



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

“Síntesis y Funcionalización de Nanopartículas Superparamagnéticas de Magnetita (Fe_3O_4) para la generación de hipertermia magnética”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS EN:

CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

P R E S E N T A

QFB. MARICELA SANTANA VÁZQUEZ

TUTOR: DR. JAIME SANTOYO SALAZAR

POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

COMITÉ TUTOR

DR. RAÚL HERRERA BECERRA

INSTITUTO DE FÍSICA-UNAM

DRA. ELIZABETH CHAVIRA MARTÍNEZ

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES-UNAM

MÉXICO, D.F

NOVIEMBRE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi Mami por enseñarme a ser la persona que soy y a quién le admiro su fortaleza de carácter, A mi padre por permitirme llevar a cabo todos mis sueños e impulsarme para lograrlos. Porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada esta meta.

A mis hermanas Karen y Jessica, gracias por ser unas mujeres maravillosas, gracias por apoyarme siempre en todo.

A mi bella sobrina Meyzel por contagiarme de toda su alegría que sirva como un impulso en el camino del estudio.

A Rodrigo, gracias por el tiempo compartido en el cual hemos vivido hermosos momentos, gracias por estar conmigo en este día tan importante para mí y darte las gracias por todo el apoyo que me has dado para continuar y seguir con mi camino y recuerda que eres muy importante para mí.

AGRADECIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por abrirme sus puertas al estudio de un posgrado y por su apoyo generoso durante mi trayecto académico. También extendo mis agradecimientos al IIM-UNAM que aportó a mi formación académica.

Agradezco a mi asesor de tesis, el Dr. Jaime Santoyo Salazar quien me dio la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, además de brindarme su confianza y apoyo en todo momento.

Al M. en C. Pedro Francisco Santiago, por su gran amistad, el apoyo y consejos que me brindó durante los estudios de maestría

Al Dr. Mauricio Ortega López por el préstamo de sus instalaciones para llevar a cabo la realización de todos mis experimentos, y a todo el grupo que lo conforman, el auxiliar y estudiante de doctorado Álvaro Guzmán y Alejandro Pérez. Al M. en C. Daniel De la Torre Robles por su gran amistad.

A la Ing. Cristina Zorrilla Cangas por su constante apoyo e invaluable amistad

Al Dr. Raúl Herrera Becerra por formar parte de mi comité académico, gracias por su amistad y apoyo.

Al Dr. Alfredo Franco Pérez por su ayuda y consejos en el tratamiento de resultados IR

Agradezco a mi jurado en particular al Dr. Heriberto Pfeiffer por su dedicación en la revisión de mi tesis y por sus valiosos comentarios que complementaron mi trabajo.

Agradezco al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo financiero otorgado durante mis estudios de maestría.

Contenido

Contenido	4
RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
Justificación.....	9
Motivación del trabajo	9
OBJETIVOS	10
Objetivo General	10
Objetivo Particular.....	10
CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES	11
1.1 Terapia contra el Cáncer mediante nanopartículas magnéticas	11
1.2 Monodominio y Superparamagnetismo en nanopartículas de magnetita.....	14
1.2.1 Magnetita	14
1.2.2 Monodominio.....	17
1.2.3 Superparamagnetismo.....	19
1.3 Estabilización de nanopartículas de magnetita	20
1.4 Funcionalización de nanopartículas de magnetita	24
CAPÍTULO 2	28
Síntesis y Caracterización.....	28
2.1 Reactivos Químicos	29
2.2 Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 por el método de coprecipitación.....	31
2.3 Dispersión de nanopartículas de Fe_3O_4 empleando ácido oleico.....	33
2.4 Funcionalización de nanopartículas con Quitosano y Polietilenglicol.....	37
2.4.1 Quitosano.....	37

2.4.2 Polietilenglicol	38
2.5 Técnicas de caracterización.....	39
2.5.1 Difracción de rayos X.....	39
2.5.2 Microscopía Electrónica de Barrido	39
2.5.3 Microscopía Electrónica de Transmisión	39
2.5.4. Espectroscopia de Infrarrojo y Espectroscopia Raman	39
2.5.5 Magnetometría de Muestra Vibrante.....	40
2.5.6 Microscopía de Fuerza Atómica.....	40
CAPÍTULO 3	41
Resultados	41
3.1. Caracterización por DRX	41
3.2. Caracterización por MET	51
3.3 Dispersión de nanopartículas de magnetita con ácido oleico	55
3.3.1 Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ empleando 27% de ácido oleico	55
3.3.2 Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ empleando 13.5% de ácido oleico.....	57
3.3.3 Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ empleando 6.7% de ácido oleico.....	64
3.3.4 Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ empleando 3.7% de ácido oleico.....	66
3.3.5 Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ empleando 2.6% de ácido oleico.....	68
3.4 Funcionalización de Nanopartículas de Magnetita 3.4.1 Funcionalización de Fe ₃ O ₄ empleando Quitosano	72
3.4.2 Funcionalización de Fe ₃ O ₄ empleando Polietilenglicol.....	75
CAPÍTULO 4	79
Análisis de Resultados.....	79
Conclusiones.....	88
BIBLIOGRAFÍA	90

RESUMEN

En el presente trabajo se logró obtener nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) en monofase. Se preparó Fe_3O_4 pura por el método de coprecipitación logrando obtener nano-cristales dispersos. También se obtuvieron nano cristales de Fe_3O_4 recubiertas con dos polímeros biocompatibles: Quitosano y Polietilenglicol.

Haber obtenido nano-cristales de Fe_3O_4 dispersos por el método de coprecipitación representa un punto de partida en esta dirección pues es un método de síntesis sencillo de obtención de Fe_3O_4 y de menor costo comparando con el método orgánico.

Los productos puros se caracterizaron por diversas técnicas, las cuales incluyen difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido, microscopía electrónica de transmisión, espectroscopía RAMAN, espectroscopía de infrarojo, microscopía de fuerza magnética y magnetometría de muestra vibrante.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007. De acuerdo a las cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que alrededor de 12 millones de personas morirán al año a causa de esta enfermedad en el año 2030. En México, el cáncer en 2007 representó la tercera causa de muerte entre las mujeres con 35 303 de las cuales el cáncer de mama representó el 13.8% ^[1]

Entre los principales tratamientos para el cáncer existen las quimioterapias y las radioterapias, con efectos secundarios muy severos. Actualmente, un tratamiento alternativo para el cáncer se encuentra en desarrollo en Europa y Estados Unidos, y tiene como fin aplicar la nanotecnología para combatirlo es la hipertermia magnética. Este tratamiento consiste en introducir una suspensión estable de nanopartículas magnéticas monodispersas en el tumor; guiarlas con campo magnético externo y hacerlas vibrar con frecuencias del orden de 100 kHz mediante un campo magnético alterno de 380 Oe ^[2]. Las nanopartículas se saturan e incrementan su temperatura en un orden de 40 a 42 °C. Las células cancerosas no resisten el calor generado y un gran número de ellas son eliminadas o sensibilizadas a la acción de agentes citotóxicos, sin afectar a otros órganos del cuerpo.

Dentro de los materiales ya estudiados con capacidad de ofrecer esta alternativa se encuentra la magnetita (Fe_3O_4). Sin embargo, en este y otros materiales cerámicos, aún se presenta la limitante respecto a la aglomeración que se forma en el producto sintetizado debido a las fuertes interacciones magnetostáticas en dichas nanopartículas.

El origen de la amplia funcionalidad magnética de las nanopartículas de Fe_3O_4 radica en que sus propiedades magnéticas dependen fuertemente tanto de su composición

química como de la manera en la que los cationes se distribuyen en la estructura tipo espinela.

El interés de este trabajo de tesis es fundamentalmente obtener nanopartículas de Fe_3O_4 en un tamaño de partícula por debajo del cual se observan fenómenos de relajación superparamagnética.

Por tal motivo, se investigó la obtención de nanopartículas de Fe_3O_4 dispersas empleando ácido oleico por el método de coprecipitación; con el propósito de optimizar el método de síntesis y así emplear nanopartículas dispersas para su posterior encapsulación con Quitosano (CTS) y Polietilenglicol (PEG) esto nos permitiría una vez caracterizadas las muestras emplear las nanopartículas en los siguientes estudios de hipertermia tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*.

Justificación

Optimizar la síntesis de nanopartículas por el método de coprecipitación empleando ácido oleico como estabilizador, así como observar las propiedades superparamagnéticas de nanopartículas de magnetita después de ser funcionalizadas con polímeros cuya propiedad es su biocompatibilidad además de ser biodegradables.

Motivación del trabajo

Las nanopartículas magnéticas presentan múltiples aplicaciones biomédicas tanto *in vitro* como *in vivo*, tradicionalmente, para estas aplicaciones biomédicas se han utilizado nanopartículas formadas por un núcleo de óxido de hierro (magnetita Fe_3O_4). Las propiedades más importantes de estas para el diagnóstico clínico y terapias médicas son claramente no toxicidad, biocompatibilidad, inyectabilidad así como la acumulación de alto nivel en el tejido u órgano específico. Las nanopartículas deben ser suficientemente pequeñas como para circular por el torrente sanguíneo y los sistemas capilares sin obstruirlos. También es imprescindible que sean estables, tengan una alta magnetización y un recubrimiento que los haga biocompatibles. Por el contrario puede ocurrir, cuando las nanopartículas se inyectan en la sangre, una adsorción inespecífica de proteínas de plasma en la superficie de las nanopartículas. Este fenómeno es conocido como opsonización, debido a dos efectos principales: la alta relación de superficie y volumen, así como las fuerzas de atracción entre las nanopartículas magnéticas, dando como resultado un rápido aclaramiento de las nanopartículas. Para prevenir tales efectos, varios polímeros sintéticos y naturales, deben ser empleados para recubrir la superficie de éstas. Por otro lado una de las ventajas del empleo de magnetita es que al ser un óxido de hierro, dentro del organismo éste se elimina en las vesículas de los macrófagos, o bien entra en almacenamiento de hierro intracelular (por ejemplo, ferritina) o se transfiere a la transferrina del plasma para el transporte a las células precursoras eritroides para su incorporación en la hemoglobina.

Con estas premisas, se quiere obtener nanopartículas superparamagnéticas de magnetita funcionalizadas con quitosano y polietilenglicol para futuros estudios en el tratamiento de cáncer por hipertermia.

OBJETIVOS

Objetivo General

- ✓ Sintetizar, funcionalizar y caracterizar nanopartículas de magnetita monodispersas en un intervalo de tamaño de 10-15 nm para futuras aplicaciones de tratamiento contra el cáncer mediante hipertermia

Objetivo Particular

- ✓ Sintetizar nanopartículas de Fe_3O_4 mediante el método de coprecipitación
- ✓ Caracterizar estructural y morfológicamente las nanopartículas de magnetita sin funcionalizar y funcionalizadas por difracción de rayos X, microscopia electrónica de barrido así como la distribución de tamaño mediante microscopia electrónica de transmisión
- ✓ Determinar la interacción de dominios magnéticos en nanopartículas encapsuladas de magnetita mediante microscopía de fuerza magnética
- ✓ Determinar la respuesta magnética de las nanopartículas encapsuladas y sin encapsular mediante la medición de sus curvas de histéresis

CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES

1.1 Terapia contra el Cáncer mediante nanopartículas magnéticas

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo; en 2008 causó 7,6 millones de defunciones (aproximadamente un 13% del total). Se sabe mucho acerca de las causas del cáncer y las intervenciones para prevenirlo y tratarlo, sin embargo los tratamientos reducen la calidad del paciente hasta impedir que no terminen con los tratamientos adecuados. Actualmente es posible reducir y controlar el cáncer aplicando estrategias de base científica destinadas a la prevención de la enfermedad así como a la detección temprana y al tratamiento de enfermos ^[1].

Estudios recientes indican que un tumor consiste de una población pequeña de células madre cancerígenas (CSCs) que son capaces de mantener y generar un tumor en su totalidad, estas células tienen la capacidad de tener una división celular asimétrica, generando una célula hija idéntica y otra que tiene un proceso de diferenciación distinto. Esta última se somete a una serie de pasos de división y diferenciación que resulta en la generación de poblaciones de células diferenciadas terminales. Todos estos fenotipos, denominados colectivamente células iniciadoras del tumor, tienen el potencial de generar un tumor completo (fig. 1). ^[2]

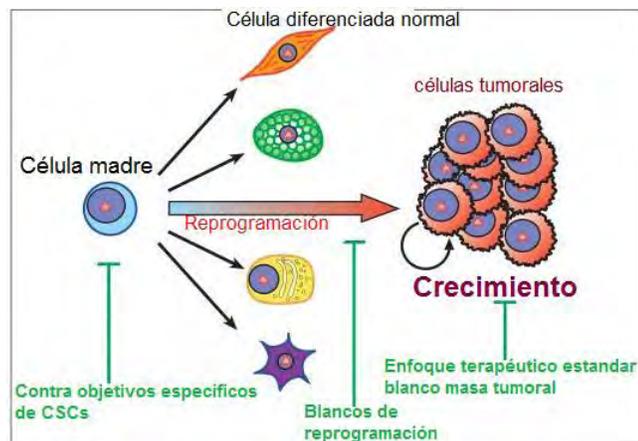


Fig. 1 Células madre cancerígenas ^[3]

Desde hace años sabemos que muchos tratamientos contra el cáncer no generan una respuesta de eliminación total de las células malignas y, por lo tanto, no conllevan a su curación. En muchas ocasiones, un pequeño grupo de células resiste el efecto de los tratamientos de quimioterapia, radioterapia y logran evadir la respuesta de los fármacos. Estas células residuales se comportan como células activas tumorales, aunque a veces de bajo índice mitótico, es decir crecen lentamente, por lo que la mayoría de los fármacos antitumorales clásicos les afectan en menor grado.

Actualmente, el tratamiento por hipertermia, que utiliza temperaturas elevadas en el intervalo de 41-46°C para eliminar las células tumorales, ha demostrado que mejora la respuesta al tratamiento y a la supervivencia cuando se utiliza en combinación con radioterapia, cirugía y/o quimioterapia [29].

Hoy en día las nanopartículas con tamaños de 1-100nm, poseen propiedades físicas y químicas únicas que desempeñan un papel importante en diferentes áreas de investigación que van desde la electrónica hasta la biomedicina. Recientemente, las nanopartículas de magnetita, que son sensibles a un campo magnético, han mostrado ventajas prometedoras en la terapia del cáncer (fig. 2), al modificar su superficie la cual juega un papel muy importante en el área biomédica.

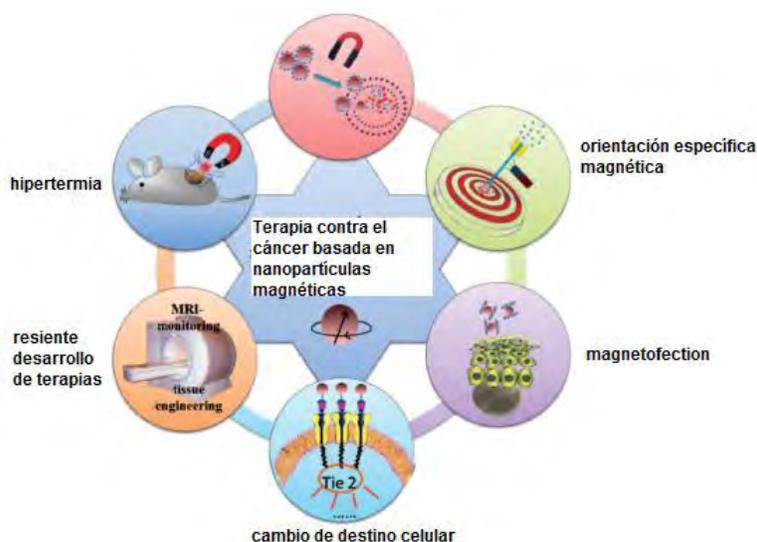


Fig. 2 Representación esquemática de terapias contra el cáncer basada en nanopartículas magnéticas [4]

La hipertermia es un tratamiento basado en la generación de calor en un sitio del tumor ($41\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 46\text{ }^{\circ}\text{C}$), lo que resulta en la activación o iniciación de varios mecanismos de degradación en el tejido canceroso. Lo más interesante de este tratamiento es que las células cancerosas pueden ser destruidas a estas temperaturas, mientras que las células normales sobreviven debido a que las células cancerosas son muy sensibles al calor [4]. Históricamente en 1979 Gordon et al, aplicó el concepto de hipertermia intracelular mediante el uso de magnetita cubiertas con dextran, y en 1993, se informó el primer estudio prospectivo para aplicaciones clínicas en humanos. Desde entonces, el uso de la hipertermia empleando nanopartículas de magnéticas ha sido un punto de investigación debido a sus únicos beneficios como la regulación por un campo magnético, calentamiento localizado, y la permeabilidad a través de la barrera sangre-tejido [5].

Los dos factores dominantes para la generación de calor mediante nanopartículas magnéticas bajo un campo magnético alterno son, la histéresis y el comportamiento de relajación. La histéresis es una representación gráfica de los diferentes estados por los que pasa el material magnético a lo largo del ciclo de magnetización que se origina por la variación de la energía interna de las partículas magnéticas. En este caso, el mecanismo por el cual se genera calor es la pérdida por histéresis en una variación rápida de los momentos magnéticos. Por otro lado, el comportamiento de relajación incluye el modo rotacional (browniano) y de Néel particularmente en nanopartículas superparamagnéticas suspendidas en un fluido. La relajación browniana está dada por el momento giratorio de toda la partícula, mientras que la relajación Néel está relacionada con el momento magnético de rotación dentro del núcleo magnético (fig.3).

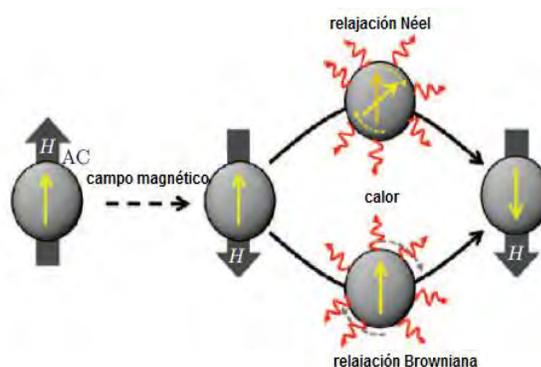


Fig. 3 Procesos de relajación Néel y Browniano [5]

La competencia de estos dos procesos de relajación está controlado por el más rápido. Cabe mencionar, en el caso de nanopartículas magnéticas intracelulares, que los componentes intracelulares obstaculizan el movimiento de las nanopartículas, esto se traduce en el hecho de que el aporte de calor es en su mayoría por relajación Néel.

Mediante el uso de la energía térmica generada por nanopartículas magnéticas, el cáncer puede erradicarse mediante la activación de muerte celular directa a través de los procesos de necrosis o apoptosis. La apoptosis se lleva a cabo en la primera etapa de hipertermia. Con el aumento de la temperatura, la apoptosis celular se reduce, con un aumento de necrosis. La necrosis es un proceso de muerte celular provocada directamente por la destrucción de la estructura celular, y la disfunción completa de las vías metabólicas [4].

1.2 Monodominio y Superparamagnetismo en nanopartículas de magnetita

1.2.1 Magnetita

La magnetita Fe_3O_4 es un mineral de hierro constituido por un óxido mixto de Fe^{+2} y Fe^{+3} . Contiene el 31.03% de FeO y el 68.97% Fe_2O_3 . La magnetita es uno de los óxidos más extendidos por la corteza terrestre, puede encontrarse en diferentes tipos de rocas ígneas, metamórficas y sedimentarias. La mayoría de las rocas ígneas que se forman en las profundidades contienen una pequeña cantidad de cristales de magnetita. La magnetita pertenece al grupo de las espinelas.

Las espinelas forman un amplio grupo de cristales inorgánicos cuya estructura está relacionada con la del propio mineral MgAl_2O_4 . La fórmula general de las espinelas es XY_2O_4 . La celda unidad es cúbica centrada en las caras, y contiene 32 aniones. El grupo espacial es $\text{Fd}3\text{m}$. para una red ideal de aniones, cúbica centrada en las caras, las posiciones vienen definidas por el denominado parámetro aniónico u , $u=0.375$, es decir $3/8$. El parámetro aniónico está íntimamente relacionado con el parámetro de red

a. Así, al igual que a varía en las espinelas, también lo hace el parámetro u , y adopta valores entre 0.37 y 0.40 dependiendo del tipo de cationes que se encuentren dentro de la estructura. Los dos factores que determinan la posibilidad de combinación entre átomos para formar una estructura tipo espinela, son la carga catiónica y los tamaños relativos de los cationes. Dentro de este tipo de materiales, la distribución catiónica en la estructura tipo espinela es de suma importancia.

En la estructura espinela normal los ocho cationes X ocupan las ocho posiciones tetraédricas y los cationes Y ocupan las 16 posiciones octaédricas, dando la fórmula $X_8Y_{16}O_{32}$ (equivalente a XY_2O_4). En la estructura de la espinela normal los conceptos generales de la relación de radios no se aplica, realmente el catión mayor está en el poliedro menor y viceversa. En la estructura inversa de la espinela, 8 de los 16 cationes Y ocupan las ocho posiciones tetraédricas, dando lugar a la fórmula $Y(YX)O_4$. Además de las anteriores espinelas con óxidos mixtos de iones A(II), B(III) existen otras con iones con cargas diferentes: A(IV), B(II) A(VI), B(I) Ejemplo Zn_2TiO_4

Existen espinelas del tipo $Zn_{x-1}Cu_xMn_2O_4$, los cuales son materiales que se pueden encontrar como fases secundarias en los cerámicos de tipo varistor (un varistor es un dispositivo semiconductor que se utiliza para el filtrado de línea). La estructura cristalina y propiedades eléctricas se ven alteradas por la adición de cobre a la espinela. Estructuralmente, la adición de cobre genera la formación de espinelas parcialmente inversas y eléctricamente estos materiales se vuelven mucho más conductores. En el caso del $NiFe_2O_4$, se trata de una espinela con estructura parcialmente inversa, donde los cationes Ni^{2+} ocupan las posiciones B, y los cationes Fe^{3+} están ocupando igualmente posiciones A y B. debido a la mayor importancia de las interacciones A-B, sobre las A-A y las B-B, donde los espines se alinean de forma paralela, permiten que este compuesto sea ferromagnético a temperatura ambiente.

En concreto, la magnetita es una espinela inversa, ya que el catión divalente Fe^{2+} se encuentra en los huecos octaédricos, mientras que el catión trivalente Fe^{3+} se encuentra en los huecos tetraédricos y octaédricos ($[Fe^{3+}]_t[Fe^{2+}, Fe^{3+}]_o O_4$). Por cada n átomos de oxígeno la espinela presenta $4n$ huecos octaédricos y $8n$ huecos tetraédricos. De estos, sólo se ocupan $\frac{1}{2}$ de los huecos octaédricos y $\frac{1}{8}$ de los huecos tetraédricos (fig.4) ^[12]

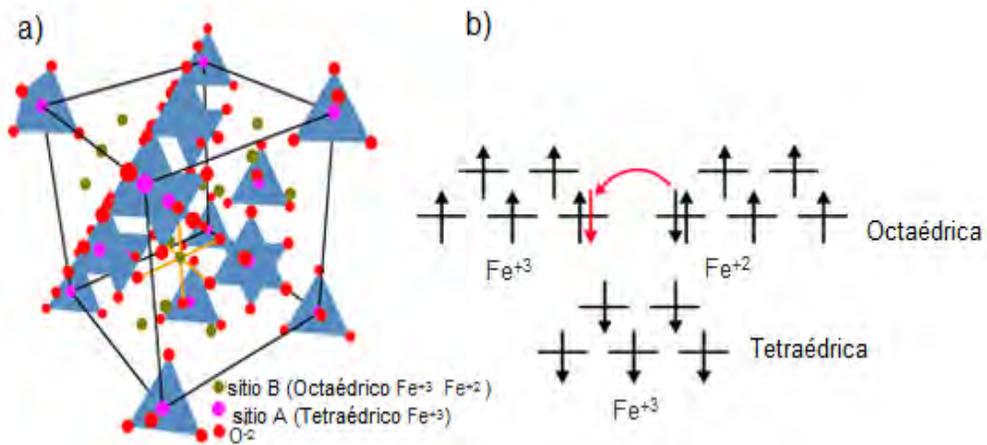


Fig. 4 a) Estructura cristalina de la magnetita con el grupo espacial $Fd\bar{3}m$, b) representación esquemática de los orbitales 5d en coordinación tetraédrica y octaédrica

Con respecto a sus propiedades magnéticas, su fuerte magnetismo se debe a un fenómeno de ferrimagnetismo. Es decir, tiene un momento magnético neto a partir de dos tipos de átomos con momentos magnéticos de diferente magnitud que se disponen en forma antiparalela.

El ferrimagnetismo (fig.5), es un tipo de magnetización permanente que poseen algunos materiales cerámicos. Los principios del ferrimagnetismo se ilustran para el caso de las ferritas cúbicas. El prototipo de ferrita es Fe_3O_4 , el mineral magnetita, a veces denominado piedra imán. En la magnetita los iones Fe existen en los estados de valencia 2+ y 3+ en una proporción 1:2. Para cada uno de los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} existe un momento magnético el cual corresponde a 4 y 5 magnetones de Bohr, respectivamente, para ambos tipos de iones. Además, los iones O^{2-} son magnéticamente neutros. Entre los iones Fe se producen interacciones de acoplamiento de los espines en las direcciones antiparalelas, similares a las que se producen en el caso del antiferromagnetismo. Sin embargo, se produce un momento ferrimagnético neto debido a que los momentos de espín no se cancelan completamente.

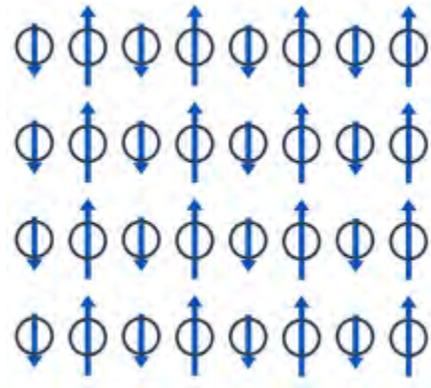


Fig. 5. Fenómeno de ferrimagnetismo en el mineral de magnetita

El factor crítico es la distribución de los momentos de espín de los iones Fe. Los momentos de espín de todos los iones Fe^{3+} en las posiciones octaédricas están alineados paralelos entre sí; sin embargo, están dirigidos en sentido opuesto a los iones Fe^{3+} de las posiciones tetraédricas, los cuales también están alineados. Esto se produce como resultado del acoplamiento antiparalelo de los momentos magnéticos de los iones de Fe adyacentes. Por lo tanto, los momentos magnéticos de espín de todos los iones de Fe^{3+} se anulan entre sí y no contribuyen a la magnetización del sólido. Todos los iones de Fe^{2+} tienen sus momentos magnéticos alineados en la misma dirección y su momento total es el responsable de la magnetización neta del material [12].

1.2.2 Monodominio

Debido al acoplamiento de espines las interacciones de intercambio y su orientación establecida por la anisotropía se genera un flujo magnético intenso. Bajo estas condiciones la energía de intercambio y de anisotropía son minimizadas, pero la energía magnetostática se aumenta. Por esta razón surge la aparición de dominios en un material con el propósito de minimizar la energía magnetostática fig. 6.

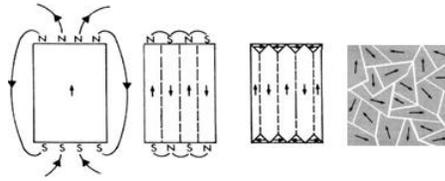


Fig. 6 Origen de los dominios magnéticos

En un dominio ferromagnético, hay alineación paralela del momento atómico. En un dominio de ferrita, el momento neto de la interacción antiferromagnética está orientado en paralelo de forma espontánea el uno al otro (incluso sin un campo magnético aplicado). El término, magnetización espontánea se emplea para describir esta propiedad. Cada dominio se convierte en un imán compuesto por imanes más pequeños (momentos ferromagnéticos). Los dominios contienen alrededor de 10^{12} a 10^{15} átomos y sus dimensiones son del orden de micras (10^{-4} cm). Su tamaño y geometría se rigen por ciertas consideraciones ^[16].

Cuando el volumen de una partícula es reducido por debajo de un valor determinado, también llamado tamaño de dominio crítico, $D_{\text{crítico}}$, la reducción en la energía magnetostática es demasiado pequeña para mantener una pared de dominio, por lo que éstas permanecen como monodominios. Dentro de este único dominio magnético o monodominio, todos los momentos magnéticos atómicos se magnetizan en la misma dirección. La reducción del tamaño de los materiales trae consigo la aparición de nuevas propiedades magnéticas dentro de los materiales. La magnetización de estas nanopartículas puede fluctuar debido a la energía térmica, dándose el fenómeno llamado superparamagnetismo ^[12].

El comportamiento de magnetización de nanopartículas ferromagnéticas y superparamagnéticas bajo un campo externo se puede apreciar en la fig. 7. (a) En un campo magnético externo, los dominios de una nanopartícula ferromagnética se alinean con respecto al campo aplicado y se conserva energía de remanencia cerrada o reducida. El momento magnético de un monodominio en nanopartículas superparamagnéticas se alinean con el campo aplicado. En ausencia de un campo externo, las nanopartículas ferromagnéticas mantienen una magnetización neta, mientras que las nanopartículas superparamagnéticas no exhibirán magnetización neta

debido a la rápida reducción del momento magnético. La fig. 7. (b) muestra la relación entre el tamaño de las nanopartículas y la estructura de dominios magnéticos. D_s (Superparamagnetismo) y D_c (tamaño crítico) [17].

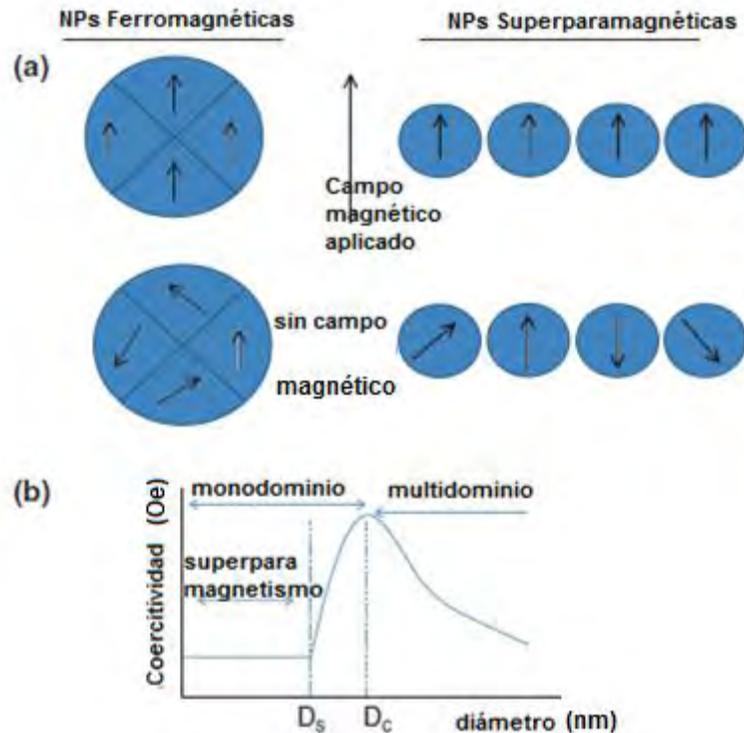


Fig. 7. comportamiento de magnetización de nanopartículas ferromagnéticas y superparamagnéticas bajo un campo externo [17]

1.2.3 Superparamagnetismo.

La teoría superparamagnética considera que todos los momentos magnéticos dentro de la partícula rotan coherentemente, es decir, el momento magnético puede ser representado por un vector clásico único, con magnitud $\mu = \mu_{at}N$ donde μ_{at} es el momento magnético del átomo y N es el número de átomos magnéticos que forman parte de la partícula. La suposición más simple es considerar una constante de anisotropía uniaxial efectiva, K , que conduce a una barrera de energía para la rotación de la magnetización la cual es proporcional a KV , donde V es el volumen de la partícula monodominio. El término anisotropía magnética básicamente es utilizado para describir

la dependencia de la energía interna con la dirección de la magnetización espontánea, creando por tanto direcciones o ejes de fácil y difícil magnetización.

