

Vivimos un mundo en el que la nanotecnología se empieza a mezclar con cada aspecto de nuestras vidas, un mundo que se puede ver revolucionado por la nanotecnología, tal cómo ocurrió anteriormente con las máquinas a vapor. Hoy en día las nanoestructuras presentan un sinfín de aplicaciones, y al que más nos dedicamos a estudiar en el laboratorio de WWW.NANOSINTESIS.CL es el comportamiento magnético con apli-

caciones en la tecnología de información. No es difícil imaginar que una sola área de estudio no puede resolver los problemas actuales; por lo que el mundo se mueve a una revolución de aplicaciones multidisciplinarias, y en este contexto presentamos el siguiente estudio que busca una mejora de las capacidades antimicrobianas de materiales que naturalmente son antimicrobianos. Esta mejora se obtiene mediante la na-

noestructuración de los materiales, por medio de técnicas muy complejas pero escalables para la producción industrial.

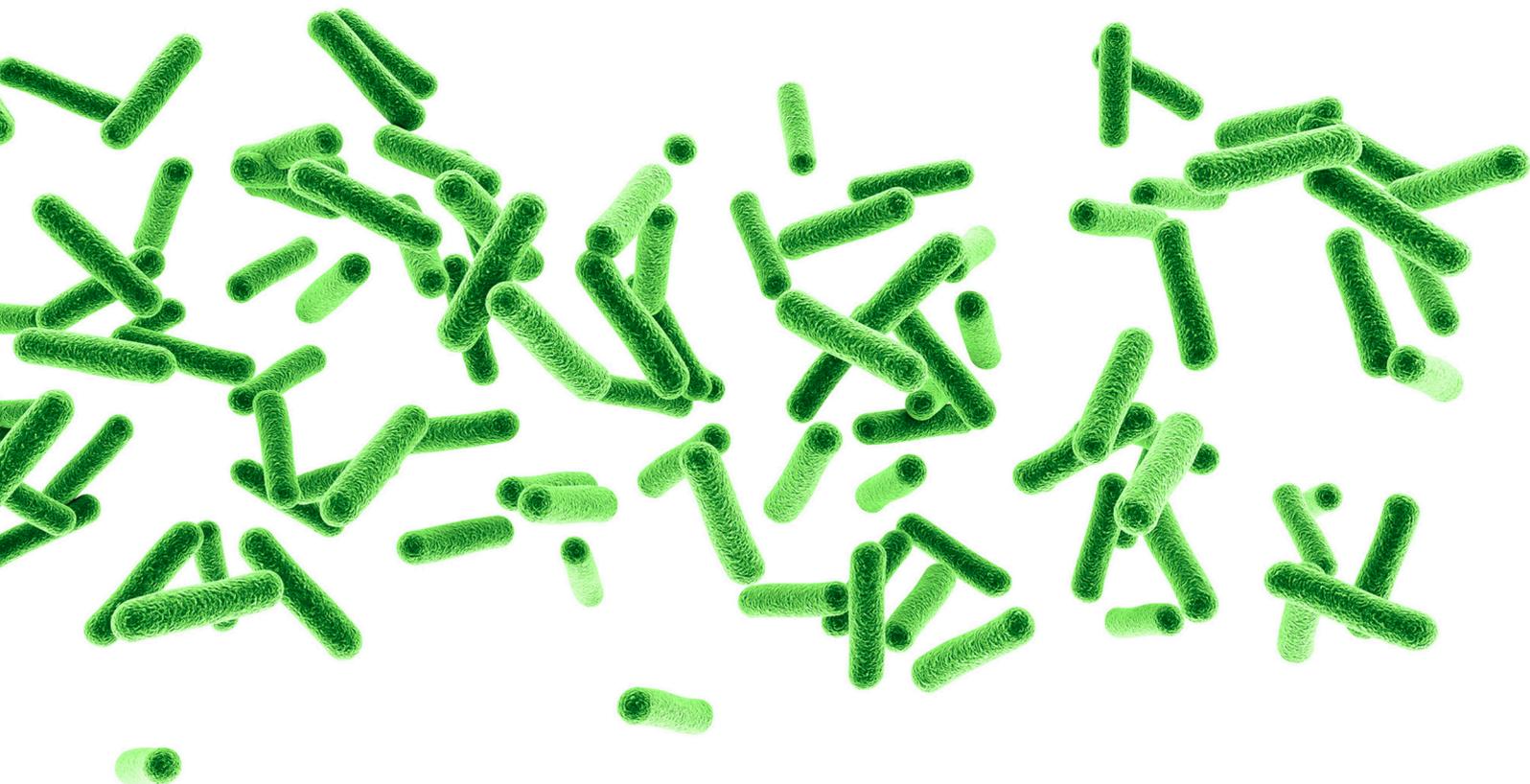
En este artículo se presenta un estudio científico que fue publicado en la revista *Nanomaterials* (*Nanomaterials* 2018, 8, 128; doi:10.3390/nano8020128), acerca de nanotubos de óxido de titanio, sintetizados por medio de deposición de capas atómicas en nanofibras de polímero y su análisis en la capacidad antimicrobiana.



