .
- 5) Con respecto a los enlaces, se evidenció tanto en los espectros Raman como en FT-IR, señales correspondientes a los enlaces característicos del  $ZrO_2$ .
- 6) A pesar de que es necesario continuar investigando el proceso de retención de SMX por parte del nanomaterial, los estudios preliminares de retención en función del pH muestran valores de absorbancia óptimos a valores de pH 6.

## 6. TRABAJOS FUTUROS

Como se ha comprobado en el cuerpo del trabajo, se han sintetizado diferentes  $ZrO_2$ -NP que muestran una potencial aplicabilidad a la retención de SMX. Posteriormente, se emplearían como extractantes de dicho antibiótico para optimizar la determinación analítica del mismo. Este será el punto de partida de las siguientes investigaciones que se desarrollen.

Estos trabajos comenzarán durante la residencia de verano de la que he sido beneficiaria. Asimismo, mi intención es cursar el Máster Universitario en Producción en la Industria Farmacéutica de la Universidad de León, por lo que el curso que viene se continuará desarrollando el método de determinación analítica de este antibiótico y se estudiará su posible aplicación a diferentes muestras tanto ambientales como farmacéuticas.

En primer lugar, se estudiará el número de lavados necesario para eliminar los nitratos de los nanomateriales. A continuación, se optimizarán las variables clave del proceso de adsorción, como son la masa de nanopartícula, el volumen de disolución de SMX, la temperatura, el tiempo de contacto entre el SMX y la nanopartícula, entre otros. Los nanomateriales tienen que ser capaces de extraer el antibiótico y, posteriormente, liberarlo en una nueva disolución para ser medido con alguna técnica analítica, por lo que también se optimizarán las variables de desorción: pH de la disolución, tiempo de contacto, temperatura, etc. Por último, se pondrían en contacto disoluciones de concentraciones altas de SMX con las nanopartículas y se medirían por Raman y FT-IR para conocer cuáles son los puntos preferentes de unión del SMX con las  $ZrO_2$ -NP.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akash, M. S. H. and Rehman, K. (2019) *Essentials of Pharmaceutical Analysis*. 1.<sup>a</sup> ed. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2020.
- Alagarsamy, A., Chandrasekaran, S. and Manikandan, A. (2022) "Green synthesis and characterization studies of biogenic zirconium oxide (ZrO<sub>2</sub>) nanoparticles for adsorptive removal of methylene blue dye", *Journal of Molecular Structure*, 1247, p. 131275.
- Alduina, R. (2020) "Antibiotics and Environment", *MDPI*, 9, pp. 10–12.
- Altavilla, C. and Ciliberto, E. (2011) *Inorganic Nanoparticles: Synthesis Application and Perspectives*. 1.<sup>a</sup> ed. Boca Raton, Florida: CRC Press/Taylor & FrancisGroup.
- Arico, A. S., Baglio, V., Di Blasi, A. and Antonucci, V. (2003) "FTIR spectroscopic investigation of inorganic fillers for composite DMFC membranes", *Electrochemistry Communications*, 5, pp. 862–866.
- Barberis, P., Merle-Méjean, T. and Quintard, P. (1997) "On Raman spectroscopy of zirconium oxide films", *Journal of Nuclear Materials*, 246, pp. 232–243.
- Basahel, S. N., Ali, T. T., Mokhtar, M. and Narasimharao, K. (2015) "Influence of crystal structure of nanosized ZrO<sub>2</sub> on photocatalytic degradation of methyl orange", *Nanoscale Research Letters*, 10, pp. 1–13.
- Bechet, D., Couleaud, P., Frochot, C., Viriot, M. L., Guillemin, F. and Barberi-Heyob, M. (2008) "Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents", *Trends in Biotechnology*, 26(11), pp. 612–621.
- Berg, K., Selbo, P. K., Weyergang, A., Dietze, A., Prasmickaite, L., Bonsted, A., Engesaeter, B., Angell-Petersen, E., Warloe, T., Frandsen, N. and Høgset, A. (2005) "Porphyrin-related photosensitizers for cancer imaging and therapeutic applications", *Journal of Microscopy*, 218(2), pp. 133–147.
- Bhardwaj, P., Singh, B. and Pragnya, S. (2021) "Green approaches for nanoparticle synthesis: emerging trends", in *Nanomaterials*. 1.<sup>a</sup> ed. Massachusetts, Estados Unidos: Academic Press, Elsevier, pp. 167–193.
- Bonera, E., Scarel, G. and Fanciulli, M. (2003) "Structure evolution of atomic layer deposition grown ZrO<sub>2</sub> films by deep-ultra-violet Raman and far-infrared spectroscopies", *Journal of Non-Crystalline Solids*, 322, pp. 105–110.
- Castro, M. A., Aller, A. J., McCabe, A., Smith, W. E. and Littlejohn, D. (2005) "Spectrometric and morphological characterization of condensed phase zirconium species produced during electrothermal heating on a graphite platform", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20, pp. 385–394.
- Chaki, S. H., Deshpande, M. P., Trivedi, D. P., Tailor, J. P., Chaudhary, M. D. and Mahato, K. (2013) "Wet chemical synthesis and characterization of SnS<sub>2</sub> nanoparticles", *Applied Nanoscience*, 3, pp. 189–195.
- Chattopadhyay, K. K. and Banerjee, A. N. (2010) *Introduction to Nanoscience and Nanotechnology*. 1.<sup>a</sup> ed. New Delhi: PHI Learning Private Limited.
- Christian, P., Von Der Kammer, F., Baalousha, M. and Hofmann, T. (2008) "Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media", *Ecotoxicology*, 17, pp. 326–343.
- Comisión Europea (2020) "Decisión de Ejecución (UE) 2020/1161 de la Comisión, de 4 de agosto de 2020, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva", *Diario Oficial de la Unión Europea*, 6 de agosto de 2020, (257), pp. 32–35.
- Crawford, C. B. and Quinn, B. (2017) "The interactions of microplastics and chemical pollutants", *Microplastic Pollutants*, pp. 131–157.
- Dhiman, N. and Sharma, N. (2019) "Removal of pharmaceutical drugs from binary mixtures by use of ZnO nanoparticles", *Environmental Technology & Innovation*, 15, p. 100392.
- Dodd, M. C. and Huang, C. H. (2004) "Transformation of the antibacterial agent sulfamethoxazole in reactions with chlorine: Kinetics, Mechanisms, and Pathways", *Environmental Science and Technology*, 38, pp. 5607–5615.
- Ealias, A. M. and Saravanakumar, M. P. (2017) "A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application", *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263, pp. 1–16.