Existe una temperatura crítica T_B , llamada temperatura de bloqueo, por debajo de la cual se pueden despreciar las fluctuaciones térmicas. Por debajo de T_B los espines, y por tanto la magnetización, están bloqueados. El campo coercitivo coincide con el campo de anisotropía y nos encontramos en la región de comportamiento monodominio, en que el campo coercitivo depende únicamente de la anisotropía de la partícula. Por encima de esta temperatura la energía térmica vence fácilmente la barrera de energía de la anisotropía y la magnetización del conjunto de partículas sigue la ley de Langevin, de forma análoga a como lo hacen los átomos paramagnéticos, con la salvedad de que en este caso los portadores del momento magnético son partículas, del orden de miles de magnetones de Bohr. A este comportamiento a alta temperatura se le denomina superparamagnetismo y se caracteriza por la desaparición de la histéresis (no hay campo coercitivo ni remanencia), que en definitiva es sólo un efecto de cinética lenta respecto al tiempo de medida (fig. 8) [13, 14,15].

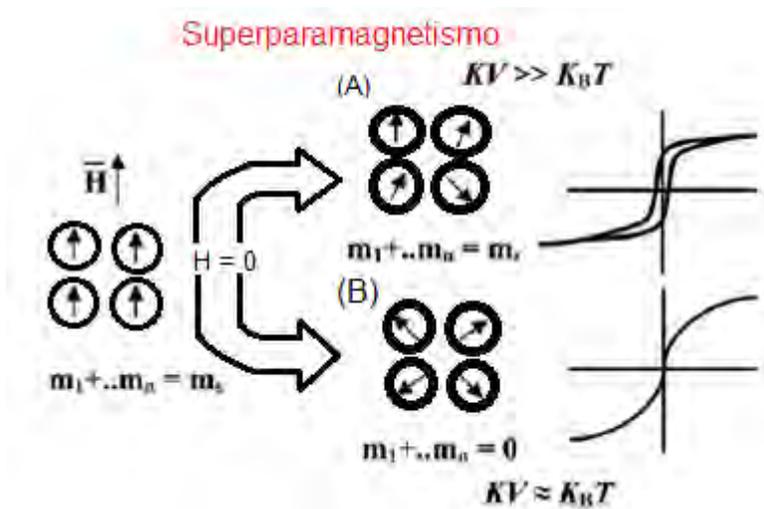


Fig. 8. Representación esquemática del efecto superparamagnético A) remanencia, B) no hay remanencia [13]

1.3 Estabilización de nanopartículas de magnetita

Las nanopartículas magnéticas son de fundamental interés en el área tecnológica por sus únicas propiedades magnéticas, las cuales son dominadas por el superparamagnetismo. Las nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) representan el material

magnético más empleado debido a su gran potencial en aplicaciones tecnológicas y biomédicas actuales y futuras.

Numerosas aplicaciones requieren que las nanopartículas de magnetita estén bien dispersas en un medio líquido, químicamente estable y de tamaño uniforme. Hay básicamente dos principales interacciones atractivas entre las partículas magnéticas en un ferrofluido, de van der Waals-London y las interacciones dipolo-dipolo que en ausencia de cualquier revestimiento en la superficie las nanopartículas tienden a la formación de aglomerados. Por esta razón, muchos estudios se han centrado en la preparación de fluidos magnéticos o ferrofluidos, que representen una suspensión coloidal estable de nanopartículas superparamagnéticas con una estrecha distribución de tamaño de grano de alrededor de 10nm, recubiertas con una capa fina de moléculas tensoactivas, dispersada de manera estable en un líquido portador. El recubrimiento favorece la estabilización efectiva y la capacidad de dispersión de las nanopartículas magnéticas.

Esencialmente hay dos métodos para preparar estas nanopartículas, por reducción de tamaño y precipitación química. En la reducción de tamaño, el polvo magnético de tamaño micrométrico se mezcla con un disolvente y un dispersante en un molino de bolas por un periodo de varias semanas. Hoy en día, la precipitación química es el método más utilizado para preparar nanopartículas magnéticas. El control de la forma de las partículas de óxido de hierro depende principalmente del tipo y cantidad de surfactantes utilizados y la concentración de especies precursoras de partículas. Cuando la concentración de precursores es baja, el crecimiento es controlado termodinámicamente y la forma de las partículas tiende a ser la esférica con el objetivo de minimizar su energía superficial. Sin embargo, si la concentración de los precursores es alta, el crecimiento de las partículas es controlado cinéticamente y las especies precursoras se unen preferentemente a las caras cristalinas con mayor energía superficial dando lugar a partículas con formas diferentes a la esférica tales como cubos o tetraedros^[7].

Los ferrofluidos están formados por partículas magnéticas (por lo general magnetita, Fe_3O_4) recubiertas con agentes tensoactivos (moléculas anfifílicas, como el ácido oleico, ácido ricinoleico y los aerosoles de sodio 2-di-etilhexilo-sulfosuccinato) con el fin de prevenir su agregación. La repulsión estérica actúa como una barrera física que

mantiene los granos en solución y se estabiliza el coloide. Según el tipo de líquido portador, se distinguen dos grupos principales de ferrofluidos, ferrofluidos de base acuosa iónica, si la superficie de las nanopartículas tiene una carga eléctrica y ferrofluidos con tensoactivo de base orgánica, si la superficie de las nanopartículas es estabilizada estéricamente o de forma electrostática (fig. 9) [6].

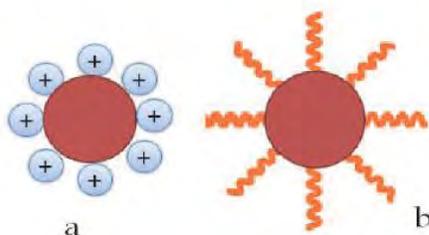


Fig. 9 Nanopartículas estabilizadas por: a) capa electrostática y b) capa estérica

Los tensoactivos empleados para la estabilización estérica tienen que ser compatibles con el líquido portador y deben superar las fuerzas atractivas (van der Waals y dipolo-dipolo) así como las interacciones repulsivas (estérica y electrostática) presentes en las nanopartículas magnéticas. En ferrofluidos iónicos, las interacciones electrostáticas de largo alcance entre partículas cargadas dan lugar a interacciones de repulsión, que garantizan la estabilidad coloidal. Por otro lado, en los ferrofluidos con tensoactivo hay fuerzas de corto alcance que dan origen a la repulsión estérica [9].

Una variedad de ácidos monocarboxílicos ha sido empleados para la estabilización estérica de nanopartículas de magnetita en medio líquido orgánico. Los ácidos monocarboxílicos consisten de una cabeza polar, con afinidad por superficies hidrofílicas y una cola no polar, con afinidad por el medio líquido no polar [10].

El ácido oleico (AO), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$, es una molécula que tiene una cola de C_{18} con doble enlace cis en el centro formando un pliegue, cuyo pliegue es necesario para la estabilización efectiva de nanopartículas contra la aglomeración, ya que en efecto la forma saturada el ácido esteárico, sin doble enlace en la cola de C_{18} no puede estabilizar ferrofluidos (fig.10). Por lo que el ácido oleico es un buen agente tensoactivo utilizado para estabilizar las nanopartículas magnéticas sintetizadas por el método de coprecipitación, y algunos estudios han demostrado la formación de un

fuerte enlace químico entre el ácido carboxílico y el hierro de las nanopartículas de magnetita ^[8].

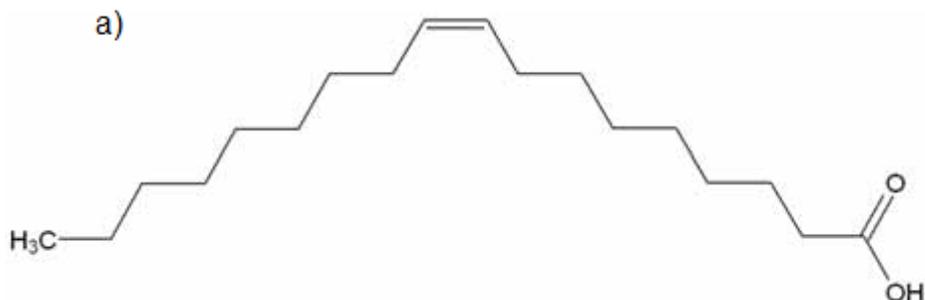


Fig. 10 a) ácido oleico

La comprensión de la interacción entre el tensoactivo y las nanopartículas es crítica y esencial para la aplicación de la síntesis de nanopartículas. Claramente, el ácido oleico interfiere en la estabilización de la espinela inversa en la ferrita, ya que la temperatura de formación estequiométrica de la magnetita es de 80°C en presencia del ácido oleico. El ácido oleico también tiene un efecto sobre el tamaño de las nanopartículas, el diámetro promedio estimado de nanopartículas sintetizadas por coprecipitación en presencia de ácido oleico es de 7 y 15nm. La presencia del ácido oleico en la superficie de las nanopartículas presenta una barrera de transferencia de masa y por lo tanto limita los procesos que conducen a la formación de la espinela inversa en la ferrita y al crecimiento de las nanopartículas ya formadas en el medio de reacción. A pH alto (11-13), durante el proceso de coprecipitación, el ácido oleico se ioniza y la superficie de las nanopartículas están cargadas negativamente debido a la ionización de los grupos -OH en el superficie. Oleato (fig.11a forma ionizada del ácido oleico) se adsorbe a la superficie como estructura de bicapa. El grupo carboxilo, de la primera capa, se orienta hacia la superficie de las nanopartículas y la cola del oleato se orienta hacia el exterior de la superficie de las nanopartículas. La cola de la segunda capa es paralela a la cola de la primer capa, por lo tanto el grupo carboxílico de la segunda capa está orientada hacia el exterior de las superficies de las nanopartículas. La estructura de cada bicapa limita la difusión de las especies hidrolizadas, necesarias para el crecimiento de las nanopartículas. Esto conduce a una reducción de la energía libre de la superficie, debido a la adsorción, que es la razón para el crecimiento limitado. Durante el proceso

de coprecipitación se promueve la unión del ácido oleico a la superficie de las nanopartículas antes de agregar el agente precipitante ya que se mantiene un pH entre 5 -4. La reducción del valor de pH, que es por debajo del punto isoeléctrico de las nanopartículas y cerca del pKa del ácido oleico, conduce a la unión coordinativa de los iones oleato a la superficie de las nanopartículas de magnetita ^[11] (fig.11b).

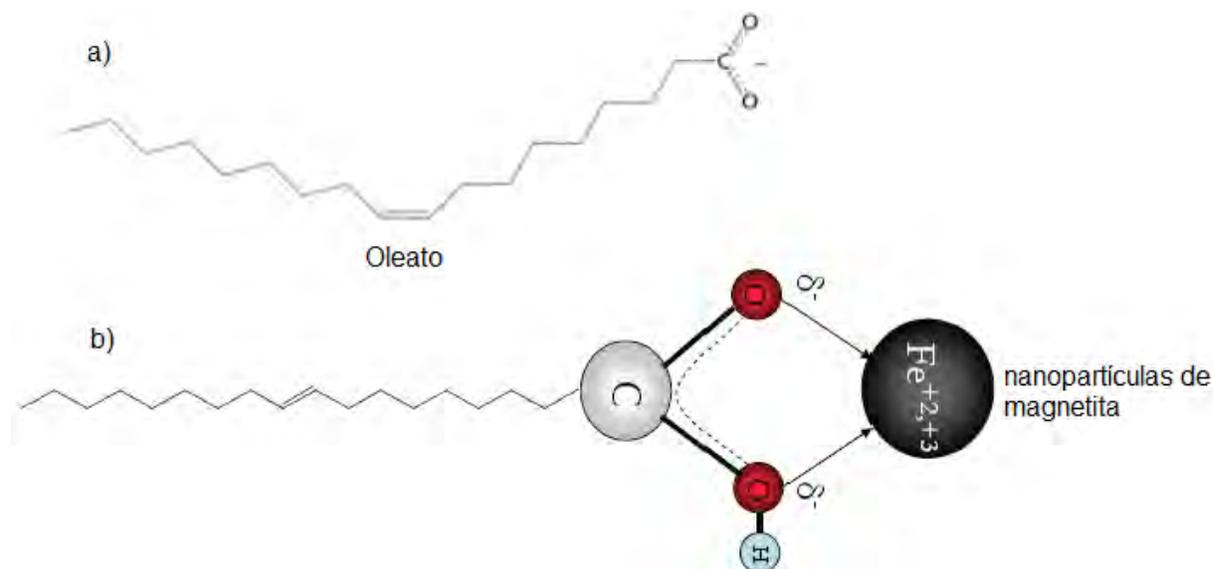


Fig. 11 a) forma ionizada del ácido oleico y b) interacción quelante bidentada entre el grupo (COO)¹⁻ del ácido oleico en la superficie de nanopartículas de magnetita

1.4 Funcionalización de nanopartículas de magnetita

La síntesis de nanopartículas de magnetita ha sido ampliamente desarrollada debido a los avances en biotecnología y ciencias de los materiales. Los nanomateriales magnéticos en la mayoría de estas aplicaciones están en forma de ferrofluidos, que son dispersiones estables de nanopartículas magnéticas en un medio de soporte orgánico o acuoso. Sin embargo, la magnetita tiende a agregarse debido a fuertes atracciones entre nanopartículas en combinación con la alta energía superficial, y, en consecuencia para aplicaciones de hipertermia las partículas aglomeradas se eliminan rápidamente tras la administración intravenosa por los macrófagos del sistema reticuloendotelial (RES). Por lo cual, la preparación, el almacenamiento y la estabilidad es de suma importancia ^[18].

Varios métodos han sido desarrollados para sintetizar nanopartículas de magnetita. Sin embargo, uno de los principales desafíos que enfrenta la mayoría de estos novedosos métodos es la capacidad de obtener nanopartículas dispersas con la composición, estructura y uniformidad deseada.

Con el fin de preparar con éxito dispersiones estables de magnetita, todas las fuerzas de atracción entre las nanopartículas deben ser separadas para aprovechar sus aplicaciones biomédicas. Para obtener nanopartículas estables en medio fisiológico a pH neutro (7.4), la superficie de las nanopartículas debe ser funcionalizada con polímeros hidrofílicos. La formulación química de las nanopartículas ha desarrollado un amplio espectro de estructuras en polímeros, los cuales son adecuados para la encapsulación, entrega y liberación controlada de fármacos. La elección del polímero depende de la capacidad de interactuar con las partículas de magnetita a través de grupos funcionales formando una capa monomolecular fuertemente unida alrededor de las partículas. Algunas ventajas al emplear polímeros naturales son su bajo costo, biocompatibilidad y solubilidad en agua. Además de ofrecer alta compatibilidad tanto en el organismo así como los fármacos y otros componentes de la formulación ^[19].

El quitosano, es un tipo de polisacárido hidrofílico natural de interés debido a sus grupos funcionales (amino e hidroxilo) que se utiliza ampliamente en aplicaciones biomédicas. El quitosano, es el producto parcialmente desacetilado de la quitina. Es un polisacárido catiónico lineal compuesto por unidades de β -(1-4)-2-desoxi-2-amino-D-glucopiranososa (D-glucosamina) y β -(1-4)-2-desoxi-2-acetamido-D-glucopiranososa (N-acetil-D-glucosamina); presenta una configuración helicoidal tridimensional estabilizada mediante enlaces de hidrógeno entre los monómeros que lo forman (fig. 12).

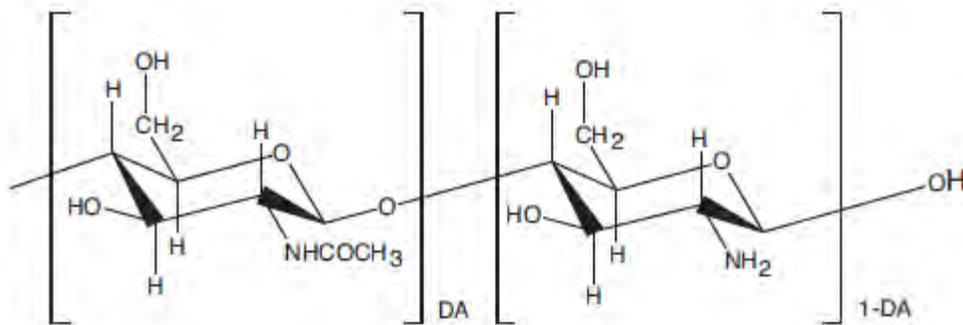


Fig.12 Estructura molecular del quitosano ^[21]

Esta molécula es de gran interés como material funcional de alto potencial en el campo de la biomedicina. El quitosano es un material GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro) por la FDA, tiene muchas ventajas debido a su no toxicidad y biodegradabilidad sin dañar el medio ambiente. Se trata de un material biocompatible que se degrada en un producto inofensivo, glucosamina que puede ser absorbido completamente por el cuerpo.

El Quitosano aumenta la permeabilidad paracelular del epitelio intestinal, esto atribuye a los polímeros la propiedad de mejorar la absorción transmucosa. Debido a los bajos costos de producción, biocompatibilidad y no toxicidad, el quitosano es un excipiente muy interesante para el empleo en encapsulación de nanopartículas de magnetita ya que presenta un carácter catiónico es decir puede mantener una carga positiva a pH ácido, confiriéndole la capacidad de interactuar con las superficies celulares y proteínas plasmáticas ^[20].

Polietilenglicol (PEG) es una condensación de óxido de etileno y agua (fig.13), es el polímero no iónico comúnmente utilizado en el campo de la administración de fármacos a base de polímero. El recubrimiento superficial de nanopartículas de magnetita por polímeros anfífilicos como el Polietilenglicol (PEG) aumenta significativamente el tiempo de circulación en sangre, minimizando la adsorción de las nanopartículas en proteínas.

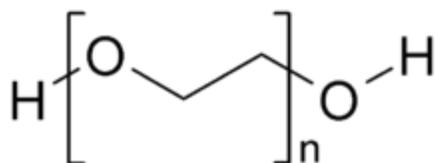


Fig. 13 Estructura molecular del Polietilenglicol

PEG se usa ampliamente como un material de recubrimiento de nanopartículas debido a las siguientes propiedades: 1) La propiedad más importante del Polietilenglicol es su solubilidad en agua, lo que lo hace idealmente adecuado para su uso en un sinnúmero de aplicaciones diferentes, 2) fácil excreción por el riñón, 3) propiedades no inmunogénicas y 4) sus propiedades no antigénicas. Además, se ha demostrado que las nanopartículas modificadas con PEG pueden interactuar con las membranas celulares mejorando la respuesta celular ^[22].

Para aplicaciones biomédicas, el tamaño, la carga y superficie química de las nanopartículas magnéticas son particularmente importantes y afectan fuertemente tanto el tiempo de circulación en sangre, así como la biodisponibilidad de las partículas dentro del cuerpo. Además, las propiedades magnéticas y la internalización dependen en gran medida del tamaño de las nanopartículas magnéticas.

Típicamente, la mayoría de los profármacos a base de PEG se han desarrollado para el suministro de agentes anticancerosos tales como metotrexato y cisplatino. Profármacos de alto peso molecular que contienen componentes citotóxicos se han desarrollado para reducir los efectos secundarios periféricos y para obtener una administración más específica de los fármacos a los tejidos cancerosos ^[23].

CAPÍTULO 2

Síntesis y Caracterización

El presente trabajo se realizó en tres etapas, la primer etapa consistió en determinar las condiciones para obtener nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) mediante síntesis por coprecipitación; la siguiente etapa fue lograr obtener nanopartículas de Fe_3O_4 dispersas empleando ácido oleico y finalmente la tercer etapa fue tomar las nanopartículas dispersas para su funcionalización empleando Quitosano y Polietilenglicol

Los productos se caracterizaron por diversas técnicas, las cuales incluyen difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía electrónica de transmisión (MET), espectroscopía de infrarrojo (IR), magnetometría de muestra vibrante (MMV), Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

2.1 Reactivos Químicos

Tabla 2.1 Reactivos empleados

<u>Hidróxido de tetraetilamonio</u> $(N(C_2H_5)_4-OH)$	Sigma-Aldrich, pureza 20%, peso molecular 147.31g/mol, densidad=1.01g/cm ³
<u>Hidróxido de tetrametilamonio</u> $(N(CH_3)_4-OH)$	Sigma-Aldrich, pureza 25%, peso molecular 91.15g/mol, densidad=1.016 g/cm ³
<u>Cloruro ferroso tetrahidratado</u> $(FeCl_2 \bullet 4H_2O)$	Sigma-Aldrich, pureza 99%, peso molecular 198.81g/mol, punto de fusión 105-110°C, densidad= 1.93 g/cm ³
<u>Cloruro de hierro hexahidratado</u> $(FeCl_3 \bullet 6H_2O)$	Sigma-Aldrich, pureza >98%, peso molecular 270.3 g/mol, punto de fusión 37°C, punto de ebullición 280 - 285 °C, densidad= 1.820 g/cm ³
<u>Polietilenglicol</u> $H(OCH_2CH_2)_nOH$	Sigma-Aldrich, peso promedio 200, pureza >97%
<u>Quitosano</u>	Sigma-Aldrich, >93% (w/w), bajo peso molecular
<u>Ácido oleico</u> $C_{18}H_{34}O_2$	Sigma-Aldrich, >99%
<u>Acetona</u> $(CH_3)_2CO$	J.T. Baker, pureza>99.5%, peso molecular 58.08g/mol

Ácido acético **CH₃CO₂H** Sigma-Aldrich, pureza >99.8%, peso molecular 60.05g/mol

Hexano **(C₆H₁₄)** J.T. Baker, pureza>99.5%, peso molecular 86.18g/mol

Tolueno **(C₆H₅CH₃)** J.T. Baker, pureza>99.7%, peso molecular 92.14 g/mol

Agua destilada J.T. Baker, reactivo, peso molecular 18g/mol

Ácido Clorhídrico **(HCl)** Sigma-Aldrich, pureza 37%, peso molecular 36.46g/mol, punto de ebullición >100°C, densidad 1.2 g/cm³ (25°C)

Metanol **(CH₃OH)** J.T. Baker, pureza 99.97%, peso molecular 32.04 g/mol

Argón **(Ar)** pureza 99.997%, peso molecular 39.95g/mol

Aceite de oliva Altamente refinado, de baja acidez

2.2 Síntesis de nanopartículas de Fe₃O₄ por el método de coprecipitación

Se llevó a cabo la síntesis de magnetita a partir de las siguientes sales de hierro FeCl₃•6H₂O, y FeCl₂ •4H₂O, esta se realizó empleando: hidróxido de tetraetilamonio (N(C₂H₅)₄-OH), así como hidróxido de tetrametilamonio (N(CH₃)₄-OH) con una relación molar $\frac{n_{base}}{n(Fe^{2+}+Fe^{3+})}=5.8$ y 4.8 para cada base bajo el procedimiento que sigue:

Inicialmente se preparó una solución acuosa de ácido clorhídrico (HCl) 2M a partir de una solución al 37% de HCl, esta solución fue desoxigenada con argón durante 30min. Una vez pesadas las sales de hierro se agregó la cantidad necesaria de HCl para preparar FeCl₃•6H₂O, 2M, y FeCl₂ •4H₂O, 1M obteniendo la relación estequiometrica 2:1 de acuerdo a la reacción 2.1 en dichas soluciones. Los frascos se taparon y se pusieron en agitación hasta la total disolución de las sales.



Posteriormente con las soluciones de hierro preparadas se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos, en una atmosfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm. La tabla 2.2 muestra el volumen empleado de Fe³⁺ y Fe²⁺ para cada base.

Tabla 2.2 Volumen de Fe³⁺ y Fe²⁺ empleado en la mezcla de reacción para cada base

	N(CH ₃) ₄ -OH	N(C ₂ H ₅) ₄ -OH
Fe ³⁺	5mL	5mL
Fe ²⁺	5mL	5mL

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C. A esta temperatura se comenzó a adicionar la solución 1M de cada base y la temperatura se mantuvo hasta el final del experimento. La tabla 2.3 muestra el volumen de base empleado por relación $\frac{n_{base}}{n(Fe^{2+}+Fe^{3+})} = 5.8$ y 4.8.

Tabla 2.3 Volumen empleado por base de acuerdo a la relación 4.8 y 5.8

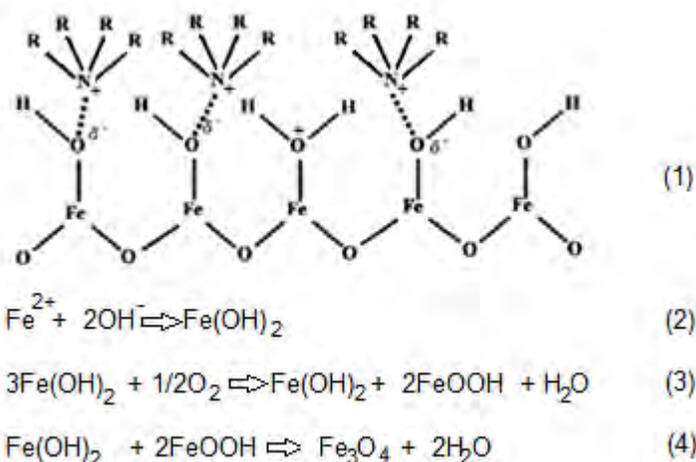
	N(CH₃)₄-OH	N(C₂H₅)₄-OH
4.8	25.84 mL	26.25 mL
5.8	31.22 mL	31.72 mL

Finalmente, la solución obtenida se colocó dentro del baño de ultrasonido durante 10 min con el fin de eliminar aglomerados y posteriormente se determinó el pH. El producto se dejó precipitar con ayuda de un imán durante 5 días, transcurrido el tiempo se extrajo el exceso de base con una micropipeta de 0-5-5 mL y posteriormente el precipitado se lavó con una mezcla acuosa metanol-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica Burrell durante 30 min de agitación con la finalidad de eliminar Cl⁻ y restos de material orgánico proveniente de las bases, después se dejó precipitar 2 días con ayuda del imán. Se realizaron 5 lavados a cada muestra bajo las condiciones anteriores y finalmente para obtener el sólido las soluciones obtenidas se sometieron a procesos de liofilizado durante 24 hrs.

Las nanopartículas obtenidas se almacenaron en un vial bajo atmósfera de Ar para desplazar el oxígeno y así evitar la rápida oxidación de las nanopartículas Fe₃O₄. Cada vial se guardó en el desecador para su posterior caracterización.

De acuerdo con la reacción de alcalinización que se lleva a cabo en la síntesis por coprecipitación, ocurre la formación de complejos polinucleares que se forman por la hidrólisis rápida y reversible de los iones Fe³⁺ y Fe²⁺, por otro lado con la geometría del

tetrametilamonio $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$ y del tetraetilamonio $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+$ se libera oxígeno hacia la red y debido al efecto estérico disminuye el crecimiento en las nanopartículas (esquema 1). Dando lugar al crecimiento por etapas sucesivas de olación (formación de uniones OH^- entre los iones) hasta formar grandes polímeros que sufren el proceso de oxolación (desprotonación de las uniones M-OH-M para dar uniones oxo), hasta cristalizar en el producto final ^[27].



Esquema 1. Intermediarios en la formación de magnetita (Fe_3O_4)

Todos estos procesos son dependientes del pH, pues los iones hidroxilo son los encargados de realizar este intercambio en la formación de especies y por lo tanto a cierto pH se obtendrá en mayor predominio ciertas especies.

2.3 Dispersión de nanopartículas de Fe_3O_4 empleando ácido oleico

El estudio se llevó a cabo realizando seis experimentos variando la cantidad de ácido oleico con el objetivo de obtener nanopartículas de Fe_3O_4 dispersas.

Tres experimentos se llevaron a cabo empleando $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{OH}$ y tres experimentos empleando $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ como agentes precipitantes en la síntesis por coprecipitación con relación molar $\frac{n_{\text{base}}}{n(\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+})} = 5.8$. Se eligió esta relación molar porque la estadística de las nanopartículas sintetizadas previamente mostro menor intervalo de dispersión en tamaño en las nanopartículas obtenidas.

2.3.1 Síntesis de Fe_3O_4 empleando $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{OH}$ como agente precipitante

Caso 1: Se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos con 5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2M, y 5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1M en una atmósfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm.

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, a esta temperatura se comenzó a adicionar la solución 1M de $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{OH}$ y la temperatura se mantuvo hasta que se terminó de adicionar toda la base. Posteriormente, se agregó por goteo la cantidad de 27% de ácido oleico y la temperatura se fue aumentando hasta llegar a 80 °C, una vez adicionado todo el ácido oleico la reacción se dejó durante 10 min.

Finalmente, el producto obtenido se colocó dentro del baño de ultrasonido 20 min con el fin de eliminar aglomeración, posteriormente la muestra se lavó siete veces con una solución acuosa de acetona-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica por periodos de 20 min de agitación con la finalidad de eliminar el exceso de iones y resto de material orgánico, así como exceso de ácido oleico. La muestra después del proceso se dispersó en hexano.

Caso 2: Se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos con 5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2M, y 5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1M en una atmósfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm.

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, a esta temperatura se comenzó a adicionar la solución 1M de $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{OH}$ y la temperatura se mantuvo hasta que se terminó de adicionar toda la base. Posteriormente, se agregó por goteo la cantidad de 13.5 % de ácido oleico y la temperatura se fue aumentando hasta llegar a 80 °C, una vez adicionado todo el ácido oleico la reacción se dejó durante 10 min.

Finalmente, el producto obtenido se colocó dentro del baño de ultrasonido 20 min con el fin de eliminar aglomeración, posteriormente la muestra se lavo siete veces con una solución acuosa de acetona-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica por periodos de 20 min de agitación con la finalidad de eliminar el exceso de iones y resto de material

orgánico, así como exceso de ácido oleico. La muestra después del proceso se dispersó en hexano.

Caso 3: Se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos con 5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2M, y 5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1M en una atmósfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm.

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, cuando se llegó a 50 °C se agregó por goteo 13.5% de ácido oleico y conforme siguió aumentando la temperatura una vez que se llegó a 70 °C se comenzó a adicionar la solución 1M de $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{OH}$ y la temperatura se mantuvo hasta que se terminó de adicionar toda la base, la reacción se dejó durante 10 min.

Finalmente, el producto obtenido se colocó dentro del baño de ultrasonido 20 min con el fin de eliminar aglomeración, posteriormente la muestra se lavo siete veces con una solución acuosa de acetona-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica por periodos de 20 min de agitación con la finalidad de eliminar el exceso de iones y resto de material orgánico, así como exceso de ácido oleico. La muestra después del proceso se dispersó en agua.

2.3.2 Síntesis de Fe_3O_4 empleando $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ como agente precipitante

Caso 4: Se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos con 5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2M, y 5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1M en una atmósfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm.

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, cuando se llegó a 50 °C se agregó por goteo 6.7% de ácido oleico y conforme siguió aumentando la temperatura una vez que se llegó a 70 °C se comenzó a adicionar la solución 1M de $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ y la temperatura se mantuvo hasta que se terminó de adicionar toda la base, la reacción se dejó durante 10 min.

Finalmente el producto obtenido se colocó dentro del baño de ultrasonido 20 min con el fin de eliminar aglomeración, posteriormente la muestra se lavo siete veces con una solución acuosa de acetona-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica por periodos de 20 min de agitación con la finalidad de eliminar el exceso de iones y resto de material

orgánico, así como exceso de ácido oleico. La muestra después del proceso se dispersó en agua.

