



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FÍSICA "LUIS RIVERA TERRAZAS"

**FABRICACIÓN DE NANOESTRUCTURAS
COMPUESTAS DE $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ meso- SiO_2 PARA
APLICACIONES BIOLÓGICAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS
(EN LA ESPECIALIDAD DE CIENCIA DE
MATERIALES)**

PRESENTA:

M. C. SERGIO ISAAC URIBE MADRID

ASESOR:

DR. UMAPADA PAL

ABRIL DE 2015

Agradecimientos

*Quisiera expresar mi agradecimiento al **Dr. Umapada Pal** director de esta tesis, por su orientación, apoyo y asesoría en todo momento para la realización de este trabajo.*

*Agradezco sinceramente a los miembros del comité revisor de esta tesis, **Dra. Nini Rose Mathews** (IER-UNAM), **Dr. Enrique Sánchez Mora** (IFUAP), **Dr. Antonio Méndez Blas** (IFUAP) y **Dr. José Luis Carrillo Estrada** (IFUAP), por sus comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo de investigación.*

*También quisiera agradecer al **Prof. Young Soo Kang** así como a los miembros de su grupo de investigación por el apoyo y las facilidades brindadas en la estancia realizada en Corea de Sur, donde se realizó el crecimiento de las capas de sílice mesoporoso y los estudios de carga y liberación de fármaco.*

*Expreso un agradecimiento especial a la **Dra. Ma. Elena Franco Carcedo** por su apoyo en la revisión y corrección lingüística de esta tesis. De igual manera agradezco a la **Dra. Mou Pal** por todo su apoyo y consejos brindados a lo largo de esta tesis.*

*Agradezco al **CONACyT** por la beca nacional y mixta otorgada para la realización del estudio doctoral y por el financiamiento de los proyectos CB-2010/151767 y INFR-2014-02-230530. Agradezco también a la **VIEP-BUAP** por el apoyo otorgado a través de los proyectos VIEP/EXC/2014, VIEP/EXC/2015 y al **IFUAP** por extender toda la infraestructura, facilidades y apoyos económicos brindados a lo largo de este trabajo de tesis.*

*Expreso mis más sinceras gracias a mis amigos del IFUAP **Gabriel, Alejandro, Nora** y **Severiano**, por todos sus consejos, así como a mis amigos **David, Alberto, Norberto, Alejandro e Israel** por todo su apoyo.*

*Quiero agradecer a toda mi familia, en especial a mis padres **Soledad** y **Carlos** por alentarme y estar conmigo en todos los momentos más importantes de mi existencia ya que sin ellos esto no hubiera sido posible y de los cuales estaré en deuda toda mi vida. A mis hermanos por su apoyo incondicional en todo momento y a mis cuñados y sobrinos por todo el cariño brindado.*

*Finalmente y de manera muy especial expreso el más profundo agradecimiento a mi esposa **Alma**, por todo su amor, apoyo, comprensión y consejos que día a día me hacen una mejor persona.*

DEDICADA A

**MI ESPOSA
ALMA
EL AMOR DE MI VIDA**

**MIS PADRES
SOLEDAD Y CARLOS
POR TODO SU AMOR**

RESUMEN

Este trabajo de investigación comprende la síntesis de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) y nanoestructuras compuestas de magnetita@sílice mesoporoso ($\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$). La fabricación de las nanopartículas de magnetita se realizó mediante dos métodos: el de co-precipitación asistido por tratamiento hidrotermal y por el método hidrotermal. Para la fabricación de las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ se utilizó el método Stöber modificado (sol – gel). La morfología y cristalinidad de las muestras se estudió por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), difracción de rayos-X (XRD) y espectroscopia microRaman. Las propiedades magnéticas se estudiaron mediante curvas de magnetización obtenidas a través de un magnetómetro de muestra vibrante (VSM). La porosidad y su naturaleza en las nanoestructuras compuestas, mediante el análisis de isothermas de adsorción-desorción de N_2 . Las pruebas de biocompatibilidad de las nanopartículas compuestas se realizaron *in vitro* en las células de cáncer de mama, línea MCF-7 y células de cáncer de ovario línea SKOV3. La capacidad de carga y liberación de fármaco de las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ se estudiaron por medio de espectroscopia de absorción UV-Vis utilizando ibuprofeno como fármaco modelo.

El análisis de los resultados obtenidos mostró que se pueden sintetizar nanopartículas de magnetita de diferentes tamaños mediante el método hidrotermal variando solo un parámetro en la síntesis (la concentración de acetato de sodio). Todas las nanopartículas de magnetita mostraron comportamiento superparamagnético con altos valores de saturación de magnetización (hasta 77 emu/g). Variando la concentración del precursor de sílice (TEOS), es posible variar el espesor de la capa mesoporosa de las nanoestructuras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$. La capacidad de carga de fármaco en las nanoestructuras compuestas depende del espesor de la capa mesoporosa. En un medio similar al de la sangre humana, se pudo liberar hasta un 80% de fármaco en un lapso de 72 horas. Las nanoestructuras compuestas fabricadas en este trabajo mostraron potencial para ser aplicadas como sistemas para entrega dirigida de medicamentos.

ABSTRACT

This research work involves the synthesis of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles and composite nanostructures of magnetite@mesoporous silica ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$). The synthesis of magnetite nanoparticles was performed using two methods: the co-precipitation method assisted by hydrothermal treatment, and hydrothermal method. The modified Stöber method (sol – gel) was used for the synthesis of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$ composite nanostructures. The morphology and crystallinity of the samples were studied using scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), X-ray diffraction (XRD) and microRaman spectroscopy. The magnetic properties were studied from the magnetization curves obtained through a vibrating sample magnetometer (VSM). The porosity and pore nature in the nanostructures were studied using their N_2 adsorption-desorption isotherms. The biocompatibility of the composite nanostructures was studied in vitro in breast cancer cell line MCF-7 and ovarian cancer cell line SKOV3. The drug loading and release capacity of the composite structures were tested through optical absorption spectroscopic studies utilizing ibuprofen as a model drug.

The analysis of the obtained results demonstrate that it is possible to synthesize magnetite nanoparticles of different sizes through hydrothermal method varying only one synthesis parameter, sodium acetate concentration. All the magnetite nanoparticles had superparamagnetic behavior, with high saturation magnetization (up to 77 emu/g). Varying the concentration of the silica precursor (TEOS), it is possible to vary the thickness of mesoporous layer of the $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$ nanostructures. The drug loading capacity of the composite nanostructures depends on the thickness of the mesoporous layer. In a medium similar to human blood, the composite nanostructures can release up to 80% of loaded drug in 72 hours. The composite nanostructures fabricated in this work have potential for application as guided drug delivery systems.

ÍNDICE GENERAL

Introducción	1
Referencias	5
Capítulo I – Características generales de la magnetita	8
1.1 Propiedades químicas y físicas	8
1.2 Propiedades estructurales	9
1.3 Propiedades magnéticas	10
Referencias	12
Capítulo II – Antecedentes	13
Referencias	18
Capítulo III – Preparación de NPs de Fe₃O₄ y Fe₃O₄@mSiO₂	23
3.1 Métodos de síntesis de materiales	24
3.2 Método co-precipitación	25
3.3 Método hidrotermal/solvotermal	26
3.4 Síntesis de NPs de magnetita mediante la técnica de co-precipitación asistida por tratamiento hidrotermal (método 1; muestra C-1)	27
3.5 Síntesis de NPs de magnetita mediante la técnica hidrotermal (método 2; muestras S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5)	29
3.6 Recubrimiento de las nanopartículas de magnetita con sílice mesoporoso (Fe ₃ O ₄ @mSiO ₂) (método 3; muestras M-1, M-2 y M-3)	31
3.6.1 Generalidades	31
3.6.2 El proceso Sol – Gel	32
3.6.3 Síntesis de nanoestructuras compuestas de Fe ₃ O ₄ @mSiO ₂	34

3.7 Carga y liberación de las nanoestructuras compuestas, con ibuprofeno como fármaco modelo	35
3.7.1 Carga de fármaco	36
3.7.2 Pruebas <i>in vitro</i> de liberación de fármaco	37
Referencias	40
Capítulo IV – Técnicas de caracterización utilizadas	43
4.1 Microscopía electrónica de barrido	43
4.1.1 Principios del SEM	43
4.1.2 Electrones secundarios	45
4.1.3 Electrones retrodispersados	46
4.1.4 Rayos-X característicos	46
4.1.5 Construcción de un SEM	47
4.2 Microscopía electrónica de transmisión	48
4.3 Difracción de rayos-X	50
4.4 Espectroscopia Raman e infrarrojo	53
4.4.1 Dispersión Raman	54
4.4.2 Espectroscopia de infrarrojo	56
4.4.2.1 Espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	57
4.5 Caracterización magnética (magnetómetro de muestra vibrante (VSM))	58
4.6 Porosimetría, adsorción – desorción de nitrógeno	62
4.6.1 Método Brunauer–Emmet–Teller (BET) para el cálculo del área superficial	65
4.6.2 Método Barret–Joyner–Halenda (BJH) para determinar la distribución y tamaño de poro	66
4.7 Espectroscopia de absorción UV-Vis	67
Referencias	72
Capítulo V – Resultados y discusión	74
5.1 Muestras de Fe ₃ O ₄ preparadas por el método de co-precipitación asistido por tratamiento hidrotérmal (método 1)	74

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es el estudio y habilidad para manipular materiales en escalas atómicas y moleculares, con fin de fabricar materiales y dispositivos a escala nanométrica^{1,2}. Los materiales nanoestructurados se pueden definir como aquellos materiales cuyos elementos estructurales (cúmulos, cristalitas o moléculas) tienen dimensiones de tamaño nanométrico y presentan propiedades físicas diferentes a las de sus contrapartes en bulto. La razón principal de estas características distintas de los nanomateriales es que tienen un gran número de átomos en las fronteras de grano o superficies, que influyen fuertemente en sus propiedades físicas³⁻⁶. En el caso de las nanoestructuras magnéticas, la reducción de tamaño trae consigo un cambio en el comportamiento magnético del material, ya que pasa a ser de ferro/ferri magnético (campo coercitivo, alta magnetización de saturación, y magnetización remanente)⁷ a superparamagnético (campo coercitivo y magnetización remanente nulos) donde, debido al efecto de la energía térmica, el momento magnético de cada partícula fluctúa aleatoriamente, siendo el momento magnético igual a cero⁸⁻¹⁰.

En las últimas décadas, la nanotecnología ha avanzado a pasos agigantados debido al amplio rango de aplicaciones que los materiales presentan al ser sintetizados a escala nanométrica. En el caso de las nanopartículas (NPs) magnéticas de óxidos metálicos, como la magnetita (Fe_3O_4), las propiedades magnéticas tales como la temperatura de Curi, campo coercitivo, magnetización de saturación, magnetización remanente y muchas otras, varían de acuerdo al tamaño del material (volumétrico o nanométrico). Las nanopartículas de magnetita (NPM) mantienen una alta magnetización de saturación apenas debajo de 92 emu/g correspondiente a su contraparte en bulto^{7,11}. El cambio en estas propiedades es de vital importancia para un amplio rango de aplicaciones donde se utilizan estas NPM, como en almacenamiento magnético de datos¹², separación de hidrógeno del agua (*water splitting*)¹³, catálisis¹⁴, etc. Actualmente, en aplicaciones biomédicas como la resonancia

magnética de imagen (MRI, por sus siglas en inglés, *magnetic resonance imaging*)¹⁵, hipertermia¹⁶ y entrega dirigida de medicamentos¹⁷, se ha puesto mucho interés ya que además de sus propiedades magnéticas, se ha demostrado que la magnetita es biocompatible con el cuerpo humano¹⁸. Cabe mencionar que para cada una de estas aplicaciones, se requieren propiedades específicas de las NPM; por ejemplo, además de requerirse que posean un comportamiento superparamagnético, para aplicaciones en MRI, es necesario que tengan un tamaño de 10 – 20 nm¹⁹ mientras que para la entrega dirigida (diana) de medicamentos es necesario que posean una alta magnetización de saturación y un tamaño no mayor a 300 nm²⁰. Para producir estas características específicas de las NPM, el método de síntesis es muy importante. En este sentido, existen diversos métodos para producir nanopartículas de magnetita, como el método de descomposición térmica²¹, sonoquímico²², microemulsión²³, sol-gel²⁴, co-precipitación²⁵, hidrotermal²⁶, etc. Cada método tiene sus ventajas y desventajas, los dos últimos son los más utilizados, ya que se pueden producir NPM con una alta cristalinidad controlando a su vez el tamaño y la morfología, además de que no implica el uso de reactivos caros o tóxicos, que es algo de vital importancia para el campo de la biomedicina.

Otra característica importante que deben de poseer las NPM para ser suministradas dentro del cuerpo humano es su tiempo de vida media en la sangre, el cual debe de ser el mayor posible para que éstas puedan llegar y actuar en la parte del cuerpo humano de interés. Este tiempo de vida media es una de las principales limitaciones que poseen las NPM, ya que al ser inyectadas en el torrente sanguíneo, son reconocidas como un patógeno y las proteínas del plasma se unen a su superficie en un proceso llamado opsonización²⁷. Una vez opsonizadas, las partículas son fagocitadas por los macrófagos del hígado en mayor medida y por los macrófagos del bazo, siendo éstos los responsables de su posterior eliminación del cuerpo humano. El tiempo de vida media en sangre de las NPM depende tanto del tamaño de las partículas como del tipo de recubrimiento que éstas tengan²⁸. Así, cuanto menor sea el tamaño de las NPs, mayor será el tiempo de vida media de éstas en la sangre. Sin embargo, la reducción del tamaño de las NPM va en

detrimento de las propiedades magnéticas del material^{10,29}, además de que para el caso de la entrega dirigida de medicamentos, la capacidad de almacenamiento de drogas es limitada; por lo que es preferible recubrir las NPs con materiales nobles que sean no tóxicos y biocompatibles para ser incorporadas al cuerpo humano.