- Gao, G. (2004) *Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications*. 1.<sup>a</sup> ed. Londres: Imperial College Press.
- Gao, P. S., Guo, Y., Li, X., Wang, X., Wang, J., Qian, F., Gu, H. and Zhang, Z. (2018) "Magnetic solid phase extraction of sulfonamides based on carboxylated magnetic graphene oxide nanoparticles in environmental waters", *Journal of Chromatography A*, 1575, pp. 1–10.
- Gazulla, M. F., Rodrigo, M., Blasco, E. and Orduña, M. (2013) "Nitrogen determination by SEM-EDS and elemental analysis", *X-Ray Spectrometry*, 42, pp. 394–401.
- Guofa, L., Tongshun, S. and Yongnian, Z. (1997) "Infrared and Raman spectra of complexes about rare earth nitrate with schiff base from o-vanillin and 1-naphthylamine", *Journal of Molecular Structure*, 412, pp. 75–81.
- Hayez, V., Costa, V., Guillaume, J., Terryn, H. and Hubin, A. (2005) "Micro Raman spectroscopy used for the study of corrosion products on copper alloys: Study of the chemical composition of artificial patinas used for restoration purposes", *The Analyst*, 130, pp. 550–556.
- Horti, N. C., Kamatagi, M. D., Nataraj, S. K., Wari, M. N. and Inamdar, S. R. (2020) "Structural and optical properties of zirconium oxide (ZrO<sub>2</sub>) nanoparticles: effect of calcination temperature", *Nano Express*, 1, pp. 1–10.
- Iftikhar, N., Zafar, R. and Hashmi, I. (2022) "Multi-biomarkers approach to determine the toxicological impacts of sulfamethoxazole antibiotic on freshwater fish *Cyprinus carpio*", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 233, pp. 1–9.
- Imanova, G. T., Agayev, T. N. and Jabarov, S. H. (2021) "Investigation of structural and optical properties of zirconia dioxide nanoparticles by radiation and thermal methods", *Modern Physics Letters B*, 35, pp. 1–14.
- Inbaraj, B. S. and Chen, B.-H. (2020) "An overview on recent *in vivo* biological application of cerium oxide nanoparticles", *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, pp. 558–575.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A. and Danquah, M. K. (2018) "Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations", *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9, pp. 1050–1074.
- Khan, Ibrahim, Saeed, K. and Khan, Idrees (2019) "Nanoparticles: Properties, applications and toxicities", *Arabian Journal of Chemistry*, 12, pp. 908–931.
- Koparde, V. N. and Cummings, P. T. (2005) "Molecular Dynamics Simulation of Titanium Dioxide Nanoparticle Sintering", *Journal of Physical Chemistry B*, 109, pp. 24280–24287.
- Kumaresan, M., Vijai Anand, K., Govindaraju, K., Tamilselvan, S. and Ganesh Kumar, V. (2018) "Seaweed *Sargassum wightii* mediated preparation of zirconia (ZrO<sub>2</sub>) nanoparticles and their antibacterial activity against gram positive and gram negative bacteria", *Microbial Pathogenesis*, 124, pp. 311–315.
- Kumari, L., Du, G. H., Li, W. Z., Vennila, R. S., Saxena, S. K. and Wang, D. Z. (2009) "Synthesis, microstructure and optical characterization of zirconium oxide nanostructures", *Ceramics International*, 35, pp. 2401–2408.
- Lu, F. and Astruc, D. (2020) "Nanocatalysts and other nanomaterials for water remediation from organic pollutants", *Coordination Chemistry Reviews*, 408, p. 213180.
- Lu, L. and Ishiyama, O. (2015) "Iron ore sintering", in *Iron Ore: Mineralogy, Processing and Environmental Sustainability*. 1.<sup>a</sup> ed. Sawston, Reino Unido: Woodhead Publishing, Elsevier, pp. 395–433.
- Lungu, M., Neculae, A., Bunoiu, M., Biris, C. and Hazards, P. (2015) *Nanoparticles' Promises and Risks*. 1.<sup>a</sup> ed. Suiza: Springer International Publishing Switzerland.
- Malakootian, M., Yaseri, M. and Faraji, M. (2019) "Removal of antibiotics from aqueous solutions by nanoparticles: a systematic review and meta-analysis", *Environmental Science and Pollution Research*, 26, pp. 8444–8458.
- Malhorta, B. D. and Ali, M. A. (2018) "Nanomaterials in Biosensors: Fundamentals and Applications", in *Nanomaterials for Biosensors*. 1.<sup>a</sup> ed. Amsterdam, Países Bajos: Elsevier, pp. 1–74.
- Manjunatha, R., Usharani, K. and Dhananjay, N. (2019) "Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles: A review", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), pp. 1095–1101.
- Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente (2015) "Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental", *Boletín Oficial del Estado*, 12 de septiembre de 2015, pp. 80582–80677.