Caso 5: Se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos con 5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2M, y 5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1M en una atmósfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm.

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, a esta temperatura se comenzó a adicionar la solución 1M de $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ y la temperatura se mantuvo hasta que se termino de adicionar toda la base. Posteriormente se agrego por goteo la cantidad de 3.7% de ácido oleico y la temperatura se fue aumentando hasta llegar a 80 °C, una vez adicionado todo el ácido oleico la reacción se dejo durante 10 min.

Finalmente el producto obtenido se colocó dentro del baño de ultrasonido 20 min con el fin de eliminar aglomeración, posteriormente la muestra se lavo 7 veces con una solución acuosa de acetona-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica por periodos de 20 min de agitación con la finalidad de eliminar el exceso de iones y resto de material orgánico, así como exceso de ácido oleico. La muestra después del proceso se dispersó en agua.

Caso 6: Se llevó a cabo la mezcla de reacción en un matraz de bola de tres cuellos con 5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2M, y 5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1M en una atmósfera inerte de Ar manteniéndose en agitación a 310 rpm.

La mezcla anterior se calentó poco a poco hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, cuando se llegó a 50 °C se agregó por goteo 2.6% de ácido oleico y conforme siguió aumentando la temperatura una vez que se llegó a 70 °C se comenzó a adicionar la solución 1M de $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ y la temperatura se mantuvo hasta que se termino de adicionar toda la base, la reacción se dejó durante 10 min.

Finalmente el producto obtenido se colocó dentro del baño de ultrasonido 20 min con el fin de eliminar aglomeración, posteriormente la muestra se lavó siete veces con una solución acuosa de acetona-agua (1:1) utilizando la agitadora mecánica por periodos de 20 min de agitación con la finalidad de eliminar el exceso de iones y resto de material

orgánico, así como exceso de ácido oleico. La muestra después del proceso se dispersó en agua.

2.4 Funcionalización de nanopartículas con Quitosano y Polietilenglicol

2.4.1 Quitosano

El desarrollo experimental para la funcionalización consistió en utilizar la suspensión de nanopartículas obtenidas en el caso 5, porque después de la caracterización que se realizó a dicha muestra se observó que las nanopartículas se encontraban dispersas.

La presencia del grupo amino del quitosano permite que exista en un estado soluble o sólido en función del valor de pH. El grupo amino libre de quitosano (CS-NH₂) se protona a CS-NH₃⁺ en pH ácido, por otro lado el quitosano es un agente quelante muy activo, que puede absorber iones férricos y ferrosos a través del grupo amino y así evitar la reacción de oxidación.

Tomando estas características del quitosano la funcionalización de las nanopartículas consistió en mantener en agitación por algunas horas una mezcla de quitosano y nanopartículas previamente sintetizadas, bajo el siguiente procedimiento.

Se tomaron 0.2 g de suspensión de Fe₃O₄ que se obtuvo empleando 3.7 % de ácido oleico para su dispersión, estas fueron lavadas con etanol al 99,5% dos veces y posteriormente se llevo a cabo la mezcla con 15,0 ml de solución de quitosano en ácido acético con una concentración de 2% en un matraz de tres cuellos. La suspensión se mezcló por irradiación ultrasónica durante 50 minutos. Después con la ayuda de un agitador mecánico la mezcla se dejó durante 4 h. Finalmente la mezcla se lavó tres veces con agua y etanol para su posterior caracterización.

2.4.2 Polietilenglicol

Este experimento se realizó utilizando nanopartículas de Fe_3O_4 que se obtuvieron por el método de coprecipitación empleando 3.7% de ácido oleico ya que mostraron estar dispersas. Cabe mencionar que la suspensión obtenida se llevó a cabo probando un método fácil y rápido en el cual el uso de reactivos fue limitado bajo condiciones ambientales en atmosfera de nitrógeno. Se propone que la interacción de PEG con magnetita es debida a la unión dipolo-cación entre el grupo éter del polímero y la carga positiva de la magnetita y a continuación se describe el procedimiento.

6 ml de Polietilenglicol fueron disueltos en agua y a esta solución se agregaron 0.2g de nanopartículas, a continuación la suspensión se mezcló por ultrasonido durante 50 min, posteriormente la mezcla se dejó en agitación durante 72 h a temperatura ambiente y con una atmosfera inerte de nitrógeno. Después del tiempo transcurrido las nanopartículas son precipitadas por agregar tetrahidrofurano hasta una solución turbia, seguido de esto el precipitado se suspendió en agua para su posterior caracterización.

2.5 Técnicas de caracterización

2.5.1 Difracción de rayos X

Los difractogramas fueron registrados en un difractómetro D5000 Siemens con tubo de cobre ($\text{Cu K}_{\alpha 1} = 1,5418 \text{ \AA}$) y monocromador de grafito. Las condiciones del generador de rayos X fueron de 25 mA y 35 kV. El intervalo 2θ fue de 10 a 80° , para todos los difractogramas, con una rapidez de barrido de $0.02 \text{ }^\circ/\text{s}$. Los difractogramas, para su interpretación, fueron comparados con la base de datos del Archivo de Patrones de Difracción (*Powder Diffraction File, PDF 01-089-0691*).

2.5.2 Microscopía Electrónica de Barrido

Los compuestos encapsulados con quitosano y polietilenglicol se observaron con un microscopio electrónico de barrido para obtener información de distribución en tamaño y forma. Las muestras se colocaron en un adhesivo de carbono y sin ningún recubrimiento. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido modelo Auriga Zeiss FEG 25kv.

2.5.3 Microscopía Electrónica de Transmisión

Se hizo un análisis de imágenes y patrones de difracción de los compuestos puros, los cuales se dispersaron en hexano y se colocaron en rejillas de cobre. En esta caracterización se empleó un microscopio electrónico de transmisión Jeol JEM 2010, 200kV, LaB_6 .

2.5.4. Espectroscopia de Infrarrojo y Espectroscopia Raman

La espectroscopia de IR (DRIFT), permitió la caracterización estructural de cada compuesto, así como la identificación de interacciones entre los compuestos orgánicos empleados y la fase de hierro formada; los espectros se registraron en un equipo FTIR Nicolet 6700 entre 4000 y 400 cm^{-1} . Las muestras fueron preparadas por disolución de la muestra en agua y hexano en una placa de vidrio. La caracterización por espectroscopia Raman, se llevó a cabo en un equipo Renishaw Sysem 1000, con una longitud de onda de 514 nm.

2.5.5 Magnetometría de Muestra Vibrante

El análisis de las propiedades magnéticas de las muestras más representativas se realizó empleando un magnetómetro de muestra vibrante, Quantum Design MPMS-XL. El equipo trabaja a muy bajas temperaturas, el helio se licua a 4.2K, de tal manera que el circuito cerrado de helio llega hasta esa temperatura, luego se le inyecta helio externo el cual es condensado en una especie de radiador con el cual se enfría la bobina superconductora que genera el campo y también se usa para llegar hasta los 2 K por ley de Charles $P=cte$. Para hacer las mediciones de magnetización-DC se hace a través de un sistema conocido como VSM (Vibrating Sample Measurement), mediante un motor al cual se le pega una varilla en la que va montada la muestra. Dentro del magnetómetro están las bobinas superconductoras, que son las que generan el campo externo, y dentro de estas se colocan otro par de bobinas las cuales son las bobinas de prueba. Y la muestra se coloca en el centro de estas bobinas. La preparación de la muestra consistió en preparar placas de 3mmx5mm con película del material.

2.5.6 Microscopía de Fuerza Atómica

El análisis de topografía y dominios magnéticos, para las muestras representativas, se realizó por microscopía de fuerza atómica y microscopía de fuerza magnética e un equipo JEOL SPM-5200. La preparación de la muestra consistió en obtener películas del material depositadas en placas de vidrio de 1cmx1cm. Y la punta magnética se magnetizo por 1min con un imán de 400 Oe.

CAPÍTULO 3

Resultados

3.1. Caracterización por DRX

En esta primera parte del proyecto se presenta la reproducibilidad de tamaño de cristal de cuatro muestras obtenidas de magnetita, analizadas por difracción de rayos-X.

En las figuras 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4 se muestran los difractogramas de rayos-X de nanopartículas de magnetita obtenidas con hidróxido de tetrametilamonio y tetraetilamonio. Podemos observar en todos los casos picos definidos y que tenemos solo una fase. También se observan picos anchos lo cual significa que el tamaño de los cristales es pequeño. Se muestra en la tabla 3.1 el tamaño promedio del cristal, $\bar{\phi}$, que se obtuvo a partir del pico de difracción máximo (311) de los difractogramas empleando la ecuación de Debye-Scherrer $\bar{\phi} = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos\theta}$, así como el parámetro de red (a_0) en cada muestra.

$\bar{\phi}$: diámetro de las partículas (Å)

$\beta = \frac{(x_2 - x_1)}{180}$: ancho a la altura media del pico más intenso

λ : 1.54056Å (Cu- $\kappa\alpha$)

θ : posición del pico de difracción

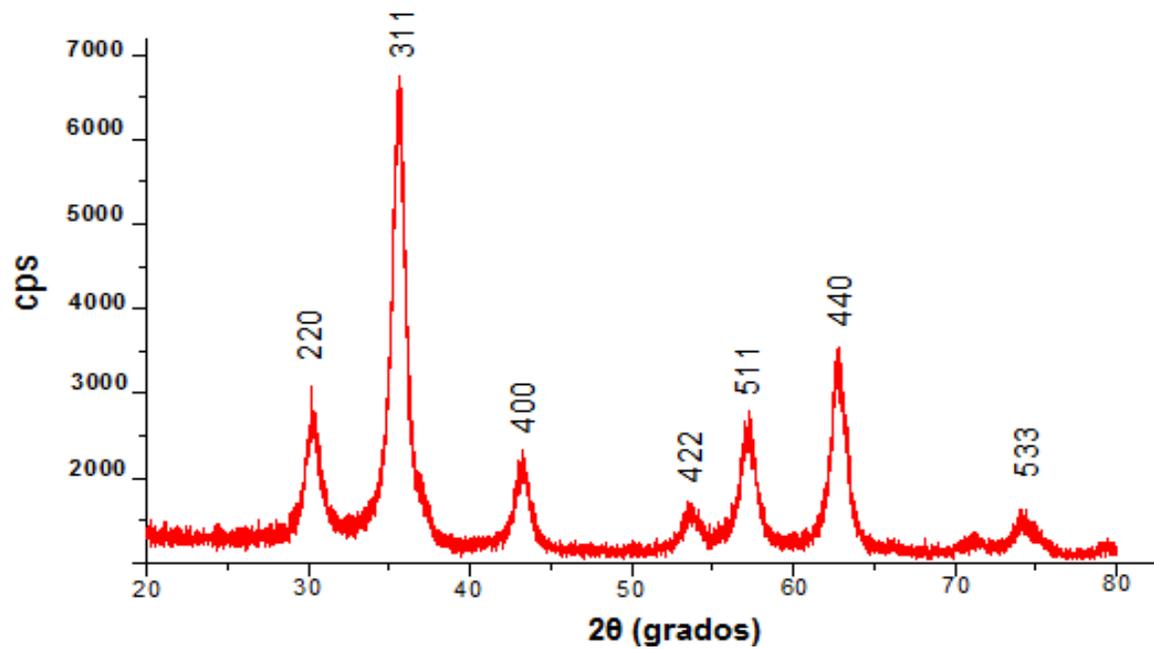


Fig. 3.1. Difractograma de nanopartículas de Fe₃O₄, obtenidas con N(C₂H₅)₄-OH R 4.8 y pH final de 13

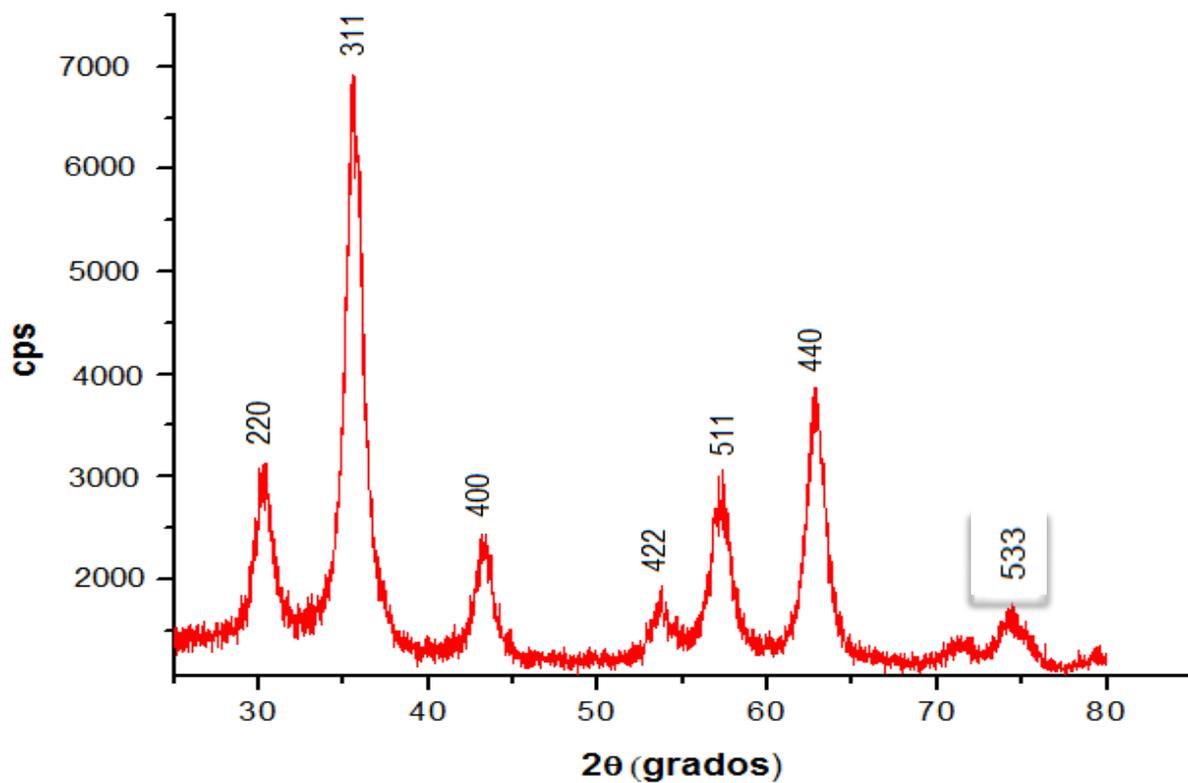


Fig.3.2. Difractograma de nanopartículas de Fe₃O₄, obtenidas con N(C₂H₅)₄-OH R 5.8 y pH final de 12.6

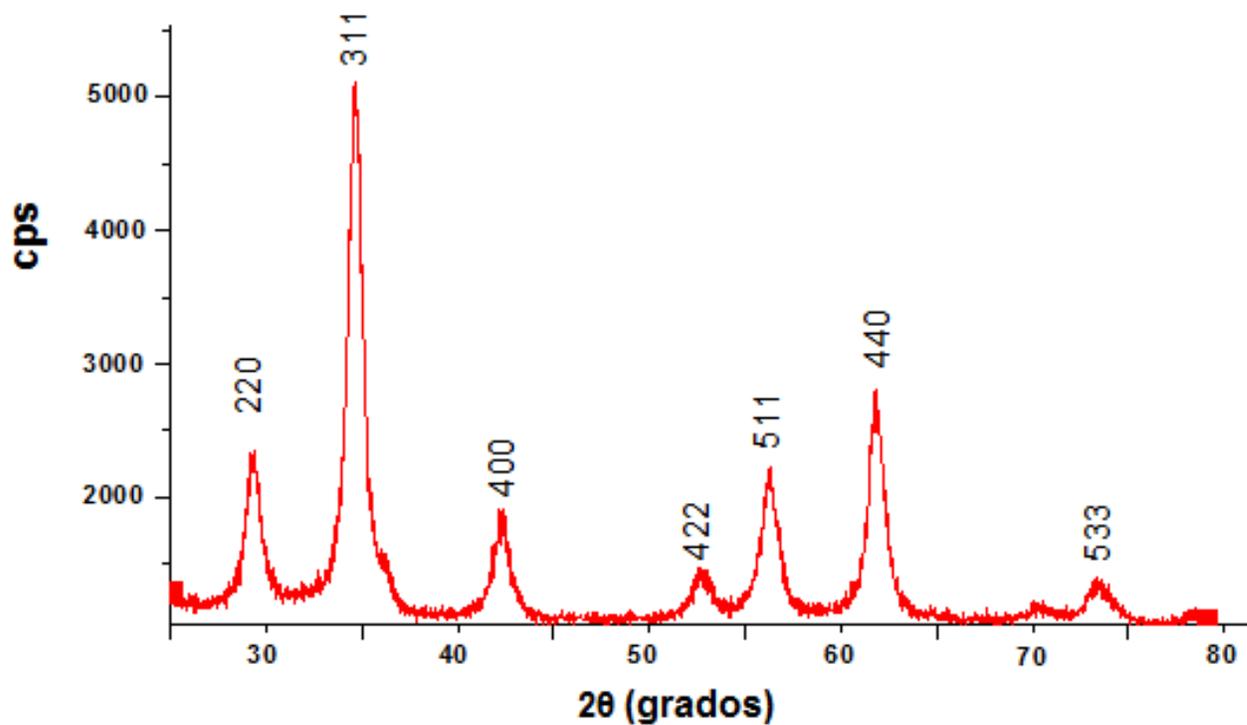


Fig.3.3. Difractograma de nanopartículas de Fe₃O₄, obtenidas con N(CH₃)₄-OH R 4.8 y pH final de 13.3

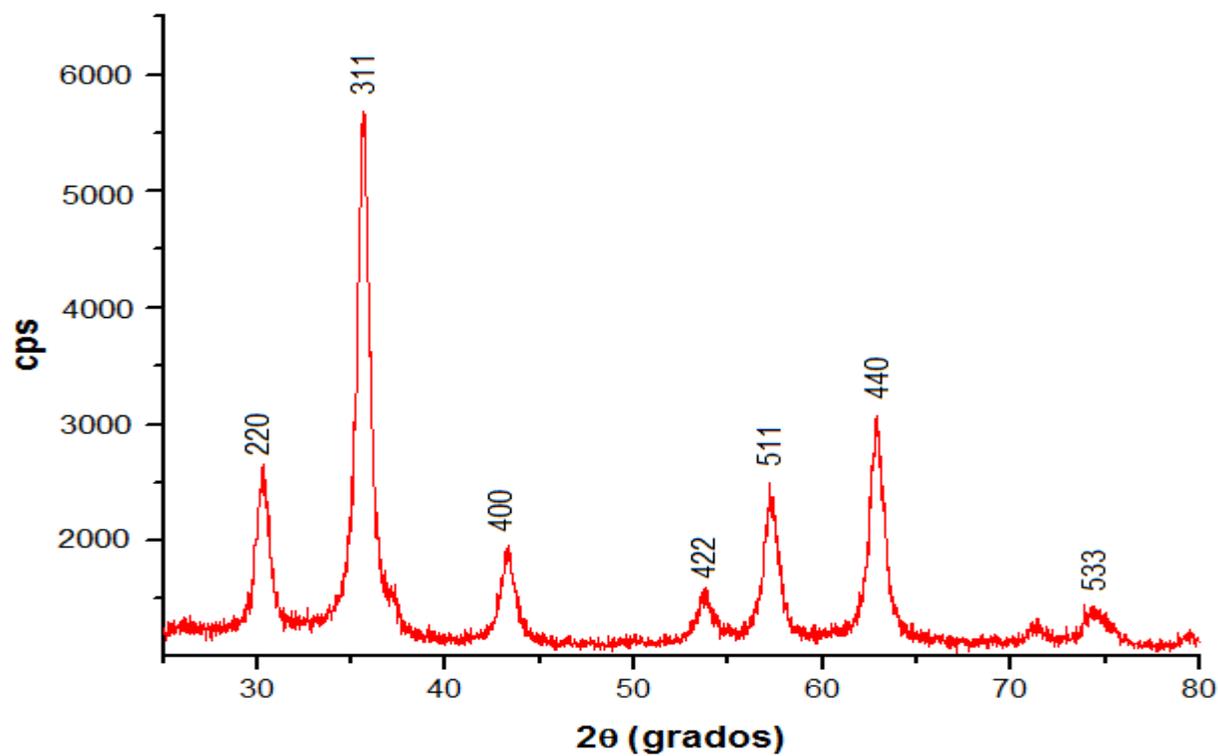


Fig.3.4. Difractograma de nanopartículas de Fe₃O₄, obtenidas con N(CH₃)₄-OH R 5.8 y pH final de 12.9

Tabla 3.1 tamaño promedio de cristal y parámetro de red.

muestra	Reflexión	\varnothing (nm)	a_o (440)
Nanopartículas obtenidas con $N(C_2H_5)_4-OH$ R 4.8	(311)	10.9	8.399 Å
Nanopartículas obtenidas con $N(C_2H_5)_4-OH$ R 5.8	(311)	9.2	8.389 Å
Nanopartículas obtenidas con $N(CH_3)_4-OH$ R 4.8	(311)	9.6	8.460 Å
Nanopartículas obtenidas con $N(CH_3)_4-OH$ R 5.8	(311)	12.3	8.377 Å

De acuerdo con los resultados de la tabla 3.1 el tamaño global de los cristales se encuentra en el intervalo menor a 15 nm y además podemos observar una variación en el parámetro de red experimental ya que el parámetro de red de la literatura para Fe_3O_4 es de 8.39Å, por lo cual para estas muestras se complemento la caracterización mediante espectroscopia RAMAN con la finalidad de descartar la presencia de otras fases.

Los espectros RAMAN son el resultado de la dispersión de la radiación electromagnética por la estructura del sólido. La figura 3.5 muestra los espectros RAMAN de magnetita sintetizadas con $N(C_2H_5)_4-OH$ con relación molar 4.8 y 5.8 como agente precipitante y la figura 3.9 contiene los espectros RAMAN de las muestras de magnetita sintetizadas con $N(C_3H_7)_4-OH$ como agente precipitante con relación molar 4.8 y 5.8. Podemos observar en la figura 3.6 una ligera disminución de intensidad en los

picos de la muestra que se obtuvo con la relación molar de base 4.8 (rojo) pero la posición de los picos es la misma además, en ambos espectros de las figuras 3.5 y 3.6 se muestra la absorción característica para Fe_3O_4 entre 657cm^{-1} y 652cm^{-1} respectivamente [4] [5], en esta caracterización se descarta la fase maghemita ya que en los espectros no se observan las dos bandas intensas características en 500 y 700 cm^{-1} [30]

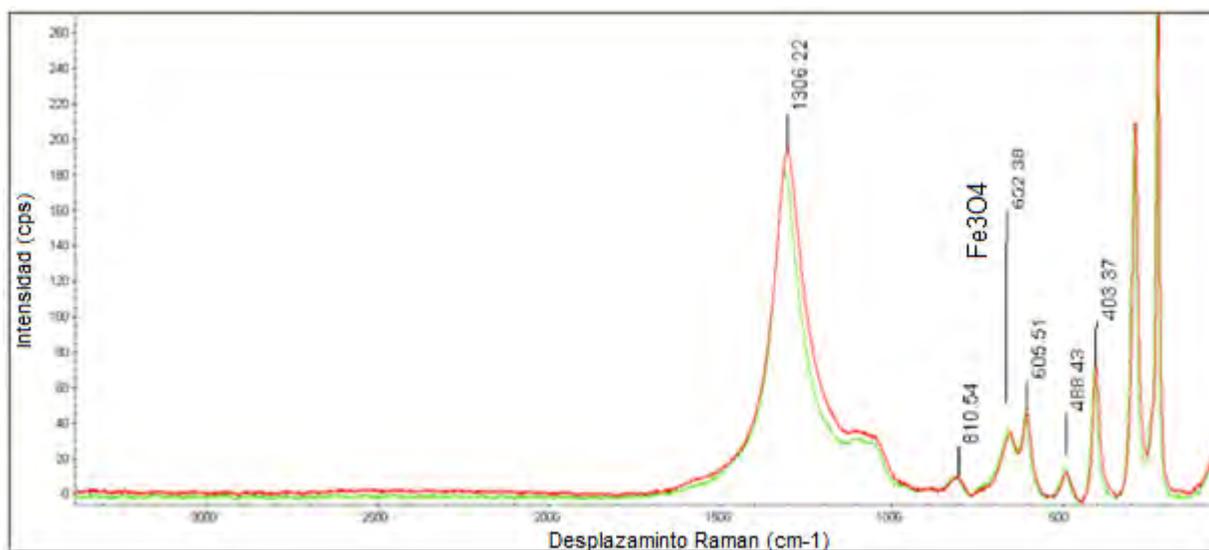


Fig.3.5. Espectros Raman de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) (verde) y (rojo) empleando $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ con relación molar R 5.8 y R 4.8 respectivamente

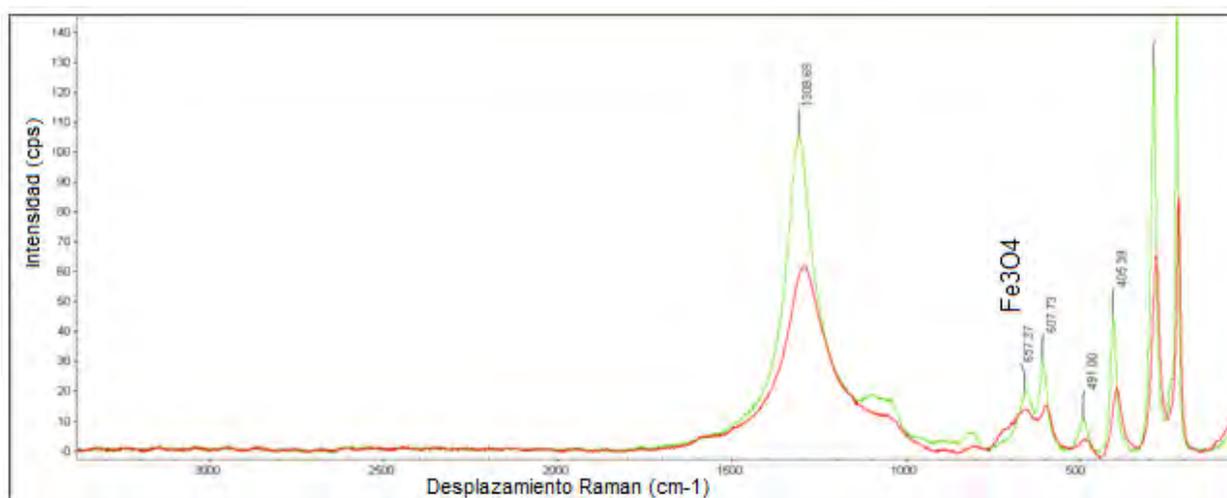


Fig.3.6. Espectros Raman de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) (verde) y (rojo) empleando $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ con relación molar R 5.8 y R 4.8 respectivamente

En las figuras 3.5 y 3.6 se observan los modos vibracionales de Fe_3O_4 los cuales corresponden a T^1_{2g} en 300 cm^{-1} que se debe al movimiento de traslación total de Fe_3O_4 ; T^2_{2g} corresponde a vibración asimétrica de Fe y O entre 405 cm^{-1} ; T^3_{2g} corresponde a curvas asimétricas de oxígeno con respecto a hierro entre $490 - 488\text{ cm}^{-1}$; y A_{1g} se debe al estiramiento simétrico de oxígeno a lo largo de los enlaces Fe-O entre $657-652\text{ cm}^{-1}$ [31 32]

Se realizaron cuidadosamente cuatro nuevas síntesis con las mismas bases, revisando a detalle la concentración de los reactivos y manteniendo atmosfera inerte con argón durante la síntesis. Y se empleó espectroscopia infrarrojo como técnica complementaria para la caracterización en cada muestra.

En las figuras 3.7, 3.8, 3.9 y 3.10 se muestran los difractogramas de rayos-X de nanopartículas de magnetita obtenidas con hidróxido de tetrametilamonio y tetraetilamonio así como el cálculo del parámetro de red en la tabla 3.2.