NANOTUBOS DE DIÓXIDO DE TITANIO Y SU **ACTIVIDAD MICROBIANA**

Juan Luis Palma

Doctor en Ciencias con mención en Física



La búsqueda de nuevas sustancias antimicrobianas ha aumentado los últimos años. Las nanoestructuras antimicrobianas son unas de las alternativas más prometedoras. En este trabajo, se obtuvieron nanotubos de dióxido de titanio por medio de deposición de capas atómicas (Atomic Layer Deposition, ALD) sobre nanofibras de polivinil alcohol (PVN) preparadas por electrospinning* (una forma de traducirlo es decir: electrohilado, pero no representa la mejor alternativa como una palabra que describa bien el proceso, por lo que utilizaremos la palabra en inglés para referirnos al proceso) a diferentes temperaturas para así obtener nanoestructuras con diferentes áreas específicas. Los parámetros en cada experimento de Electrospinning y ALD, se estudiaron para obtener los menores diámetros de tubos y las tasas de deposiciones más altas, respectivamente. La temperatura de la cámara de deposición en ALD es un factor clave, y se alcanzó una tasa de deposición óptima a 200°C. Subsecuentemente, se analizó la morfología de las muestras por medio de microscopía de electrones, tanto de electrones transmitidos como de electrones retrodispersados (microscopía electrónica de transmisión TEM, y microscopía electrónica de barrido SEM), las que revelaron la formación de nanotubos huecos después de un proceso de calcinación y reducción de oxígeno a 600°C. Esta temperatura permite remover el polímero de la muestra y afecta positivamente a las propiedades antimicrobianas. El análisis de rayos X confirmó el cambio de la fase de dióxido de titanio con estructura amorfa a una fase de anatasa cristalina en los nanotubos. Estas nuevas estructuras tienen una superficie muy grande que resulta en una actividad antimicrobiana contra las bacterias del tipo Gram-positiva y Gram-negativa.