- Ministerio de Sanidad (2015) "Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.", *Boletín Oficial del Estado*, 25 de junio de 2015, pp. 62935–63030.
- Noguera-Oviedo, K. and Aga, D. S. (2016) "Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment", *Journal of Hazardous Materials*, 316, pp. 242–251.
- Pereira, F. J., Díez, M. T. and Aller, A. J. (2015) "Effect of temperature on the crystallinity, size and fluorescent properties of zirconia-based nanoparticles", *Materials Chemistry and Physics*, 152, pp. 135–146.
- Pereira, F. J., Vázquez, M. D., Debán, L. and Aller, A. J. (2015) "Determination of arsenic by ICP-MS after retention on thoria nanoparticles", *Analytical Methods*, 7, pp. 598–606.
- Pereira, F. J., Vázquez, M. D., Debán, L. and Aller, A. J. (2016) "Inorganic arsenic speciation by differential pulse anodic stripping voltammetry using thoria nanoparticles-carbon paste electrodes", *Talanta*, 152, pp. 211–218.
- Petrudin, V. F., Popov, V. V., Hongzhi, Z. and Timofeev, A. A. (2004) "Synthesis of Nanocrystalline High-Temperature Zirconia Phases", *Inorganic Materials*, 40, pp. 251–258.
- Prasannamedha, G. and Kumar, P. S. (2020) "A review on contamination and removal of sulfamethoxazole from aqueous solution using cleaner techniques: Present and future perspective", *Journal of Cleaner Production*, 250, p. 119553.
- Raghunath, A. and Perumal, E. (2017) "Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future", *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49, pp. 137–152.
- Salmanpour, S., Khalilzadeh, M. A., Karimi-Maleh, H. and Zareyeea, D. (2019) "An Electrochemical Sensitive Sensor for Determining Sulfamethoxazole Using a Modified Electrode Based on Biosynthesized NiO Nanoparticles Paste Electrode", *International Journal of Electrochemical Science*, 14, pp. 9552–9561.
- Seqqat, R., Blaney, L., Quesada, D., Kumar, B. and Cumbal, L. (2019) "Nanoparticles for environment, engineering, and nanomedicine", *Hindawii Journal of Nanotechnology*, 2019, pp. 1–3.
- Siddiqui, S. I. and Chaudhry, S. A. (2019) "Nanohybrid composite Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-ZrO<sub>2</sub> /BC for inhibiting the growth of bacteria and adsorptive removal of arsenic and dyes from water", *Journal of Cleaner Production*, 223, pp. 849–868.
- Singh, P., Singh, M. K., Beg, Y. R. and Nishad, G. R. (2019) "A review on spectroscopic methods for determination of nitrite and nitrate in environmental samples", *Talanta*, 191, pp. 364–381.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. and Crouch, S. R. (2019) *Principles of Instrumental Analysis*. 7.<sup>a</sup> ed. Boston: Cengage Learning.
- Sousa, J. C. G., Ribeiro, A. R., Barbosa, M. O., Pereira, M. F. R. and Silva, A. M. T. (2018) "A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines", *Journal of Hazardous Materials*, 344, pp. 146–162.
- Srivastava, V., Gusain, D. and Sharma, Y. C. (2013) "Synthesis, characterization and application of zinc oxide nanoparticles (n-ZnO)", *Ceramics International*. Elsevier, 39(8), pp. 9803–9808. doi:10.1016/j.ceramint.2013.04.110.
- Verma, A., Dwivedi, R., Prasad, R. and Bartwal, K. S. (2013) "Microwave-Assisted Synthesis of Mixed Metal-Oxide Nanoparticles", *Hindawii Journal of Nanotechnology*, 2013, pp. 1–11.
- Wais, U., Jackson, A. W., He, T. and Zhang, H. (2016) "Nanoformulation and encapsulation approaches for poorly water-soluble drug nanoparticles", *Nanoscale*, 8, pp. 1746–1769.
- Wang, J. and Wang, S. (2018) "Microbial degradation of estrogens in the environment", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, pp. 3573–3582.
- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S. and Georgieva, E. (2015) "Fish in Ecotoxicological Studies", *Ecologia Balkanica*, 7(1), pp. 149–169.
- Yi, M., Zhang, Y., Xu, J., Deng, D., Mao, Z., Meng, X., Shi, X. and Zhao, B. (2021) "Surface-Enhanced Raman Scattering Activity of ZrO<sub>2</sub> Nanoparticles: Effect of Tetragonal and Monoclinic Phases", *Nanomaterials*, 11, pp. 1–14.
- Yogamalar, R., Srinivasan, R., Vinu, A., Ariga, K. and Bose, A. C. (2009) "X-ray peak broadening analysis in ZnO nanoparticles", *Solid State Communications*, 149, pp. 1919–1923.
- Yoshikawa, T. and Naito, Y. (2002) "What is oxidative stress?", *Metabolism: Clinical and Experimental*, 45(7), pp. 271–276.