Otro material utilizado para aplicaciones de entrega de medicamentos son las NPs del silicio mesoporoso, ya que posee una gran capacidad de captación de fármacos y, al igual que la magnetita, no presentan ningún riesgo para el cuerpo humano. Sin embargo, una gran desventaja de este material consiste en que, para que el medicamento se libere adecuadamente en el sitio de interés, las NPs deben funcionalizarse correctamente^{30,31}.

Por todo lo anterior, el objetivo general de este trabajo de tesis es sintetizar y caracterizar nanoestructuras compuestas de diferentes tamaños de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ para aprovechar las propiedades de ambos materiales, tanto la capacidad de dirigir las NPM al sitio de interés mediante la aplicación de un campo magnético externo como la capacidad de cargar el material con una cantidad significativa de fármaco y, por lo tanto, crear un material de mayor interés en la entrega dirigida de medicamentos.

Se decidió realizar la síntesis de las nanopartículas de magnetita mediante dos metodologías diferentes. La primera mediante un método de coprecipitación asistido por un tratamiento hidrotermal y la segunda empleando el método hidrotermal, para producir diferentes tamaños de NPM variando algunos parámetros en la metodología utilizada. El recubrimiento de las NPM con silicio mesoporoso se realizó mediante el método sol-gel (Stöber modificado). Para la creación de los mesoporos en el silicio se decidió utilizar un templete suave que es un surfactante catiónico de cadena larga, como CTAB (por sus siglas en inglés, *Cetyltrimethylammonium Bromide*), que se extrajo posteriormente del material mediante un tratamiento con una solución ácida.

Para la caracterización estructural y morfológica de las partículas se utilizaron las técnicas de difracción de rayos-X (XRD, por sus siglas en inglés, *X-ray diffraction*), micro-Raman, microscopía electrónica de barrido (SEM, por

sus siglas en inglés, *Scanning Electron Microscopy*) y microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés, *Transmission Electron Microscopy*). Para el estudio del área superficial y tamaño de poro, se utilizó la técnica de adsorción–desorción de nitrógeno. Para determinar las propiedades magnéticas de los materiales se usó un magnetómetro de muestra vibrante (VSM, por sus siglas en inglés, *vibrating sample magnetometer*).

La tesis se estructura de la siguiente manera: en el primer capítulo se mencionan las características generales de la magnetita. En el capítulo dos se describen los antecedentes en el uso de la magnetita así como del silicio mesoporoso. En el capítulo tres se describen los procesos utilizados para la síntesis de las nanopartículas, tanto de la magnetita como del recubrimiento con silicio mesoporoso. En el capítulo cuatro se da una descripción de las técnicas utilizadas para la caracterización de los materiales sintetizados por los diferentes métodos de síntesis. Finalmente, en el capítulo cinco, se presentan los resultados obtenidos y se realiza una discusión de los mismos para finalizar con las conclusiones de este trabajo de tesis en el último capítulo.

REFERENCIAS

- 1 Mongillo, J. F. *Nanotechnology 101*, (Greenwood Press, USA, 2007).
- 2 Crandall, B. C. *Nanotechnology, Molecular Speculations on Global Abundance*. (MIT Massachusetts, USA, 1996).
- 3 Moriarty, P. Nanostructured materials. *Rep Prog Phys* **64**, 297-381 (2001).
- 4 Cao, G. *Nanostructures & Nanomaterials - Synthesis, Properties & Applications*. (Imperial College Press, Singapore, 2004).
- 5 Vallés, J. L. & Vergara, I. Research at european level on nanostructured materials. *Rev Adv Mater Sci* **10**, 1-10 (2005).
- 6 Adeyeye, A. O. & Singh, N. Large area patterned magnetic nanostructures. *J Phys D: Appl Phys* **41**, 29 (2008).
- 7 Han, D. H., Wang, J. P. & Luo, H. L. Crystallite size effect on saturation magnetization of fine ferrimagnetic particles. *J Magn Magn Mater* **136**, 176-182 (1994).
- 8 Leslie-Pelecky, D. L. & Rieke, R. D. Magnetic properties of nanostructured materials. *Chem Mater* **8**, 1770-1783 (1996).
- 9 Goya, G. F., Grazu, V. & Ibarra, M. R. Magnetic nanoparticles for cancer therapy. *Curr Nanosci* **4**, 1-16 (2008).
- 10 Battle, X. & Labarta, A. Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties. *J Phys D:Appl Phys* **35**, R15-R42 (2002).
- 11 Deng, Y. Qi, D. Deng, C. Zhang, X. & Zhao, D. Superparamagnetic high-magnetization microspheres with an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ core and perpendicularly aligned mesoporous SiO_2 shell for removal of microcystins. *J Am Chem Soc* **130**, 28-29 (2008).
- 12 Dai, Q., Berman, D., Virwani, K., Frommer, J., Jubert, P. O., Lam, M., Topuria, T., Imano, W. & Nelson, A. Self-assembled ferrimagnet polymer-composites for magnetic recording media. *Nano Lett* **10**, 3216-3221 (2010).
- 13 Parkinson, G. S., Novotny, Z., Jacobson, P., Schmid, M. & Diebold, U. Room temperature water splitting at the surface of magnetite. *J Am Chem Soc* **133**, 12650-12655 (2011).

- 14 Jung, H., Kim, J. W., Choi, H. Lee, J. H. & Hur, H. G. Synthesis of nanosized biogenic magnetite and comparison of its catalytic activity in ozonation. *Appl Catal B: Environ* **83**, 208-213 (2008).
- 15 Jun, Y. W., Huh, Y. M., Choi, J. S., Lee, J. H., Song, H. T., Kim, S., Yoon, S., Kim, K. S., Shin, J. S., Suh, J. S. & Cheon, J. Nanoscale size effect of magnetic nanocrystals and their utilization for cancer diagnosis via magnetic resonance imaging. *J Am Chem Soc* **127**, 5732-5733 (2005).
- 16 Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K. & Dobson, J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J Phys D: Appl Phys* **36**, R167-R181 (2003).
- 17 Roullin, V.-G., Deverre, J.-R., Lemaire, L., Hindré, F., Venier-Julienne, M.-C., Vienet, R. & Benoit, J.-P. Anti-cancer drug diffusion within living rat brain tissue: an experimental study using [3H](6)-5-fluorouracil-loaded PLGA microspheres. *Eur J Pharm Biopharm* **53**, 293-299 (2002).
- 18 Goodwin, S. Magnetic targeted carriers offer site-specific drug delivery. *Oncol News Int* **9**, 22 (2000).
- 19 Huh, Y. M., Jun, Y. W., Song, H. T., Kim, S., Choi, J. S., Lee, J. H., Yoon, S., Kim, K. S., Shin, J. S., Suh, J. S. & Cheon, J. In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals. *J Am Chem Soc* **127**, 12387-12391 (2005).
- 20 Berry, C. C. & Curtis, A. S. G. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J Phys D: Appl Phys* **36**, R198-R206 (2003).
- 21 Park, J., An, K., Hwang, Y., Park, J. G., Noh, H. J., Kim, J. Y., Park, J. H., Hwang, N. M. & Hyeon, T. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. *Nat Mater* **3**, 891-895 (2004).
- 22 Wu, W., He, Q. G., Chen, H., Tang, J. X. & Nie, L. B. Sonochemical synthesis, structure and magnetic properties of air-stable Fe₃O₄/Au nanoparticles. *Nanotechnol* **18**, 145609 (8 paginas) (2007).
- 23 Ha, N. T., Hai, N. H., Luong, N. H., Chau, N. & Chinh, H. D. Effects of the conditions of the microemulsion preparation on the properties of Fe₃O₄ nanoparticles *VNU J Science, Natural Sci Technol* **24**, 9-15 (2008).

- 24 Zhao, S. Y., Lee, D. K., Kim, C. W., Cha, R. G., Kim, Y. H. & Kang, Y. S. Synthesis of magnetic nanoparticles of Fe_3O_4 and CoFe_2O_4 and their surface modification by surfactant adsorption. *Bull Kor Chem Soc* **27**, 237-242 (2006).
- 25 Larumbe, S., Gomez-Polo, C., Perez-Landazabal, J. I. & Pastor, J. M. Effect of a SiO_2 coating on the magnetic properties of Fe_3O_4 nanoparticles. *J Phys Condens Matter* **24**, 266007 (6 paginas) (2012).
- 26 Cai, W. & Wan, J. Facile synthesis of superparamagnetic magnetite nanoparticles in liquid polyols. *J Colloid Interface Sci* **305**, 366-370 (2007).
- 27 Corot, C., Robert, P., Idee, J. M. & Port, M. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Adv Drug Deliv Rev* **58**, 1471-1504 (2006).
- 28 Jun, Y. W., Seo, J. W. & Cheon, A. Nanoscaling laws of magnetic nanoparticles and their applicabilities in biomedical sciences. *Accounts Chem Res* **41**, 179-189 (2008).
- 29 Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. & Muller, R. N. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem Rev* **108**, 2064-2110 (2008).
- 30 Cho, Y., Shi, R., Borgens, R. B. & Ivanisevic, A. Functionalized mesoporous silica nanoparticle-based drug delivery system to rescue acrolein-mediated cell death. *Nanomedicine (London)* **3**, 507-519 (2008).
- 31 Zhao, Y., Trewyn, B. G., Slowing, I. & Lin, V. S. Mesoporous silica nanoparticle-based double drug delivery system for glucose-responsive controlled release of insulin and cyclic AMP. *J Am Chem Soc* **131**, 8398-8400 (2009).

CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MAGNETITA

Los óxidos de hierro son los compuestos más comunes que se encuentran esparcidos en la naturaleza y que se han sintetizado en los laboratorios. Entre dieciséis óxidos de hierro existentes, se encuentran el óxido de hierro (III) — que tiene cuatro polimorfos: α -Fe₂O₃ (hematita), γ -Fe₂O₃ (maghemita), β -Fe₂O₃, ϵ -Fe₂O₃—; el FeO (wüstita) y el **Fe₃O₄ (magnetita)**. Sin embargo, entre éstos, uno de los más estudiados hasta el momento debido a que presenta buenas propiedades magnéticas a escala nanométrica y buena biocompatibilidad¹ es la magnetita. Por ello en esta tesis se propuso sintetizar y caracterizar nanopartículas de magnetita para futuras aplicaciones en biomedicina. A continuación se presentan algunas propiedades importantes de la magnetita.

1.1. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS

La magnetita es el mineral magnético de mayor abundancia sobre la tierra, y es el único mineral que actúa como magneto natural. Está constituido por un átomo de hierro con estado de oxidación 2⁺, dos átomos de hierro con estado de oxidación 3⁺ y 4 átomos de oxígeno. Su energía estándar de formación es de -1012.6 kJ/mol, punto de fusión 1583 °C, y su calor de descomposición de 605 kJ/mol.² Como se puede observar en la figura 1.1, la magnetita presenta un color negro grisáceo con una diafanidad opaca, una densidad de 5.2 g/cm³, y lustre metálico. La dureza de Mohs de este material es de 5.5³.



Figura 1.1 Fotografía de un mineral de magnetita.

1.2 PROPIEDADES ESTRUCTURALES

Los detalles principales de la estructura de la magnetita fueron establecidos en 1915. Como se puede observar en la figura 1.2, posee una estructura en forma de espinel inversa⁴, con una celda unitaria cúbica centrada en las caras (fcc, por sus siglas en inglés, *face-centered cubic*) basada en 32 iones de O^{2-} . La longitud del parámetro de red a es de 0.839 nm, con 8 unidades fórmula por celda unitaria².

La magnetita difiere de los demás óxidos de hierro en que contiene tanto iones divalentes (Fe^{2+}) como iones trivalentes (Fe^{3+}). Su fórmula química se escribe $Y[XY]O_4$, donde $X = Fe^{2+}$, $Y = Fe^{3+}$ y los corchetes representan sitios de octaédricos (de coordinación 6), es decir, la mitad de los iones Fe^{3+} se encuentran en sitios octaédricos y la otra mitad en sitios tetraédricos (de coordinación 4), dejando a todos los iones Fe^{2+} en sitios octaédricos. El grupo espacial al que corresponde la estructura de la magnetita es $fd3m^{2,3}$.