En el pasado reciente, las enfermedades transmitidas por los alimentos y las infecciones nosocomiales ocurridas durante la hospitalización se han identificado como dos problemas principales que han producido muchas pérdidas económicas y humanas. Las infecciones nosocomiales representan alrededor de 1,4 millones de infecciones cada año [1,2]. Además, varios estudios han demostrado que el uso generalizado de antibióticos ha llevado a la resistencia de las bacterias a casi todos los antibióticos. Estos problemas han inducido la necesidad y el interés de la sociedad científica en la búsqueda de sustancias antimicrobianas poderosas. Recientemente, la nanotecnología se considera una tecnología útil en el tratamiento de infecciones bacterianas, ya que el modo de acción de las nanopartículas está en contacto directo con la pared celular de las bacterias sin la necesidad de penetrarlas, siendo menos propensos a promover resistencia en las bacterias que los antibióticos. El desarrollo de nuevos y eficaces agentes antimicrobianos de base nanotecnológica es una de las áreas prioritarias en la investigación biomédica [3–5]. Varias nanopartículas (NP) han demostrado propiedades antibacterianas de amplio espectro contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, principalmente NP de plata, NP de óxido de zinc, nanotubos de carbono y NP de óxido de hierro [6–8]. **El control de la morfología y la estructura de los NP es un factor importante porque el rendimiento antimicrobiano está muy influenciado por la morfología, la forma y el tamaño de las partículas [9,10]. El aumento en el área de superficie o el diseño de una nanopartícula de tamaño y forma apropiada con propiedades de superficie deseables puede conducir a una mejora de la actividad bactericida. Algunos trabajos ya han demostrado que los NP de plata interactúan con bacterias, hongos y virus de una manera dependiente de la forma [11-15].** En consecuencia, el desarrollo de nuevas nanoestructuras con diferentes morfologías ha atraído una gran atención recientemente. En este trabajo, las tecnologías de electrospinning (EP) y de deposición de capa atómica (ALD) se combinaron con el objetivo de desarrollar nuevos nanotubos antimicrobianos con paredes a nanoescala bien definidas compuestas de dióxido de titanio.

El EP es considerado como una de las técnicas más extendidas que ofrece una fabricación rápida, económica, simple, efectiva y relativamente a gran escala para estructuras fibrosas. Se aplica un potencial eléctrico entre una gota de una solución de polímero contenida en el extremo de un tubo capilar y un objetivo conectado a tierra, y cuando el campo eléctrico aplicado supera la tensión su-

perficial de la gota, se expulsa un chorro cargado de solución de polímero y se controla mediante el Campo eléctrico [16,17]. Por otro lado, la ALD ha sido reconocida como una tecnología clave para la modificación de la superficie y la fabricación de materiales de nanoestructuras porque es la única técnica aplicable para la deposición de películas delgadas conformes y homogéneas [18]. Además, esta técnica permite depositar películas delgadas en estructuras con geometrías complejas que permiten sintetizar nanoestructuras de alta relación de aspecto sin efectos de sombra [19]. La ALD se basa en una reacción entre los materiales precursores que se separan en reacciones superficiales sucesivas separadas por una etapa de purga para eliminar los precursores sin reaccionar y el subproducto. La deposición de óxidos metálicos implica la reacción entre un complejo metálico (por ejemplo, haluro metálico, alcóxido metálico, etc.) y una fuente de oxígeno (agua, ozono o peróxido de oxígeno).

Otros trabajos ya han informado de esta combinación de técnicas como una estrategia atractiva para obtener nuevas nanoestructuras con aplicaciones fotónicas, electrónicas, catalíticas, nanofluidicas y de administración de fármacos [20-22]. Se han desarrollado diferentes nanotubos de óxido metálico utilizando diferentes metodologías, precursores y fibras. Específicamente, los nanotubos de dióxido de titanio se han obtenido utilizando técnicas ALD y EP, pero estos trabajos se centraron principalmente en su caracterización [23-25]. Sin embargo, no se ha realizado ningún desarrollo con fines antimicrobianos.

Por otro lado, el dióxido de titanio (TiO_2) es un compuesto químico térmicamente estable y biocompatible con alta actividad fotocatalítica y ha presentado buenos resultados contra la contaminación bacteriana [26,27]. El TiO_2 también se ha convertido en el fotocatalizador preferido por una variedad de razones, que incluyen su bajo costo, estabilidad química, no toxicidad y efectividad bajo la luz ultravioleta cercana (300–400 nm). Es uno de los nanomateriales más aplicados y se utiliza ampliamente como aditivo en aplicaciones alimentarias y no alimentarias [28-30]. Otras nanoestructuras de TiO_2 ya se han desarrollado con objetivos antimicrobianos. Los nanotubos de TiO_2 obtenidos a través de un método de anodización electroquímica a base de cloro cuando se expusieron a luz UV durante 24 h presentaron aproximadamente una y tres reducciones logarítmicas contra *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente, con soluciones de trabajo bacterianas de inicio a 103 ufc / ml. Recientemente, Jian et al. han desarrollado agentes antibacterianos de TiO_2 y TiO_2 cargados de plata a través del método de ensayo "sol-assay" con valores de

concentración de inhibición mínima de alrededor de 1,6 mg / ml [31,32].