## 8. ANEXOS

*Anexo 1. Descripción de las diferentes técnicas analíticas utilizadas en el desarrollo del trabajo. Fuente: elaboración propia.*

<b>TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS</b>	
<b>Técnicas analíticas</b>	<b>Breve descripción</b>
<b>Microscopía electrónica de transmisión (TEM)</b>	Mediante la colisión de un haz de electrones acelerado y la posterior detección de aquellos difractados, se genera una imagen de gran definición de la cual se puede extraer información relativa a la estructura interna y sobre los detalles microestructurales de la muestra (Skoog <i>et al.</i> , 2019).
<b>Microscopía electrónica de barrido (SEM) con espectrometría por energías dispersivas de rayos X (EDX)</b>	Genera imágenes de alta resolución que proporcionan información sobre topografía y cristalografía de la muestra a partir de la detección de electrones secundarios de baja energía (< 50 eV) y retrodispersados ( <i>backscatter</i> ) de alta energía (> 50 eV). Además, al estar dotado de microanálisis de rayos X, se puede conocer información tanto cualitativa como cuantitativa relativa a su composición (Skoog <i>et al.</i> , 2019).
<b>Difractometría de rayos X (XRD)</b>	Por medio de la interacción de una radiación monocromática con una estructura regular a una distancia de repetición similar a la longitud de onda, esta metodología permite analizar de forma cuantitativa las fases cristalinas y determinar la estructura de la muestra de manera no destructiva (Manjunatha <i>et al.</i> , 2019).
<b>Espectrometría Raman</b>	Dicha técnica genera una representación en forma de espectro de la intensidad de luz que es dispersada frente al número de onda de prácticamente cualquier material sin necesidad de preparaciones previas. Así mismo, de forma semejante a los espectros de infrarrojo, detecta tanto grupos funcionales como regiones de “huella dactilar”, permitiendo identificar los compuestos específicos de los que se compone la muestra (Skoog <i>et al.</i> , 2019).
<b>Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) con reflectancia total atenuada (ATR)</b>	En base a la interacción de la radiación electromagnética, en concreto en la región infrarroja (0,78 a 1000 $\mu\text{m}$ ), con la muestra, permite obtener información cualitativa relativa a la estructura molecular de especies concretas y/o de sus grupos funcionales, e inclusive, de mezclas desconocidas (Skoog <i>et al.</i> , 2019).
<b>Espectrofotometría de absorción ultravioleta visible (UV-Vis)</b>	Esta técnica espectrofotométrica mide la interacción de las radiaciones electromagnéticas con la materia, en las regiones UV (10 – 400 nm) y Vis (400 – 800 nm), a una longitud de onda determinada. Gracias a ello, se puede desde identificar cualitativa y cuantitativamente diferentes compuestos hasta determinar su peso molecular o detectar posibles impurezas en la muestra (Akash and Rehman, 2019).