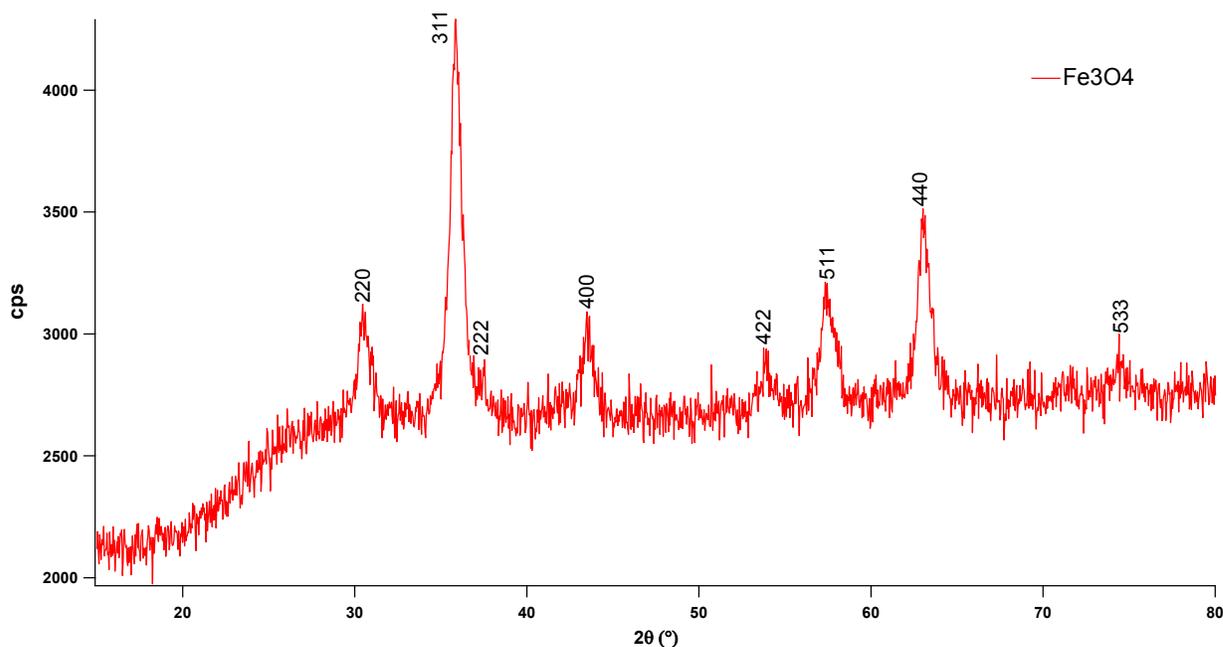


Fig.3.7. Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 , obtenidas con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 4.8 y pH final de 13

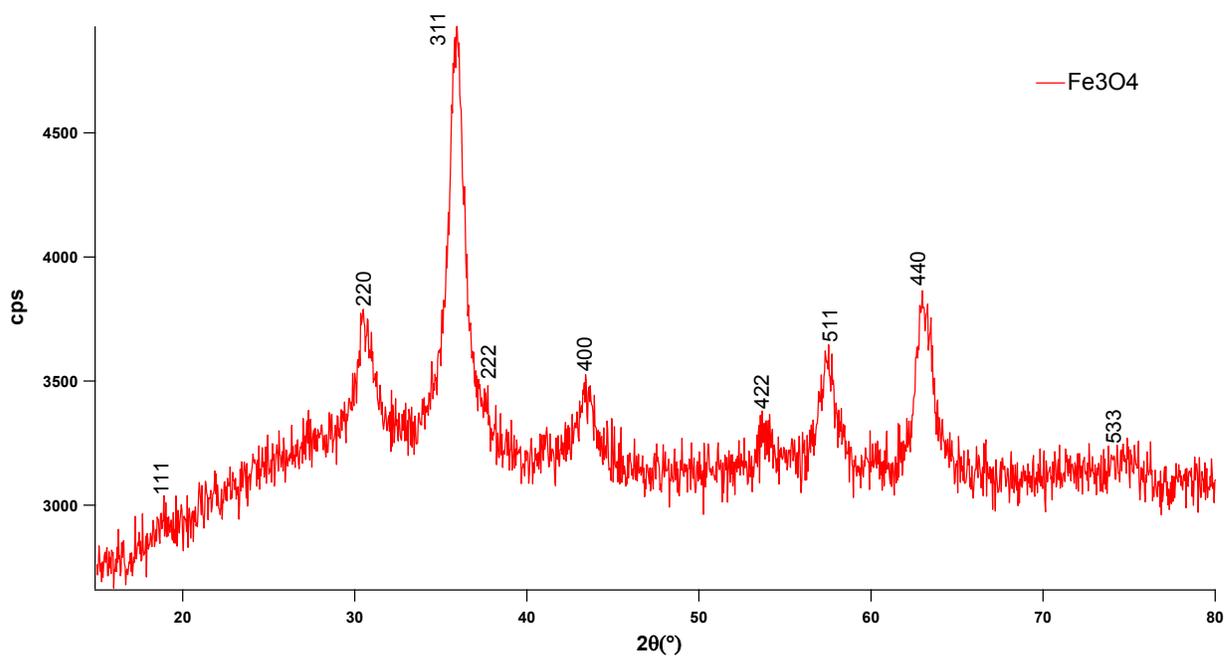


Fig.3.8. Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 , obtenidas con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 5.8 y pH final de 13

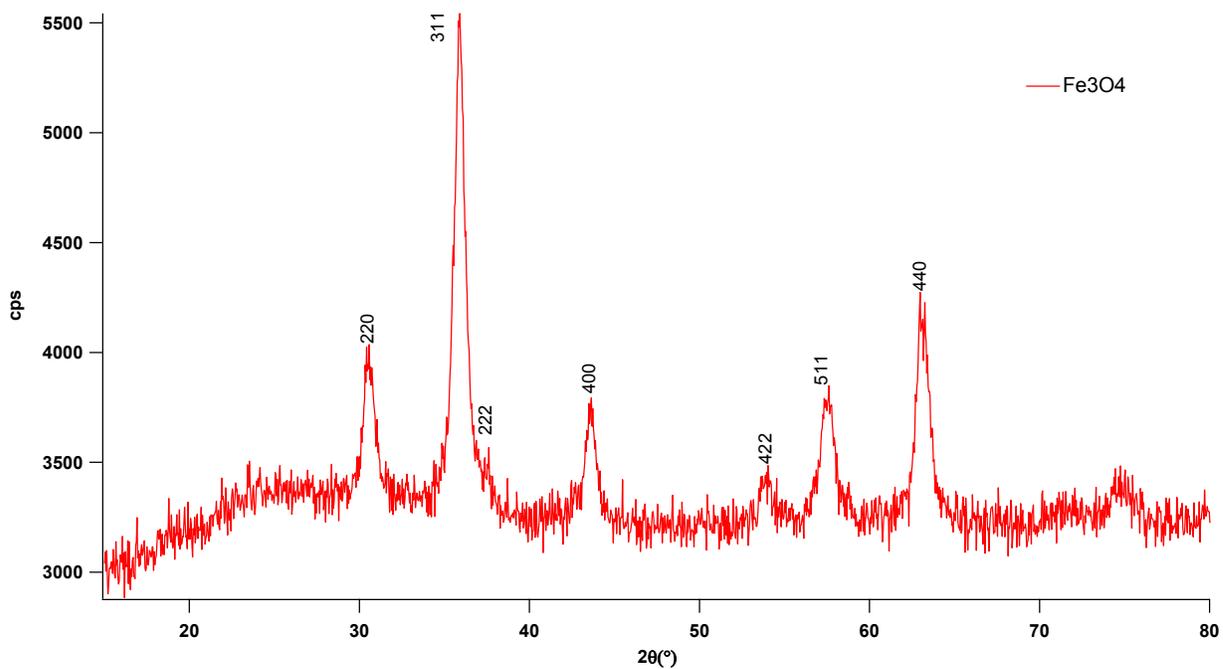


Fig.3.9. Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 , obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ R 5.8 y pH final de 12.5

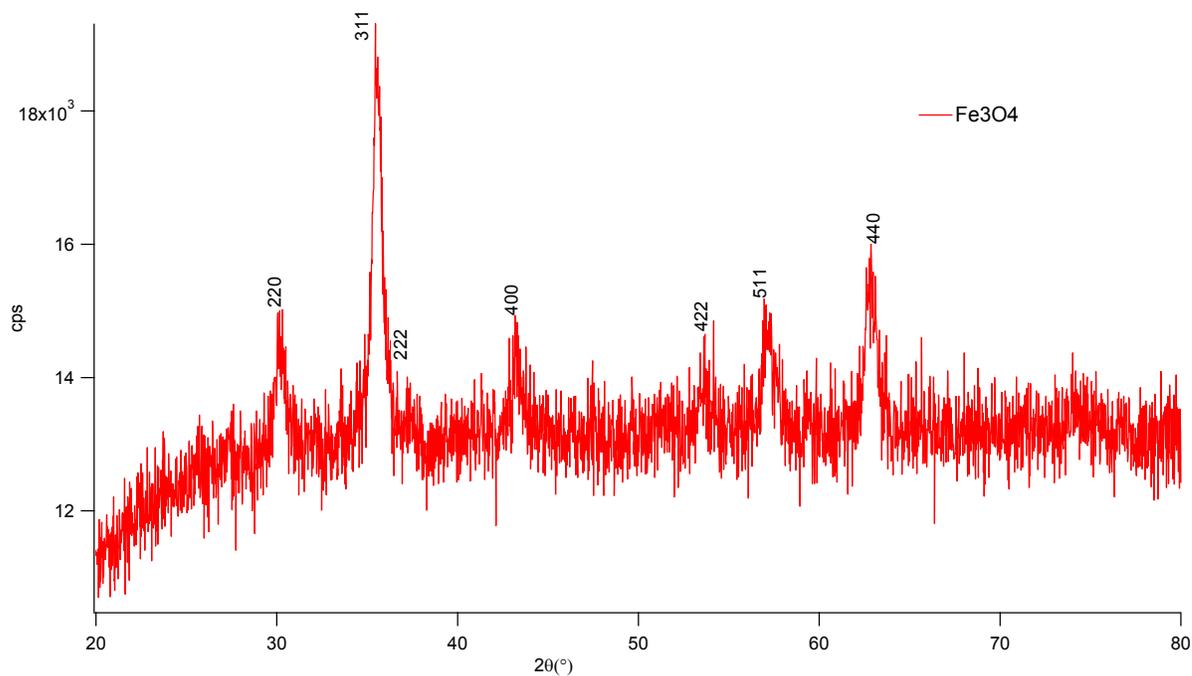


Fig.3.10. Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 , obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ R 5.8 y pH final de 12.8

Tabla 3.2 Cálculo del parámetro de red.

muestra	2θ	θ	h k l	$d = \frac{n\lambda}{2\text{sen}\theta}$	$a = d\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$
NP obtenidas con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 4.8	62.94	31.47	440	1.4756 Å	8.345 Å
NP obtenidas con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 5.8	62.55	31.27	440	1.4841 Å	8.394 Å
NP obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ R 4.8	62.59	31.29	440	1.4830 Å	8.388 Å
NP obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ R 5.8	62.72	31.36	440	1.4801 Å	8.372 Å

*NP=nanopartículas

Como se puede observar en la tabla 3.2 existe una variación en el parámetro de red de las cuatro muestras sintetizadas, por lo cual se realizó la caracterización mediante espectroscopia de infrarrojo como una técnica complementaria para descartar la fase maghemita en las muestras obtenidas por coprecipitación así como identificar la fase de Fe_3O_4 . Los espectros infrarrojo surgen como resultado de la interacción del óxido de hierro con la radiación electromagnética. Estas interacciones implican la excitación causando vibraciones o rotación de la estructura en su estado electrónico fundamental el cual está asociado con el estiramiento de los enlaces interatómicos.

En los espectros de infrarrojo de las figuras 3.11 y 3.12 hay dos bandas de absorción características de magnetita. En ambos espectros la absorción entre 3380 y 3350 cm^{-1} , es debido al estiramiento OH y en 557 cm^{-1} por el enlace Fe-O. Es importante descartar la fase maghemita en las muestras sintetizadas en esta serie ya que las bandas de infrarrojo para la superficie del grupo OH para maghemita se encontrarían en 3740 y 3725 cm^{-1} y para el enlace Fe-O se esperaría dos bandas intensas en 430 y 490 cm^{-1} . Por lo tanto las muestras sintetizadas en la segunda serie corresponden a la fase magnetita.

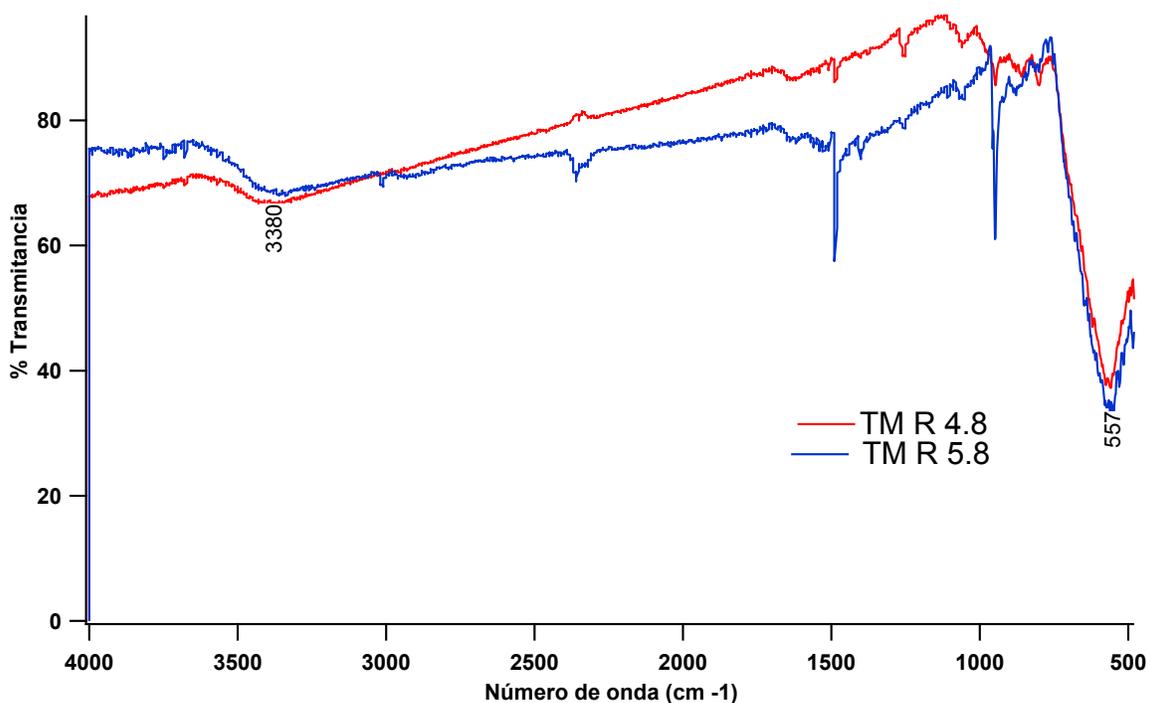


Fig.3.11 Espectro infrarrojo de nanopartículas de Fe_3O_4 , obtenidas con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 4.8 y 5.8

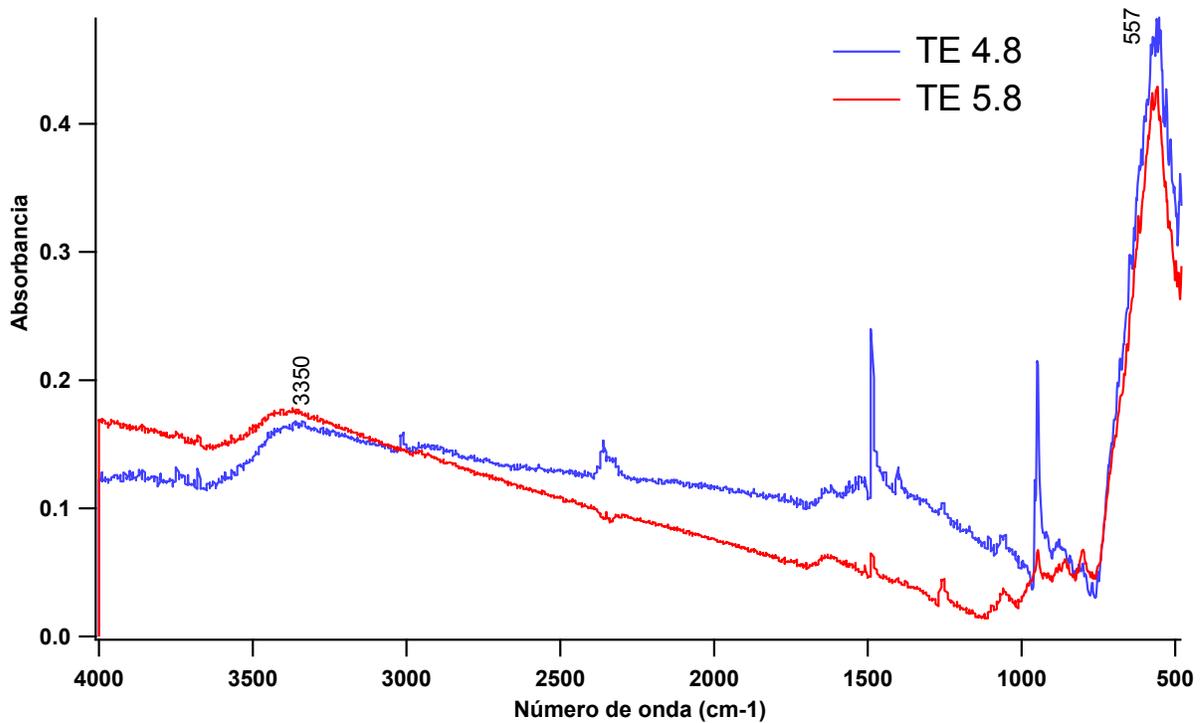


Fig.3.12 Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 , obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ R 4.8 y 5.8

Por otro lado, analizando el parámetro de red de Fe_3O_4 en las tablas 3.1 y 3.2 se puede decir que la magnetita no es estable y es muy sensible a la oxidación. La oxidación en condiciones aerobias no es la única manera de transformar la magnetita en maghemita ya que también depende de la transferencia de electrones o de iones en la superficie de las nanopartículas dependiendo del pH de la suspensión. Esto se puede explicar en la figura 3.13, la oxidación de iones ferrosos siempre se correlaciona con la migración de los cationes a través de la estructura reticular, creando vacancias catiónicas para mantener el balance de carga, que explica la estructura de maghemita en la superficie de las nanopartículas de magnetita ^[33].

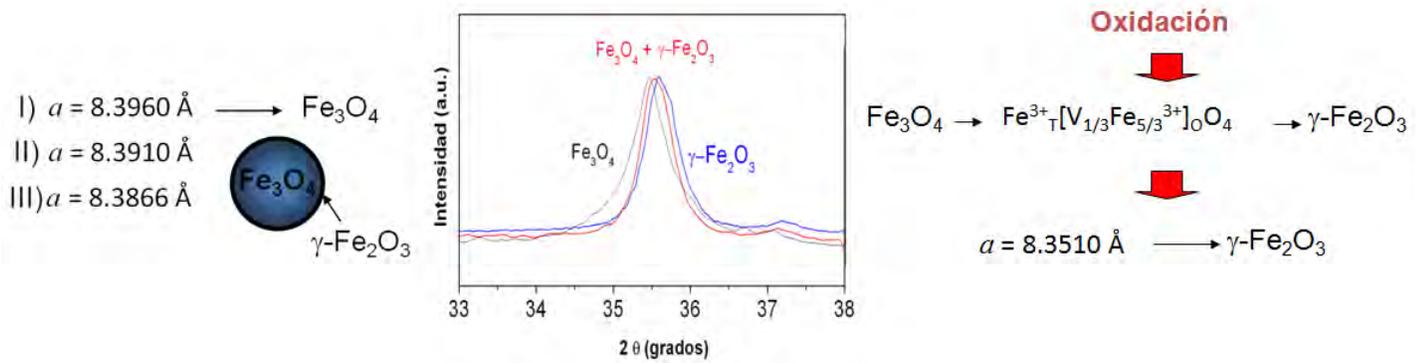


Fig. 3.13 Variación del parámetro de red en nanopartículas de Fe_3O_4

3.2. Caracterización por MET

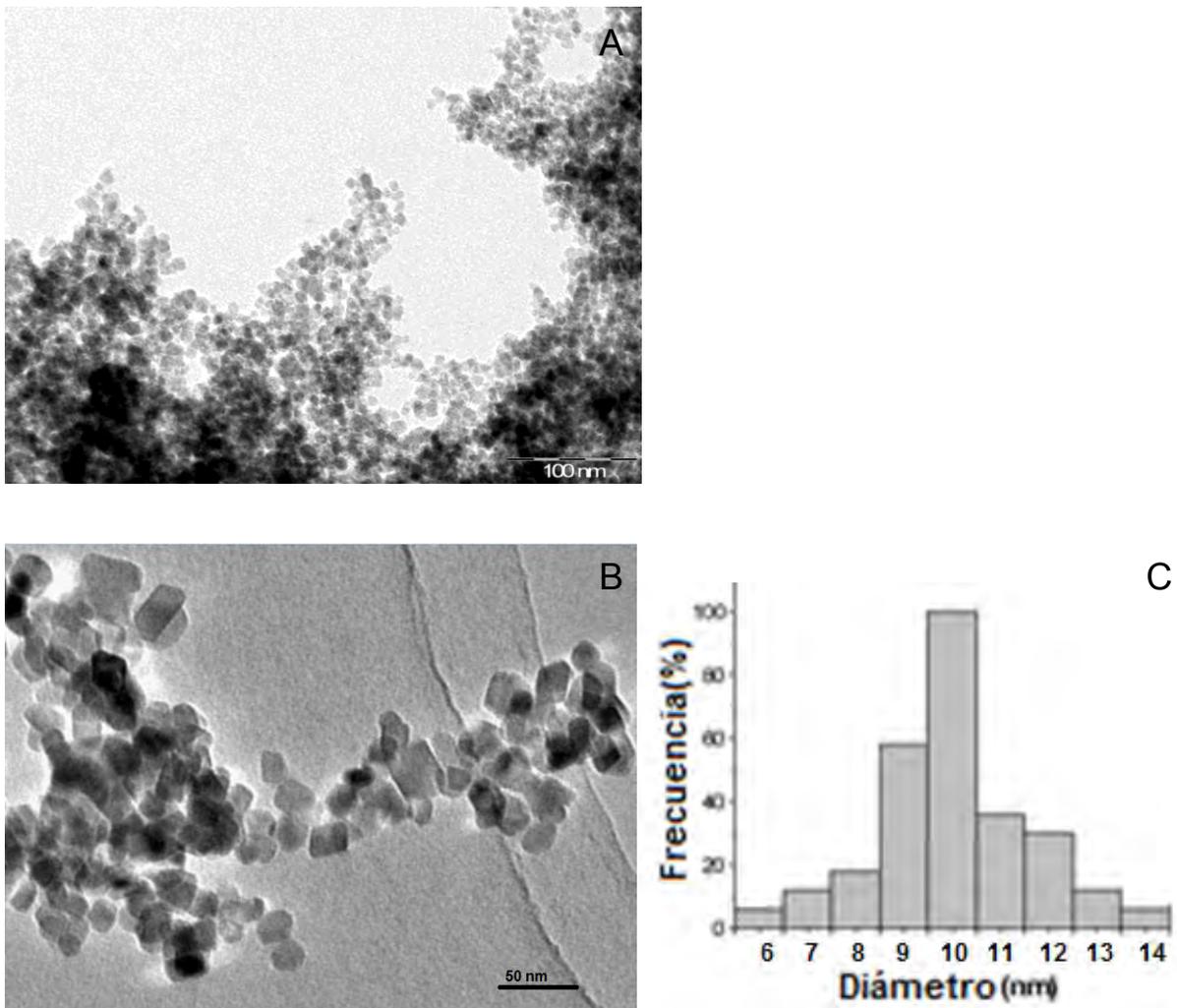


Fig.3.14 A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 , empleando $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ R 4.8 como agente precipitante, B) Distribución de tamaño de nanopartículas de Fe_3O_4

Las muestras depositadas en una rejilla de cobre fueron analizadas en el microscopio electrónico de transmisión. En la micrografía de la figura 3.14A, se muestra una imagen de campo claro de baja amplificación en el cual se observa que las nanopartículas obtenidas con $N(C_2H_5)_4-OH$ R 4.8 como agente precipitante se encuentran aglomeradas. En la micrografía B se observan nanopartículas facetadas con una distribución homogénea de tamaño, el tamaño promedio de 100 nanopartículas corresponde a 10 ± 2 nm medidas directamente de varias micrografías tomadas de la misma muestra preparada.

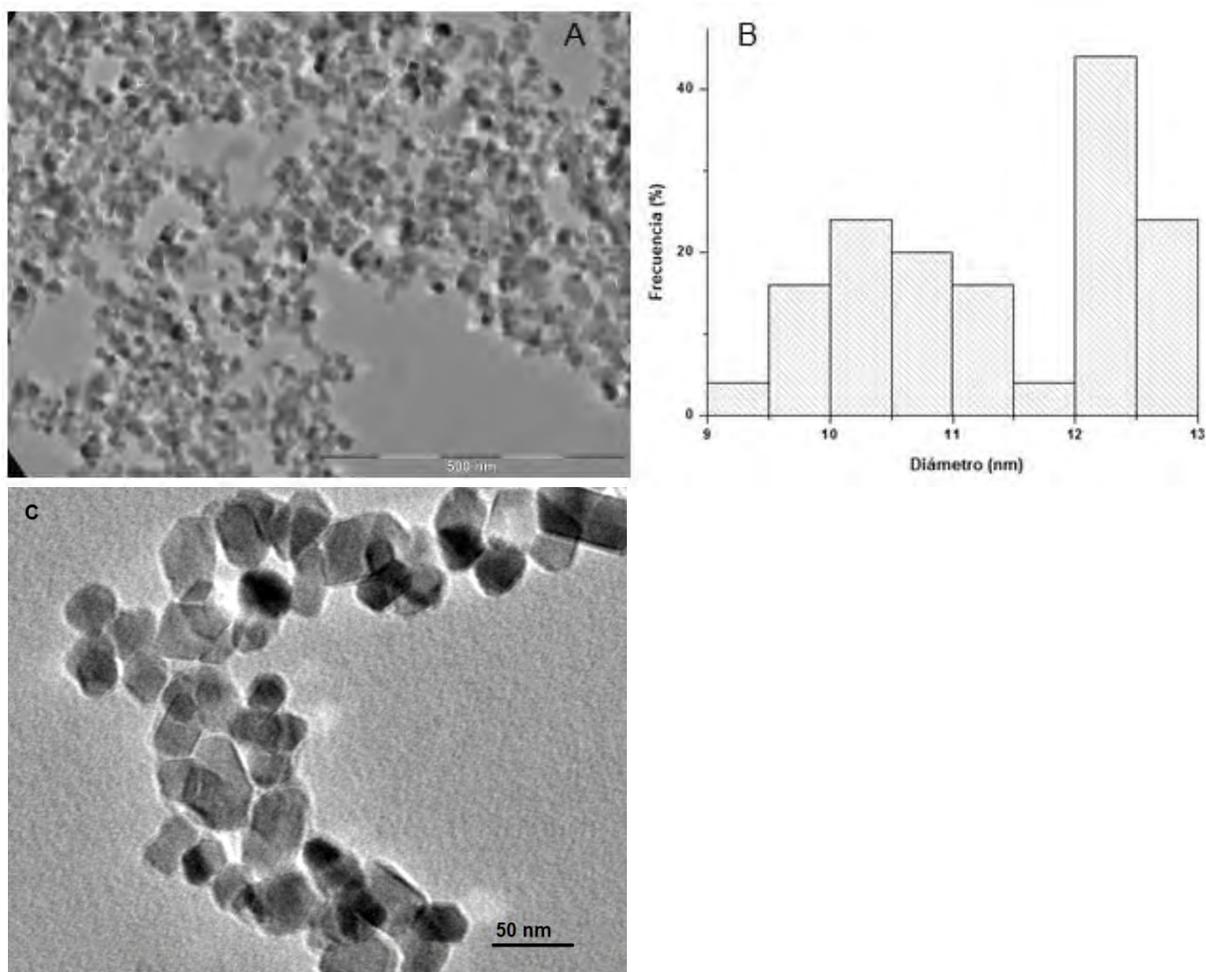


Fig.3.15. A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 , empleando $N(C_2H_5)_4-OH$ R 5.8 como agente precipitante, B) Distribución de tamaño de nanopartículas de Fe_3O_4

La figura 3.15A muestra una de las micrografías de TEM de nanopartículas sintetizadas con hidróxido de tetraetilamonio con relación molar de base igual a 5.8, en la cual se observa que las nanopartículas están facetadas y no se encuentran dispersas, comparado con la muestra anterior el intervalo de crecimiento fue menor. El tamaño promedio fue de 11 ± 1 nm y este se determinó mediante el conteo de 120 nanopartículas de zonas menos aglomeradas como se observa en la figura 3.15C.

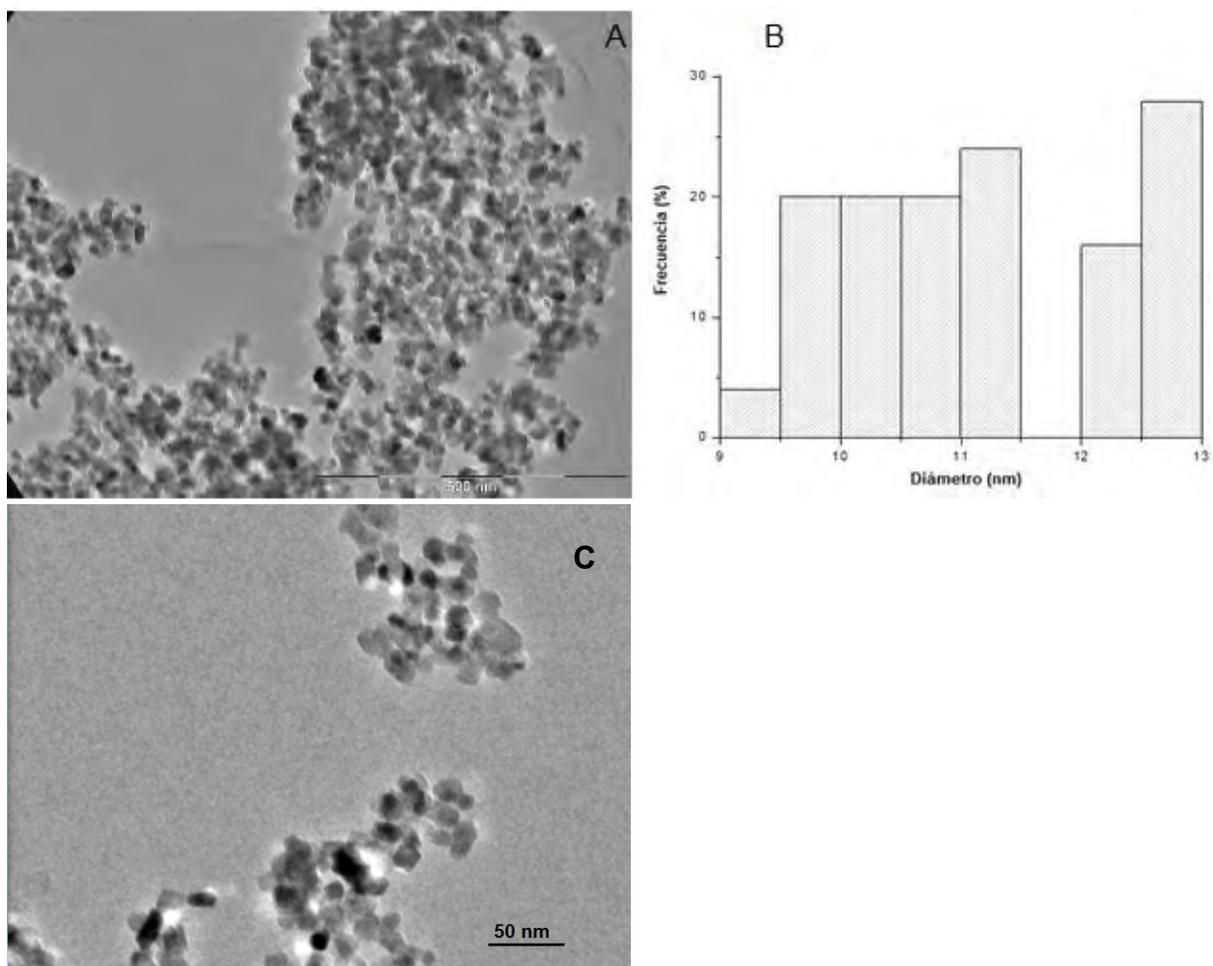


Fig.3.16 A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 , empleando $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 4.8 como agente precipitante, B) Distribución de tamaño de nanopartículas de Fe_3O_4

En la figura 3.16A observamos una gran cantidad de nanopartículas aglomeradas, en el histograma podemos observar que se tiene estrecho intervalo de tamaño y que existe el mismo número de nanopartículas con diferente tamaño las cuales presentan forma esférica y semiesférica, el análisis estadístico da un tamaño medio de 11 ± 1 nm, el cual

se obtuvo por conteo de varias micrografías obtenidas de la misma muestra contando nanopartículas aisladas como la de la figura 3.16C.