Cómo se muestra en la figura 1 a,e, se obtuvo satisfactoriamente fibras de PVN que presentan un diámetro de 164.5 ± 24.7 nm y que exhiben una superficie suave. Estas fibras se recubren con TiO_2 por medio de ALD con diferentes temperaturas. La figura 1 b-d muestra los resultados para las muestras "PVN_150, PVN_200 y PVN150/250" que presentan diferentes colores a simple vista. Adicionalmente las imágenes SEM demuestran que la estructura de fibras se mantiene durante todas las síntesis realizadas. La muestra depositada a 150°C presenta un color beige, y la tercera muestra depositada a 150°C y luego a 250°C presenta un color más amarillento. La muestra depositada a 200°C presenta un color azulado. **La diferencia de los colores de las muestras radica en la interferencia óptica que producen las capas con la superposición de las diferentes capas de el material depositado** [34]. En contraste con lo expuesto, no solo los ciclos depositados hacen que cambien las tonalidades de colores, ya que también los cambios de temperatura en la cámara de deposición pueden cambiar este efecto.

Posteriormente, la muestra que presentó la mayor tasa de deposición (PVN_200, según el análisis térmico en la Sección 3.2) sufrió procesos de eliminación de polímeros que se llevaron a cabo con el propósito de obtener nanotubos de dióxido de titanio para mejorar el área de superficie específica de las nanoestructuras. La Figura 2 muestra el color y las morfologías de los nanotubos de dióxido de titanio (TDN) obtenidos mediante el uso de diferentes metodologías para eliminar el PVN. En todos los casos, las imágenes SEM y TEM revelaron que la deposición de TiO_2 protegió la morfología de los procesos de eliminación y las nanofibras sirvieron como una "plantilla" eficiente en la síntesis de los nanotubos de dióxido de titanio.

El proceso de eliminación del polímero por lavado mantuvo el color inicial (muestra TDN_A que se muestra en la Figura 2a). Inesperadamente, cuando la muestra se calentó a 400° C, la muestra TDN_B400, el color de los nanotubos comenzó a cambiar de azul (Figura 1c) a blanco (Figura 2b), obteniendo el cambio total a blanco a 600° C (Figura 2c), muestra TDN_B600. Ciertamente, este cambio de color se asoció con los cambios cristalinos de TiO_2 de la fase cristalina amorfa a la estructura cristalina anatasa. Con respecto al grosor de la deposición de TiO_2 , como muestra la Figura 2g-i, las muestras obtenidas después de diferentes procesos de remoción de polímeros presentaron valores similares. Los resultados obtenidos después de la medición de 50 nanotubos fueron: (19.3