Anexo 2. Asignaciones de picos XRD en base a la bibliografía utilizada. Fuente: elaboración propia.

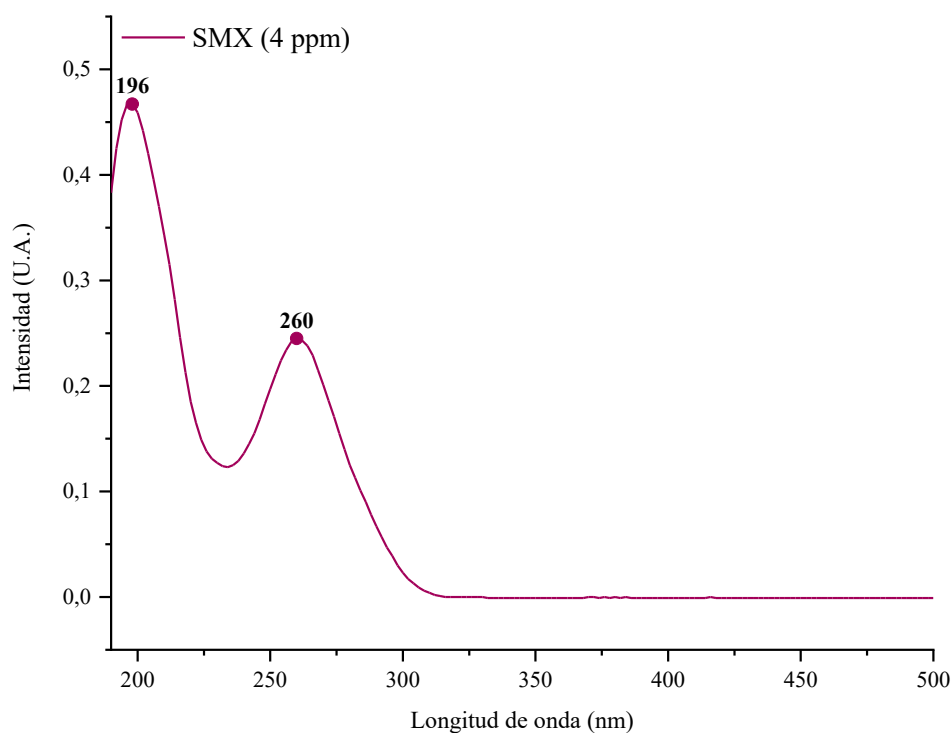
Tratamiento térmico	[NH <sub>3</sub> ]	Picos (°)	Fase	Referencia
600 °C	2 M y 10 M	28,42	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Horti <i>et al.</i> , 2020)
		30,45	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Verma <i>et al.</i> , 2013)
		31,65	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Horti <i>et al.</i> , 2020)
		35,47	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		50,40	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	
1100 °C	2 M y 10 M	17,53	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		24,18		(Basahel <i>et al.</i> , 2015)
		24,60		(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		28,343		(Verma <i>et al.</i> , 2013)
		31,54		
		34,17		(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		38,77		
		40,90		
		44,85		
		45,63		
		49,38		
		50,68		
		54,03		
		55,44		
57,31				

Anexo 3. Asignaciones de picos y enlaces Raman en base a la bibliografía utilizada. Fuente: elaboración propia.