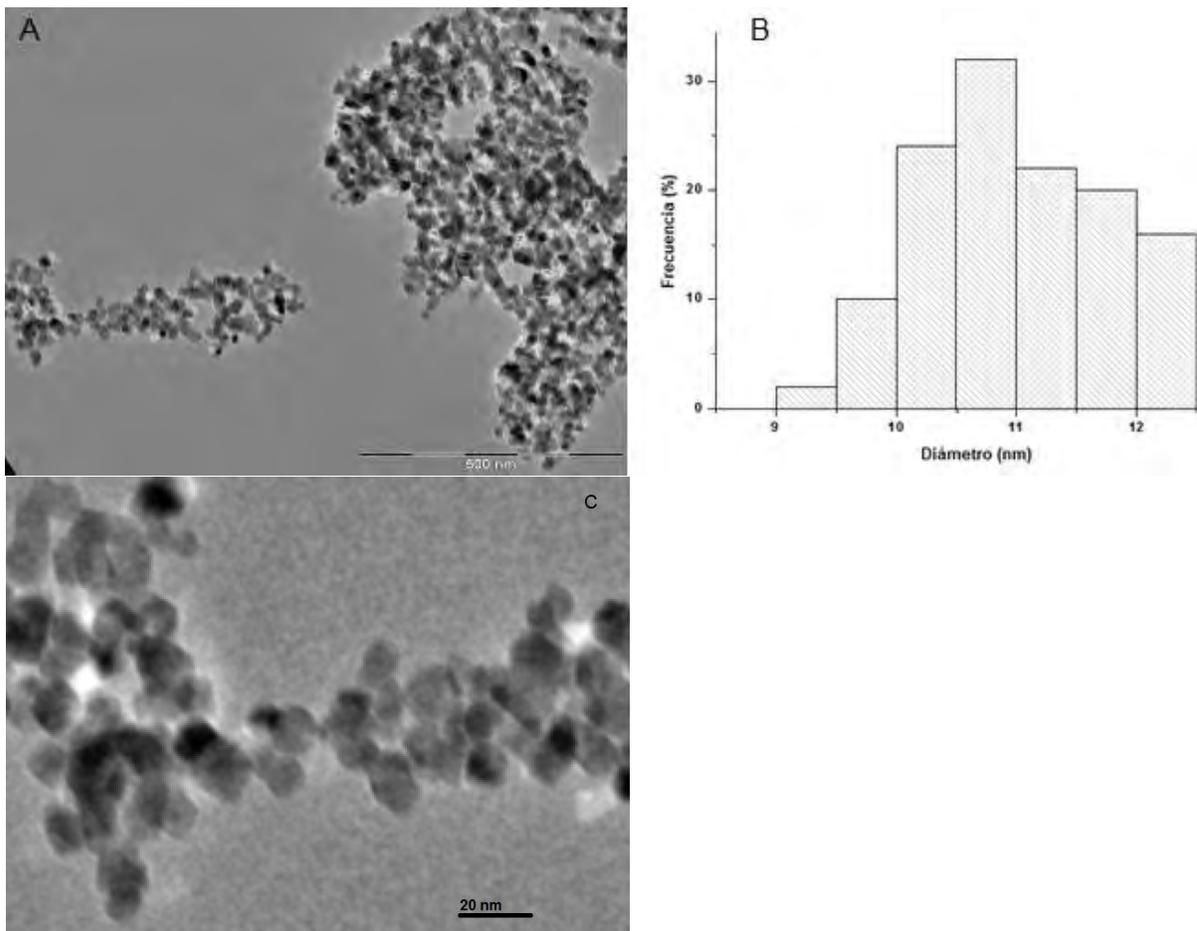


Fig.3.17 A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 , empleando $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ R 5.8 como agente precipitante, B) Distribución de tamaño de nanopartículas de Fe_3O_4

Finalmente, se muestran las micrografías de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 que se obtuvieron con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ como agente precipitante con relación molar de 5.8. El histograma de la figura 3.17B se obtuvo midiendo de diferentes zonas en varias micrografías como la de la figura 3.17C, podemos observar de las micrografías que las nanopartículas son homogéneas en cuanto a forma y tamaño además estas se encuentran aglomeradas. El análisis estadístico mostró una media de $10 \pm 1 \text{ nm}$.

3.3 Dispersión de nanopartículas de magnetita con ácido oleico

En esta parte del proyecto se investigaron las condiciones necesarias para obtener nanopartículas dispersas mediante el empleo de ácido oleico. A continuación se muestran los resultados de acuerdo al porcentaje de oleico empleado en cada experimento.

3.3.1 Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 empleando 27% de ácido oleico

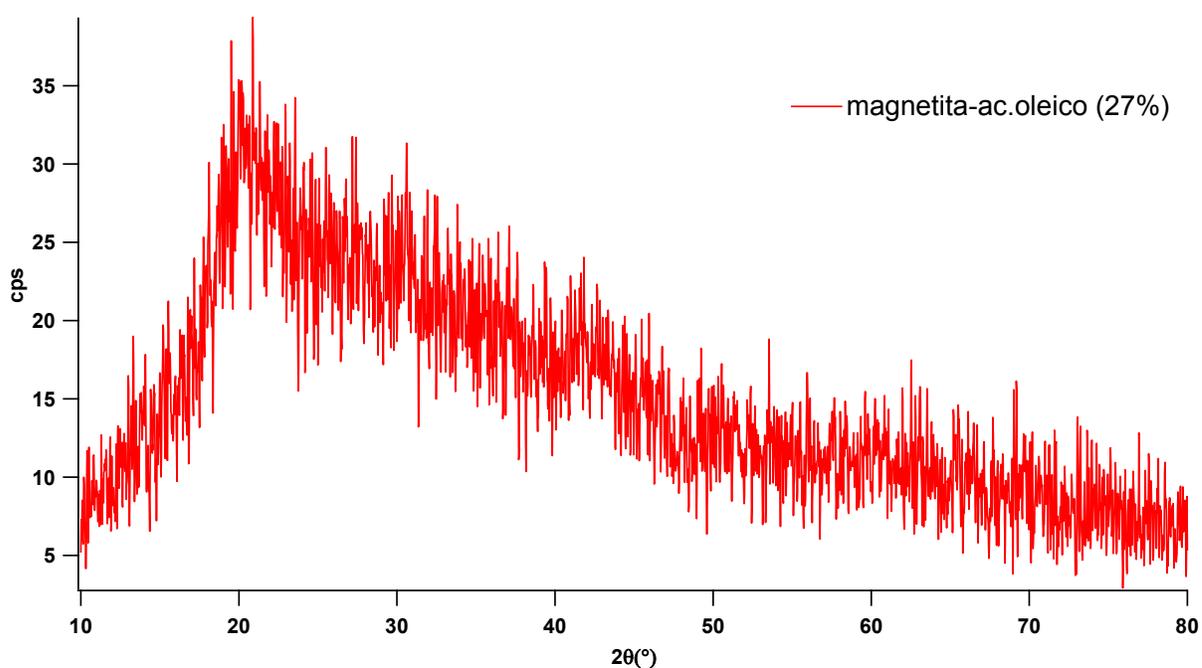


Fig. 4.1 Diffractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 – ácido oleico (27%) obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ y pH final de 13, el ácido oleico se agregó después de la formación de Fe_3O_4

La figura 4.1 muestra el difractograma de rayos X de nanopartículas con ácido oleico al 27%, empleando hidróxido de tetraetilamonio como agente precipitante. El ácido oleico fue agregado una vez que se terminó de adicionar la base, es decir, cuando se formaron las nanopartículas de magnetita. El producto obtenido mostró consistencia muy gelatinosa esto se atribuye a un exceso de ácido oleico, ya que como se observa en el difractograma no se logra apreciar la fase cristalina de magnetita pues la fase

amorfa es la que tiene mayor contribución. La figura 4.2 muestra el espectro IR de nanopartículas de Fe₃O₄ con ácido oleico (27%)

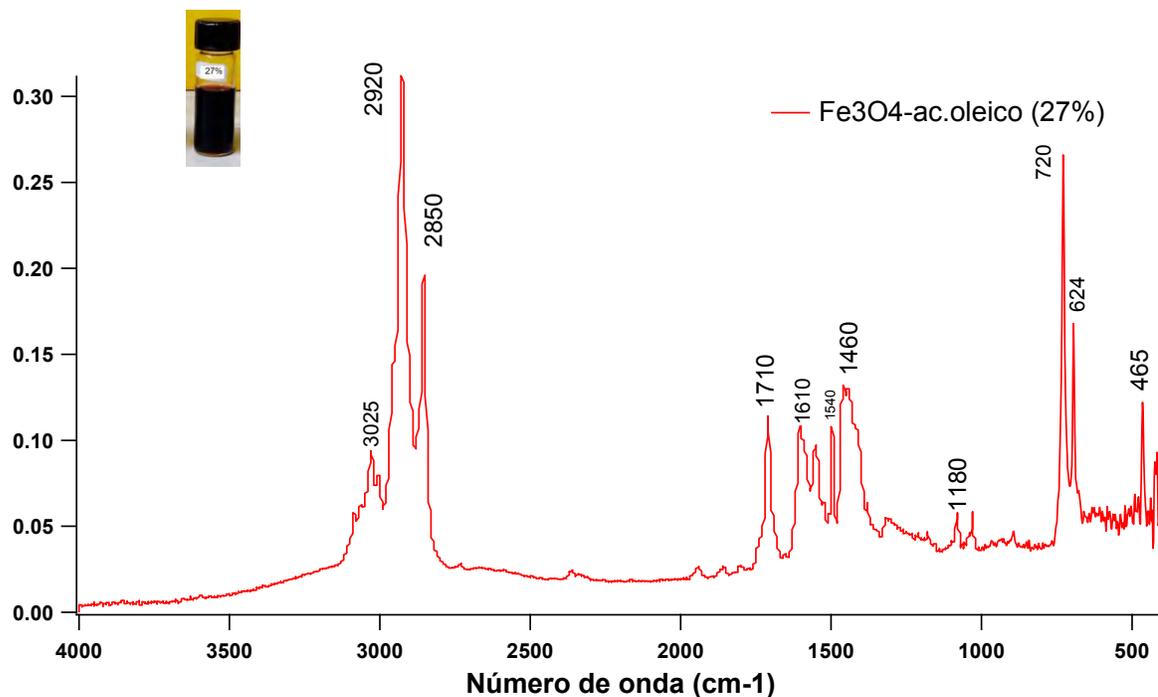


Fig. 4.2 Espectro IR de nanopartículas de magnetita con ácido oleico (27%),

El IR muestra en 3025 cm⁻¹ señal de absorción que corresponde al estiramiento C-H, dos bandas de absorción 2920 y 2850 cm⁻¹, se debe a la tensión asimétrica de CH₂ y simétrica CH₂ respectivamente. El pico en 1710 cm⁻¹, se debe a las vibraciones de tensión C=O, podemos observar además dos bandas en 1540 y 1610 cm⁻¹ que se deben a la tensión simétrica y asimétrica del grupo COO⁻ respectivamente. La banda en 1180 corresponde a la vibración de cadenas hidrocarbonadas así como en 720 cm⁻¹ que corresponde al balanceo de cadena de al menos cuatro grupos CH₂. También se observa una banda en 465 cm⁻¹ característico de Fe-O que presenta la magnetita en su estructura cristalina. Se observó que las nanopartículas después de cinco días fueron estables al haber sido dispersadas en hexano ya que no precipitaron.

A continuación se muestran las micrografías de TEM de nanopartículas obtenidas con 27% de ácido oleico.

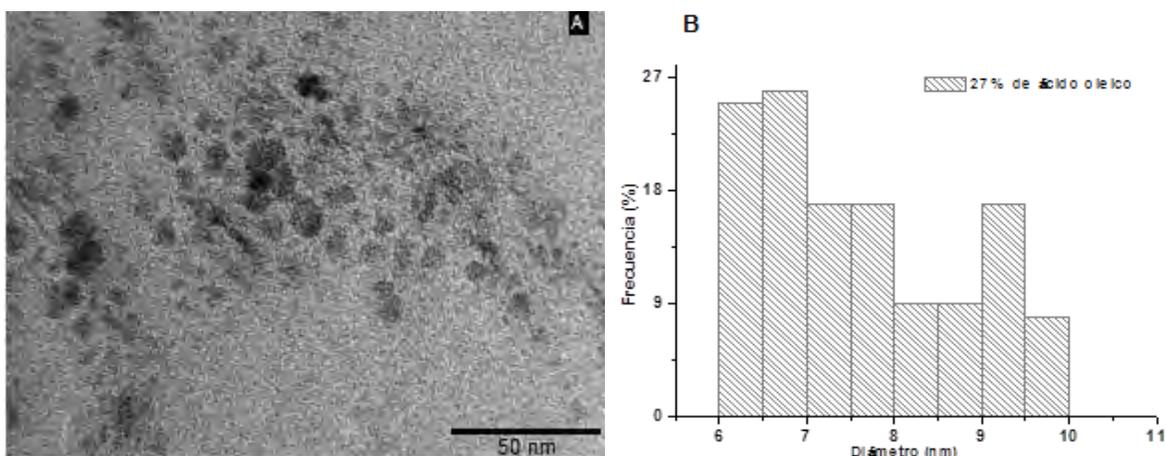


Fig. 4.3 (A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 con ácido oleico (27%), (B) distribución de nanopartículas Fe_3O_4

La fig. 4.3 muestra la micrografía de nanopartículas de Fe_3O_4 en la cual apenas se logran observar las nanopartículas se atribuye al exceso de oleico por lo que no se distinguen bien aunque algunas se encuentran dispersas con forma semiesférica, el histograma representa una distribución estrecha de tamaño de grano entre 6 y 10 nm siendo el valor medio 7 ± 1 nm.

3.3.2 Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 empleando 13.5% de ácido oleico

Con este porcentaje de ácido oleico se analizaron dos casos, el primero fue agregar ácido oleico después de la formación de magnetita y el segundo experimento consistió en agregarlo antes de la formación de magnetita.

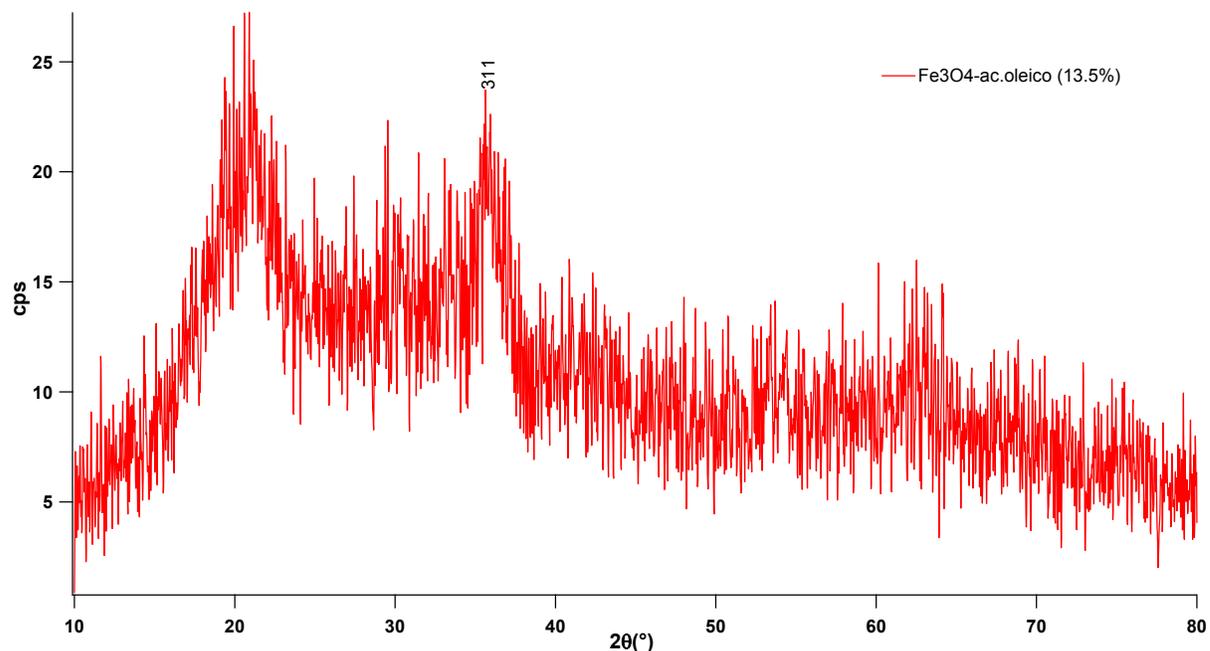


Fig. 4.4 Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 – ácido oleico (13.5%), obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ y pH final de 12, el ácido oleico fue agregado después de la formación de Fe_3O_4

Al disminuir la cantidad de ácido oleico (13.5%) que fue agregado después de la formación de magnetita empleando hidróxido de tetraetilamonio como agente precipitante, todavía el difractograma de rayos X muestra un exceso de ac. oleico pues tiene mayor contribución la fase amorfa ya que no están bien definidos los picos de difracción de la fase cristalina de magnetita. Las nanopartículas fueron dispersadas en hexano y mostraron ser estables ya que no precipitaron.

La figura 4.5 muestra el espectro IR de nanopartículas de Fe_3O_4 con ácido oleico (13.5).

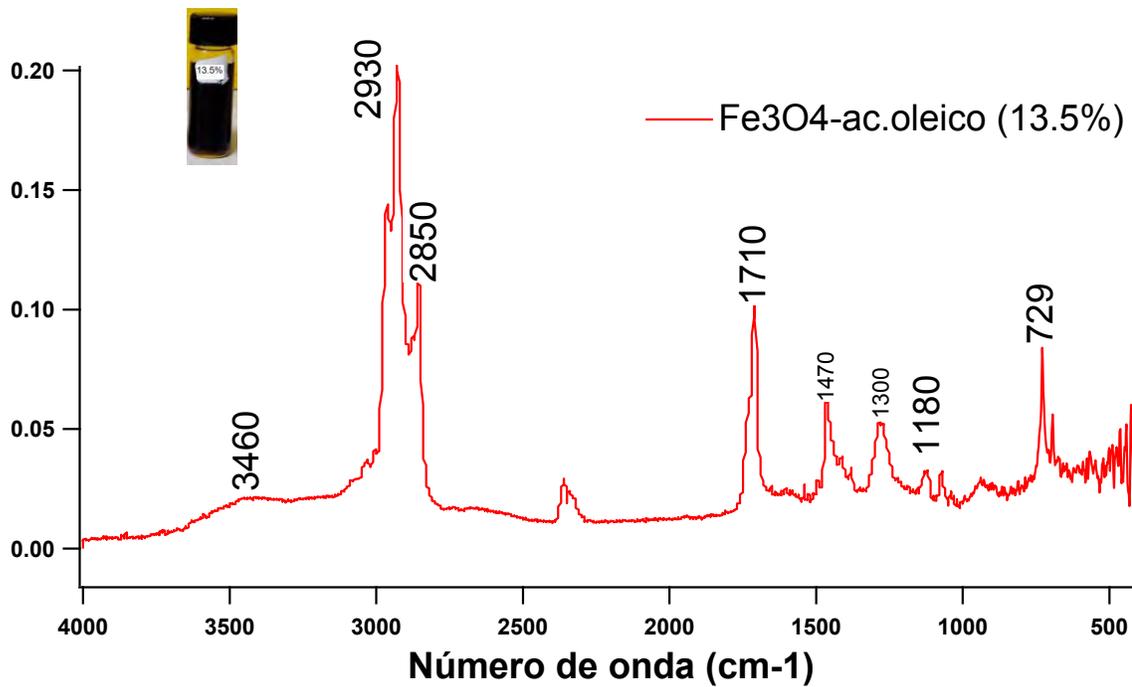


Fig. 4.5 Espectro IR de nanopartículas de magnetita con ácido oleico (13.5%), el ácido oleico fue agregado después de la formación de Fe₃O₄

Como podemos observar el IR de la figura 4.5 se distinguen dos bandas de absorción en 2930 y 2850 cm⁻¹ que se debe a la tensión asimétrica de CH₂ y simétrica CH₂ respectivamente. El pico en 1710 cm⁻¹, se debe a las vibraciones de tensión C=O además se tiene la banda característica de la vibración OH en 3460 cm⁻¹ así como el pico característico en 1180 que corresponde a la vibración de cadenas hidrocarbonadas. En 1470 cm⁻¹ corresponde a la vibración tijera CH₂ y CH₃ y la absorción en 1300 se debe al balanceo CH₃.

El análisis local de tamaño de grano se muestra a continuación con las micrográficas que se obtuvieron por TEM.

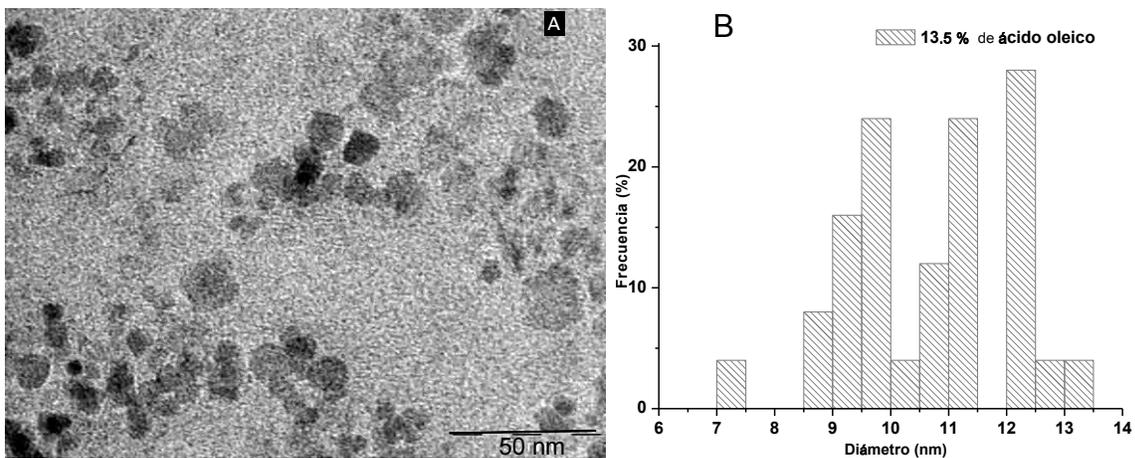


Fig. 4.6(A) Micrografía de MET de nanopartículas de Fe_3O_4 con ácido oleico (13.5%), (B) distribución de nanopartículas Fe_3O_4 . El ácido oleico fue agregado después de la formación de Fe_3O_4

Al analizar la imagen de baja amplificación figura 4.6A se logran observar nanopartículas de forma semiesférica y facetadas en algunas zonas observamos la delimitación entre una, y otra es decir si se empiezan a dispersar. Por otro lado, de acuerdo al análisis estadístico se tiene un tamaño medio de 10 ± 1 nm y de acuerdo con el histograma tenemos un amplio intervalo de tamaño que también se puede observar en la micrografía. Esto se puede atribuir a que después de agregar el ácido oleico una vez que se formaron las nanopartículas, al ser una cadena grande y estar en agitación durante media hora los posibles aglomerados de nanopartículas que consistían de grandes y pequeñas se fueron dispersando.

A continuación se muestran los resultados de la muestra obtenida empleando 13.5% de ácido oleico agregado al medio de reacción antes de la formación de magnetita.

La figura 4.7 muestra el patrón de difracción de nanopartículas de magnetita con ácido oleico (13.5%), en el que se observa la gran influencia de adicionar el ácido oleico antes de la formación de magnetita ya que se logran apreciar la familia de planos en la fase cristalina de magnetita esto de acuerdo al análisis que se llevó a cabo la fase presente corresponde a magnetita (Fe_3O_4) comparando con la tarjeta *PDF* 01-089-0691. Además observamos picos anchos que nos dan una referencia de que el tamaño del cristal es pequeño.

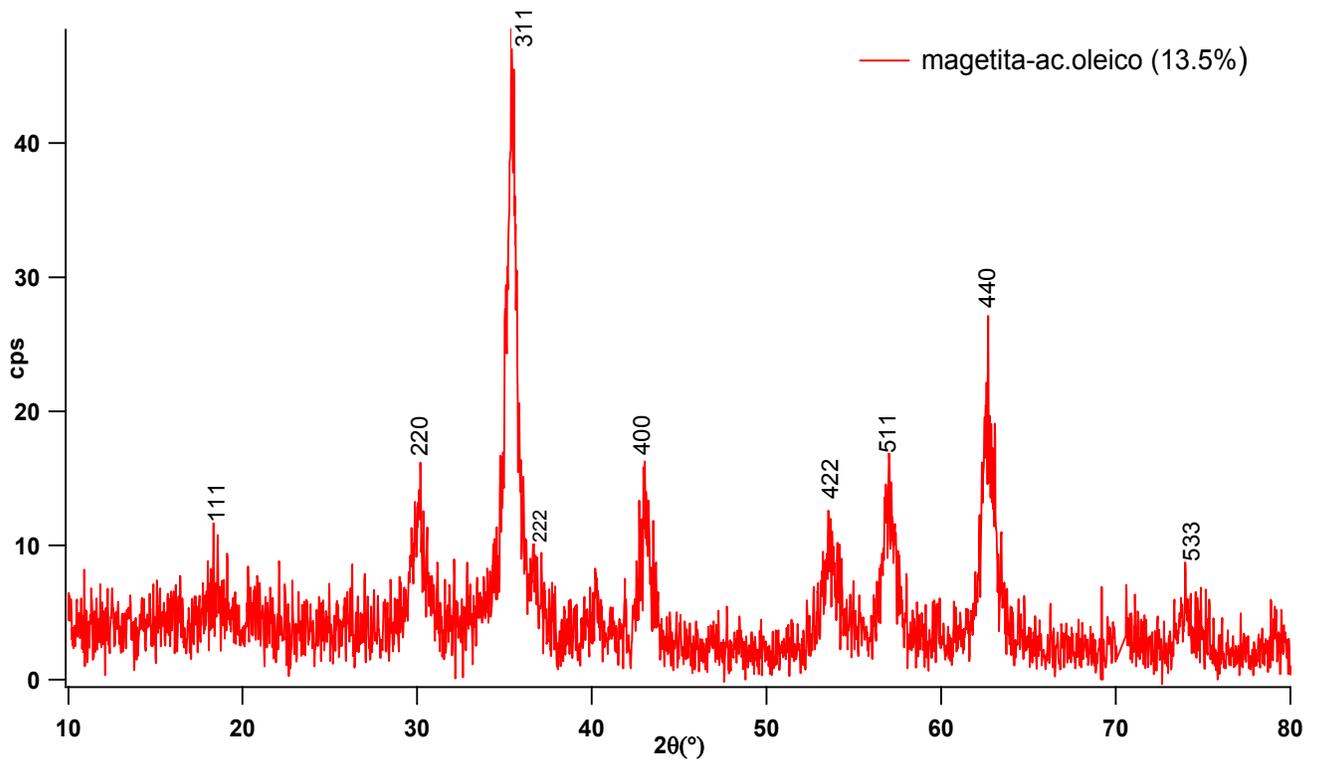


Fig. 4.7 Patrón de difracción de nanopartículas de Fe_3O_4 – ácido oleico (13.5%), obtenidas con $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{-OH}$ y pH final de 12. El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe_3O_4

La figura 4.8 muestra el espectro IR de nanopartículas de magnetita- ácido oleico (13.5%). Es importante mencionar que el disolvente en el que se dispersó la muestra para el análisis agua destilada y las muestras mostraron ser muy estables pues no precipitaron.

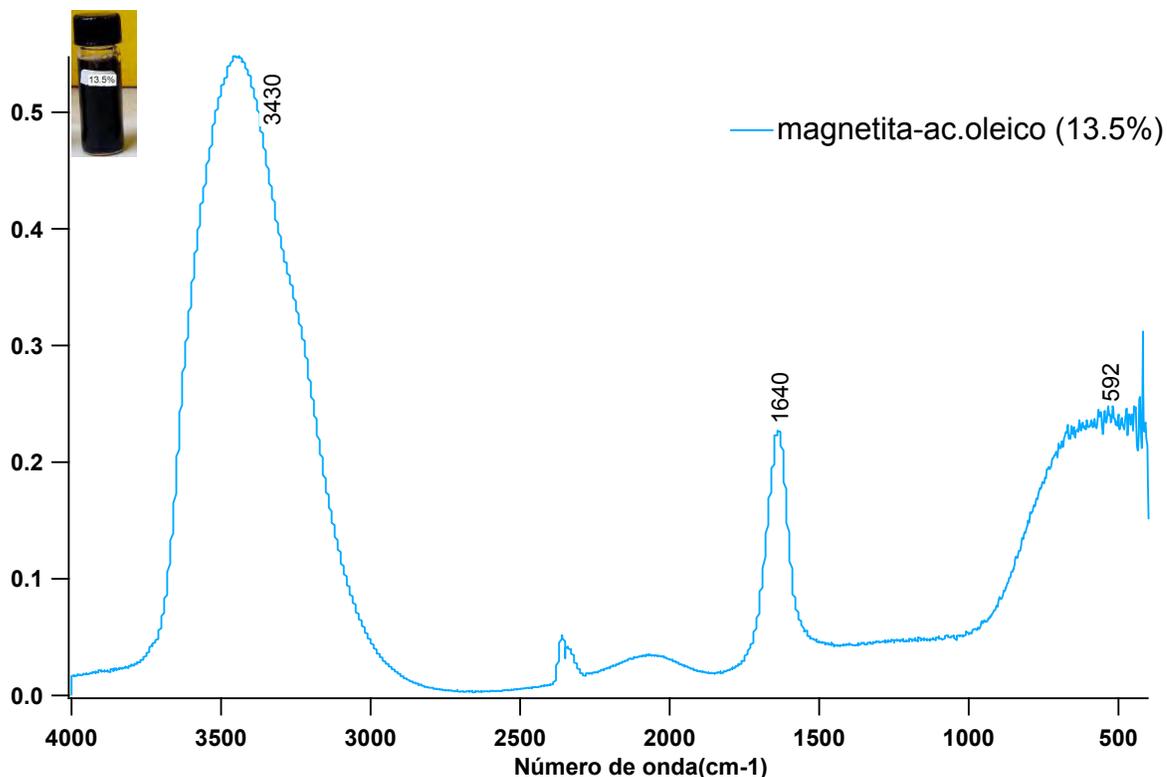


Fig. 4.8 Espectro IR de nanopartículas de magnetita con ácido oleico (13.5%). El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe₃O₄

Los enlaces O-H absorben en amplio intervalo de frecuencia esta absorción se encuentra centrada en 3440 cm⁻¹ del IR de la figura 4.8 como podemos notar esta absorción es muy intensa y proviene del agua en el medio y no observamos otra señal hasta 1640 cm⁻¹ que corresponde al grupo COO⁻. El pico en 592 cm⁻¹ es característico del enlace Fe-O proveniente de la magnetita.

El análisis local de distribución y tamaño de grano se muestra a continuación con las micrografías que se obtuvieron por TEM.

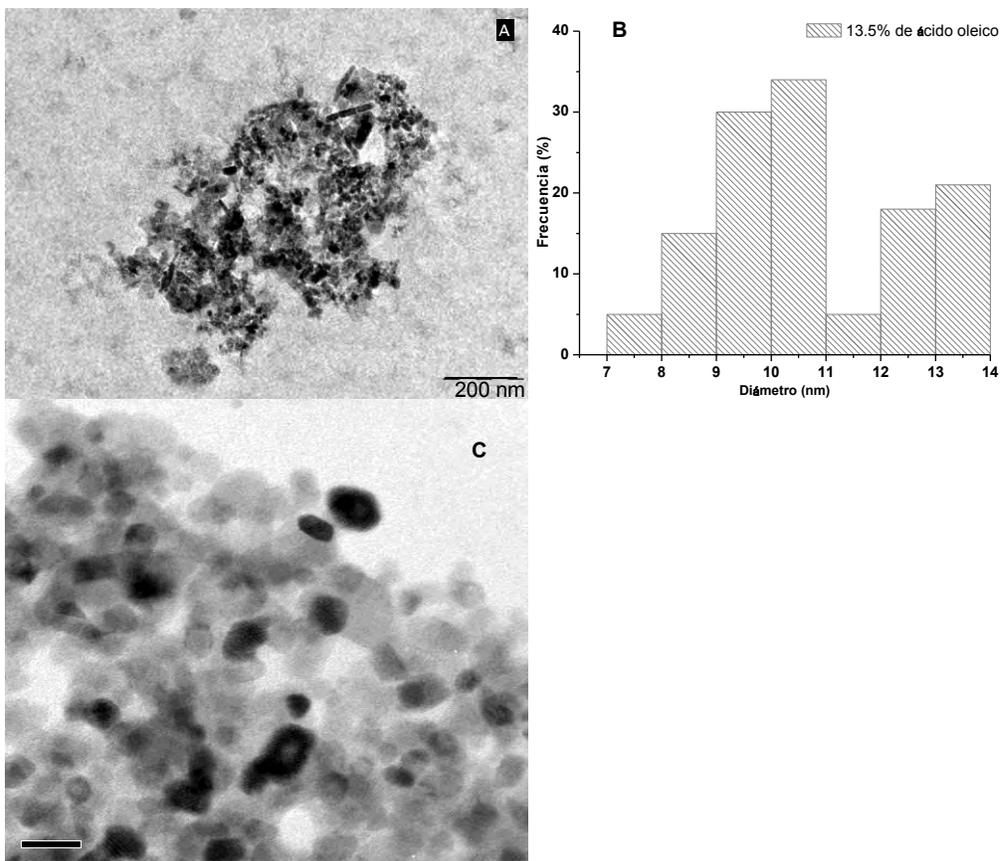


Fig. 4.9 (A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 con ácido oleico (13.5%), (B) distribución de nanopartículas Fe_3O_4 . El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe_3O_4

El agregar ácido oleico a esta concentración antes de la formación de magnetita no funcionó en la dispersión de las nanopartículas pues observamos en la micrografía de la figura 4.9A de baja amplificación que las nanopartículas se encuentran en cúmulos. Por otro lado, de acuerdo con el histograma aumentó, el intervalo en tamaño de grano asociado con el radio hidrodinámico de las nanopartículas, el análisis estadístico muestra una media de 10 ± 1 nm. Cabe mencionar que el histograma se realizó por conteo de varias micrografías en las cuales se midieron las nanopartículas más delimitadas y definidas pues como se logra ver en la figura 4.9C se encuentran muy aglomeradas.