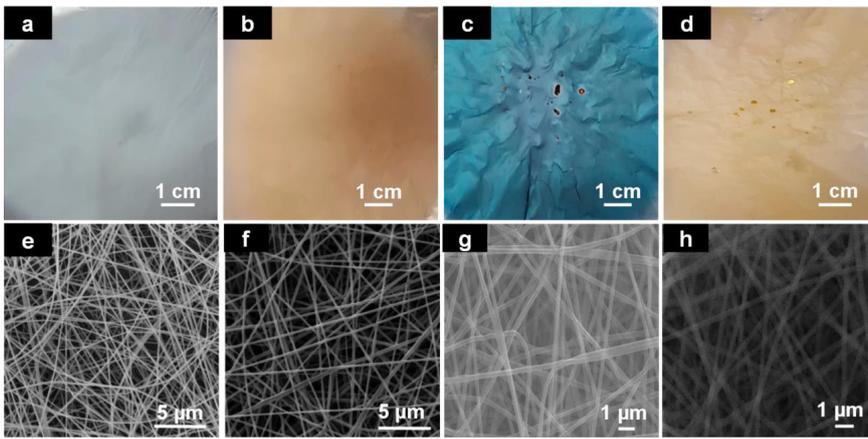


Figura 1

Fotografías de fibras electrohiladas (PVN) (a) y muestras depositadas con TiO_2 a diferentes temperaturas: (b) PVN_150, (c) PVN_200; (d) PVN_150 / 250; e imágenes SEM de: (e) PVN, (f) PVN_150, (g) PVN_200; (h) PVN_150 / 250.

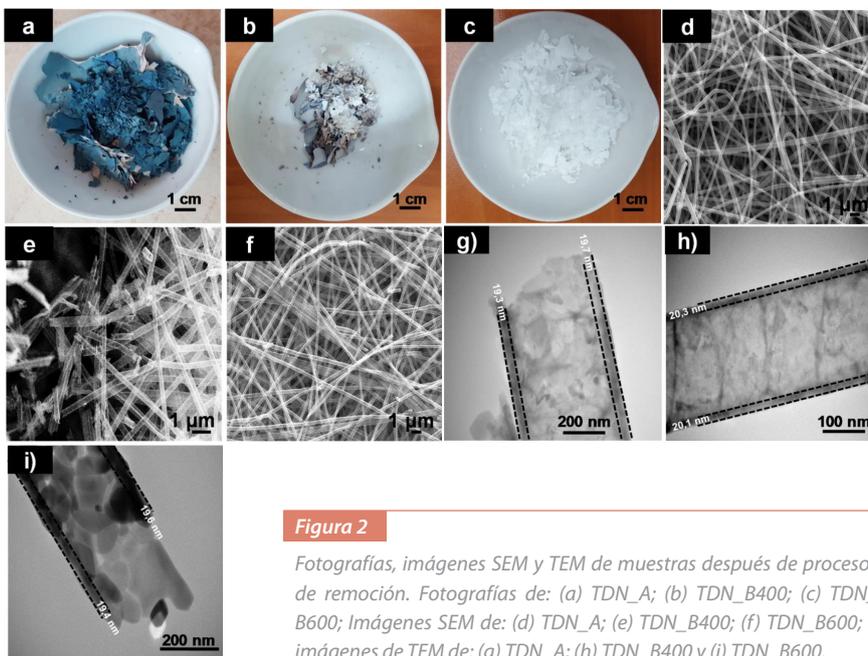


Figura 2

Fotografías, imágenes SEM y TEM de muestras después de procesos de remoción. Fotografías de: (a) TDN_A; (b) TDN_B400; (c) TDN_B600; Imágenes SEM de: (d) TDN_A; (e) TDN_B400; (f) TDN_B600; e imágenes de TEM de: (g) TDN_A; (h) TDN_B400 y (i) TDN_B600.

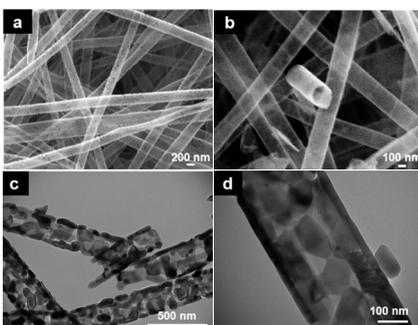


Figura 3

(a, b) imágenes SEM de TDN_B600; (c, d) imágenes TEM de TDN_B600 (20,000 aumentos y 60,000 aumentos, respectivamente).