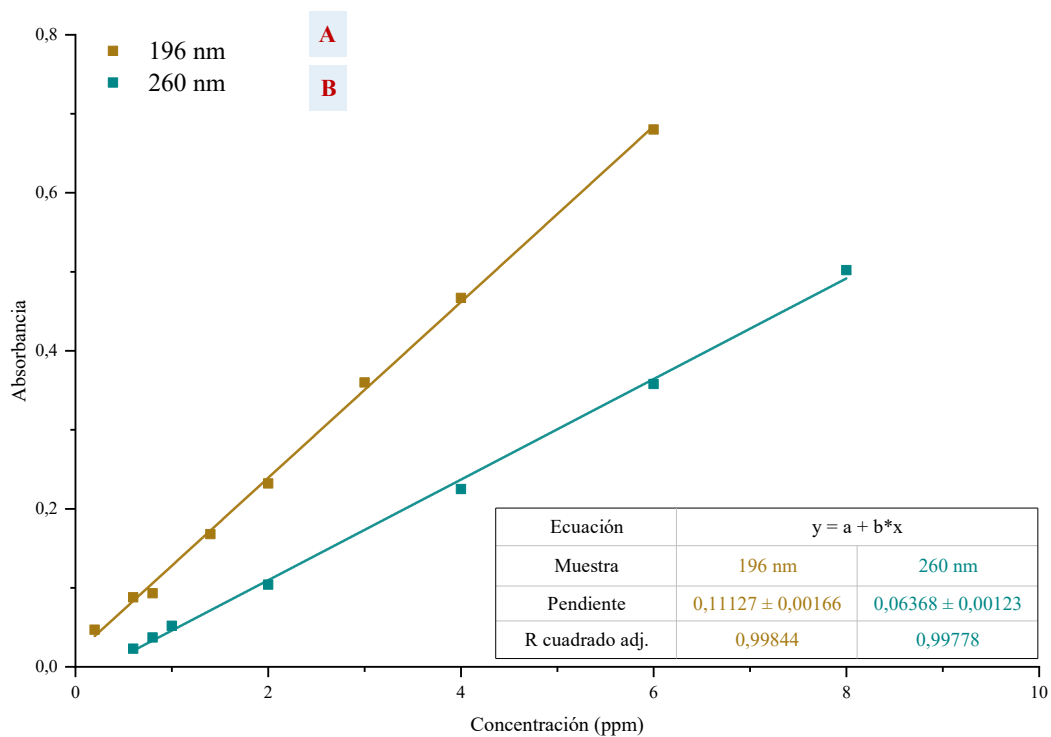
Tratamiento térmico	[NH <sub>3</sub> ]	Picos (cm <sup>-1</sup> )	Fase	Referencia	Enlace	Referencia	
110 °C	2 M y 10 M	177	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Barberis <i>et al.</i> , 1997)	Zr-Zr	(Kumari <i>et al.</i> , 2009)	
		350 - 480	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i> / <i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Pereira, Diez, <i>et al.</i> , 2015)	-	-	
		500 - 560	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Barberis <i>et al.</i> , 1997)	-	-	
600 °C	2 M y 10 M	150	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Yi <i>et al.</i> , 2021)	-	(Kumari <i>et al.</i> , 2009)	
		185	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>		Zr-Zr	(Kumari <i>et al.</i> , 2009; Pereira, Diez, <i>et al.</i> , 2015)	
		269	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>		Zr-Zr		
		339	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Barberis <i>et al.</i> , 1997)	Zr-Zr		
		385	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>		Zr-Zr		
		476	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Castro <i>et al.</i> , 2005)	O-O		
		560	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Barberis <i>et al.</i> , 1997)	O-O		
		642	<i>t-ZrO<sub>2</sub></i>	(Yi <i>et al.</i> , 2021)	O-O		
		1358	δOH	(Pereira, Diez, <i>et al.</i> , 2015)	-	-	
		1538	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	(Guofa <i>et al.</i> , 1997)	-	-	
1100 °C	2 M y 10 M	183	<i>m-ZrO<sub>2</sub></i>	(Yi <i>et al.</i> , 2021)	Zr-Zr	(Kumari <i>et al.</i> , 2009; Pereira, Diez, <i>et al.</i> , 2015)	
		222		(Barberis <i>et al.</i> , 1997)	Zr-Zr		
		305		(Basahel <i>et al.</i> , 2015)	Zr-O		
		382		(Barberis <i>et al.</i> , 1997)	Zr-O		
		562			O-O		
		618			O-O		
		640		(Basahel <i>et al.</i> , 2015)	O-O		
		758		(Bonera <i>et al.</i> , 2003)	-	(Kumari <i>et al.</i> , 2009)	
		1534		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	(Guofa <i>et al.</i> , 1997)	-	
		1594		-	-	-	
		1696		H <sub>2</sub> O	(Yi <i>et al.</i> , 2021)	-	

Anexo 4. Asignaciones de picos FT-IR en base a la bibliografía utilizada. Fuente: elaboración propia.