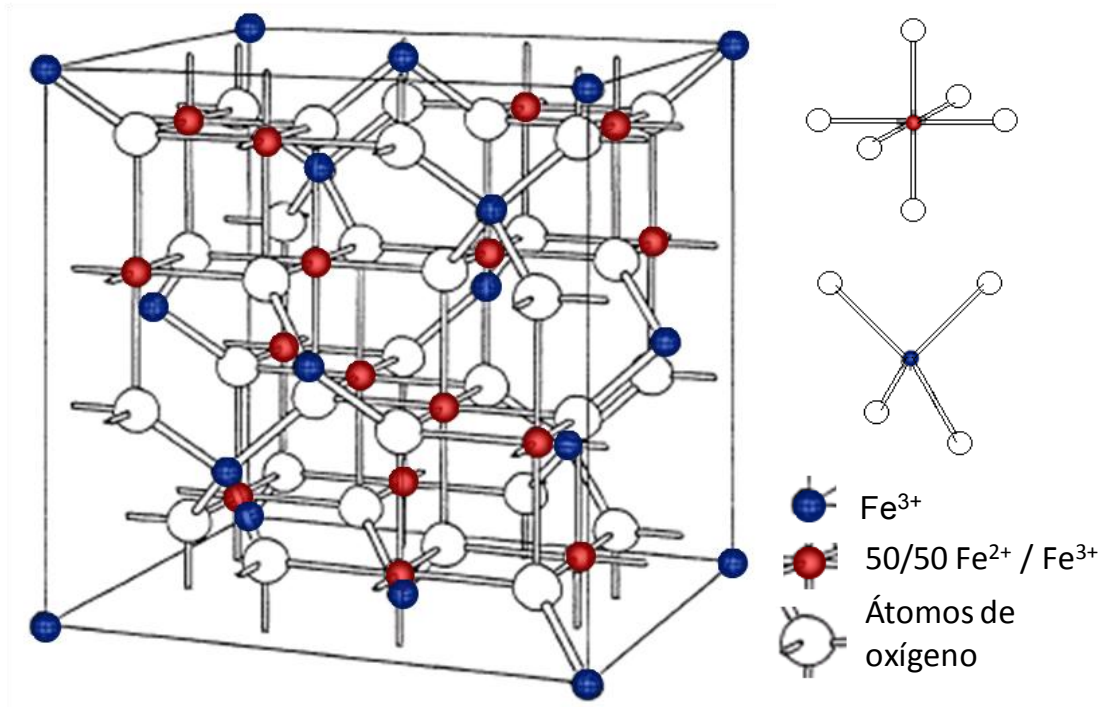


Figura 1.2 Estructura cristalina FCC en forma de espinel inversa correspondiente a la magnetita (Fe_3O_4).

1.3 PROPIEDADES MAGNÉTICAS

A temperatura ambiente, la magnetita presenta un comportamiento ferrimagnético y una temperatura Curie (T_c) de 850 K. El comportamiento ferrimagnético se debe principalmente a los dos diferentes sitios catiónicos que presenta la estructura – sitios tetraédricos (A) ocupados por iones Fe^{3+} y sitios octaédricos (B) ocupados por iones Fe^{3+} y Fe^{2+} (sección 1.2) – ya que por debajo de T_c , los espines correspondientes a los sitios A y B se encuentran alineados de forma anti-paralela, por lo que las magnitudes de los espines de los iones Fe^{3+} se anulan, resultando un magnetización neta $\gg 0$ debida a la magnitud de los espines de los iones Fe^{2+} , lo que causa el comportamiento ferrimagnético².

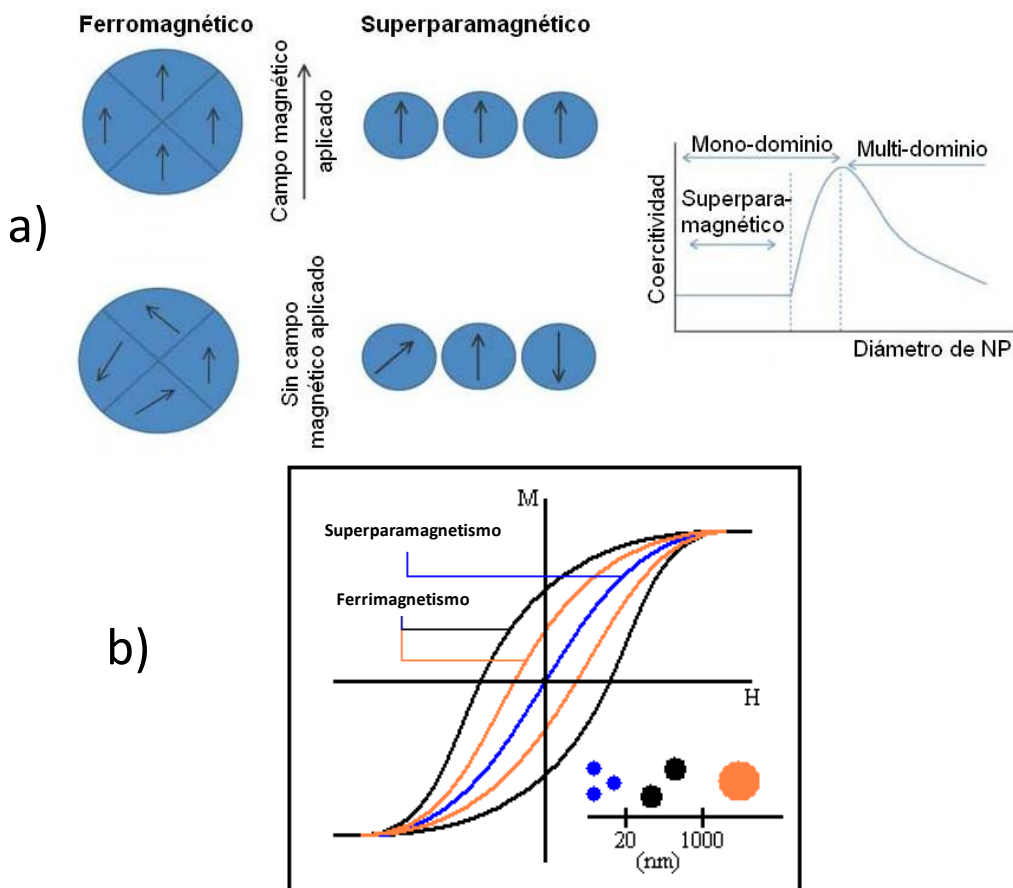


Figura 1.3 (a) Esquema representativo del momento magnético de un material ferromagnético y un material superparamagnético (b) Curvas de magnetización típicas para materiales ferrimagnéticos y superparamagnéticos.

Cuando el tamaño de la magnetita es menor a 20 nm, ésta presenta un mono-dominio magnético exhibiendo un comportamiento superparamagnético (figura 1.3 (a)); es decir, su curva de magnetización no presenta un ciclo de histéresis (figura 1.3 (b)) lo que significa que, en ausencia de un campo magnético externo, las NPs presentan tanto una magnetización de saturación como un campo coercitivo igual a cero y por lo tanto una menor tendencia a aglomerarse⁵. Esto es una propiedad clave para aplicaciones de magnetita en bio-medicina⁶⁻⁸.

REFERENCIAS

- 1 Wu, W., He, Q. & Jiang, C. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale Res Lett* **3**, 397-415 (2008).
- 2 Cornell, R. M. & Schwertmann, U. *The Iron Oxides - Structure, Properties, Reactions, Occurences and Uses*. 2nd edn, (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany, 2003).
- 3 Ralph, J. *Mindat.org*, <<http://www.mindat.org/min-2538.html>> (1993).
- 4 Hill, R. J., Craig, J. R. & Gibbs, G. V. Systematics of the spinel structure type. *Phys Chem Miner* **4**, 317-339 (1979).
- 5 Trindade, T. & Daniel-Da-Silva, A. L. en *Advances in Nanocomposite Technology* (ed Abbass Hashim) Cap. 12, 275-298 (InTech, Croatia, 2011).
- 6 Dias, A. M. G. C., Hussain, A., Marcos, A. S. & Roque, A. C. A. A biotechnological perspective on the application of iron oxide magnetic colloids modified with polysaccharides. *Biotechnol Adv* **29**, 142-155 (2011).
- 7 Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. & Muller, R. N. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem Rev* **108**, 2064-2110 (2008).
- 8 Tartaj, P. en *Nanocomposite particles for bio-applications*. *Materials and Biointerfaces* (eds T. Trindade & A.L. Daniel-da-Silva), 217-247 (Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., USA, 2011).

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

Como ya se mencionó en el capítulo anterior, cuando se sintetiza la magnetita a nivel nanométrico, sus propiedades magnéticas cambian de manera importante, pasando de un comportamiento ferrimagnético a uno superparamagnético^{1,2}. Debido a este cambio en sus propiedades magnéticas, en las últimas décadas la magnetita ha atraído mucho la atención y ha sido estudiada por su amplio rango de aplicaciones en diferentes campos, como catálisis, dispositivos de almacenamiento de datos, producción de hidrógeno mediante la descomposición del agua, resonancia magnética de imagen (RMI), hipertermia, entrega dirigida de medicamentos^{1,3-7}, etc. Sin embargo, para cada una de estas aplicaciones es necesario que las nanopartículas de magnetita posean cierto rango de tamaños, un comportamiento magnético específico y características de superficie específicas. Por ejemplo, para aplicaciones catalíticas es deseable que las nanopartículas sean porosas con un alta área superficial específica⁸, sin embargo para RMI es necesario que las nanopartículas tengan un rango de tamaño de 10 a 50 nm con excelente comportamiento superparamagnético⁹; para el caso de la entrega dirigida de medicamentos es importante que las nanopartículas no excedan los 300 nm en tamaño^{10,11}, etc. Empero, la inducción de estas características en las nanopartículas magnetitas depende mucho del método que se adopte para su síntesis.

La entrega de medicamentos/fármacos en un sitio específico del cuerpo humano mediante portadores magnéticos es un método muy eficiente, ya que muy altas concentraciones de agentes quimioterapéuticos o radiológicos pueden alcanzar el sitio objetivo sin dañar al tejido sano que rodea al tumor, lo que sí sucede en un tratamiento quimioterapéutico convencional. La figura 2.1 muestra el concepto de la focalización magnética comparada con la entrega de

fármacos sistémica (que afecta a todo el cuerpo). En la focalización magnética, un fármaco o radioisótopo terapéutico se enlaza a un compuesto magnético el cual, a su vez, es inyectado al sistema circulatorio del paciente y posteriormente detenido mediante un campo magnético externo en el área objetivo (flecha en figura 2.1)¹². Por lo tanto, es posible reemplazar grandes cantidades de fármaco circulando libremente por el cuerpo humano, con cantidades muchos menores focalizados magnéticamente al sitio específico donde se encuentra la enfermedad, alcanzando así mayores niveles de efectividad.

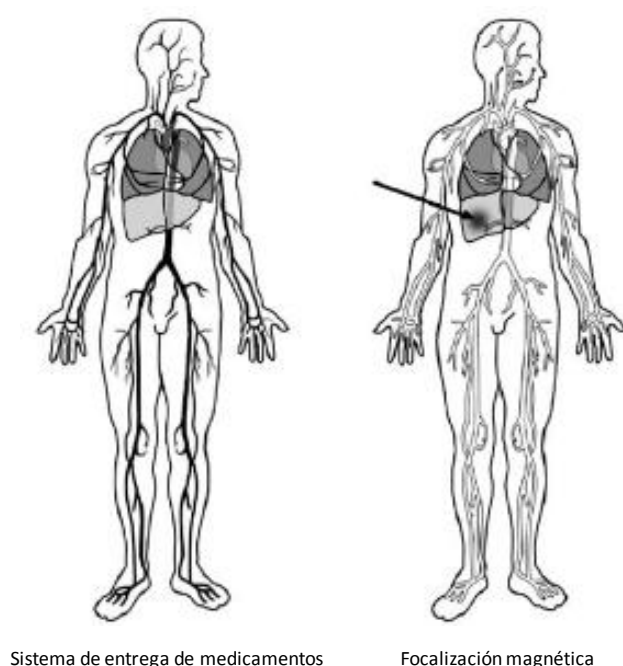


Figura 2.1 Concepto de entrega de medicamento dirigida magnéticamente.

Los primeros ensayos para terapias contra el cáncer utilizando nanopartículas magnéticas fueron desarrollados por Lübbe y cols. en Alemania para tratar a 14 pacientes con cáncer avanzado¹³. Esas nanopartículas eran de alrededor de 100 nm de diámetro y se llenaron con 4'-epidoxorubicina. La fase I del estudio mostró claramente la baja toxicidad del método y la acumulación de las nanopartículas en el área de interés. Sin embargo, mediciones por MRI indicaron que más del 50% de las mismas terminaron en el hígado. Esto se debió a la baja susceptibilidad magnética de las NPs utilizadas, lo cual limitó la capacidad de permanecer en el órgano objetivo¹². Posteriormente, la compañía FeRx en San Diego desarrolló micropartículas de hierro con forma irregular y

de 0.5-5 μm de diámetro, cubiertas con una capa de carbón con muy alta susceptibilidad magnética, para usarlas en un estudio clínico fase I para el tratamiento del cáncer de hígado inoperable¹⁴. Investigaciones subsecuentes llevaron a Jordan y cols.¹⁵ y Chan y cols.¹⁶ a la aplicación de nanopartículas de magnetita recubiertas de dextrano en tumores.

Sin embargo, debido a que las nanopartículas de magnetita presentan un área superficial específica considerable, al estar desprotegidas, pueden fácilmente formar agregados y reaccionar con el medio que las rodea. Se ha demostrado que la reactividad de las partículas de óxidos de hierro se incrementa conforme se reduce su tamaño y pueden ser biodegradadas rápidamente al ser expuestas a sistemas biológicos¹⁷. Por el contrario, si las partículas son demasiado grandes ($> 300 \text{ nm}$), el sistema retículo-endotelial (RES, por sus siglas en inglés, *reticuloendothelial system*) del ser humano actúa rápidamente, extrayendo las partículas de la sangre y eliminándolas rápidamente¹⁰. Por esto el tiempo de vida media de las nanopartículas en la sangre depende de su tamaño y la naturaleza de su recubrimiento¹⁸; así, resulta esencial un recubrimiento apropiado para prevenir tales limitaciones. En este sentido, existen varias estrategias para recubrir a las nanopartículas de magnetita, de las cuales la mayoría resulta en nanoestructuras magnéticas tipo núcleo – capa (*core – shell*), donde las nanopartículas de magnetita funcionan como núcleo y son cubiertas por una capa que aísla y protege a las nanopartículas del medio que las rodea. Estas estrategias pueden dividirse en dos grupos: recubrimientos con capas orgánicas, incluyendo surfactantes y polímeros¹⁹⁻²², o bien recubrimientos con componentes inorgánicos, incluyendo carbón²³ y sílice²⁴.