3.3.3 Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 empleando 6.7% de ácido oleico

En este experimento fue empleada menor cantidad de ácido oleico ya que hasta ahora no se han logrado dispersar las nanopartículas con los experimentos anteriores. La figura 4.10 muestra el difractograma de nanopartículas sintetizadas empleando hidróxido de tetrametilamonio $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ como agente precipitante empleando la relación $\frac{n_{\text{base}}}{n(\text{Fe}^{2+}+\text{Fe}^{3+})} = 5.8$. El difractograma corresponde a magnetita (Fe_3O_4) comparando con la tarjeta PDF 01-089-0691 y no se aprecian segundas fases. Ya que el tamaño de grano repercute en el ancho de los picos, en la fig.4.10 observamos que los picos son anchos esto quiere decir que se obtuvieron cristales pequeños.

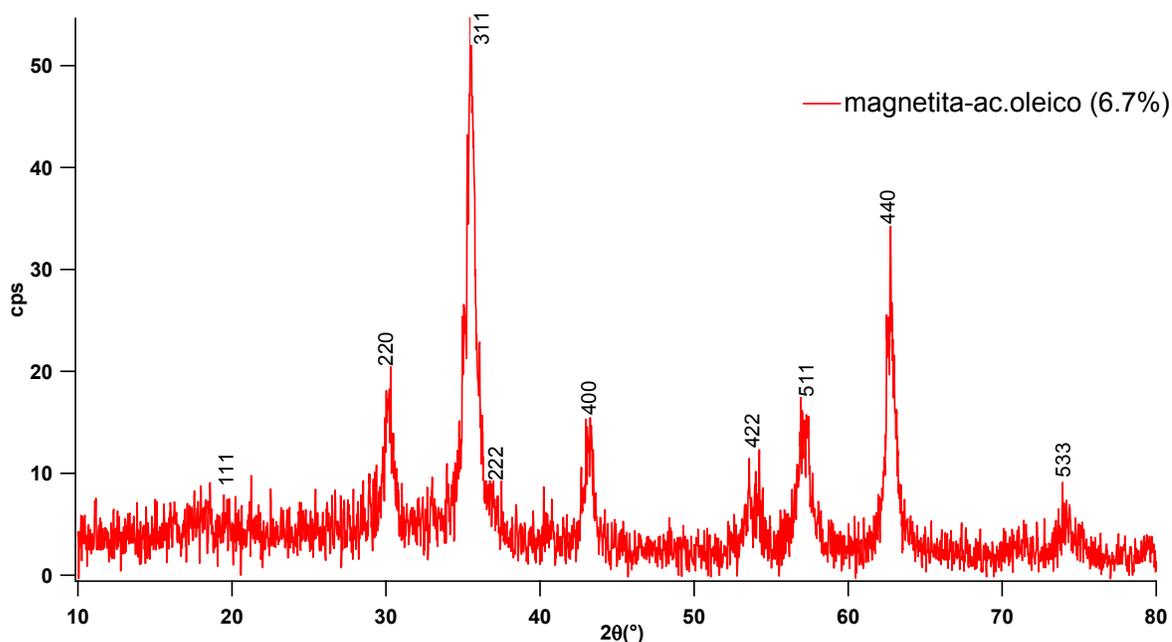


Fig. 4.10 Difractograma de nanopartículas de Fe_3O_4 – ácido oleico (6.7%), obtenidas con $\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{-OH}$ y pH final de 11. El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe_3O_4

La figura 4.11 muestra el espectro IR de la muestra de magnetita que se obtuvo con 6.7% de ácido oleico. Los enlaces O-H absorben en amplio intervalo de frecuencia, el IR de la figura 4.11 muestra esta absorción centrada en 3450 cm^{-1} como podemos notar esta absorción es muy intensa y proviene de que las nanopartículas están suspendidas en agua y no observamos otra señal hasta 1640 cm^{-1} que corresponde al grupo COO^- .

Por otro lado también se encuentra la señal en 555 cm^{-1} debida al enlace Fe-O característico de magnetita.

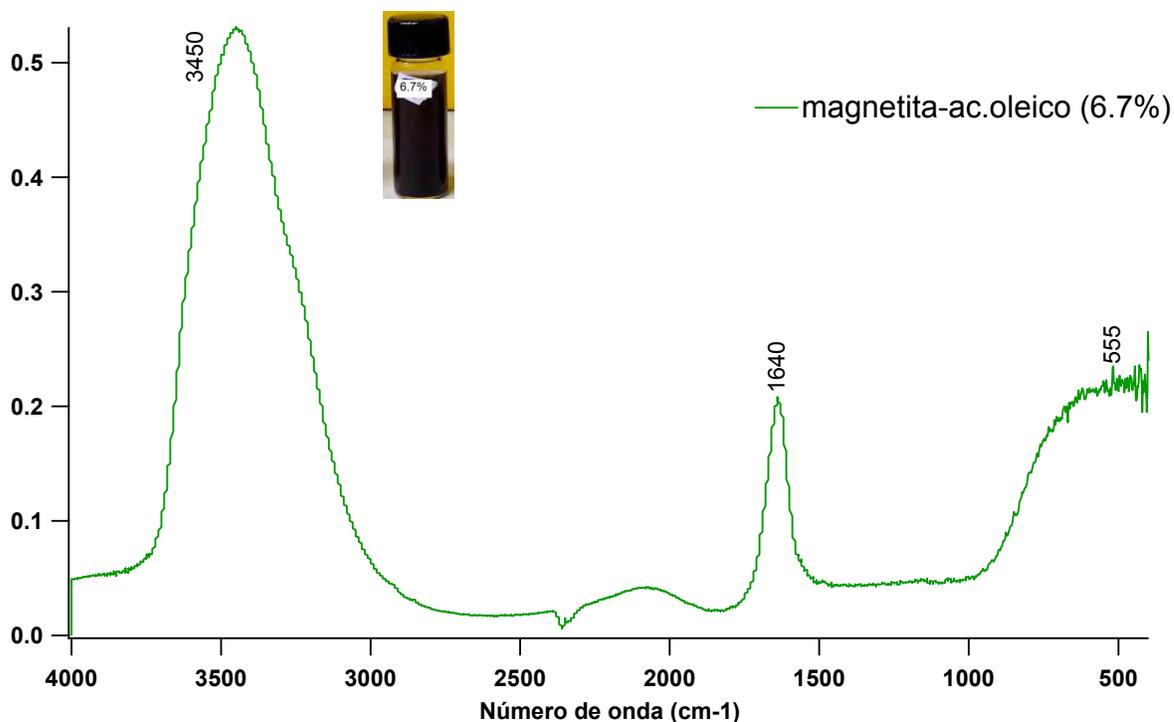


Fig. 4.11 Espectro IR de nanopartículas de magnetita con ácido oleico (6.7%). El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe_3O_4

La figura 4.12A muestra una micrografía a baja amplificación y podemos observar nanopartículas delimitadas una de otra con el habito de crecimiento bipirámide característico de magnetita, esto da una idea que al disminuir la cantidad de ácido oleico antes de la formación de magnetita se puede lograr obtener nanopartículas mas dispersas. Por otro lado, de acuerdo con el histograma aumentó el intervalo del tamaño de grano y el análisis estadístico muestra una media de $10 \pm 1\text{ nm}$.

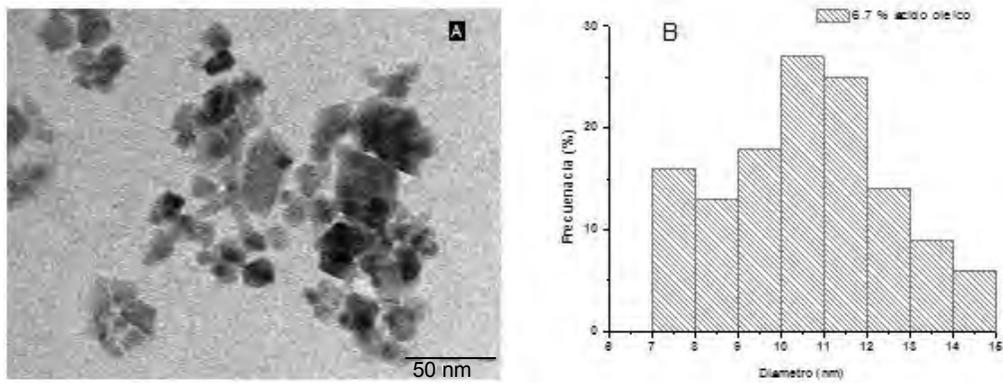


Fig. 4.12 (A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe₃O₄ con ácido oleico (13.5%), (B) distribución de nanopartículas Fe₃O₄. El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe₃O₄

3.3.4 Síntesis de nanopartículas de Fe₃O₄ empleando 3.7% de ácido oleico

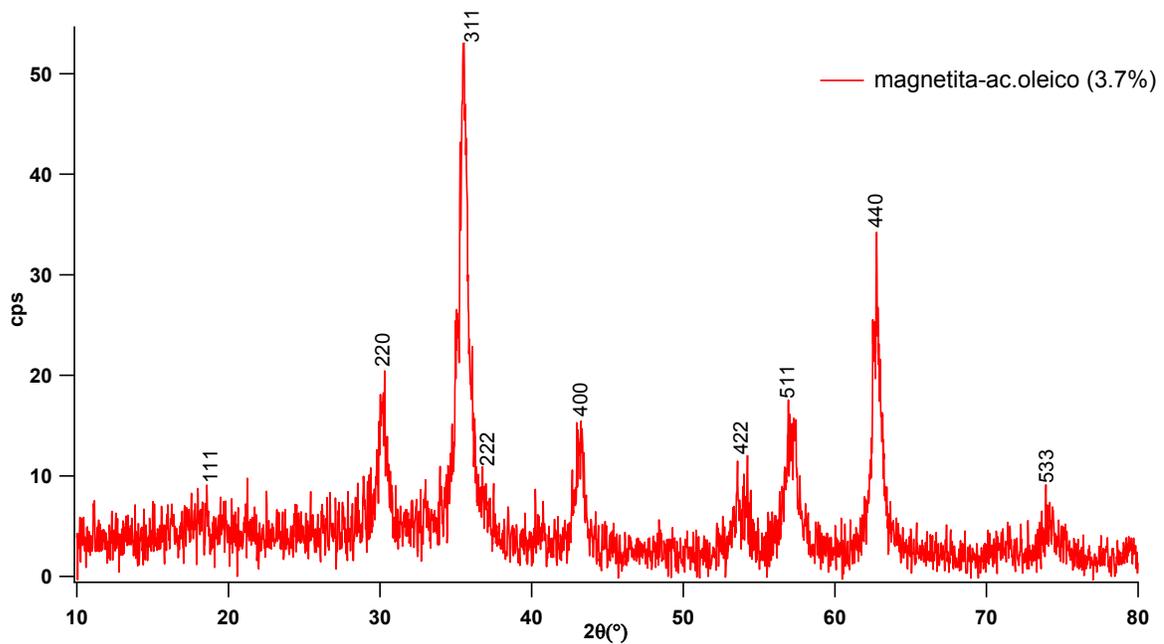


Fig. 4.13 Difractograma registrado para nanopartículas de Fe₃O₄ – ácido oleico (6.7%), obtenidas con N(CH₃)₄-OH y pH final de 11. El ácido oleico fue agregado después de la formación de Fe₃O₄

La figura 4.13 muestra el difractograma obtenido para nanopartículas de magnetita con ácido oleico con una relación de 3.7%, en el cual se observa que presenta máximos de difracción anchos, los cuales se atribuyen a la presencia de cristales pequeños en la muestra obtenida, por otro lado los máximos de difracción registrados experimentalmente coinciden con los datos reportados en la tarjeta PDF 01-089-0691 para magnetita.

El IR de la figura 4.14 muestra una banda en 3450cm^{-1} asignada para la vibración del enlace O-H así como las bandas características de la tensión simétrica y asimétrica de CH_2 en 2920 y 2850cm^{-1} , también se observa una banda intensa en 1470cm^{-1} que se debe a las vibraciones de deformación angular de los grupos CH_2 , permanece la banda del grupo C=O en 1710cm^{-1} y por último la señal en 580cm^{-1} debida al enlace Fe-O de la magnetita.

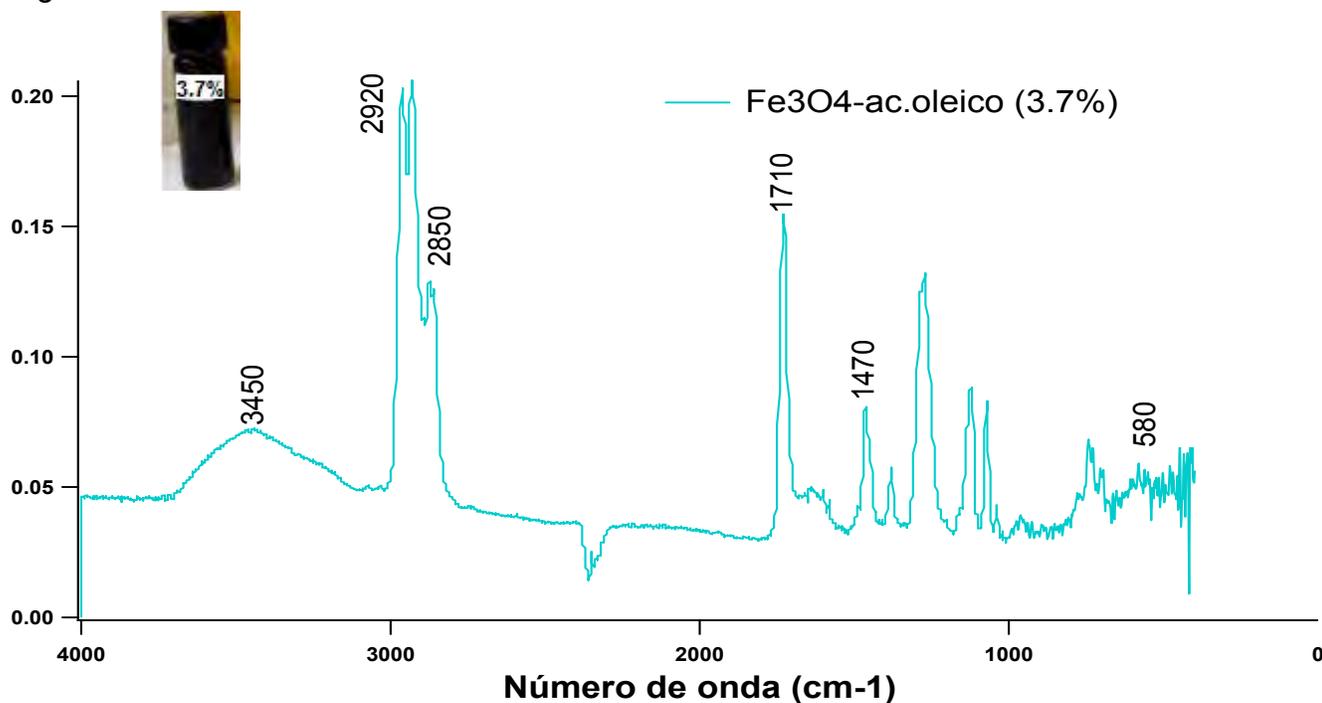


Fig. 4.14 Espectro IR de nanopartículas de magnetita con ácido oleico (3.7%). El ácido oleico fue agregado después de la formación de Fe_3O_4

La imagen mostrada en la figura 4.15A corresponde a la micrografía de campo claro tomada para el producto obtenido de magnetita después de que se añadió el 3.7% de ácido oleico.

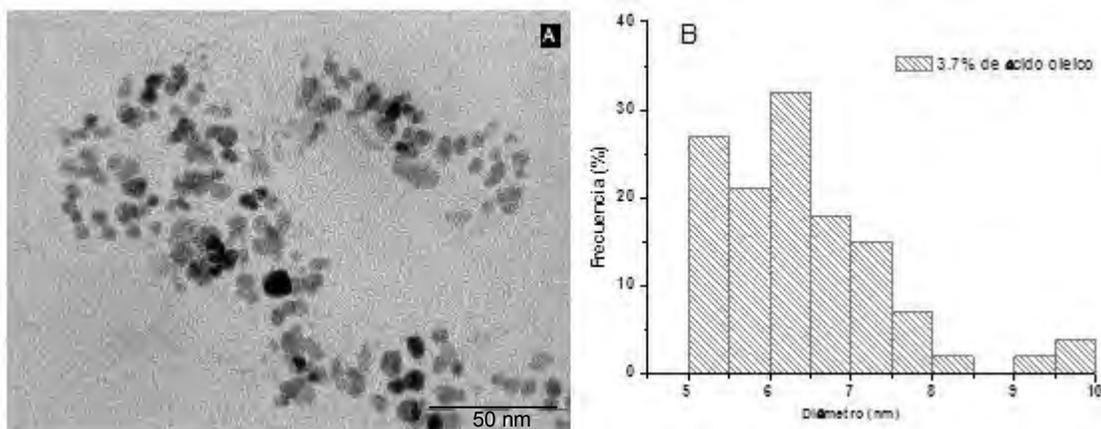


Fig. 4.15 (A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe₃O₄ con ácido oleico (3.7%), (B) distribución de nanopartículas Fe₃O₄. El ácido oleico fue agregado después de la formación de Fe₃O₄

La figura 4.15A muestra que el producto sintetizado está conformado por grupos de partículas con forma esférica y semiesférica, en su mayoría se encuentran dispersas. La figura 4.15B, muestra el histograma de frecuencia de tamaños, para 128 nanopartículas calculadas a partir de las micrografías de campo claro que se obtuvieron de la misma muestra preparadas además es posible distinguir que el tamaño de grano con un número máximo de observaciones semejantes es 6 ± 1 nm. Se destaca que el intervalo de tamaño es menor que en los casos anteriores.

3.3.5 Síntesis de nanopartículas de Fe₃O₄ empleando 2.6% de ácido oleico

Se realizó un último experimento empleando menor cantidad de ácido oleico el cual se agregó antes de la formación de magnetita, para saber si era posible mejorar la distribución de las nanopartículas. El porcentaje de ácido oleico en este experimento fue de 2.6%.

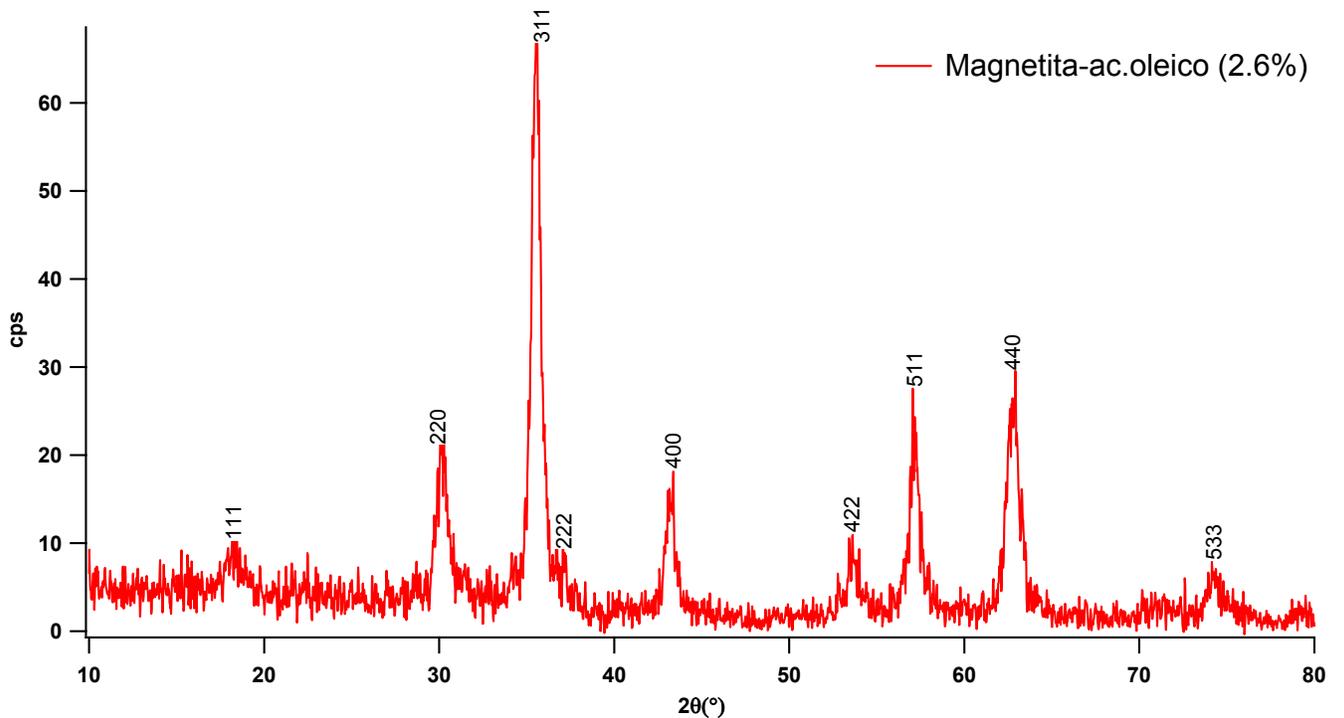


Fig. 4.16 Difractograma registrado para nanopartículas de Fe₃O₄ – ácido oleico (2.6%), obtenidas con N(CH₃)₄-OH y pH final de 11. El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe₃O₄

La figura 4.16 muestra el difractograma de nanopartículas sintetizadas empleando hidróxido de tetrametilamonio N(CH₃)₄OH como agente precipitante empleando la relación $\frac{n_{base}}{n(Fe^{2+}+Fe^{3+})} = 5.8$. El difractograma corresponde a magnetita (Fe₃O₄) comparando con la tarjeta PDF 01-089-0691 y no se aprecian segundas fases a su vez podemos observar que los picos de difracción son anchos es decir tenemos granos pequeños.

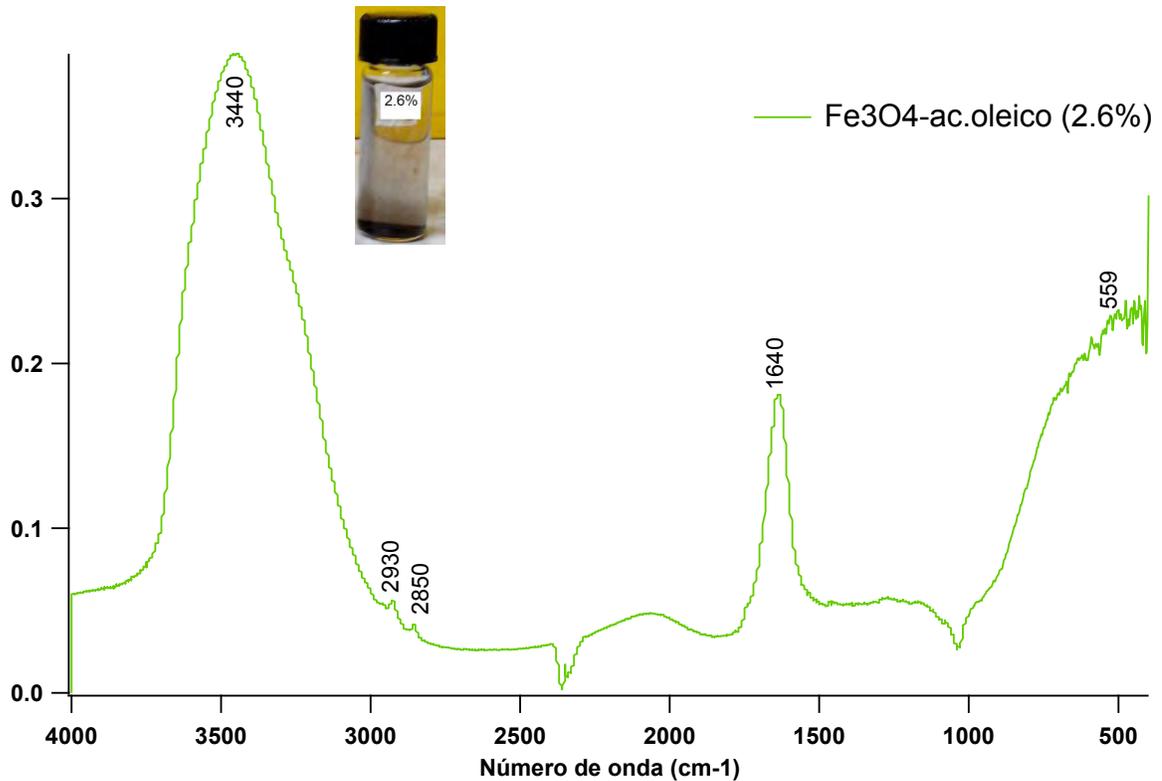


Fig. 4.17 Espectro IR denanopartículas de magnetita con ácido oleico (2.6%). El ácido oleico fue agregado antes de la formación de Fe₃O₄

La figura 4.17 muestra el IR de la muestra de magnetita que se obtuvo con 2.6% de ácido oleico. Los enlaces O-H absorben en amplio intervalo de frecuencia, en la figura 4.17 esta absorción se encuentra centrada en 3450 cm⁻¹ como podemos notar esta absorción es muy intensa y proviene de que las nanopartículas se encuentran suspendidas en agua, también observamos dos bandas de muy baja intensidad en 2920 y 2850 cm⁻¹ que se debe a la tensión asimétrica de CH₂ y simétrica CH₂ respectivamente y otra señal hasta 1630 cm⁻¹ que corresponde a la absorción del grupo COO⁻. También se observa señal en 559 cm⁻¹ característico del enlace Fe-O presente en magnetita. Cabe mencionar que las nanopartículas no fueron estables pues precipitaron a las pocas horas de ser suspendidas en agua.

A continuación se muestran las imágenes obtenidas con microscopia electrónica de transmisión.

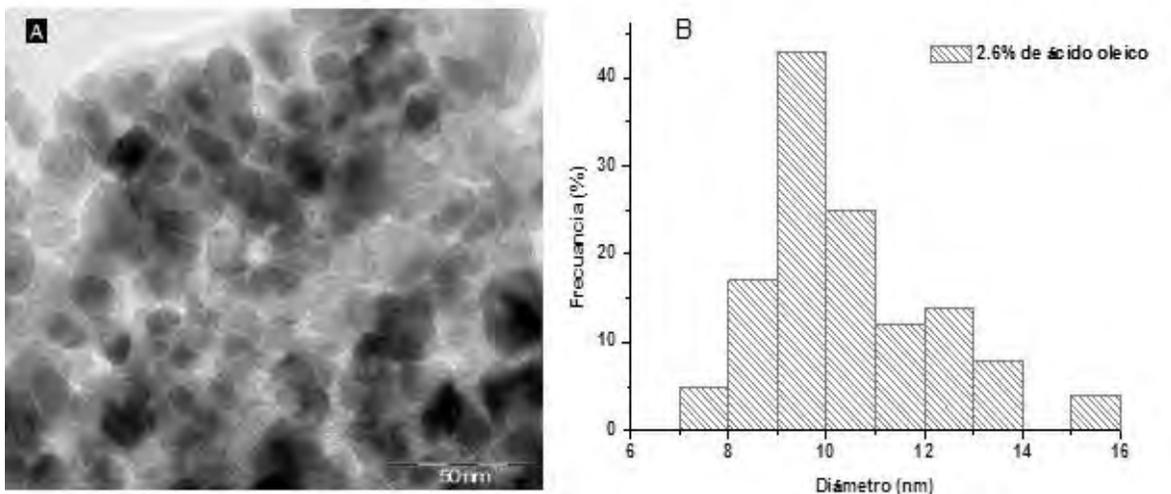


Fig. 4.18 (A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe₃O₄ con ácido oleico (2.6%), (B) distribución de nanopartículas Fe₃O₄

El agregar 2.6% de ácido oleico antes de la formación de magnetita no favorece en la dispersión de las nanopartículas pues observamos en la micrografía de la figura 4.18A de baja amplificación que las nanopartículas se encuentran en cúmulos aglomerados. Aunque se observó que son de forma esférica en la mayoría de los casos, por otro lado de acuerdo con el histograma que se determinó midiendo de varias micrografías de la misma muestra tomando las nanopartículas más definidas observamos que se tiene amplio intervalo de tamaño de grano y el análisis estadístico muestra una media de 10.48 ± 1.77 nm.

Recapitulando, hasta ahora se ha demostrado que las nanopartículas de magnetita (Fe₃O₄) menores a 15nm sintetizadas por coprecipitación en condiciones de atmosfera inerte, sufren ligeros cambios en la superficie los cuales se ven reflejados en los difractogramas de rayos X de cada muestra, esto como consecuencia del medio en el que se encuentran y a la manipulación durante su caracterización. Por otro lado mediante la caracterización de MET se demuestra que en la síntesis por coprecipitación se obtienen nanopartículas facetadas en su mayoría aglomeradas por esta razón, se empleo el ácido oleico como agente estabilizador de las nanopartículas contra la aglomeración, obteniendo nanopartículas dispersas empleando la concentración de 3.7% de ácido oleico para continuar con la siguiente etapa de encapsulación de este proyecto.

3.4 Funcionalización de Nanopartículas de Magnetita

3.4.1 Funcionalización de Fe₃O₄ empleando Quitosano

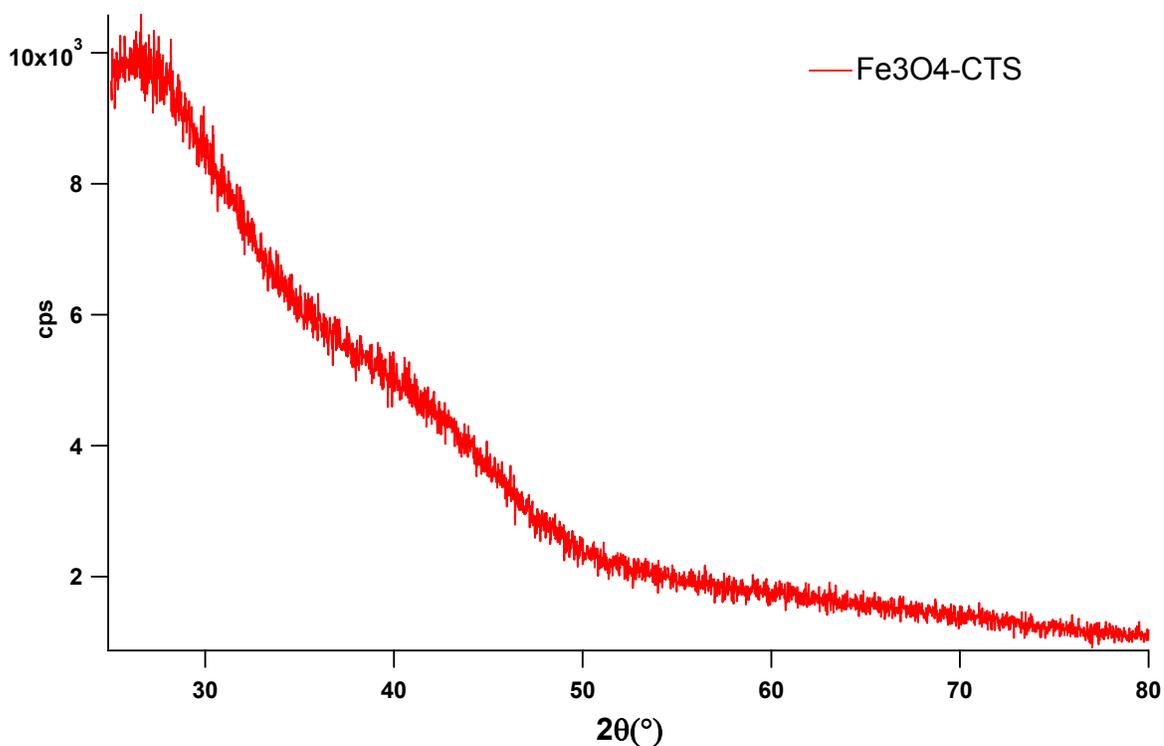


Fig. 5.1 Difractograma de rayos X registrado para nanopartículas de Fe₃O₄ –CTS

La figura 5.1 muestra el difractograma de la muestra de Fe₃O₄ / quitosano, podemos observar que no se aprecian picos definidos por parte de los nano-cristales y que a ángulos bajos se tiene la contribución del quitosano y en el intervalo de 35° se tiene la contribución de magnetita.