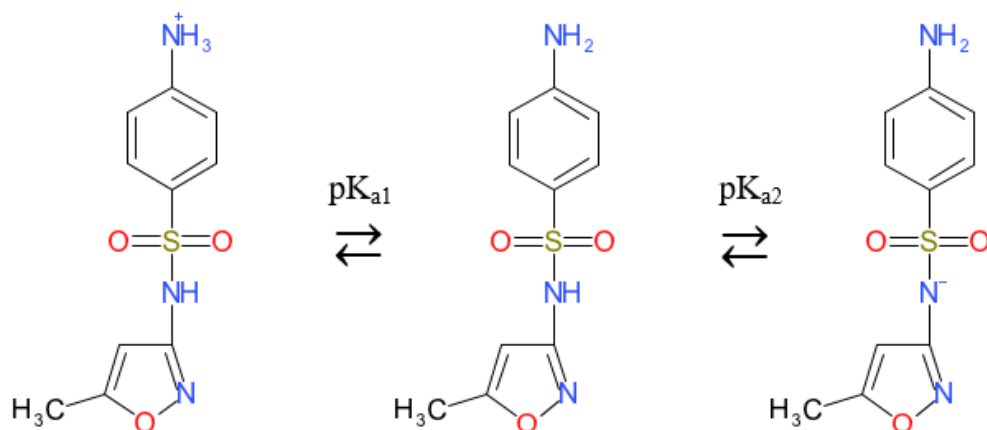
Tratamiento térmico	[NH <sub>3</sub> ]	Picos (cm <sup>-1</sup> )	Asignación	Referencia
110 °C	2 M y 10 M	600	Zr-O-Zr	(Kumaresan <i>et al.</i> , 2018)
		700	Zr-O	(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		1429 y 1625	-OH	(Arico <i>et al.</i> , 2003; Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		2000 a 2400	Zr-OH	(Horti <i>et al.</i> , 2020)
		2750 a 3100	-OH	(Kumaresan <i>et al.</i> , 2018)
600 °C	2 M y 10 M	600	Zr-O-Zr	(Kumaresan <i>et al.</i> , 2018)
		733	Zr-O	(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
		2000 a 2400	Zr-OH	(Horti <i>et al.</i> , 2020)
		3100 a 3600	-OH	(Kumaresan <i>et al.</i> , 2018)
	10 M	1000 a 1100	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	(Singh <i>et al.</i> , 2019)
		3600 a 3800	-OH	(Horti <i>et al.</i> , 2020)
1100 °C	2 M y 10 M	600	Zr-O	(Kumaresan <i>et al.</i> , 2018)
		700	Zr-O	(Pereira, Díez, <i>et al.</i> , 2015)
	10 M	2000 a 2400	Zr-OH	(Horti <i>et al.</i> , 2020)
	10 M	1000 a 1100	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	(Singh <i>et al.</i> , 2019)
			2750 a 3100	-OH