Aunque el recubrimiento de magnetita con capas orgánicas produce una buena estabilización de las nanopartículas en suspensiones biológicas con un pH alrededor de 7.4, provee grupos funcionales en la superficie para una derivatización posterior y evita la sustracción inmediata por el RES, uno de sus inconvenientes es su limitada capacidad para almacenar los fármacos. Consecuentemente, algunos investigadores han tratado de usar materiales inorgánicos porosos con una gran área superficial y un diámetro de poro grande para la obtención de materiales compuestos y encapsular así las

nanopartículas de magnetita, lo cual inhibe su aglomeración y mejora la estabilidad²⁵⁻²⁷. Estas partículas ofrecen un alto volumen específico del poro y una gran área superficial, lo cual constituye una ventaja en la carga de mayor cantidad de fármacos, y en el control de la liberación de los mismos, crucial para la eficacia de las diversas aplicaciones de entrega²⁸.

Desde los primeros reportes del uso de nanopartículas de sílice mesoporosa (NSM) como sistemas de entrega de medicamentos, en 2001²⁹, en los últimos años se ha incrementado de manera exponencial la investigación de estas nanopartículas en el campo de aplicaciones biológicas. Como nanoportadores, se han explorado las NSM con una estructura mesoporosa única como sistemas efectivos de entrega de fármacos para una variedad de agentes terapéuticos para combatir varios tipos de enfermedades, como diabetes^{28,30}, inflamaciones³¹, ingeniería de tejido de huesos/tendones³²⁻³⁵ y cáncer³⁶, y han mostrado un gran ventaja sobre sistemas tradicionales, en especial en los tratamientos contra el cáncer.

Sin embargo, a pesar de los grandes esfuerzos realizados en los últimos 30 años en la investigación para desarrollar nuevas formulaciones a base de nanomateriales para la entrega de medicamentos, solo se han aprobado muy pocas por la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés, *Food and Drug Administration*) para aplicaciones clínicas, tales como el tratamiento con Doxil³⁷ (que es doxurubicina (fármaco anti-cancerígeno) encapsulada en nanopartículas compuestas por lípidos y polietilenglicol de aproximadamente 100 nm, fue aprobado por la FDA en 1995 para tratar el sarcoma de Kaposi, el cáncer de mama recurrente y el cáncer de ovario) y el tratamiento por Abraxane (que es paclitaxel (fármaco anti-cancerígeno) enlazado a albumina con un diámetro promedio de 130 nm, aprobado por la FDA en 2005 para el tratamiento de cáncer de mama metastásico).

Desde un punto de vista científico, existen varias barreras clave que impiden el paso de los nanodispositivos desarrollados en el laboratorio a la medicina³⁸⁻⁴⁰. El primer y principal obstáculo es la dificultad de desarrollar nanoportadores que encapsulen suficientes agentes terapéuticos con liberación activada. El segundo es la dificultad de entregar las nanopartículas

eficientemente en la localización deseada en el contexto de múltiples barreras fisiológicas en vivo. Tercero, la toxicidad de los materiales. Cuarto, el costo efectivo de los nanomateriales y la producción escalable de nanopartículas monodispersas. Debido a todas estas limitaciones, los científicos buscan nuevos nano-portadores basados en nanomateriales inorgánicos con propiedades fisicoquímicas y estructuras especiales óptimas para su aplicación. Entre todos los materiales inorgánicos, las nanopartículas de sílice mesoporosa poseen una alta área superficial específica y un gran volumen de poro, propiedades que aportan a estas nanopartículas ventajas únicas para encapsular y liberar una gran variedad de fármacos de manera sencilla. Otra ventaja de este material es que el proceso de su fabricación es simple, escalable y se puede fabricar de manera controlada⁴¹. Así mismo, está distribuido abundantemente en la naturaleza, el sílice tiene muy buena compatibilidad y es aceptado y reconocido como seguro por la FDA, por lo que se usa ampliamente en cosméticos y aditivos para alimentos con la aprobación de la FDA^{42,43}.

Por todo lo anterior, en este trabajo de tesis hemos decidido combinar las propiedades de estos dos tipos de nanomateriales (en lo que se refiere a las partículas de magnetita y las de sílice mesoporosa) lo cual da las ventajas tanto de un gran área superficial para almacenar una gran cantidad de fármacos como una buena susceptibilidad magnética para dirigir el medicamento al área de interés, para producir nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ como un material de sumo interés en aplicaciones de entrega dirigida de medicamentos.

REFERENCIAS

- 1 Jun, Y. W., Huh, Y. M., Choi, J. S., Lee, J. H., Song, H. T., Kim, S., Yoon, S., Kim, K. S., Shin, J. S., Suh, J. S. & Cheon, J. Nanoscale size effect of magnetic nanocrystals and their utilization for cancer diagnosis via magnetic resonance imaging. *J Am Chem Soc* **127**, 5732-5733 (2005).
- 2 Zeng, H., Li, J., Liu, J. P., Wang, Z. L. & Sun, S. Exchange-coupled nanocomposite magnets by nanoparticle self-assembly. *Nature* **420**, 395-398 (2002).
- 3 Jung, H., Kim, J. W., Choi, H., Lee, J. H. & Hur, H. G. Synthesis of nanosized biogenic magnetite and comparison of its catalytic activity in ozonation. *Appl Catal B-Environ* **83**, 208-213 (2008).
- 4 Dai, Q., Berman, D., Virwani, K., Frommer, J., Jubert, P. O., Lam, M., Topuria, T., Imaino, W. & Nelson, A. Self-Assembled ferrimagnet polymer-composites for magnetic recording media. *Nano Lett* **10**, 3216-3221 (2010).
- 5 Parkinson, G. S., Novotny, Z., Jacobson, P., Schmid, M. & Diebold, U. Room temperature water splitting at the surface of magnetite. *J Am Chem Soc* **133**, 12650-12655 (2011).
- 6 Li, Z. X., Kawashita, M., Araki, N., Mitsumori, M., Hiraoka, M. & Doi, M. Magnetite nanoparticles with high heating efficiencies for application in the hyperthermia of cancer. *Mat Sci Eng C* **30**, 990-996 (2010).
- 7 Dandamudi, S. & Campbell, R. B. The drug loading, cytotoxicity and tumor vascular targeting characteristics of magnetite in magnetic drug targeting. *Biomater* **28**, 4673-4683 (2007).
- 8 Zhu, M. Y. & Diao, G. W. Synthesis of Porous Fe₃O₄ Nanospheres and Its application for the catalytic degradation of xylene orange. *J Phys Chem C* **115**, 18923-18934 (2011).
- 9 Huh, Y. M., Jun, Y. W., Song, H. T., Kim, S., Choi, J. S., Lee, J. H., Yoon, S., Kim, K. S., Shin, J. S., Suh, J. S. & Cheon, J. In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals. *J Am Chem Soc* **127**, 12387-12391 (2005).

- 10 Bae, Y. H. & Park, K. Targeted drug delivery to tumors: myths, reality and possibility. *J Controlled Release* **153**, 198-205 (2011).
- 11 Xuan, S. H., Wang, F., Lai, J. M., Y. Sham, K. W. Y., Wang, Y. X. J., Lee, S. F., Yu, J. C., Cheng, C. H. K. & Leung, K. C. F. Synthesis of biocompatible, mesoporous Fe₃O₄ nano/microspheres with large surface area for magnetic resonance imaging and therapeutic applications. *ACS Appl Mater Inter* **3**, 237-244 (2011).
- 12 Hafeli, U. O. Magnetically modulated therapeutic systems. *Int J Pharm* **277**, 19-24 (2004).
- 13 Lubbe, A. S., Bergemann, C., Riess, H., Schriever, F., Reichardt, P., Possinger, K., Matthias, M., Dorken, B., Herrmann, F., Gurtler, R., Hohenberger, P., Haas, N., Sohr, R., Sander, B., Lemke, A. J., Ohlendorf, D., Huhnt, W. & Huhn, D. Clinical experiences with magnetic drug targeting: a phase I study with 4'-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors. *Cancer Res* **56**, 4686-4693 (1996).
- 14 Goodwin, S. Magnetic targeted carriers offer site-specific drug delivery. *Oncol News Int* **9**, 22 (2000).
- 15 Jordan, A., Wust, P., Fählin, H., John, W., Hinz, A. & Felix, R. Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: Physical evaluation of their potential for hyperthermia. *Int J Hyperthermia* **9**, 51-68 (1993).
- 16 Chan, D. C. F., Kirpotin, D. B. & Bunn, P. A. Synthesis and evaluation of colloidal magnetic iron-oxides for the site-specific radiofrequency-induced hyperthermia of cancer. *J Magn Magn Mater* **122**, 374-378 (1993).
- 17 Harris, L. A., Goff, J. D., Carmichael, A. Y., Riffle, J. S., Harburn, J. J., St. Pierre, T. G. & Saunders, M. Magnetite nanoparticle dispersions stabilized with triblock copolymers. *Chem Mater* **15**, 1367-1377 (2003).
- 18 Jun, Y. W., Seo, J. W. & Cheon, A. Nanoscaling laws of magnetic nanoparticles and their applicabilities in biomedical sciences. *Acc Chem Res* **41**, 179-189 (2008).
- 19 Euliss, L. E., Grancharov, S. G., O'Brien, S., Deming, T. J., Stucky, G. D., Murray, C. B. & Held, G. A. Cooperative assembly of magnetic nanoparticles and block copolypeptides in aqueous media. *Nano Lett* **3**, 1489-1493 (2003).

- 20 Liu, X. Q., Guan, Y. P., Ma, Z. Y. & Liu, H. Z. Surface modification and characterization of magnetic polymer nanospheres prepared by miniemulsion polymerization. *Langmuir* **20**, 10278-10282 (2004).
- 21 Hong, R., Fischer, N. O., Emrick, T. & Rotello, V. M. Surface PEGylation and ligand exchange chemistry of FePt nanoparticles for biological applications. *Chem Mater* **17**, 4617-4621 (2005).
- 22 Kim, M., Chen, Y. F., Liu, Y. C. & Peng, X. G. Super-stable, high-quality Fe₃O₄ dendron-nanocrystals dispersible in both organic and aqueous solutions. *Adv Mater* **17**, 1429-1432 (2005).
- 23 Arana, M., Jacobo, S. E., Troiani, H. & Bercoff, P. G. Synthesis and characterization of carbon-coated magnetite for functionalized ferrofluids. *IEEE Trans Magn* **49**, 4547-4550 (2013).
- 24 Deng, Y.-H., Wang, C.-C., Hu, J.-H., Yang, W.-L. & Fu, S.-K. Investigation of formation of silica-coated magnetite nanoparticles via sol-gel approach. *Colloids Surf A* **262**, 87-93, (2005).
- 25 Zysler, R. D., Fiorani, D. & Testa, A. M. Investigation of magnetic properties of interacting Fe₂O₃ nanoparticles. *J Magn Magn Mater* **224**, 5-11 (2001).
- 26 Yi, D. K., Selvan, S. T., Lee, S. S., Papaefthymiou, G. C., Kundaliya, D. & Ying, J. Y. Silica-coated nanocomposites of magnetic nanoparticles and quantum dots. *J Am Chem Soc* **127**, 4990-4991 (2005).
- 27 Simeonidis, K., Mourdikoudis, S., Moulla, M., Tsiaoussis, I., Martinez-Boubeta, C., Angelakeris, M., Dendrinou-amara, C. & Kalogirou, O. Controlled synthesis and phase characterization of Fe-based nanoparticles obtained by thermal decomposition. *J Magn Magn Mater* **316**, E1-E4 (2007).
- 28 Zhao, Y., Trewyn, B. G., Slowing, I. I. & Lin, V. S. Mesoporous silica nanoparticle-based double drug delivery system for glucose-responsive controlled release of insulin and cyclic AMP. *J Am Chem Soc* **131**, 8398-8400 (2009).
- 29 Vallet-Regi, M., Rámila, A., del Real, R. P. & Pérez-Pariente, J. A new property of MCM-41: drug delivery system. *Chem Mater* **13**, 308-311 (2001).