El espectro IR de la figura 5.2 se obtuvo a partir de nanopartículas recubiertas con quitosano, el pico centrado en 3410 cm⁻¹ se debe a la tensión del grupo –OH, el pico alrededor de 1630 cm⁻¹ se debe a las vibraciones del grupo N-H y una tenue señal se observa en la región de 560 cm⁻¹ relacionado con el grupo Fe-O.

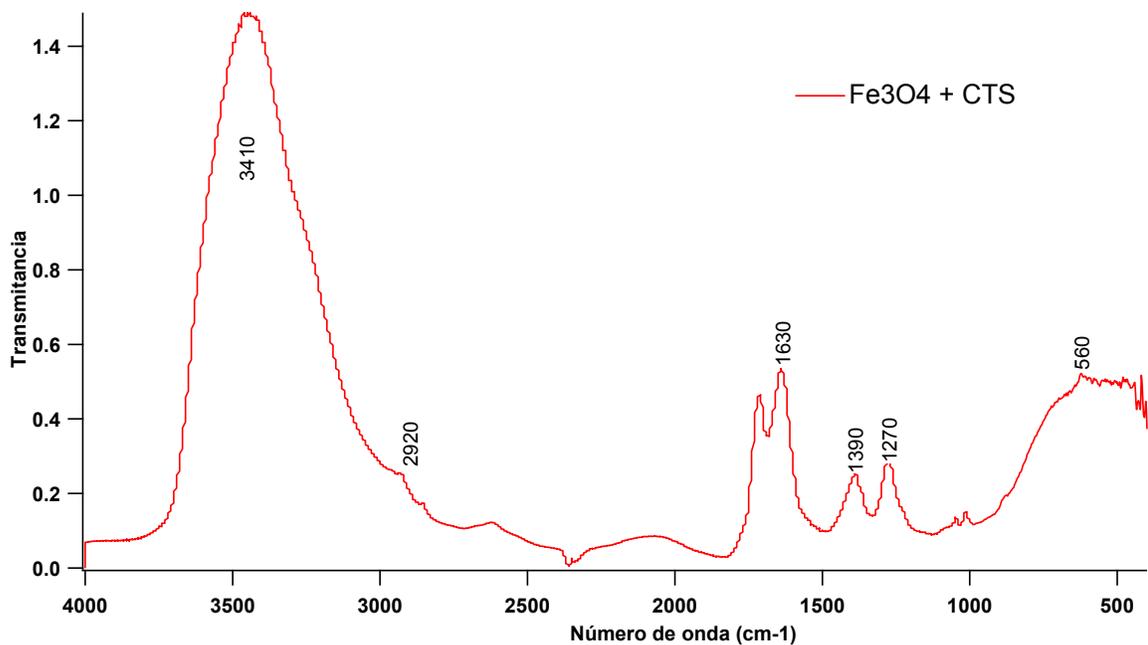


Fig. 5.2 Espectro IR de nanopartículas de Fe₃O₄-Quitosano

En la figura 5.3 se muestra micrografía de campo claro obtenida para el compuesto Fe₃O₄/CTS. El tamaño promedio de partícula medido para 128 nanopartículas directamente de las micrografías representa 9 ± 1 nm el histograma de la figura 5.3B se aprecia una distribución de tamaño uniforme pero con amplio intervalo en tamaño. En las micrografías que se utilizaron para contar las nanopartículas estas mostraron la característica de estar dispersas. Se compara con las micrografías de SEM de la figura 5.4 Fe₃O₄/CTS en la cual nos da una visión de un conjunto sobre un área amplia que permite comprobar que se han producido nanopartículas pequeñas.

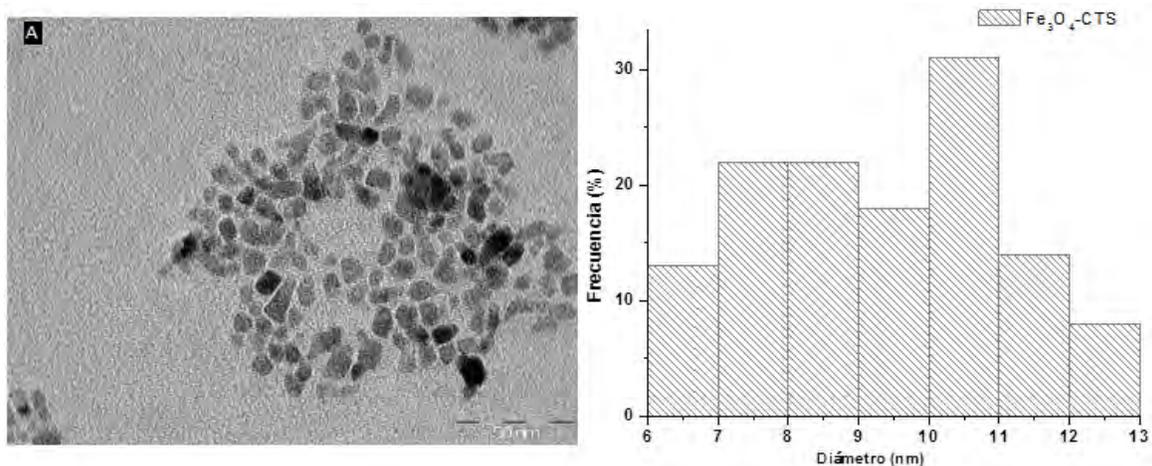


Fig.5.3 A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe₃O₄/CTS, (B) distribución de tamaño nanopartículas Fe₃O₄/CTS.

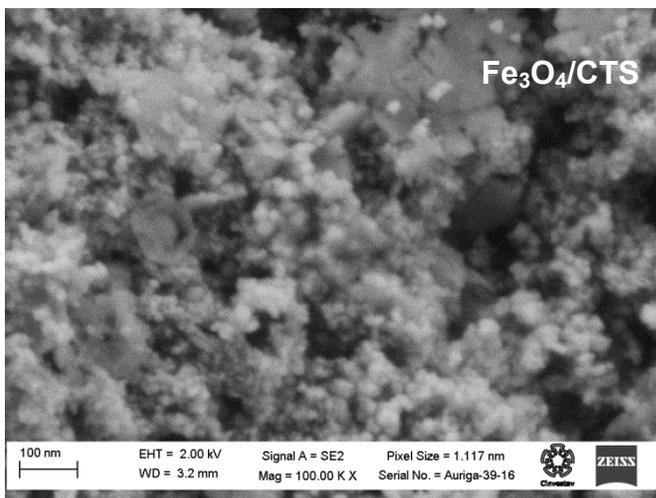


Fig. 5.4 Imagen de MEB de nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CTS}$

Las propiedades magnéticas de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CTS}$ se muestran a continuación, en las cuales se muestra la topografía en la figura 5.5A se observan aglomerados de nanopartículas semiesféricas en la cual la estructura de dominios se logra observar las zonas brillantes en la figura 5.5B que corresponde a la formación de dominios en presencia del campo. Es importante mencionar que se corrobora la poca respuesta magnetita de nanopartículas de magnetita con quitosano ya que al realizar el estudio por magnetometría el aparato no obtuvo señal a pesar de que la cantidad de muestra fue mayor que en el caso de nanopartículas preparadas con PEG en la cual se obtuvo señal y más adelante se muestran sus resultados.

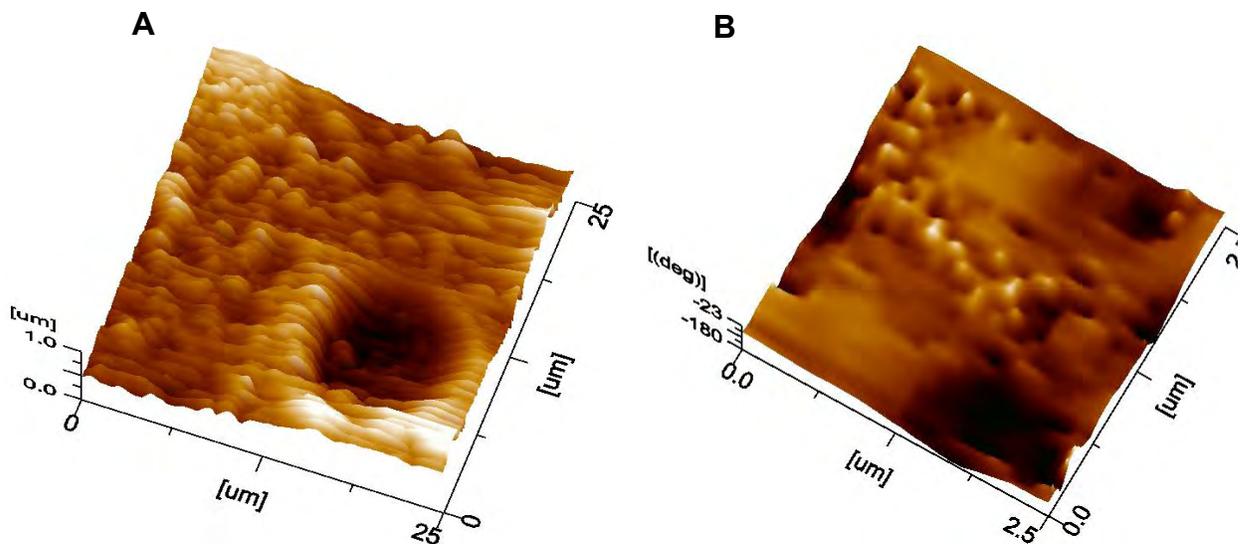


Fig. 5.5 Análisis AFM y MFM en partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CTS}$ (A) Topografía, (B) Dominios en el campo magnético

3.4.2 Funcionalización de Fe₃O₄ empleando Polietilenglicol

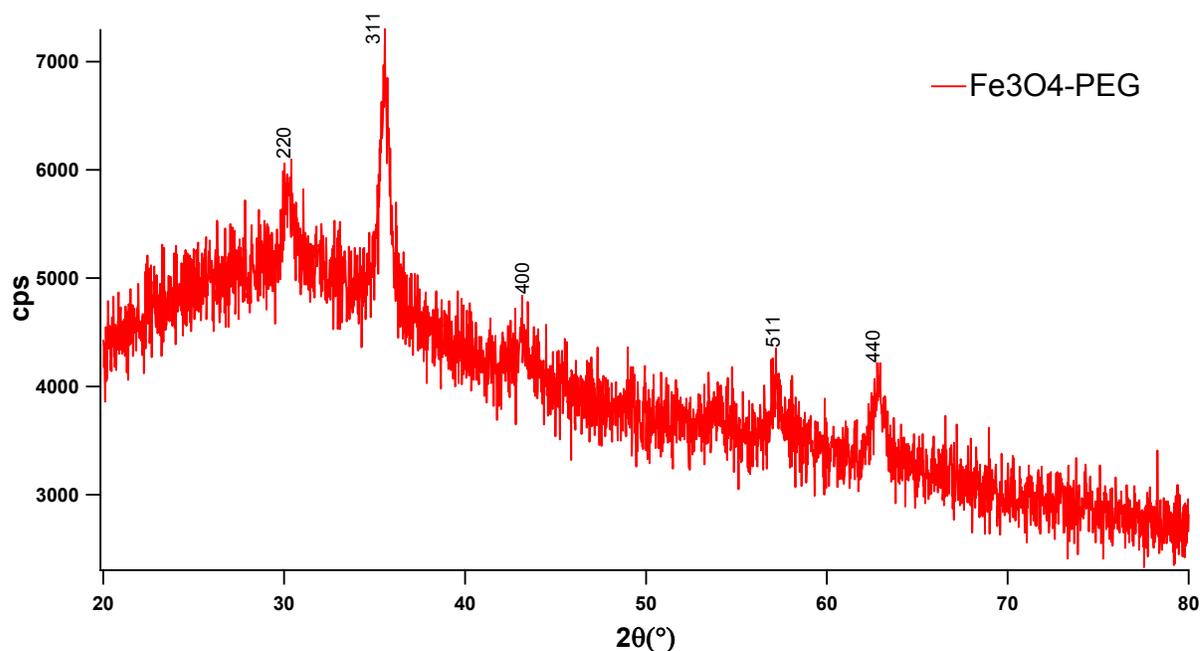


Fig. 5.6 Patrón de difracción de rayos X registrado para nanopartículas de Fe₃O₄ -PEG

La figura 5.6 muestra el difractograma de Fe₃O₄ –PEG, se puede observar que la señal no es completamente de un amorfo, ya que como podemos observar hay dos señales importantes de las cuales se relaciona la contribución de PEG en el intervalo de 20° a 50° y dos picos relativamente intensos que corresponden a los planos (220) y (311) de los nano-cristales de Fe₃O₄ en el intervalo de 30 y 35°. Con base en esto, el PEG se encuentra en la superficie de las nanopartículas por lo cual no se obtiene completamente la señal de la familia de planos que corresponde a la monofase de Fe₃O₄.

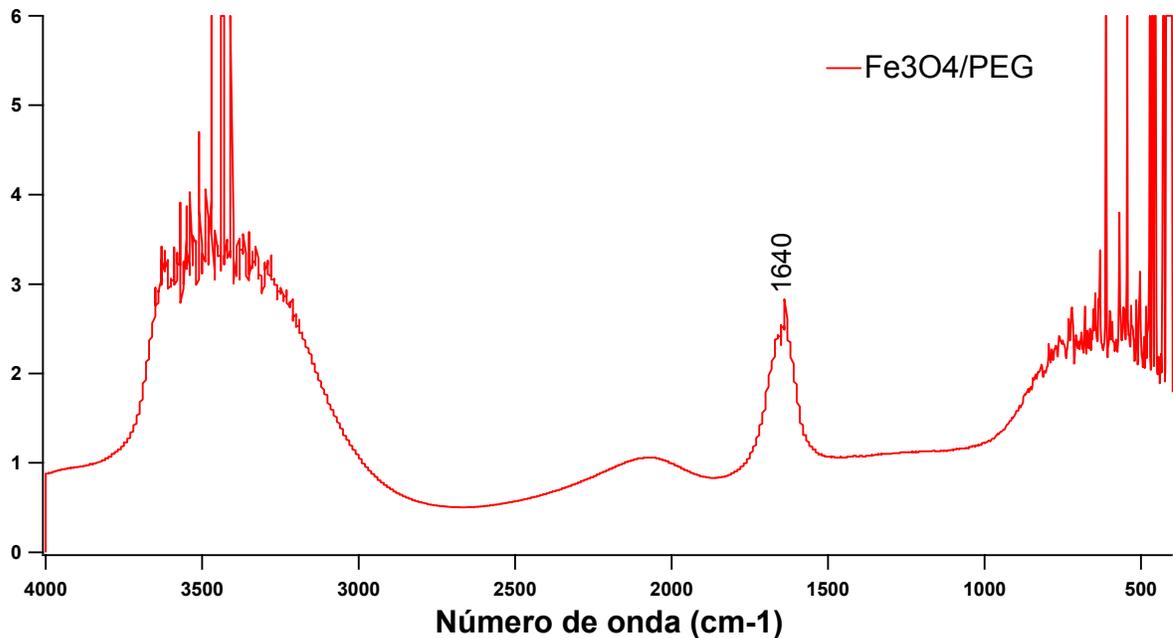


Fig. 5.7 Espectro IR de nanopartículas de Fe₃O₄-Polietilenglicol

El espectro IR de la figura 5.7 se obtuvo a partir de nanopartículas recubiertas con polietilenglicol, podemos observar un pico bastante ancho entre 3700 y 3010 cm⁻¹ el cual se atribuye a la tensión del enlace O-H del polietilenglicol, también existe un pico en 1640 cm⁻¹ que corresponde al enlace C-O en la molécula del polietilenglicol y una intensa señal se observa en la región de 560 cm⁻¹ en la cual está presente la señal del enlace Fe-O de Fe₃O₄, de acuerdo con estos resultados se verifica la adsorción de las cadenas de PEG en la superficie de las nanopartículas [28]. Cabe mencionar que al ser el polietilenglicol un agente hidrofílico absorbe agua del medio por esa razón el IR presenta esa señal de agua en la zona de tensión del OH y de Fe-O.

En la figura 5.8A se muestra la imagen de campo claro obtenida para el compuesto Fe₃O₄/PEG. El tamaño promedio de partícula medido para 128 nanopartículas directamente de las micrografías de campo claro representa 11 ±1 nm. En la figura 5.2B se aprecia amplio intervalo en tamaño. En las micrografías que se utilizaron para contar las nanopartículas estas mostraron la característica de agregarse en racimo, algunas zonas más dispersas que otras pero siempre en racimos. En la micrografía C se logran apreciar las nanopartículas encapsuladas, en las zonas que se determinó el tamaño corresponde a 7nm del núcleo y el recubrimiento de 3nm.

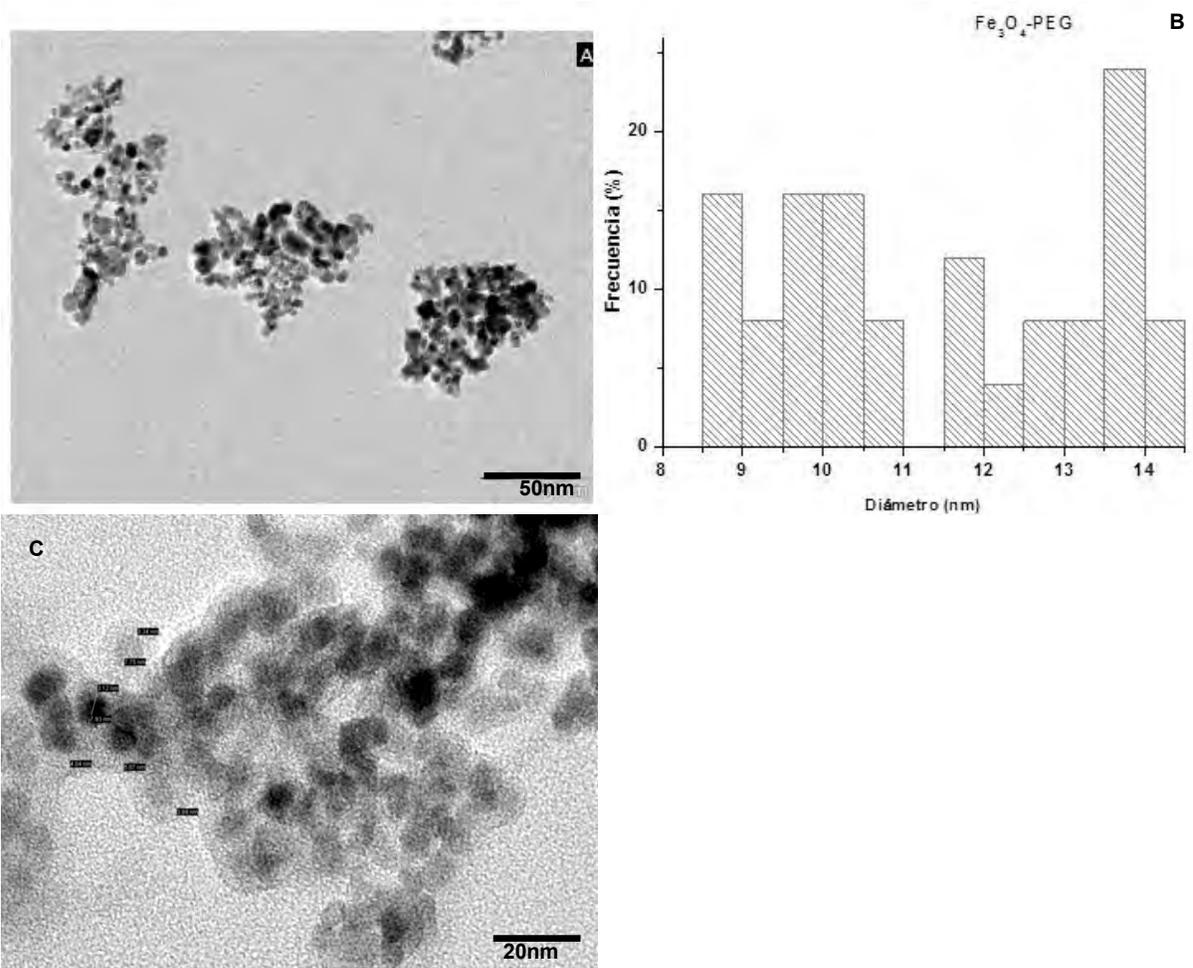


Fig. 5.8 (A) Micrografía de TEM de nanopartículas de Fe₃O₄/PEG, (B) distribución de tamaño nanopartículas Fe₃O₄/PEG

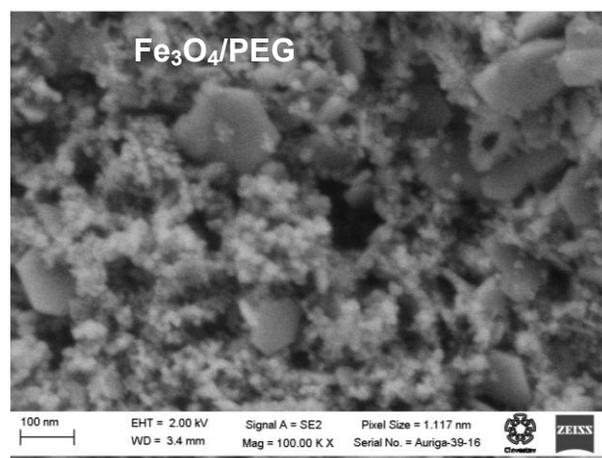


Fig. 5.9 Imagen de MEB de nanopartículas de Fe₃O₄/PEG

Los resultados de la microscopía electrónica de transmisión se comparan con la micrografías de SEM de la figura 5.9 Fe₃O₄/PEG en la cual al tener una visión de un

conjunto sobre un área amplia permite comprobar que se obtuvieron nanopartículas pequeñas, y que al secar la muestra se formaron agregados de PEG que son los que tienen estructura semejante a un hexágono y se descarta que éstas sean nanopartículas de magnetita ya que su hábito de crecimiento es de tetraedro.

Los resultados de las propiedades magnéticas de las nanopartículas muestran lo siguiente

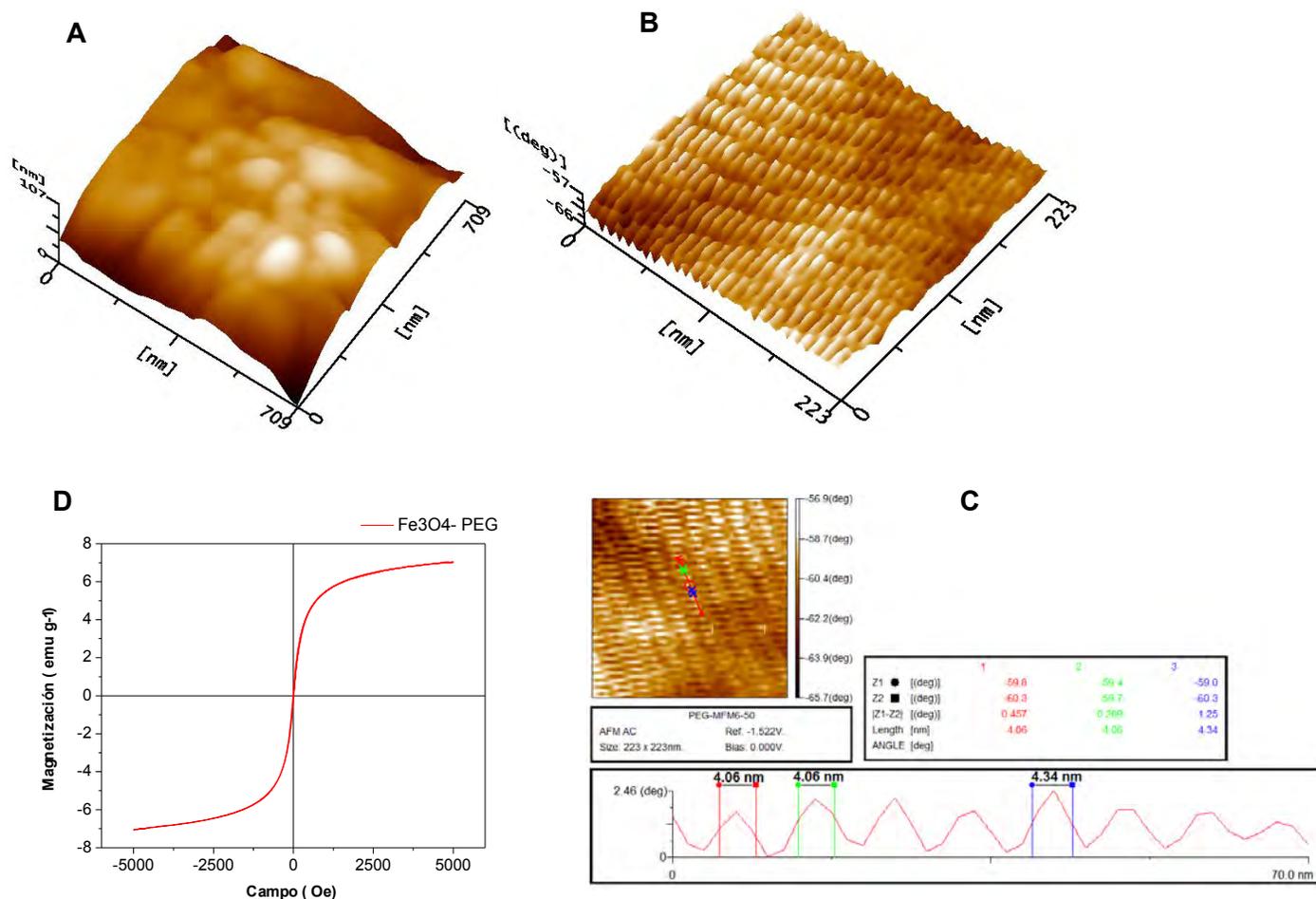


Fig. 5.10 A) Topografía nanopartículas Fe₃O₄/PEG, B) Dominios en el campo magnético, C) Perfil de dominios y D) Ciclo de histéresis de Fe₃O₄/PEG

La figura 5.10A muestra el estudio topográfico de nanopartículas obtenidas por recubrimiento con PEG, por microscopía de fuerza magnética se encontró que ocurre la interacción de la muestra con la punta magnética ocasionando la formación de dominios magnéticos los que se pueden observar en la figura 5.10B en la dirección del campo por lo cual presentan anisotropía, el perfil de dominios que se muestra en la figura

5.10C observamos zonas oscuras que representan fuerzas de repulsión mientras que las zonas brillantes son fuerzas de atracción entre la muestra y la punta magnética. La distribución de dominios indican que el tamaño medio sobre la superficie de las nanopartículas es de 4.15 nm. La figura 5.10D muestra una curva típica de magnetización de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PEG}$, como puede verse en la figura el ciclo de histéresis muestra la propiedad de superparamagnetismo en las nanopartículas con una magnetización de saturación de 7.02 emu g^{-1} .

CAPÍTULO 4

Análisis de Resultados

Con el fin de conocer el estado de las moléculas en la superficie de las nanopartículas se realizó un estudio mediante espectroscopia IR comparando el espectro de las moléculas de ácido oleico con el de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Ac.oleico}$. La figura 5.11 muestra el IR de ácido oleico puro (5.11a) y de nanopartículas de magnetita pura (5.11b).

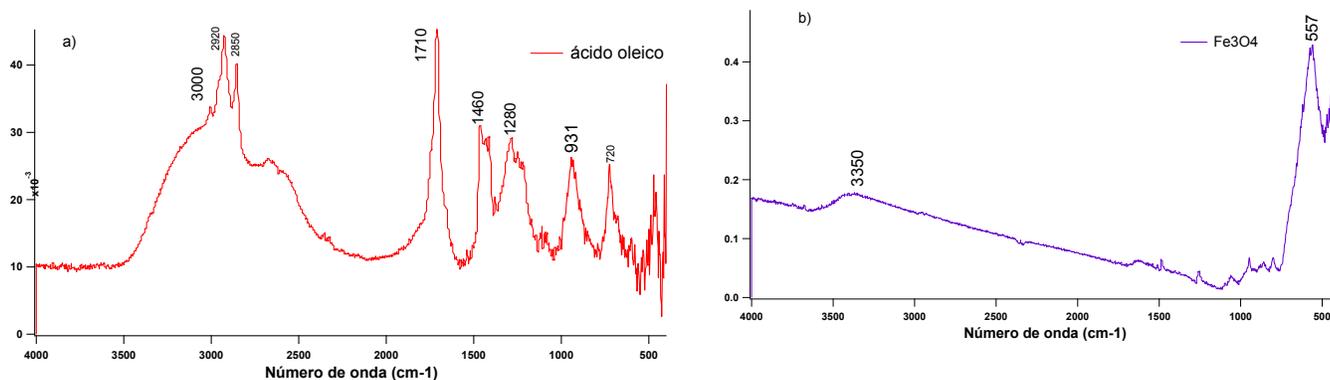


Fig. 5.11 Espectro IR (a) ácido oleico puro (b) Fe_3O_4 pura

El ancho de pico en el IR del ácido oleico entre 3500 y 2500 cm^{-1} es debido al estiramiento OH del ácido carboxílico, dos bandas en 2920 y 2850 cm^{-1} que se superponen en el intervalo de la señal del OH se atribuyen a la tensión asimétrica y simétrica respectivamente del enlace CH_2 . El pico más intenso en 1710 cm^{-1} se debe a la tensión del grupo $\text{C}=\text{O}$, la banda en 1280 cm^{-1} se debe al tensión $\text{C}-\text{O}$. Las bandas en 1460 y 931 cm^{-1}

se deben a la tensión OH en el plano y fuera del plano respectivamente. Por otro lado, las bandas características de IR en Fe_3O_4 están en 3350 cm^{-1} por la carga negativa de las nanopartículas por el grupo $-\text{OH}$ y en 557 cm^{-1} por el enlace Fe-O. En la tabla 4.2 se muestra un resumen de todas las señales de absorción IR en las diferentes muestras preparadas con ácido oleico y en la figura 5.12 se muestran todos los espectros IR de las muestras obtenidas con Fe_3O_4 y ácido oleico.