± 2.7) nm, (20.1 ± 2.4) nm y (19.4 ± 2.6) nm para TDN_A, TDN_B400 y TDN_B600, respectivamente. El espesor de TiO_2 no presentó diferencias significativas entre las muestras, lo que demuestra que la deposición ocurrió a $200^\circ C$ y mostró una alta uniformidad. Además, a esta temperatura de la cámara, se logró la mayor eficiencia de ALD ya que el crecimiento por ciclo (GPC) fue de aproximadamente 0.04 Angstroms / ciclo (de acuerdo con la receta del proveedor).

Este pequeño espesor de pared es muy interesante ya que otros métodos han resultado en nanopartículas con un tamaño de partícula más grande. Estos resultados

revelaron que, además de la temperatura, el grosor de los nanotubos resultantes del proceso ALD también depende claramente de otros factores, principalmente el sustrato y los precursores utilizados.

LOS RESULTADOS DE LAS ACTIVIDADES ANTIMICROBIANAS

Los compuestos presentaron capacidades antimicrobianas interesantes y, como era de esperar, la reducción de todas las concentraciones bacterianas aumentó a medida que aumentó la concentración de dióxido de titanio en los nanotubos. Las concentraciones de TDN entre 150 y 400 $\mu g / ml$ dieron como resultado una inhibición alta y, a veces, total de las bacterias estudiadas.

En comparación con otras nanopartículas cuyas propiedades bactericidas se informaron en trabajos anteriores, la TDN presentó mayores capacidades antibacterianas. Las concentraciones de nanopartículas comunes utilizadas para inhibir las bacterias grampositivas y gramnegativas fueron notablemente más altas que las concentraciones de TDN utilizadas en este trabajo. El rango de dosificación aplicada común de diferentes nanopartículas, tales como NP de óxido de zinc, plata, níquel y NP de óxido de cobre estuvo entre 0,35 y 20 mg / L.

Finalmente, esta investigación ha demostrado la combinación de las técnicas de electrospinning y la deposición de la capa atómica como una forma atractiva de obtener nuevas nanoestructuras de óxido metálico con prometedores propósitos antimicrobianos. Los nanotubos de dióxido de titanio se desarrollaron satisfactoriamente a través de la deposición de capa atómica sobre nanofibras electrohiladas de alcohol polivinílico. Los mecanismos específicos que gobiernan las actividades antimicrobianas de la TDN no se estudiaron en esta investigación y, al igual que con otras nanopartículas, es un gran desafío comprender las contribuciones individuales y sinérgicas de los efectos físicos, químicos y eléctricos de las nanopartículas en las células. El análisis antimicrobiano reveló que la TDN mostró mayor poder bactericida contra *Escherichia coli* que las nanopartículas de TiO_2 comerciales, pero menor actividad en el caso de *Staphylococcus aureus*. Los resultados evidenciados por las actividades bactericidas son altamente dependientes de muchos factores, incluidas las propiedades intrínsecas de los nanomateriales y el tipo de bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