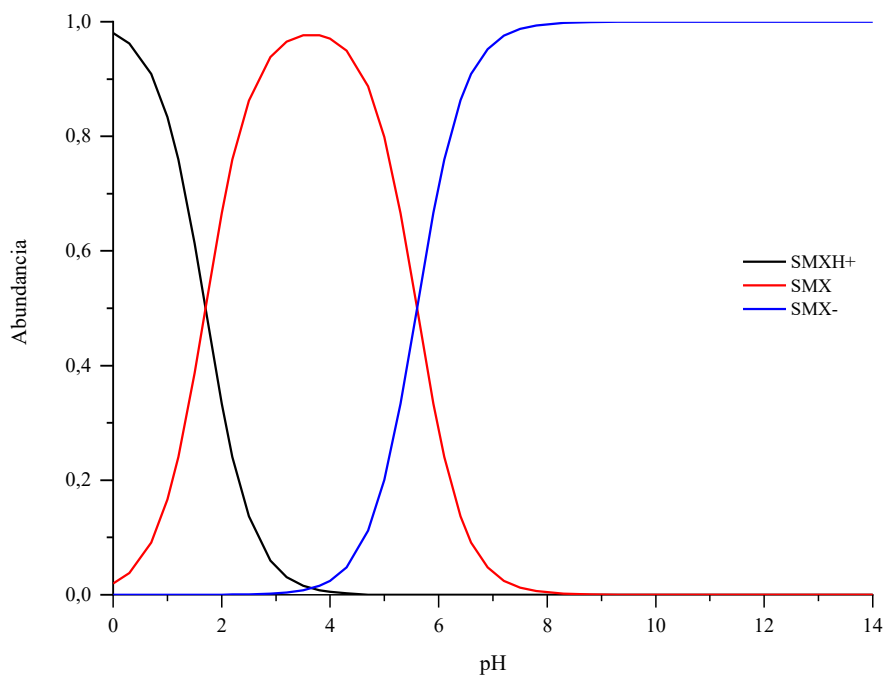
Anexo 5. Espectro de absorción UV-Vis del SMX a 4 ppm. Fuente: elaboración propia.



Anexo 6. Líneas de calibrado del SMX a (A) 196 y (B) 260 nm. Fuente: elaboración propia.



Anexo 7. Especiación del SMX en disoluciones acuosas en función del pH. Fuente: elaboración propia.



*Anexo 8. Diagrama de distribución de las diferentes especies del sulfametoxazol en función del pH. Fuente: elaboración propia.*



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Escala comparativa de tamaños en nanómetros. Fuente: elaboración propia.....	1
<b>Figura 2.</b> Diferencias entre el enfoque “top-down” y “bottom-up”. Fuente: elaboración propia.	3
<b>Figura 3.</b> Esquematización del Principio de Sobresaturación de LaMer y Dinegar (1950). Fuente: elaboración propia.....	4
<b>Figura 4.</b> Estructura química del sulfametoxazol. Fuente: elaboración propia.....	6
<b>Figura 5.</b> Metodología de síntesis de nanopartículas llevada a cabo en el TFG frente a la realizada en trabajos previos. Fuente: elaboración propia.....	10
<b>Figura 6.</b> Metodología llevada a cabo en los estudios preliminares de síntesis. Fuente: elaboración propia.....	12
<b>Figura 7.</b> Micrografías TEM de las nanopartículas tratadas a 110 °C, a (A) 2 y (B) 10 M de NH <sub>3</sub> ; a 600 °C, a (C) 2 y (D) 10 M de NH <sub>3</sub> ; a 1100 °C, a (E) 2 y (F) 10 M de NH <sub>3</sub> . Fuente: elaboración propia.....	14
<b>Figura 8.</b> Distribución de tamaños de las nanopartículas calcinadas a (A) 600 y (B) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.....	15
<b>Figura 9.</b> Espectros ED-XRS de las nanopartículas sintetizadas a (A) 110, (D) 600 y (G) 1100 °C. Micrografías correspondientes a (B) 2 y (C) 10 M de NH <sub>3</sub> para 110 °C; (E) 2 y (F) 10 M de NH <sub>3</sub> para 600 °C; (H) 2 y (I) 10 M de NH <sub>3</sub> para 1100 °C. Fuente: elaboración propia.....	17
<b>Figura 10.</b> Difractogramas y principales asignaciones de picos XRD de las nanopartículas sintetizadas a 2 y a 10 M de NH <sub>3</sub> y tratadas a (A) 110, (B) 600 y (C) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.....	19
<b>Figura 11.</b> Espectros Raman de las nanopartículas sintetizadas tanto a 2 como a 10 M de NH <sub>3</sub> y tratadas a (A) 110, (B) 600 y (C) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.....	21
<b>Figura 12.</b> Espectros FT-IR de las nanopartículas sintetizadas tanto a 2 como a 10 M de NH <sub>3</sub> y tratadas a (A) 110, (B) 600 y (C) 1100 °C. Fuente: elaboración propia.....	23
<b>Figura 13.</b> Retención de SMX por parte de las nanopartículas de ZrO <sub>2</sub> en función del pH. Fuente: elaboración propia.....	25

## ÍNDICE DE TABLAS

*Tabla 1. Descripción de los diferentes equipos analíticos utilizados. Fuente: elaboración propia. 8*

*Tabla 2. Instrumentación y material de uso común en el laboratorio. Fuente: elaboración propia.  
..... 9*

*Tabla 3. Información resultante de las técnicas analíticas de caracterización. Fuente: elaboración  
propia..... 11*