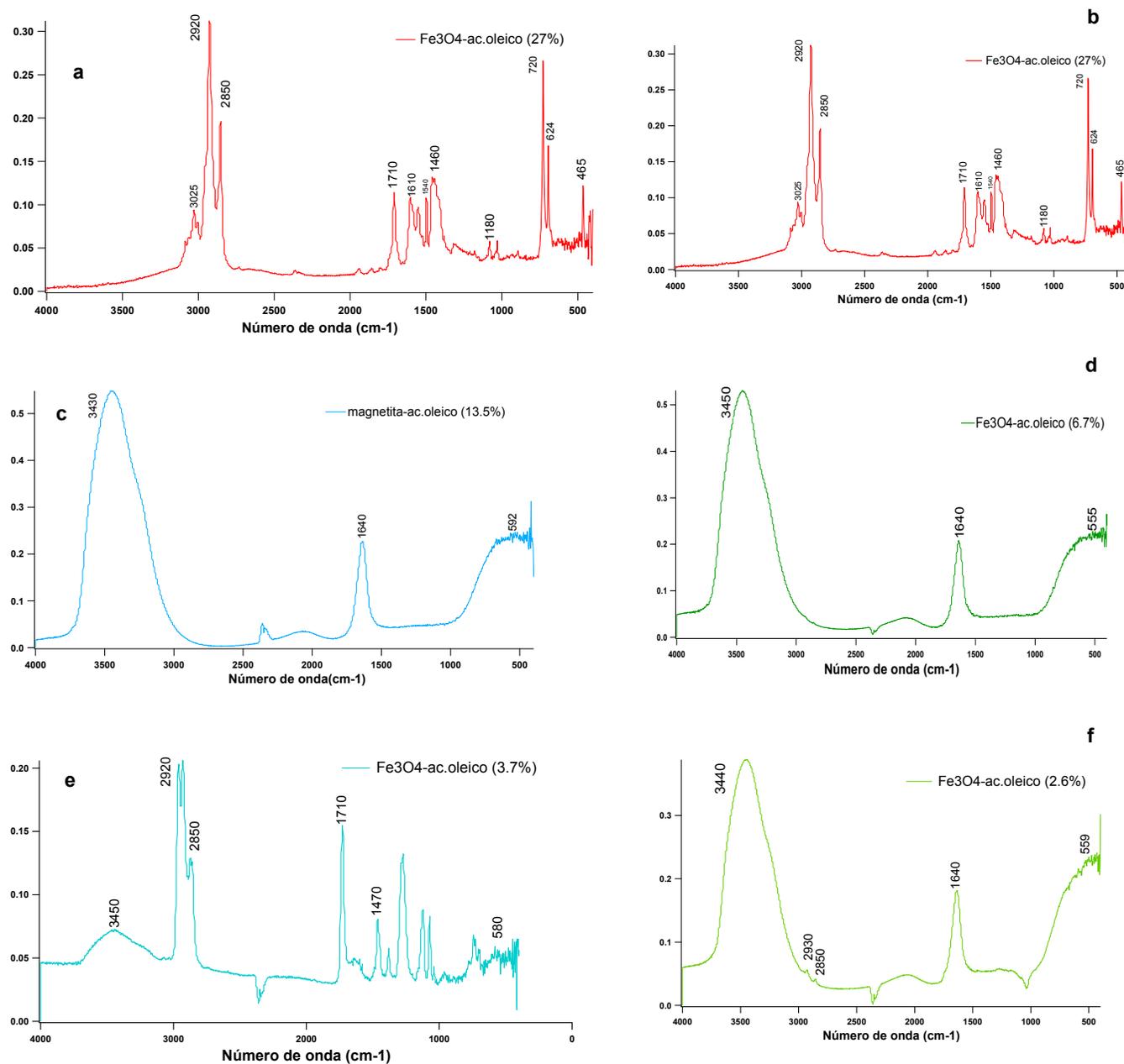


Fig. 5.12 Espectros IR (a) Fe_3O_4 – ac. Oleico (27%), (b) Fe_3O_4 – ac. Oleico (13.5%), (c) Fe_3O_4 – ac. Oleico (13.5%), (d) Fe_3O_4 – ac. Oleico (6.7%), (e) Fe_3O_4 – ac. Oleico (3.7%), (f) Fe_3O_4 – ac. Oleico (2.6%)

Tabla 4.2. Asignación de bandas de absorción del infrarrojo de los espectros del ácido oleico, magnetita y magnetita-ácido oleico

Grupo funcional	Vibración	Posición en Cm^{-1}							
		Ac. oleico	Fe_3O_4	Ac.oleico (27%)	$^\circ\text{Ac.oleico}$ (13.5%)	Ac.oleico (13.5%)	Ac.oleico (6.7%)	Ac.oleico (3.7%)	Ac.oleico (2.6%)
C=O	Carbonilo (ácido)	1710		1710	1710	-----	-----	1710	-----
COO⁻	Tensión simétrica y asimétrica			1540 1610	-----	1640	1640	-----	1630
OH	Estiramiento OH	3000	3350			3440	3440	3450	3450
CH₂	Tensión asimétrica y simétrica	2920 2850		2920 2850	2920 2850	-----	-----	2920 2850	2920 2850
C[*]					1180				
Fe-O	Cristal		561			592	555	580	559

C* cadena hidrocarbonada, ° se agregó el ácido oleico después de la formación de Fe_3O_4

Analizando los resultados, en las muestras a las que se le adicionó ácido oleico en 13.5% y 3.7% después de la formación de magnetita es claro notar en la tabla 4.2 y en los espectros IR de la figura 5.12 (b y e) que el comportamiento es muy similar ya que la banda de estiramiento presente del grupo carbonilo en 1710 cm^{-1} en el IR del ácido oleico puro se encuentra la misma señal en ambas muestras, esto nos indica que el ácido oleico no está recubriendo la superficie de las nanopartículas porque de acuerdo con la literatura ^[11, 8] se debe formar enlace entre la forma ionizada del ácido oleico conocida como oleato y la superficie de la estructura de magnetita esto se confirma porque no se encuentran las vibraciones de tensión del oleato en los IR de dichas muestras. Por otro lado, como se pudo notar en las micrografías de la figura 4.6a y 4.15a de estas mismas muestras al disminuir la cantidad de ácido oleico se logran obtener nanopartículas más definidas en cuanto a la forma hasta alcanzar la dispersión de éstas como se obtuvo en la concentración de 3.7%. Esto se puede explicar que al haber mayor cantidad de ácido oleico en el medio las nanopartículas se encuentran

formando agregados en éste, lo que limitó la difusión de soluto en el medio para que estas dispersen más. Y por otro lado la menor cantidad de ácido oleico (3.7%) logra vencer las interacciones magnetostáticas y de van der Waals entre las nanopartículas logrando dispersarlas por efecto estérico del ácido oleico.

Vale la pena señalar que el espectro IR figura 5.12a de la muestra con 27% de ácido oleico se observan dos bandas en 1540 y 1610 cm^{-1} que se deben a la tensión asimétrica $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ y simétrica $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ del oleato, eso nos indica que al haber en el medio exceso de ácido oleico algunas nanopartículas si fueron recubiertas por el oleato pero quedo remanente de oleico y por eso también se observa la banda en 1710 cm^{-1} que caracteriza el grupo carbonilo del ácido oleico ^[10].

Cabe mencionar que la señal de magnetita en éstas muestras no es posible visualizar, ya que la región del espectro de infrarrojo que contiene la mayoría de las vibraciones (600 a 1400 cm^{-1}) se le conoce como región de la huella dactilar del espectro y las vibraciones de tensión más simples (en la región de 1600 a 3500 cm^{-1}) son las más características y predecibles por esta razón se atribuye que el equipo no alcanza a resolver la vibración del enlace Fe-O ^[24, 26].

Analizando los resultados en las muestras con 13.5%, 6.7% y 2.7% cuya característica es que el ácido oleico se agregó antes de agregar el agente precipitante se observa en la tabla 4.2 así como en los espectros IR de la figura 5.12 (c, d y f) que el comportamiento es muy similar, ya que la señal de tensión del grupo C=O no aparece como lo es en el ácido oleico puro (figura 5.11a), en lugar de ésta señal se tiene la tensión asimétrica del grupo COO^- . Esto se puede explicar que a pH elevado, durante el proceso de coprecipitación, el ácido oleico es ionizado. Por esta razón solo observamos la señal del grupo COO^- pero no necesariamente se encuentra recubriendo a las nanopartículas ya que solo se observa la señal de tensión asimétrica en 1640-1630 cm^{-1} de acuerdo a esto se puede decir que solo hay interacción electrostática del carboxilato con el hierro de la superficie de las nanopartículas ^[25, 11].

Haciendo hincapié del análisis de dispersión de las nanopartículas para las muestras con 13.5, 6.7 y 2.6% de ácido oleico. En estos casos el ácido oleico fue agregado antes del proceso de coprecipitación y como se observó en las micrografías de las figuras

4.9a, 4.12a y 4.17a, a medida que disminuye la cantidad de ácido oleico en el medio se logra apreciar el hábito cristalino de la magnetita así como la forma semiesférica que estas presentan, pero estas se encuentran aglomeradas aun en presencia de una molécula suficientemente grande, podemos decir que existe un diámetro crítico que se relaciona con la interacción magnética y dipolo-dipolo en las nanopartículas, y que, para nanopartículas mayores a ese diámetro crítico las interacciones dipolares y magnéticas exceden la repulsión estérica por lo tanto persiste la formación del aglomerado.

Por otro lado estas mismas muestras se encuentran con el mismo intervalo de tamaño, esto se puede explicar, que al haber interacción del carboxilato en la superficie con el Fe, la cola de la cadena se encuentra en el exterior de la superficie este fenómeno se repite en toda la superficie de las nanopartículas teniendo una especie de bicapa lo cual limitaría la difusión de las especies hidrolizadas del medio, impidiendo un mayor crecimiento de las nanopartículas.

A continuación se analizarán los resultados experimentales para los procesos de funcionalización de nanopartículas de magnetita con polietilenglicol y quitosano.

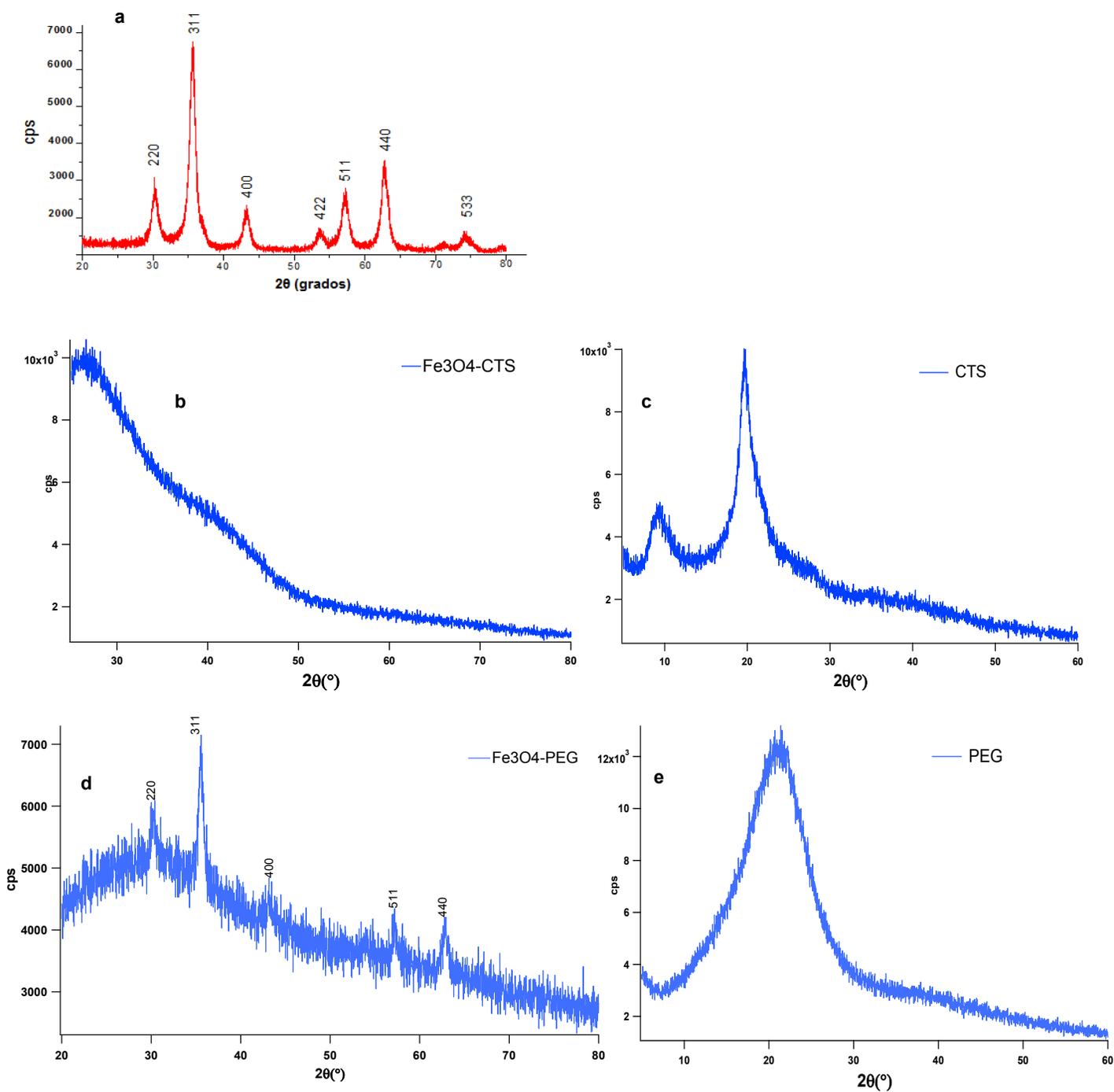


Fig. 5.13 difractograma de rayos X de (a) Fe_3O_4 , (b) Fe_3O_4 -CTS, (c) CTS, (d) Fe_3O_4 -PEG y (e) PEG

En la figura 5.13 se muestran los difractogramas de rayos X de Fe_3O_4 (a), $\text{Fe}_3\text{O}_4 - \text{CTS}$ (b), CTS (c), (d) $\text{Fe}_3\text{O}_4 - \text{PEG}$ y PEG (e), como podemos observar el comportamiento de las muestras b y d es muy diferente al comportamiento de Fe_3O_4 (a) ya que el difractograma de Fe_3O_4 se observan picos anchos y definidos que representan la familia de planos de la estructura sin ningún recubrimiento, por otro lado, los difractogramas de PEG y CTS (e y c) respectivamente podemos notar que la dispersión de rayos X tiene lugar en todas direcciones obteniéndose interferencias constructivas débiles dando lugar a picos muy difusos. Esto es una prueba que ayuda a definir que el CTS y el PEG están presentes en la superficie de las nanopartículas porque hay una diferencia importante en los difractogramas, al asociar la relación entre la cantidad de $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{CTS}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{PEG}$ con la intensidad total se asume que en la funcionalización con CTS hay mayor cantidad de polímero y es claro notar que hay menor cantidad de Fe_3O_4 por esa razón el difractograma muestra el comportamiento de un amorfo en cambio, la funcionalización con PEG el difractograma permite demostrar que este se encuentra en la superficie de las nanopartículas ya que aparte de la contribución del PEG , también se observan algunos picos que corresponden a la familia de planos de la estructura de Fe_3O_4 .

Tabla 4.3. Muestras obtenidas mediante síntesis por coprecipitación

muestra	$\bar{\phi}_{\text{RX}}$ (nm)	$\bar{\phi}_{\text{TEM}}$ (nm)	M_s (emu g ⁻¹)	H (Oe)	$\bar{\phi}_{\text{dominio}}$ (nm)
Fe_3O_4	10.92	10.5	43.32	4957.68	1.26
$\text{Fe}_3\text{O}_4/3.7\%$ Ac. oleico	7.15	6.14	0.579	4981.70	1.83
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CTS}$	---	9.32	---	---	---

Fe₃O₄/PEG	---	11.36	7.029	4909.65	4.15
--	-----	-------	-------	---------	------

En la tabla 4.3, podemos observar que el tamaño promedio de las nanopartículas de Fe₃O₄ obtenido por rayos x y TEM es muy similar, por otro lado, las nanopartículas de Fe₃O₄ con 3.7% de ácido oleico que fueron empleadas para la funcionalización podemos observar en ambos casos que el tamaño después del proceso aumentó, esto se atribuye a la presencia del quitosano y el polietilenglicol en la superficie.

Analizando las propiedades magnéticas de cada muestra tenemos lo siguiente la magnetización de saturación como se observa en la tabla 4.3 para Fe₃O₄ con 3.7% de ácido oleico fue de 0.579 (emu g⁻¹), Fe₃O₄/PEG fue 7.029 (emu g⁻¹) y para el caso de Fe₃O₄/CTS sin respuesta mientras que para Fe₃O₄ pura fue 43.32 (emu g⁻¹). Como se puede observar en la figura 5.14 en los tres primeros casos no se observa remanencia ni coercitividad, lo cual indica que las nanopartículas son superparamagnéticas. Cabe mencionar que el peso de todas las muestras para la medición de las propiedades magnéticas fueron constantes, la notable disminución de la magnetización de saturación fue debido a la gran cantidad de polímero incorporado en la superficie de las nanopartículas esto se puede explicar que al haber una fracción muy significativa de átomos en la superficie de las nanopartículas esto interfiere en el momento magnético de estas y por lo tanto una disminución importante en la magnetización de saturación de las nanopartículas. Esto también se relaciona con los resultados obtenidos en la medición de dominios magnéticos, ya que en nanopartículas sin recubrimiento la anisotropía magnetocristalina permite que la distancia entre un dominio y otro sea pequeña caso contrario en nanopartículas con PEG en la superficie, en las cuales al haber átomos en la superficie ocasionan que la distancia entre un dominio y otro sea mayor. En el caso del quitosano, esa misma cantidad de material en la superficie limitó la respuesta magnética de las nanopartículas porque hubo una mayor barrera entre la interacción del momento magnético de las nanopartículas y el campo externo debido tanto a la cantidad como a la estructura molecular del quitosano.

Dominios magnéticos

Perfil de dominios

Ciclo de histéresis

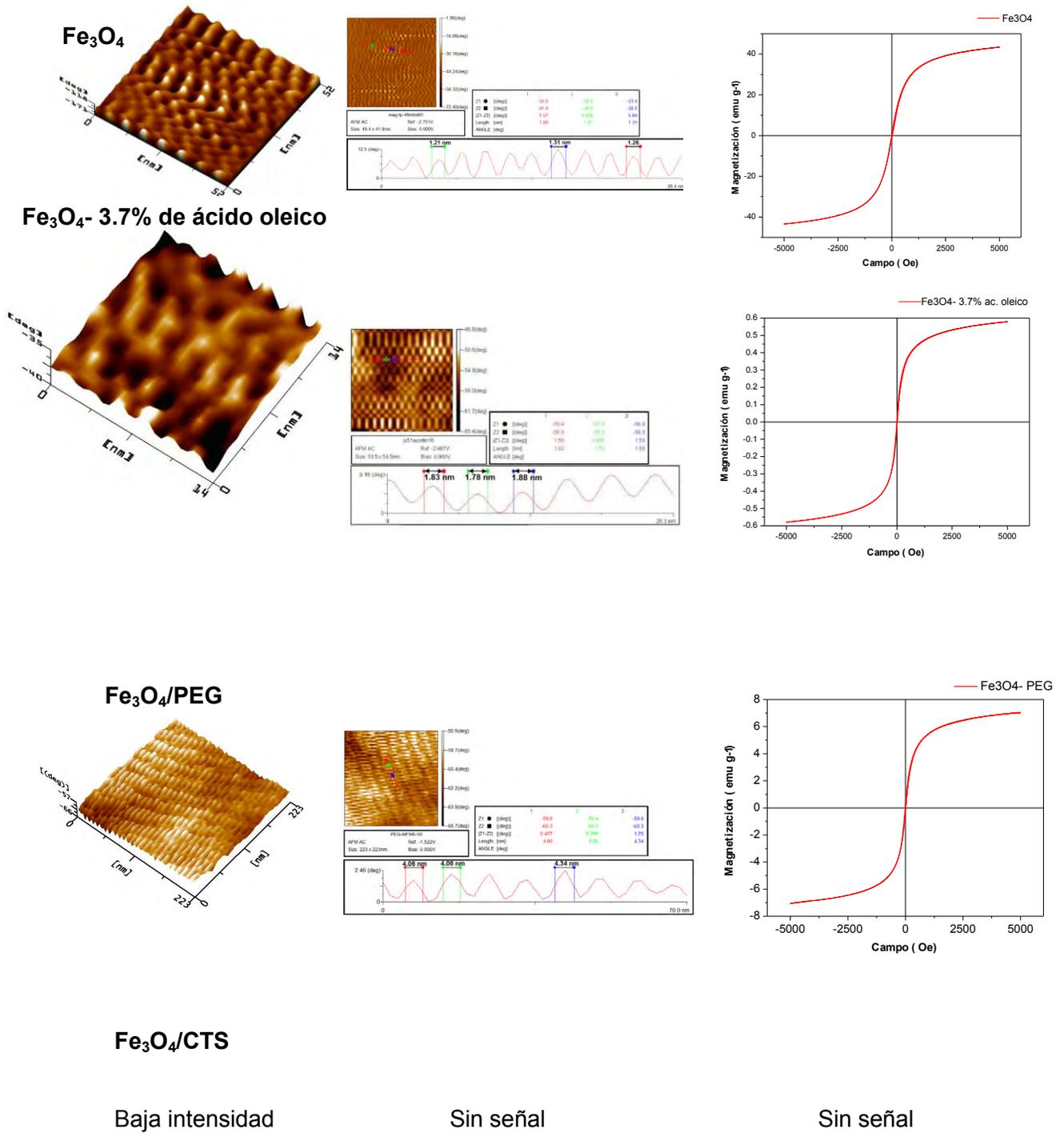


Fig. 5.14 Propiedades magnéticas de nanopartículas de Fe₃O₄ obtenidas mediante síntesis por coprecipitación

Conclusiones

El proceso de síntesis por coprecipitación resulto adecuado para la producción de grandes cantidades de nanopartículas de magnetita con tamaño menor a 15 nm, pero es difícil tener un control sobre los procesos de nucleación y crecimiento que rigen la formación de las nanopartículas. En este trabajo se lograron determinar las condiciones necesarias para reproducir la obtención de nanopartículas dispersas bajo el método de coprecipitación, esto nos da la pauta para continuar bajo estas condiciones con el fin de pasar a la fase de encapsulación y estudiar sus propiedades magnéticas para su posible uso en la aplicación de hipertermia.

Bajo esta estrategia se realizaron experimentos para encapsular las nanopartículas con quitosano y polietilenglicol en los cuales, se estudio como influye la estructura de estos polimeros sobre las propiedades de los núcleos magnéticas de magnetita.

Comparando resultados por DRX, MET, MFM, IR, M vs H. se tiene que:

La distribución de tamaño de nanopartículas de Fe_3O_4 fue de 10.5 nm, las propiedades magnetitas mostraron que las nanopartículas presentan anisotropía magnetocristalina en dirección del campo aplicado, su respuesta de campo fue de 4957.68 (Oe) y magnetización de 43.32 (emu g⁻¹) la señal en el análisis IR fue en 557 cm⁻¹ y raman 657 cm⁻¹ que corresponde a la estructura de Fe_3O_4 .

Se obtuvieron nanopartículas de Fe_3O_4 empleando 3.7% de ácido oleico cuya distribución de tamaño fue de 6.14 nm, además presentan anisotropía uniaxial y su respuesta de campo fue 4981.70 (Oe) mientras que mostraron magnetización de 0.5798 (emu g⁻¹), la presencia de ácido oleico en el medio no cambio la fase de magnetita lo que se corrobora con el análisis de IR y rayos x.

El sistema Fe_3O_4 /PEG presentó una distribución de tamaño de 11.36 nm, de acuerdo a las propiedades magnéticas mostró anisotropía uniaxial en dirección del campo

aplicado, la respuesta de campo fue 4909.65 (Oe) con magnetización de saturación de 7.029 (emu g⁻¹), de acuerdo a las bandas en IR se confirma la presencia del polietilenglicol en la superficie de magnetita.

Predomina el comportamiento superparamagnético en la mayoría todos los sistemas, excepto para el sistema Fe₃O₄/CTS, la interacción de dominios magnéticos muestra que es posible dirigir y orientar magnéticamente las nanopartículas para hacerlas vibrar con campo AC externo. Con estos resultados se cumplen los objetivos propuestos para este trabajo de investigación.

Es importante mencionar que aunque se lograron recubrir las nanopartículas de magnetita las condiciones no fueron las mejores ya que se tiene una magnetización baja, por lo cual se propone para los dos sistemas con quitosano y polietilenglicol analizar y buscar las condiciones necesarias para mejorar la respuesta magnética en presencia de campos pequeños.

En trabajos futuros además de optimizar la encapsulación de las nanopartículas de Fe₃O₄, se propone la técnica de análisis termogravimétrico para complementar la caracterización que sin duda ayudara a corroborar los resultados de encapsulación, posteriormente ya que se haya logrado mejorar las propiedades magnéticas empezar a realizar mediciones de hipertemia magnética utilizando diferentes concentraciones de nanopartículas encapsuladas en experimentos in vitro.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/> consultado 12/07/13
- [2] Tanmoy Sadhukha, Lin Niu, Timothy Scott Wiedmann, and Jayanth Panyam, *Effective Elimination of Cancer Stem Cells by Magnetic Hyperthermia*, Molecular Pharmaceutics Vol.10 (2013) 1432-1441
- [3] <http://www.eurostemcell.org> consultado 9/08/13
- [4] Yu Jing, Huang Dong-Yan, Muhammad Zubair Yousaf, Hou Yang-Long(侯仰龙)†, and Gao Song, *Magnetic nanoparticle-based cancer therapy*, Chinese Physical Society Vol.22 (2013) 1674-1688.
- [5] Johannsen M, Gneveckow U, Eckelt L, Feussner A, Waldofner N, Scholz R, Deger S, Wust P, Loening S A and Jordan A, *Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: Physical evaluation of their potential for hyperthermia*, International Journal of Hyperthermia Vol. 9 (1993) 51-68
- [6] ngela ndrade, o erta erreira, osé a ris and osa na om ingues (2011). *Coating Nanomagnetic Particles for Biomedical Applications*, Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges, Prof. Reza Fazel (Ed.), ISBN: 978-953-307-309-5, InTech, DOI: 10.5772/19519. Available from: <http://www.intechopen.com/books/biomedical-engineering-frontiers-and-challenges/coating-nanomagnetic-particles-for-biomedical-applications>
- [7] C. Scherer and A. M. Figueiredo Neto, *Ferrofluids: Properties and Applications*, Brazilian Journal of Physics Vol. 35 (2005) 718-728
- [8] Ling Zhang, Rong He, Hong-Chen Gu, *Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles*, Applied Surface Science Vol. 253 (2006) 2611-2617
- [9] Di Li, Deli Jiang, Min Chen, Jimin Xie, Yinyin Wu, Shengchun Dang, Jianxin Zhang, *An easy fabrication of monodisperse oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles*, Materials Letters Vol. 64 (2010) 2462-2464
- [10] Ana r mota, ljoša Košak, ndrej Znidaršič, *A mecanism for the adsorption of carboxylic acids onto the surface of magnetic nanoparticles*, Materials and technology Vol. 42 (2008) 79-83

- [11] Sašo Gyergyeka, Miha Drofenika,b, Darko Makoveca, *Oleic-acid-coated CoFe₂O₄ nanoparticles synthesized by co-precipitation and hydrothermal synthesis*, Materials Chemistry and Physics Vol.133 (2012) 515-522
- [12] M. Santana, Tesis Licenciatura, Facultad de Química UNAM, 2012
- [13] M en C J. De La Venta, Tesis Doctorado, Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Complutense de Madrid. 2009
- [14] Margarethe Hofmann-Antenbrink, Brigitte von Rechenberg and Heinrich Hofmann, *Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications*, Nanostructured Materials for Biomedical Applications, 209 ISBN: 978-81-7895-7. Editor M.C. Tan
- [15] Young W. Jun, Jung W. Seo and Jinwoo Cheon, *Nanoscaling Laws of Magnetic Nanoparticles and Their Applicabilities in Biomedical Sciences*, ACCOUNTS OF CHEMICAL RESEARCH Vol. 41 (2008) 179-189
- [16] Alex Goldman, Modern Ferrite Technology, 2° Ed 2006 31-45
- [17] Shivang R. Dave and Xiaohu Gao, Monodisperse magnetic nanoparticles for biodetection, imaging, and drug delivery: a versatile and evolving technology, Nanomedicine and Nanobiotechnology, Wires (2009) 1-27
- [18] Suk Fun Chin, Mohamed Makha, Colin L. Raston, Encapsulation of Magnetic Nanoparticles with Biopolymer for Biomedical Application, Nanoscience and Nanotechnology, 2006. ICONN '06. International Conference on, Vol., no., 3-7 July 2006
- [19] Marina Talelli, Cristianne J. F. Rijcken, Twan Lammers, Peter R. Seevinck, Gert Storm, Cornelus F. van Nostrum, and Wim E. Hennink, *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Encapsulated in Biodegradable Thermosensitive Polymeric Micelles: Toward a Targeted Nanomedicine Suitable for Image-Guided Drug Delivery*, Langmuir Vol. 25 (2009)
- [20] Alf Lamprecht, Nanotherapeutics: Drug Delivery Concepts in Nanoscience, 2008
- [21] Doina HRITCU, Marcel I. POPA, Niculina POPA, Vasile BADESCU, Vera BALAN, Preparation and characterization of magnetic chitosan nanospheres, Turk J Chem Vol. 33 (2009) 785 - 796.
- [22] Gmbh, Clariant, Frankfurt, Polyethylene glycols (PEGs) and the pharmaceutical industry, PharmaChem June (2002)

- [23] Shashwat S. Banerjee, Naval Aher, Rajesh Patil, and Jayant Khandare, Poly(ethylene glycol)-Prodrug Conjugates: Concept, Design, and Applications, *Journal of Drug Delivery* 2012
- [24] Koenig, A. E. The estearates and palmitates of de heavy metals with remarks concerning instantaneous precipitations in insulating solutions, *J Am. Chem.Soc* Vol. 36. (1914). 951-961.
- [25] Shi Yua and Gan Moog Chowa, *Carboxyl group (-CO₂H) functionalized ferrimagnetic iron oxide nanoparticles for potential bio-applications*, *J. Mater. Chem.* Vol. 14(2004) 2781–2786
- [26] Nianqiang Wu, Lei Fu, Ming Su, Mohammed Aslam, Ka Chun Wong, and Vinayak P. Dravid, *Interaction of Fatty Acid Monolayers with Cobalt Nanoparticles*, *American Chemical Society*, Vol. 4 (2004) 383-386
- [27] Alberto Ernesto Regazzoni, formación de Magnetita (Fe₃O₄) en medios acuosos y propiedades de la interfaz Magnetita/Solución, *Republica Argentina Comisión Nacional de Energía Atómica* (1984) 12-36
- [28] Xiuying Qiao, Mingwen Bai, Ke Tao, Xinglong Gong, Rui Gu, Hiroshi Watanabe, Kang Sun, Jingyuan Wu, and Xiaoyu Kang, *Magnetorheological Behavior of PolyethyleneGlycol-Coated Fe₃O₄ Ferrofluids*, *Journal of the Society of Rheology, Japan*, Vol.38 (2010) 23-30
- [29] Hao-Yu Tseng, Chen-Yi Lee, Ying-Hsia Shih, Xi-Zhang Lin and Gwo-Bin Lee, *Hyperthermia Cancer Therapy Utilizing Superparamagnetic Nanoparticles*, *Proceedings of the 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems* (2007) 16 – 19
- [30] L. Slavov, M.V. Abrashev, T.Merodiiska, Ch.Gelev, R.E.Vandenberghe, I.Markova-Deneva, I. Nedkov, *Raman spectroscopy investigation of magnetite nanoparticles in ferrofluids*, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* Vol. 322 (2010) 1904-1911
- [31] Challa S. S. R. Kumar, *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, Springer Heidelberg Dordrecht London New York, 2012

[32] Olga N. Shebanova, Peter Lazor, *Raman spectroscopic study of magnetite (FeFe₂O₄): a new assignment for the vibrational spectrum*, Journal of Solid State Chemistry Vol. 174 (2003) 424–430

[33] Sophie Laurent, Delphine Forge, Marc Port, Alain Roch, Caroline Robic, Luce Vander Elst, and Robert N. Muller, *Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterization, and Biological Applications*. Chemical Reviews Vol. 6 (2008) 108-116.