- 30 Kim, H. J., Matsuda, H., Zhou, H. S. & Honma, I. Ultrasound-triggered smart drug release from a poly(dimethylsiloxane)–mesoporous silica composite. *Adv Mater* **18**, 3083-3088 (2006).
- 31 Moulari, B., Pertuit, D., Pellequer, Y. & Lamprecht, A. The targeting of surface modified silica nanoparticles to inflamed tissue in experimental colitis. *Biomaterials* **29**, 4554-4560 (2008).
- 32 Lozano, D., Manzano, M., Doadrio, J. C., Salinas, A. J., Vallet-Regi, M., Gomez-Barrena, E. & Esbrit, P. Osteostatin-loaded bioceramics stimulate osteoblastic growth and differentiation. *Acta Biomater* **6**, 797-803 (2010).
- 33 Suwalski, A., Dabboue, H., Delalande, A., Bensamoun, S. F., Canon, F., Midoux, P., Saillant, G., Klatzmann, D., Salvétat, J. P. & Pichon, C. Accelerated Achilles tendon healing by PDGF gene delivery with mesoporous silica nanoparticles. *Biomaterials* **31**, 5237-5245 (2010).
- 34 Vallet-Regi, M. Ordered mesoporous materials in the context of drug delivery systems and bone tissue engineering. *Chemistry* **12**, 5934-5943 (2006).
- 35 Zhu, M., Wang, H., Liu, J., He, H., Hua, X., He, Q., Zhang, L., Ye, X. & Shi, J. A mesoporous silica nanoparticulate/beta-TCP/BG composite drug delivery system for osteoarticular tuberculosis therapy. *Biomaterials* **32**, 1986-1995 (2011).
- 36 Lu, J., Liong, M., Li, Z., Zink, J. I. & Tamanoi, F. Biocompatibility, biodistribution, and drug-delivery efficiency of mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy in animals. *Small* **6**, 1794-1805 (2010).
- 37 Barenholz, Y. Doxil(R)--the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J Controlled Release* **160**, 117-134 (2012).
- 38 Jain, R. K. & Stylianopoulos, T. Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat Rev Clin Oncol* **7**, 653-664 (2010).
- 39 Sanhai, W. R., Sakamoto, J. H., Canady, R. & Ferrari, M. Seven challenges for nanomedicine. *Nat Nanotechnol* **3**, 242-244 (2008).
- 40 Ruoslahti, E., Bhatia, S. N. & Sailor, M. J. Targeting of drugs and nanoparticles to tumors. *J Cell Biol* **188**, 759-768 (2010).
- 41 Tang, F., Li, L. & Chen, D. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery. *Adv Mater* **24**, 1504-1534 (2012).

- 42 Halas, N. J. Nanoscience under glass: the versatile chemistry of silica nanostructures. *ACS Nano* **2**, 179-183 (2008).
- 43 Garcia-Bennett, A. E. Synthesis, toxicology and potential of ordered mesoporous materials in nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)* **6**, 867-877 (2011).

CAPÍTULO III

PREPARACIÓN DE NPs DE Fe_3O_4 y $Fe_3O_4@mSiO_2$

En este capítulo se abordan de manera general los diferentes métodos químicos de síntesis de materiales nanoestructurados. Se detallan los diferentes métodos de síntesis utilizados en la fabricación de Fe_3O_4 y $Fe_3O_4@mSiO_2$. Finalmente se discute la metodología utilizada para cargar las nanoestructuras de $Fe_3O_4@mSiO_2$ con ibuprofeno como droga/fármaco modelo y su liberación *in vitro*. Los reactivos utilizados en la síntesis de las diferentes muestras se enlistan en la tabla 3.1.

Tabla 3.1 Reactivos utilizados en la síntesis de las diferentes muestras de Fe_3O_4 y $Fe_3O_4@mSiO_2$.

Reactivo	Fórmula	Pureza	Proveedor
Cloruro férrico hexahidratado	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	97%	Sigma – Aldrich
Cloruro ferroso tetrahidratado	$FeCl_2 \cdot 4H_2O$	99%	Sigma – Aldrich
Ácido clorhídrico	HCl	37%	J. T. Baker
Hidróxido de tetrametilamonio	$N(CH_3)_4OH$	25%	Sigma – Aldrich
Acetato de sodio anhidro (NaAc)	CH_3COONa	99.9%	J. T. Baker
Etilenglicol (EG)	$HOCH_2CH_2OH$	99.8%	J. T. Baker
Tetra-etil-orto-silicato (TEOS)	$SiC_8H_{20}O_4$	> 99%	Fluka
Bromuro de cetil-trimetil-amonio (CTAB)	$C_{19}H_{42}BrN$	> 99%	Sigma – Aldrich
Hidróxido de amonio	NH_4OH	28%	Sigma – Aldrich
Ácido acético glacial	CH_3COOH	99.8%	Sigma – Aldrich
Etanol desnaturalizado (EtOH)	C_2H_6O	99.75%	J. T. Baker
Agua desionizada	H_2O	18.2 MΩ-cm	

3.1 MÉTODOS DE SÍNTESIS DE MATERIALES

Los métodos de síntesis de materiales nanoestructurados se dividen en dos grandes categorías: los métodos físicos y los métodos químicos¹. Los métodos físicos involucran el uso de plasma, haces moleculares, evaporación térmica, electrodeposición y molienda mecánica. Entre los métodos físicos también se encuentra la erosión catódica (*sputtering*), que consiste en la expulsión de átomos/moléculas de la superficie de un material por el bombardeo con partículas energéticas cargadas positivamente. Por otro lado, la evaporación química en fase vapor (CVD, por sus siglas en inglés, *chemical vapor deposition*), consiste en el cambio de fase de un precursor a la fase gaseosa; posteriormente éste se descompone a presión baja o a presión atmosférica para generar partículas nanométricas. Estos productos se transportan por un gas y se recolectan en un sustrato. La condensación química en fase vapor (CVC, por sus siglas en inglés, *chemical vapor condensation*) es un método utilizado para la fabricación de fibras de metales, materiales compuestos, materiales cerámicos e intermetálicos^{2,3}.

Los métodos químicos ofrecen la ventaja de su mayor versatilidad en el diseño y la síntesis de nuevos materiales. Si entendemos cómo la materia se ensambla a nivel atómico y molecular, y los efectos que tienen a nivel macroscópico, resulta factible diseñar un material con propiedades específicas. Entre los métodos químicos más utilizados para la síntesis de materiales nanoestructurados destacan el hidrotérmal/solvotérmal, el sol-gel y el de co-precipitación⁴.

Hablando específicamente de la magnetita, se han reportado diferentes métodos químicos utilizados para su síntesis:

- Microemulsión, donde se usa una microemulsión agua/aceite para la obtención de nanopartículas de magnetita de tamaño alrededor de 10 nm con una magnetización de saturación de ~ 33 emu/g.⁵
- Método sonoquímico, mediante este método Marchegiani *et al.* lograron sintetizar nanopartículas de magnetita de 10 – 30 nm de diámetro con una magnetización de saturación de ~ 70 emu/g.⁶

- Descomposición térmica, donde mediante un complejo de Fe-oleato en disolventes orgánicos, se puede obtener de manera precisa un tamaño de nanopartículas de magnetita alrededor de 10 nm de diámetro⁷.
- Co-precipitación, que es probablemente la más simple y eficiente para obtener partículas magnéticas mediante el uso de dos precursores de hierro en solución ácida y un compuesto alcalino como catalizador; con este método se pueden obtener NPs con una amplia variedad de tamaños⁸.
- Hidrotermal/solvotermal, mediante el cual con un solo precursor de hierro es posible obtener aglomerados esféricos de NPs de un mayor tamaño (200-500 nm), con propiedades magnéticas deseables para aplicaciones biomédicas^{9,10}.

Sin embargo, de todos estos métodos, los métodos de co-precipitación e hidrotermal son los más comunes, por ser económicos y permitir, variando ciertos parámetros, controlar fácilmente el tamaño de las NPs magnetitas.

3.2 MÉTODO DE CO-PRECIPITACIÓN

El método de co-precipitación es probablemente la ruta química más simple para obtener partículas de óxidos metálicos a partir de soluciones acuosas de sales. Esto se hace por la adición de una base bajo una atmósfera inerte desde la temperatura ambiente hasta elevadas temperaturas¹¹. En la figura 3.1 se presenta esquemáticamente el método en general para la síntesis de las nanopartículas de óxidos metálicos por co-precipitación. Un ejemplo de estas partículas metálicas son las nanopartículas de óxido de hierro en fase magnetita. En este trabajo se obtuvieron a partir de la reacción entre los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} en una solución ácida de $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ y $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ y la posterior precipitación del Fe_3O_4 (magnetita) por la acción de una segunda solución de $N(CH_3)_4OH$ (base).

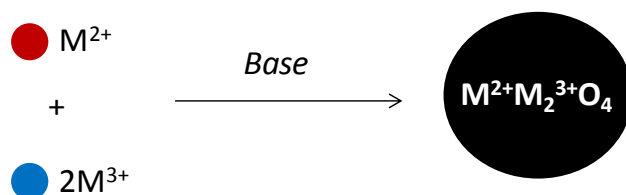


Figura 3.1 Presentación esquemática del proceso de co-precipitación para obtener nanopartículas de óxidos metálicos.

3.3 MÉTODO HIDROTHERMAL/SOLVOTERMAL

La **síntesis hidrotermal/solvotermal** agrupa una serie de técnicas en las que se calienta un líquido en un recipiente cerrado por encima de su punto de ebullición, lo que genera una presión superior a la atmosférica (normalmente moderada). El líquido habitual es el agua, y de ahí el nombre de “síntesis hidrotermal” con el que en la literatura suele aparecer descrita; sin embargo, cada vez se han utilizado con mayor frecuencia otros medios líquidos: disolventes orgánicos, amoníaco líquido, hidracina, etc., por lo que conviene utilizar una denominación más general como “síntesis solvotermal”¹². De este modo se ha preparado una gran variedad de nuevos materiales y conviene recordar que un número bastante grande de minerales se ha formado por vía hidrotermal/solvotermal, es decir, con el uso de presión superior a la atmosférica y temperatura por encima del punto de ebullición del solvente en uso. La base de la técnica es mejorar la solubilidad del precursor en el solvente bajo algunas condiciones que produce estructuras de morfología controlada, lo que representa una gran ventaja sobre las rutas de síntesis en solución. Otra de las ventajas del método hidrotermal/solvotermal sobre las rutas en solución es que el producto final se forma fácilmente a bajas temperaturas sin calcinación posterior y se ha utilizado para sintetizar NPs de óxidos metálicos altamente cristalinas. Además, solventes como el etilenglicol ($C_2H_6O_2$) en condiciones solvotermales suelen actuar como agentes reductores (liberando oxígeno), por lo que cabe esperar también variaciones en el estado de oxidación de los elementos implicados en la síntesis. Por ejemplo, la síntesis solvotermal aplicada a sales de Fe^{3+} suele generar *magnetita* (Fe_3O_4), al convertir una cantidad importante de Fe^{3+} a Fe^{2+} .

La síntesis de las nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) en este trabajo de tesis se llevó a cabo empleando la técnica de co-precipitación asistida por un tratamiento hidrotérmal (serie de muestras C-1) y mediante la técnica hidrotérmal/solvotérmal, sintetizando tres series de muestras (S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5) de magnetita variando únicamente la concentración de acetato de sodio usado en la síntesis. Para simplicidad de nombrar el método solvotérmal/hidrotérmal en adelante se nombrará solamente método hidrotérmal.

3.4 SÍNTESIS DE NPs DE MAGNETITA MEDIANTE LA TÉCNICA DE CO-PRECIPITACIÓN ASISTIDA POR TRATAMIENTO HIDROTÉRMAL (MÉTODO 1; MUESTRA C-1)

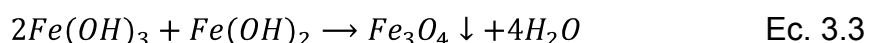
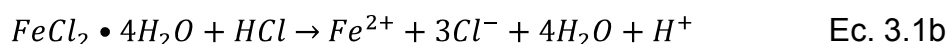
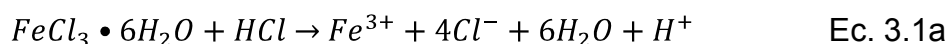
Para sintetizar las nanopartículas de magnetita por el método de co-precipitación (muestra denominada C-1), previamente se preparó una solución de HCl 1M.

La figura 3.2 muestra los pasos que se siguieron para realizar la síntesis de la muestra de magnetita C-1. En un matraz volumétrico de tres bocas (capacidad de 100 mL) con 30 mL de HCl de una concentración de 1 mol/L, se disolvieron 1.19 gr de $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (6 mmol) y 3.24 gr de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (12 mmol); posteriormente se calentó la disolución hasta alcanzar los 70°. A continuación, se agregaron 30 mL de hidróxido de tetrametilamonio ($N(CH_3)_4OH$) al 25 %wt; esta adición se realizó gota a gota. Después de 30 min de agitación, la solución resultante fue transferida a un par de vasos de teflón de 30 mL de capacidad, que se introdujeron en autoclaves de acero inoxidable para realizar el tratamiento hidrotérmal, que se llevó a cabo a 190° C durante 24 h. Todo el proceso de síntesis se realizó bajo flujo de Ar para evitar la oxidación de los iones de Fe^{2+} a Fe^{3+} . La muestra resultante fue separada magnéticamente, lavada con etanol y agua en varias ocasiones y finalmente secada en una mufla a 65° C durante 12 h. La muestra se almacenó en un vial bajo una atmósfera de Ar y se etiquetó como C-1.



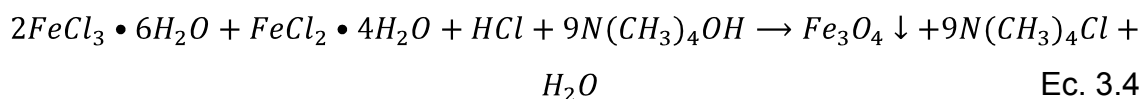
Figura 3.2 Esquema de síntesis de magnetita utilizando el método de co-precipitación asistido por tratamiento hidrotérmal (muestra C-1).