- Colavecchio, A.; Cadieux, B.; Lo, A.; Goodridge, L.D. Bacteriophages Contribute to the Spread of Antibiotic Resistance Genes among Foodborne Pathogens of the Enterobacteriaceae Family—A Review. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 1108. [CrossRef] [PubMed]
- Shamsizadeh, Z.; Nikaeen, M.; Nasr Esfahani, B.; Mirhoseini, S.H.; Hatamzadeh, M.; Hassanzadeh, A. Detection of antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospital environments: Potential sources for transmission of *Acinetobacter* infections. *Environ. Health Prev. Med.* 2017, 22, 44. [CrossRef] [PubMed]
- Wang, L.; Hu, C.; Shao, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. *Int. J. Nanomed.* 2017, 12, 1227–1249. [CrossRef] [PubMed]
- Zhang, M.; Zhao, Y.; Yan, L.; Peltier, R.; Hui, W.; Yao, X.; Cui, Y.; Chen, X.; Sun, H.; Wang, Z. Interfacial Engineering of Bimetallic Ag/Pt Nanoparticles on Reduced Graphene Oxide Matrix for Enhanced Antimicrobial Activity. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016, 8, 8834–8840. [CrossRef] [PubMed]
- Rai, M.K.; Deshmukh, S.D.; Ingle, A.P.; Gade, A.K. Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2012, 112, 841–852. [CrossRef] [PubMed]
- Sui, M.; Zhang, L.; Sheng, L.; Huang, S.; She, L. Synthesis of ZnO coated multi-walled carbon nanotubes and their antibacterial activities. *Sci. Total Environ.* 2013, 452–453, 148–154. [CrossRef] [PubMed]
- Yah, C.S.; Simate, G.S. Nanoparticles as potential new generation broad spectrum antimicrobial agents. *Daru* 2015, 23, 43. [CrossRef] [PubMed]
- Zhang, X.-F.; Liu, Z.-G.; Shen, W.; Gurunathan, S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 1534. [CrossRef] [PubMed]
- De Oliveira, R.C.; de Foggia, C.C.; Teixeira, M.M.; Da Silva, M.D.P.; Assis, M.; Francisco, E.M.; Pimentel, B.N.; Pereira, P.F.; Vergani, C.E.; Machado, A.L.; et al. Mechanism of Antibacterial Activity via Morphology Change of α -AgVO₃: Theoretical and Experimental Insights. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2017, 9, 11472–11481. [CrossRef] [PubMed]
- Pal, S.; Tak, Y.K.; Song, J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, 73, 1712–1720. [CrossRef] [PubMed]
- Panáčĕk, A.; Kvítek, L.; Pucek, R.; Kolář, M.; Vecĕřová, R.; Pizúrová, N.; Sharma, V.K.; Neveĕná, T.; Radek, Z. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 16248–16253. [CrossRef] [PubMed]
- Galdiero, S.; Falanga, A.; Vitiello, M.; Cantisani, M.; Marra, V.; Galdiero, M. Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents. *Molecules* 2011, 16, 8894–8918. [CrossRef] [PubMed]
- Raza, M.A.; Kanwal, Z.; Rauf, A.; Sabri, A.N.; Riaz, S.; Naseem, S. Size- and Shape-Dependent Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles Synthesized by Wet Chemical Routes. *Nanomaterials* 2016, 6, 74. [CrossRef] [PubMed]
- Tamayo, L.A.; Zapata, P.A.; Vejar, N.D.; Azócar, M.I.; Gulppi, M.A.; Zhou, X.; Thompson, G.E.; Rabagliati, F.M.; Páez, M.A. Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into *Listeria monocytogenes*. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2014, 40, 24–31. [CrossRef] [PubMed]
- Wu, D.; Fan, W.; Kishen, A.; Gutmann, J.L.; Fan, B. Evaluation of the Antibacterial Efficacy of Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* Biofilm. *J. Endod.* 2014, 40, 285–290. [CrossRef] [PubMed]
- Agarwal, S.; Greiner, A.; Wendorff, J.H. Functional materials by electrospinning of polymers. *Prog. Polym. Sci.* 2013, 38, 963–991. [CrossRef]
- Li, X.; Li, Z.; Wang, L.; Ma, G.; Meng, F.; Pritchard, R.H.; Gill, E.L.; Liu, Y.; Huang, Y.Y.S. Low-Voltage Continuous Electrospinning Patterning. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016, 8, 32120–32131. [CrossRef] [PubMed]
- Marichy, C.; Bechelany, M.; Pinna, N. Atomic Layer Deposition of Nanostructured Materials for Energy and Environmental Applications. *Adv. Mater.* 2012, 24, 1017–1032. [CrossRef] [PubMed]
- Nielsch, K.; Bachmann, J.; Daub, M.; Jing, J.; Knez, M.; Gösele, U.; Barth, S.; Mathur, S.; Escrib, J.; Altbir, D. Ferromagnetic Nanostructures by Atomic Layer Deposition: From Thin Films Towards Core-Shell Nanotubes. In *ECS Transactions*; ECS: Wollerau, Switzerland, 2007; Volume 11, pp. 139–148.
- Haider, A.; Ozgit-Akgun, C.; Kayaci, F.; Okyay, A.K.; Uyar, T.; Biyikli, N. Fabrication of AlN/BN bishell hollow nanofibers by electrospinning and atomic layer deposition. *APL Mater.* 2014, 2, 96109. [CrossRef]
- Heikkilä, P.; Hirvikorpi, T.; Hilden, H.; Sievänen, J.; Hyvärinen, L.; Harlin, A.; Vähä-Nissi, M. High surface area nanostructured tubes prepared by dissolution of ALD-coated electrospun fibers. *J. Mater. Sci.* 2012, 47, 3607–3612. [CrossRef]
- Peng, Q.; Sun, X.-Y.; Spagnola, J.C.; Hyde, G.K.; Spontak, R.J.; Parsons, G.N. Atomic Layer Deposition on Electrospun Polymer Fibers as a Direct Route to Al₂O₃ Microtubes with Precise Wall Thickness Control. *Nano Lett.* 2007, 7, 719–722. [CrossRef] [PubMed]
- Borbón-Núñez, H.A.; Dominguez, D.; Muñoz-Muñoz, F.; Lopez, J.; Romo-Herrera, J.; Soto, G.; Tiznado, H. Fabrication of hollow TiO₂ nanotubes through atomic layer deposition and MWCNT templates. *Powder Technol.* 2017, 308, 249–257. [CrossRef]
- Santala, E.; Kemell, M.; Leskelä, M.; Ritala, M. The preparation of reusable magnetic and photocatalytic composite nanofibers by electrospinning and atomic layer deposition. *Nanotechnology* 2009, 20, 35602. [CrossRef] [PubMed]
- Bishal, A.K.; Sukotjo, C.; Takoudis, C.G. Room temperature TiO₂ atomic layer deposition on collagen membrane from a titanium alkylamide precursor. *J. Vac. Sci. Technol. A Vacuum Surf. Films* 2017, 35, 01B134. [CrossRef]
- Ghosh, S.; Das, A.P. Modified titanium oxide (TiO₂) nanocomposites and its array of applications: A review. *Toxicol. Environ. Chem.* 2015, 97, 491–514. [CrossRef]
- Ma, W.; Li, J.; Liu, Y.; Ren, X.; Gu, Z.-G.; Xie, Z.; Liang, J. Preparation and characterization of excellent antibacterial TiO₂/N-halamines nanoparticles. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 2016, 506, 284–290. [CrossRef]
- Dufefoi, W.; Moniz, K.; Allen-Vercoe, E.; Ropers, M.-H.; Walker, V.K. Impact of food grade and nano-TiO₂ particles on a human intestinal community. *Food Chem. Toxicol.* 2017, 106, 242–249. [CrossRef] [PubMed]
- Ramesh, T.; Nayak, B.; Amirbahman, A.; Tripp, C.P.; Mukhopadhyay, S. Application of ultraviolet light assisted titanium dioxide photocatalysis for food safety: A review. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2016, 38, 105–115. [CrossRef]
- Raut, A.V.; Yadav, H.M.; Gnanamani, A.; Pushpavanam, S.; Pawar, S.H. Synthesis and characterization of chitosan-TiO₂:Cu nanocomposite and their enhanced antimicrobial activity with visible light. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2016, 148, 566–575. [CrossRef] [PubMed]
- Jiang, X.; Lv, B.; Wang, Y.; Shen, Q.; Wang, X. Bactericidal mechanisms and effector targets of TiO₂ and Ag-TiO₂ against *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 2017. [CrossRef] [PubMed]
- Podporska-Carroll, J.; Panaitescu, E.; Quilty, B.; Wang, L.; Menon, L.; Pillai, S.C. Antimicrobial properties of highly efficient photocatalytic TiO₂ nanotubes. *Appl. Catal. B Environ.* 2015, 176–177, 70–75. [CrossRef].

Nanosíntesis LAB

Universidad Central de Chile

www.nanosintesis.cl