El método de co-precipitación para la obtención de magnetita haciendo reaccionar iones de Fe^{2+} y Fe^{3+} en condiciones alcalinas ha sido extensamente investigado¹³⁻¹⁸. El proceso general de la formación de las nanopartículas de magnetita a partir de este método se representa por las siguientes reacciones:



Primero, los precursores de hierro se disocian, produciendo los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} (ecuación 3.1). Posteriormente, al agregar la solución alcalina de $N(CH_3)_4OH$, cuya función es generar grupos hidroxilo (OH^-) en exceso y formar hidróxidos de hierro 2^+ y 3^+ (ecuación 3.2). Finalmente, estos hidróxidos de hierro reaccionan entre sí para formar la magnetita (ecuación 3.3).

La reacción general para la formación de la magnetita se puede apreciar en la ecuación 3.4.



3.5 SÍNTESIS DE NPs DE MAGNETITA MEDIANTE LA TÉCNICA HIDROTHERMAL (MÉTODO 2; MUESTRAS S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5)

La síntesis de magnetita mediante el método hidrottermal actualmente se ha explotado con gran interés, ya que en este método no se necesitan dos precursores de hierro para la formación del material, como en la mayoría de los otros métodos, ya que, al utilizar un poderoso agente reductor como solvente, la formación de la magnetita se da de manera controlada y con muy buena dispersión, resultando en un método sencillo y de bajo costo.

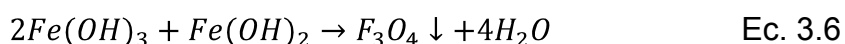
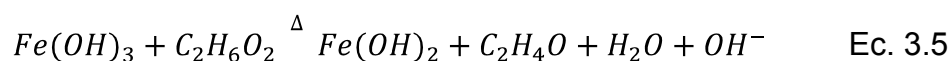
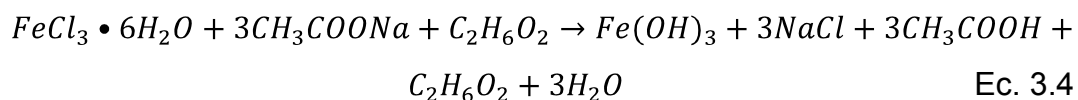
En este trabajo se sintetizaron nanopartículas de magnetita empleando el cloruro férrico hexahidratado ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) como único precursor de iones de hierro y, para reducir los iones Fe^{3+} , se procedió a utilizar etilenglicol como agente reductor de alto punto de ebullición. A continuación se describe el procedimiento de síntesis de esta serie de muestras.

En la figura 3.3 se puede observar el esquema que se siguió para la síntesis de magnetita mediante este método. Primero se preparó una solución en etilenglicol (EG) 0.6 mol/L (M) de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ y se agregó a un matraz de tres bocas con 40 mL de EG bajo flujo de Ar y agitación magnética. Después de 30 min de agitación, se añadieron lentamente 10 mL de una solución de acetato de sodio (NaAc) en EG (gota a gota). La concentración de esta solución de NaAc se varió en 5 ocasiones (0.9, 1.05, 1.2, 1.35 y 1.5 M) para generar diferentes muestras. Antes de adicionar el NaAc, se cambió la agitación de la solución a agitación vigorosa. Estas condiciones de agitación y flujo de Ar se mantuvieron durante 3 h. Posteriormente, la mezcla se transfirió a un par de vasos de teflón de 30 mL de capacidad, los cuales fueron introducidos en autoclaves de acero inoxidable para realizar el tratamiento hidrottermal en condiciones de 190° C durante 24 h. La muestra resultante fue separada magnéticamente, lavada con etanol y agua en varias ocasiones y finalmente secada en una mufla a 65° C durante 12 h. Las muestras se almacenaron en un vial bajo una atmósfera de Ar y se etiquetaron como S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5 (muestras sintetizadas con una concentración de NaAc de 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 y 1.5 M respectivamente).



Figura 3.3 Esquema de síntesis de magnetita utilizando el método hidrotermal.

Aunque existen varios reportes sobre el mecanismo de reacción involucrado en la formación de magnetita sintetizada mediante descomposición térmica¹⁹, co-precipitación¹³ y otros procesos, el mecanismo de reacción involucrado en la síntesis hidrotermal no está bien claro aún, por lo que, considerando el comportamiento del EG como agente reductor de altas temperaturas, de acuerdo con Blin y colaboradores²⁰ se ha propuesto en este trabajo de tesis el siguiente mecanismo de reacción:



Inicialmente, cuando disolvemos el cloruro férrico hexahidratado y el acetato de sodio en etilenglicol, se produce $Fe(OH)_3$, como se muestra en la ecuación 3.4. Posteriormente, al elevar la temperatura hasta 190° C, el etilenglicol actúa como un poderoso agente reductor y se produce $Fe(OH)_2$ (ecuación 3.5). Finalmente, al alcanzarse una relación molar 2:1 entre los dos hidróxidos de hierro ($Fe(OH)_3$ y $Fe(OH)_2$ respectivamente), éstos reaccionan entre sí para formar la magnetita (ecuación 3.6).

3.6 RECUBRIMIENTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA CON SÍLICE MESOPOROSO ($Fe_3O_4@mSiO_2$) (MÉTODO 3; MUESTRAS M-1, M-2 Y M-3)

3.6.1 Generalidades

Según la IUPAC, los materiales porosos se pueden clasificar según el tamaño de sus poros^{21,22}:

- Microporoso: diámetro de poro menor a 2 nm
- Mesoporoso: diámetro de poro entre 2 nm y 50 nm
- Macroporoso: diámetro de poro mayor a 50 nm

Los materiales mesoporosos poseen atractivas propiedades intrínsecas debido a la gran área superficial específica que poseen y al tamaño de sus poros. Estos tamaños, que se encuentran entre la escala molecular y la micrométrica²³, producen fenómenos que no pueden ser explicados únicamente por las leyes moleculares o del continuo, ya que en estos casos juega un papel muy importante el confinamiento dentro de los poros, que pueden utilizarse, por ejemplo, como nanorreactores.

La síntesis de óxidos mesoporosos se obtiene a partir de la formación del óxido en presencia de un agente moldeador (surfactante) o templete. En estas síntesis se combinan dos técnicas: las reacciones de tipo sol – gel y el autoensamblado de surfactantes. La primera, mediante el control de la hidrólisis y condensación del precursor inorgánico, da lugar al óxido y la segunda, a partir de la formación de micelas, forma el molde del arreglo poroso^{24,25}.

La síntesis de óxidos mesoporosos se puede resumir como se muestra en la figura 3.4. En una primera etapa se forma un sistema híbrido orgánico – inorgánico que contiene al surfactante rodeado por el óxido (sistema mesoestructurado). En segundo paso, se elimina el surfactante, dando lugar a la estructura porosa. La eliminación del surfactante puede ser por calcinación o extracción física o química.

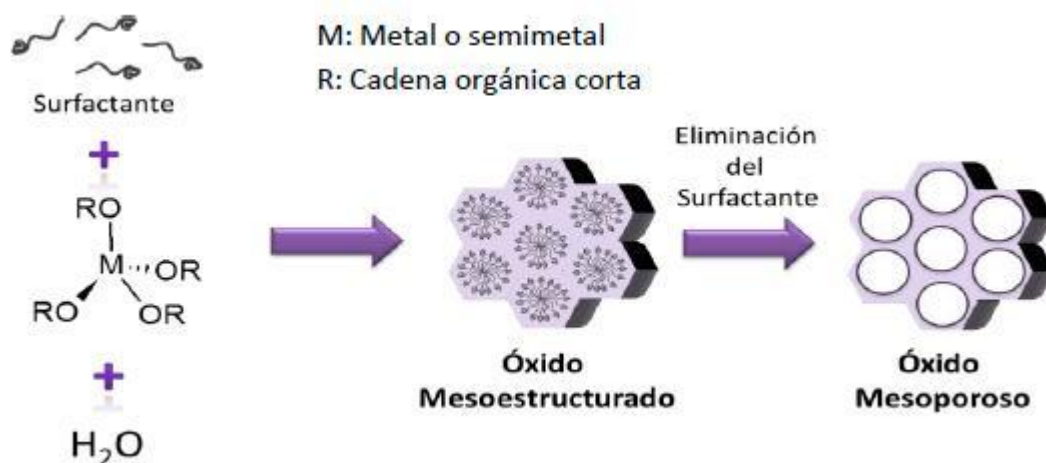


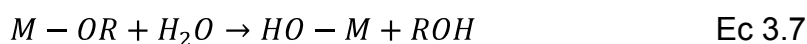
Figura 3.4 Esquema general de síntesis de óxidos mesoporosos.

3.6.2 El proceso Sol – Gel

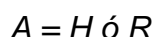
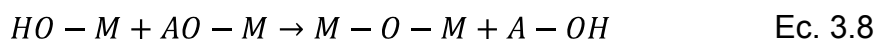
Los procesos Sol – Gel involucran una ruta coloidal que se utiliza para sintetizar materiales cerámicos, en la cual existe una etapa intermedia que incluye el paso por los estados sol a gel. Un sol se define como una suspensión estable de partículas coloidales en un líquido y un gel como una red porosa sólida tridimensional continua, que se expande a lo largo de un medio líquido^{26,27}.

Una de las ventajas más importantes de la síntesis Sol – Gel es que se realiza a bajas temperaturas²⁶. Esto permite la síntesis de materiales híbridos orgánico – inorgánico, así como un control más eficiente y simple de la cinética de las reacciones involucradas, y de la nucleación y el crecimiento de las partículas²⁷.

Para la formación del óxidos es necesaria la interconexión de los centros metálicos M (éstos pueden ser metales, o un semimetal, como el Si) mediante puentes oxo $M-O-M$ o hidroxilo $M-(OH)-M^2$ ⁷. Para esto se parte del precursor inorgánico MX_n (donde X puede ser, por ejemplo, un anión o grupo alcóxido – OR), que se pone en contacto con agua a fin de lograr su hidrólisis. Este paso es similar al inicio en una reacción de polimerización orgánica (ecuación 3.7).



Luego, la especie hidrolizada $M-OH$ pasa a una segunda etapa, la condensación (de los centros M), que permite la generación de la red de óxido. Esto puede ocurrir a través de una reacción de oxolación (condensación a través de puente oxo, ecuación 3.8) o a través de una reacción de olación (condensación a través de un puente hidroxilo, ecuación 3.9).



Las velocidades de las reacciones de hidrólisis y condensación dependen del precursor inorgánico. Por ejemplo, para alcóxidos de silicio, como el TEOS ($Si(OC_2H_5)_4$), la hidrólisis es lenta.

Como se esquematizó en la figura 3.4, en la síntesis de óxidos mesoporosos, aparte del precursor inorgánico y el solvente, se agrega un agente surfactante a partir del cual se generará el arreglo poroso.

Los surfactantes poseen una estructura química característica que los hace anfifílicos, es decir, que dentro de su estructura molecular hay uno o varios dominios hidrofílicos y uno o varios dominios hidrofóbicos²⁸. Cuando la concentración del surfactante en el medio es baja, estas moléculas anfifílicas se mantienen sin interactuar entre ellas y están disueltas en el solvente. Al ir aumentando su concentración, éstas comienzan a interactuar e intentan organizarse para disminuir la energía del sistema. Esto significa que en un solvente polar, los dominios hidrofóbicos se repliegan entre sí y los dominios hidrofílicos quedan expuestos. Esta conformación se denomina micela y, a partir de la concentración micelar crítica (CMC, por sus siglas en inglés, *critical micelar concentration*), comienzan a aparecer. A medida que la concentración se incrementa, las micelas pueden empezar a interactuar entre ellas, originando uno o más arreglos regulares, denominados cristales líquidos liotrópicos (figura 3.5).

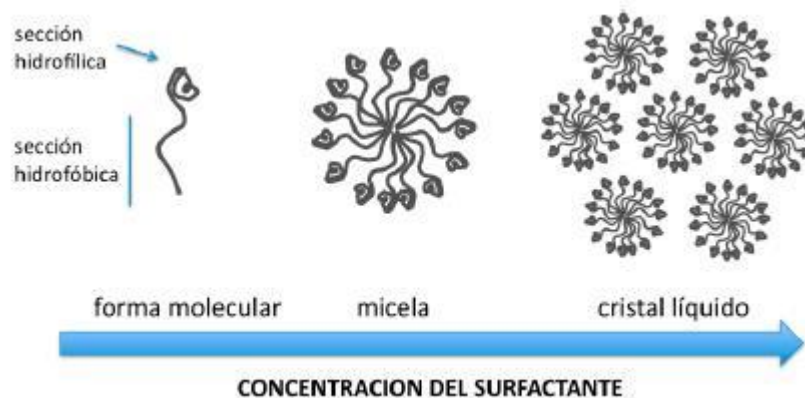


Figura 3.5 Variación de la conformación del surfactante con la concentración en un solvente polar.

Para el recubrimiento de las nanopartículas magnetitas con sílice mesoporoso se empleó el método sol – gel, utilizando TEOS como precursor de sílice, y como templete para la creación de los mesoporos se utilizó el surfactante catiónico CTAB (*cetyl-trimethyl-ammonium bromide*, por sus siglas en inglés).

3.6.3 Síntesis de nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$

Para la síntesis de $Fe_3O_4@mSiO_2$, se escogieron las nanopartículas de Fe_3O_4 sintetizadas con una concentración de NaAc igual a 1.2 M (muestra S-3). En la figura 3.6 se puede apreciar el esquema que se siguió para realizar las síntesis de las nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$. Primero se dispersaron 10 mg de magnetita (muestra S-3) en 50 mL de etanol mediante agitación ultrasónica. Posteriormente, estas nanopartículas se agregaron a una solución etanol/agua (EtOH/ H_2O) de 200 mL en una relación 4:1 respectivamente bajo agitación mecánica. Una vez dispersadas las nanopartículas, se agregaron 5 mL de una solución de NH_4OH (28 %wt). Después de 30 min de agitación, se adicionaron 150 mg (0.41 mmol) de CTAB y se mantuvo la solución en agitación 30 min. más. Pasado este tiempo, se agregaron tres diferentes cantidades de TEOS (0.05, 0.07 y 0.10 mL) para crear tres diferentes tipos de muestras (diferentes espesores); la adición del TEOS se realizó gota a gota (0.005 mL cada 10 min). Después de 24 h de agitación mecánica a temperatura ambiente, las nanoestructuras fueron separadas magnéticamente; se lavaron

con etanol y agua y fueron re-dispersadas en 100 mL de una solución etanol/ácido acético en una proporción 95/5 (v/v) respectivamente, para extraer el CTAB de la muestra. Luego de 30 minutos de agitación, las nanoestructuras fueron separadas magnéticamente, lavadas con etanol y agua en varias ocasiones y finalmente puestas a secar en una mufla a 80° C durante 12 h. Las nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$ resultantes se nombraron como muestras M-1, M-2 y M-3 para las muestras sintetizadas con una cantidad de TEOS de 0.05, 0.07 y 0.10 mL, respectivamente.

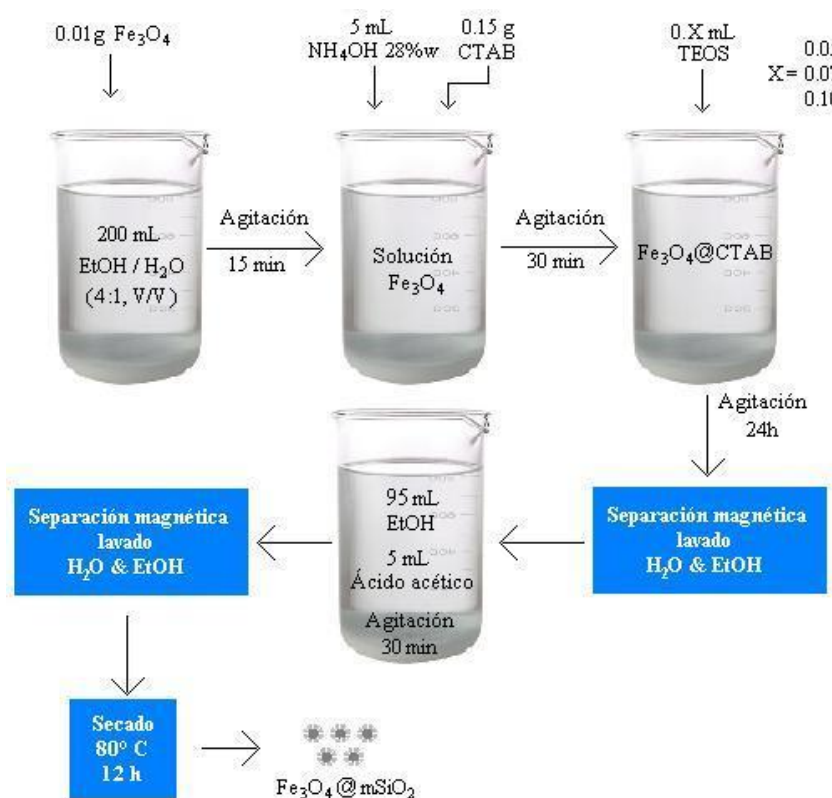


Figura 3.6 Esquema de síntesis de las nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$.

3.7 CARGA Y LIBERACIÓN DE LAS NANOESTRUCTURAS COMPUESTAS, CON IBUPROFENO COMO FÁRMACO MODELO

Las muestras utilizadas en las pruebas de carga y liberación de fármacos fueron M-1, M-2 y M-3. Así mismo, para determinar la carga y liberación, previamente se realizó un perfil de concentración de ibuprofeno (Fig. B7,

apéndice B). Para esto, se prepararon varias soluciones con diferentes concentraciones de ibuprofeno, de las cuales se obtuvo su espectro de absorción UV-Vis y conforme a la intensidad del pico a 263 nm de las diferentes soluciones, se logró obtener el perfil de concentración de ibuprofeno.

3.7.1 Carga de fármaco

Las pruebas de la capacidad de carga de fármacos en las nanoestructuras de $Fe_3O_4@mSiO_2$ se realizaron conforme el esquema de la figura 3.7. Primero se dispersaron 30 mg de muestra $Fe_3O_4@mSiO_2$ en una solución ibuprofeno/hexano de 10 mL ($30mg_{ibu}/mL_{hex}$). Posteriormente, la solución se mantuvo en agitación 24 h en un vial sellado para evitar la evaporación del hexano. Después de las 24 h de agitación, la muestra fue separada magnéticamente y se tomó una alícuota de 0.03 mL (solución restante) para obtener su espectro de absorción UV-Vis y determinar la cantidad de ibuprofeno cargada sobre la muestra de acuerdo con el perfil de concentración obtenido previamente. La muestra de $Fe_3O_4@mSiO_2/ibu$ separada de la solución de ibu/hex se lavó cuidadosamente con hexano y se secó en vacío a 60 °C durante 24 h.

Las diferentes muestras cargadas con ibuprofeno se nombraron de la siguiente manera: M1/ibu, M2/ibu y M3/ibu para las muestras utilizadas M-1, M-2 y M-3, respectivamente.

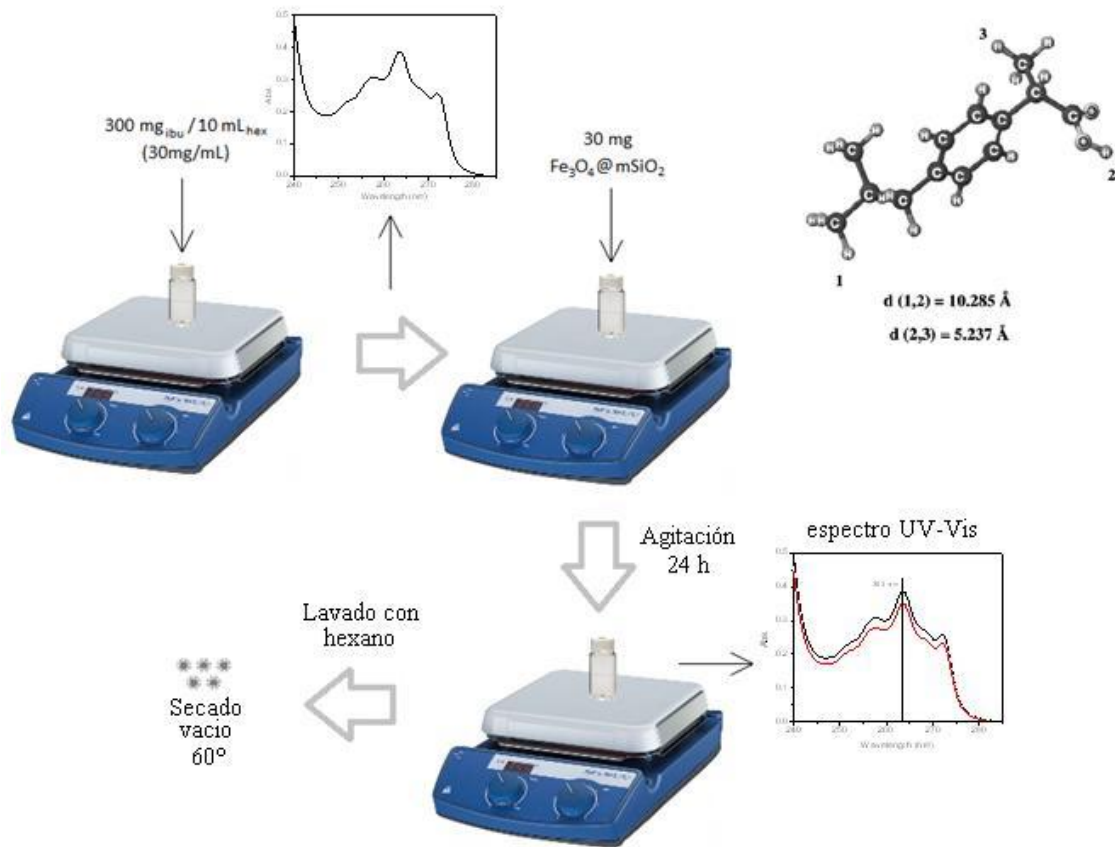


Figura 3.7 Esquema representativo de la carga de ibuprofeno sobre las nanoestructuras de $Fe_3O_4@mSiO_2$.

3.7.2 Pruebas *in vitro* de liberación de fármaco

Para las pruebas de liberación *in vitro* de las muestras cargadas con ibuprofeno, previamente se preparó un fluido corporal simulado (SBF, por sus siglas en inglés, *simulated body fluid*) de la misma manera que reporta Chavan y colaboradores²⁹, esta preparación se esquematiza en la figura 3.8.

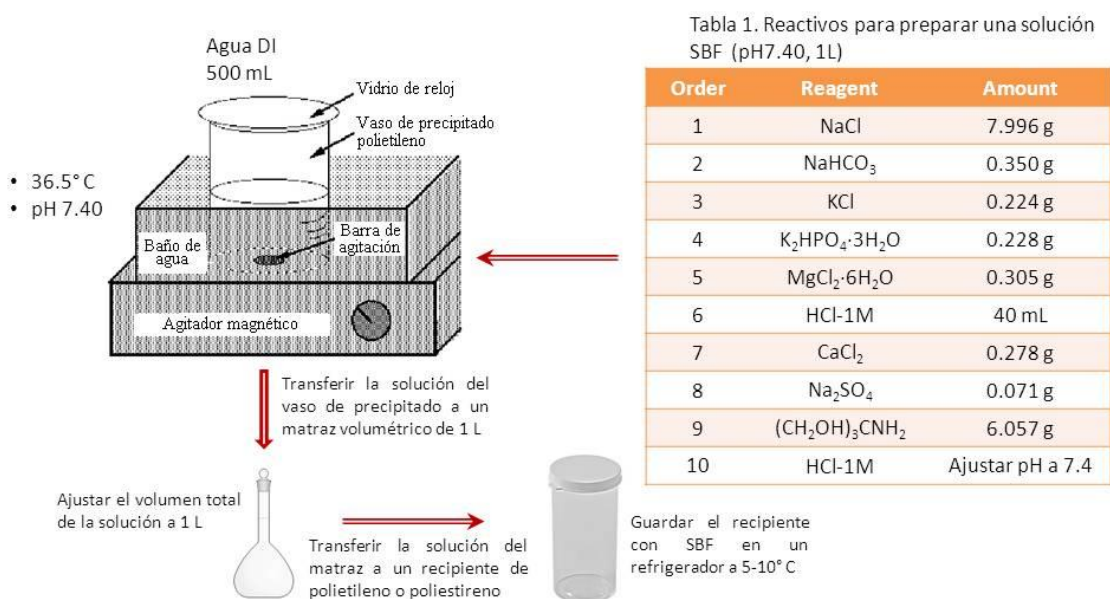


Figura 3.8 Esquema para la preparación de un fluido corporal simulado, SBF.

En un vaso de teflón de 1 L de capacidad se agregaron 500 mL de agua desionizada y se puso en agitación magnética tapándose con un vidrio de reloj. Posteriormente se agregaron uno a uno los reactivos en el orden estricto que se encuentran en la tabla de la figura 3.8 (uno después de haber sido disuelto completamente el reactivo anterior). Inmediatamente después se ajustó la temperatura de la solución a 36.5 °C mediante baño maría y se ajustó el pH a 7.4 mediante la adición de HCl 1M. A continuación, se transfirió la solución a un matraz volumétrico de 1 L donde se aforó la solución con agua desionizada. Finalmente la solución resultante se pasó a un recipiente de polietileno el cual fue almacenado a una temperatura menor a 10 °C para su uso posterior en las pruebas de liberación de fármaco.

Una vez preparada la solución SBF, se procedió de la siguiente manera para realizar las pruebas de liberación de medicamento/fármaco. Primero, se sumergieron las muestras cargadas con ibuprofeno en 60 mL de SBF (pH=7.4) a 37° C y bajo agitación moderada. La razón de SBF respecto al ibuprofeno adsorbido (anteriormente cuantificado) fue de 1 mL/mg. A ciertos intervalos de

tiempo, se tomaron alícuotas (0.5 mL) de la solución e inmediatamente la solución extraída fue remplazada por SBF nueva. Finalmente, se estimó la cantidad de ibuprofeno liberado de las muestras monitoreando la banda de absorción en 263 nm en el espectro UV-Vis correspondiente a las alícuotas.

REFERENCIAS

- 1 Gonsalves, K. E., Rangarajan, S. P. & Wang, J. en *Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology* (ed Hari Singh Nalwa) Cap. 1, (Academic press, USA, 2000).
- 2 Moriarty, P. Nanostructured materials. *Rep Prog Phys* **64**, 297-381 (2001).
- 3 Sergeev, G. B. *Nanochemistry*. 1 edn, (Elsevier, Netherlands, 2006).
- 4 Baruah, S. & Dutta, J. Hydrothermal growth of ZnO nanostructures. *Sci Technol Adv Mat* **10**, 13001-13018 (2009).
- 5 Liu, Z. L., Wang, X., Yao, K. L., Du, G. H., Lu, Q. H., Ding, Z. H., Tao, J., Ning, Q., Luo, X. P., Tian, D. Y. & Xi, D. Synthesis of magnetite nanoparticles in W/O microemulsion. *J Mater Sci* **39**, 2633-2636 (2004).
- 6 Marchegiani, G. Imperatori, P. Mari, A. Pilloni, L. Chiolerio, A. Allia, P. Tiberto, P. & Suber, L. Sonochemical synthesis of versatile hydrophilic magnetite nanoparticles. *Ultrason Sonochem* **19**, 877-882 (2012).
- 7 Park, J., Lee, E., Hwang, N. M., Kang, M., Kim, S. C., Hwang, Y., Park, J. G., Noh, H. J., Kim, J. Y., Park, J. H. & Hyeon, T. One-nanometer-scale size-controlled synthesis of monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles. *Angew Chem* **44**, 2873-2877 (2005).
- 8 Pereira, C., Pereira, A. M., Fernandes, C., Rocha, M., Mendes, R., Fernández-García, M. P., Guedes, A., Tavares, P. B., Grenèche, J.-M., Araújo, J. P. & Freire, C. Superparamagnetic MFe_2O_4 (M = Fe, Co, Mn) nanoparticles: tuning the particle size and magnetic properties through a novel one-step coprecipitation route. *Chem Mater* **24**, 1496-1504 (2012).
- 9 Zhu, M. Y. & Diao, G. W. Synthesis of porous Fe_3O_4 nanospheres and its application for the catalytic degradation of xylene orange. *J Phys Chem C* **115**, 18923-18934 (2011).
- 10 Xu, Z., Li, C., Kang, X., Yang, D., Yang, P., Hou, Z. & Lin, J. Synthesis of a multifunctional nanocomposite with magnetic, mesoporous, and near-IR absorption properties. *J Phys Chem C* **114**, 16343-16350 (2010).

- 11 Faraji, M. Yamini, Y. & Rezaee, M. Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications. *J Iran Chem Soc* **7**, 1-37 (2010).
- 12 Demazeau, G. Solvothermal processes: a route to the stabilization of new materials. *J Mater Chem* **9**, 15-18 (1999).
- 13 Mascolo, M. Pei, Y. & Ring, T. Room temperature co-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases. *Materials* **6**, 5549-5567 (2013).
- 14 Bandhu, A., Mukherjee, S., Acharya, S., Modak, S., Brahma, S. K., Das, D. & Chakrabarti, P. K. Dynamic magnetic behaviour and Mössbauer effect measurements of magnetite nanoparticles prepared by a new technique in the co-precipitation method. *Solid State Commun* **149**, 1790-1794 (2009).
- 15 Valenzuela, R., Fuentes, M. C., Parra, C., Baeza, J., Duran, N., Sharma, S. K., Knobel, M. & Freer, J. Influence of stirring velocity on the synthesis of magnetite nanoparticles (Fe_3O_4) by the co-precipitation method. *J Alloys Compd* **488**, 227-231 (2009).
- 16 Gnanaprakash, G., Philip, J., Jayakumar, T. & Raj, B. Effect of digestion time and alkali addition rate on physical properties of magnetite nanoparticles. *J Phys Chem B* **111**, 7978-7986 (2007).
- 17 Gnanaprakash, G., Mahadevan, S., Jayakumar, T., Kalyanasundaram, P., Philip, J. & Raj, B. Effect of initial pH and temperature of iron salt solutions on formation of magnetite nanoparticles. *Mater Chem Phys* **103**, 168-175 (2007).
- 18 Vereda, F., Vicente, J. & Hidalgo-Álvarez, R. Influence of a magnetic field on the formation of magnetite particles via two precipitation methods. *Langmuir* **23**, 3581-3589 (2007).
- 19 Ravikumar, C. & Bandyopadhyaya, R. Mechanistic study on magnetite nanoparticle formation by thermal decomposition and coprecipitation routes. *J Phys Chem C* **115**, 1380-1387 (2011).
- 20 Blin, B., fievet, F., Beaupere, D. & Filglarz, M. Oxydation duplicative de l'éthylène glycol dans un nouveau procédé de préparation de poudres métalliques. *Nouv. J. Chim* **13**, 67-72 (1989).

- 21 Rouquerol, J., Avnir, D., Everett, D. H., Fairbridge, C., Haynes, M., Pernicone, N., Ramsay, J. D. F., Sing, K. S. W. & Unger, K. K. en *Studies in Surface Science and Catalysis* Vol. 87 (eds Rouquerol, J., Rodríguez-Reinoso, F., Sing, K.S.W. & Unger, K.K.) 1-9 (Elsevier, UK, 1994).
- 22 Rouquerol, J., Avnir, D., Fairbridge, C. W., Everett, D. H., Haynes, J. M., Pernicone, N., Ramsay, J. D. F., Sing, K. S. W. & Unger, K. K. Recommendations for the characterization of porous solids (Technical Report). *Pure Appl Chem* **66**, 1739-1758 (1994).
- 23 Antonietti, M. & Ozin, G. A. Promises and problems of mesoscale materials chemistry or why meso? *Chemistry* **10**, 28-41 (2004).
- 24 Sakatani, Y., Boissière, C., Grosso, D., Nicole, L., Soler-Illia, G. J. A. A. & Sánchez, C. Coupling nanobuilding block and breath figures approaches for the designed construction of hierarchically templated porous materials and membranes. *Chem Mater* **20**, 1049-1056 (2008).
- 25 Soler-Illia, G. J. d. A. A., Sánchez, C., Lebeau, B. & Patarin, J. Chemical strategies to design textured materials: from microporous and mesoporous oxides to nanonetworks and hierarchical structures. *Chem Rev* **102**, 4093-4138 (2002).
- 26 Pierre, A. C. *Introduction to Sol-Gel Processing*. 1 edn, 394 (Kluwer Academic Publishers, USA, 1998).
- 27 Brinker, C. J. & Scherer, G. W. *Sol-Gel Science. The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. 1 edn, (Academic Press, Inc., USA, 1990).
- 28 Myers, D. *Surfaces, Interfaces and Colloids. Principle and Applications*. 2 edn, (John Wiley & Sons, Inc., USA 1999).
- 29 Chavan, P. N., Bahir, M. M., Mene, R. U., Mahabole, M. P. & Khairnar, R. S. Study of nanobiomaterial hydroxyapatite in simulated body fluid: Formation and growth of apatite. *Mater Sci Eng B* **168**, 224-230 (2010).

CAPÍTULO IV

TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN UTILIZADAS

En este capítulo se describen las principales técnicas que se aplicaron para caracterización de las muestras (Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$) sintetizadas en este trabajo.

4.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

El microscopio electrónico de barrido (*SEM*, por sus siglas en inglés, *Scanning Electronic Microscope*) es uno de los instrumentos más versátiles disponibles para el examen y análisis de las características microestructurales de materiales. Proporciona información relacionada con las características topográficas, morfológicas, de distribución de fases, de homogeneidad en composición, orientación del cristal, etc. La ventaja o utilidad principal del SEM es la alta resolución que puede obtenerse cuando se examinan los materiales; generalmente, se citan valores del orden de 5 nm para instrumentos comerciales. Otra característica importante del SEM es la apariencia tridimensional de la imagen de la muestra, que es un resultado directo de la gran profundidad de campo.

4.1.1 Principios del SEM

La formación de imágenes en el SEM depende de la señal de adquisición producida por el haz de electrones, que es una sonda enfocada de electrones acelerados a energías moderadamente altas (desde cientos de eV a 50 KeV), que rastrea o barre la superficie de la muestra mediante campos electromagnéticos. La columna óptica se utiliza para garantizar que los

electrones entrantes tengan energía y trayectoria similar. Estos electrones del haz interactúan con los átomos de la muestra, generando una variedad de efectos cuando inciden en un punto de la superficie de la muestra. Las interacciones de los electrones en SEM con materiales se pueden dividir en dos categorías principales: interacciones elásticas e inelásticas.

La dispersión elástica es el resultado de la desviación de un haz incidente de electrones por el núcleo atómico del material o por los electrones externos con energía similar. Los electrones incidentes dispersados elásticamente a un ángulo mayor de 90° se denominan **electrones retrodispersados** (BSE, por sus siglas en inglés, *back scattered electrons*) y se utilizan para obtener las imágenes de la muestra. La dispersión inelástica ocurre a través de una variedad de interacciones entre los electrones incidentes y los electrones o átomos de la muestra, como resultado el haz primario de electrones transfiere energía a este átomo. La cantidad de energía perdida depende si los electrones de la muestra son excitados uno a uno o colectivamente, y de la energía de enlace entre los electrones y el átomo. Como resultado, los electrones de la muestra durante la ionización de sus átomos permiten generar **electrones secundarios** (SE, por sus siglas en inglés, *secondary electrons*), definidos como aquellos que poseen energías menores de 50 eV y se usan para formar imágenes o analizar la muestra. Además de estas señales utilizadas para la formación de imágenes por SEM, existen otro tipo de señales producidas cuando el haz de electrones interactúa con la muestra, como son la emisión de rayos-X característicos, electrones Auger y catodoluminiscencia. La figura 4.1 muestra las regiones donde se obtienen las diferentes señales en una muestra cuando se irradia con un haz de electrones¹.

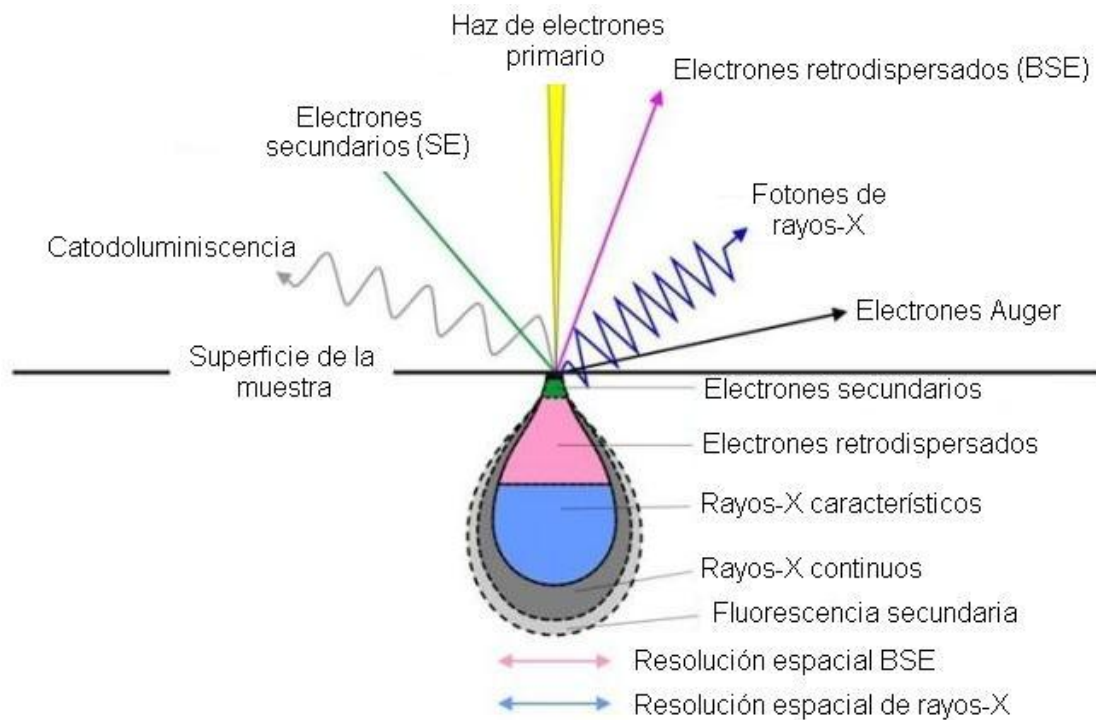


Figura 4.1 Señales generadas por la interacción del haz de electrones y la muestra, y las regiones donde se puede detectar.

El límite teórico de resolución de un SEM está determinado por las longitudes de onda del haz de electrones y la apertura numérica del sistema. El poder de resolución, R , de un instrumento se define como:

$$R = \frac{\lambda}{2NA} \quad \text{Ec. 4.1,}$$

donde λ es la longitud de onda de los electrones usados y NA es la apertura numérica indicada sobre el objetivo.

4.1.2 *Electrones secundarios*

Los electrones secundarios son los más utilizados en el SEM; se producen por una interacción del haz primario de electrones con la muestra. Cuando el haz primario golpea la superficie de la muestra, se produce la ionización de los átomos de ésta. Los electrones que están débilmente enlazados son emitidos, (son los llamados electrones secundarios). Como tienen poca energía, alrededor de 3.0 – 5.0 eV, solo pueden escapar de una región a unos pocos

nanómetros en la superficie del material. Los electrones secundarios nos dan información sobre la topografía de la superficie del material con una buena resolución.

4.1.3 Electrones retrodispersados

La detección de señal de BSE no solo genera imágenes en microscopía electrónica de barrido, sino también nos brinda información topográfica y de la composición. Un electrón retrodispersado se define como aquel que presenta uno o múltiples eventos de dispersión y escapa de la superficie con una energía mayor a 50 eV. Aproximadamente el 10.0 – 15.0 % de los electrones del haz incidente son retrodispersados. Los elementos con números atómicos mayores tienen más cargas positivas en sus núcleos, por lo que sus electrones sufren mayor dispersión, lo cual causa un incremento en la señal de BSE. El porcentaje de electrones retrodispersados está relacionado con los electrones incidentes re-emitidos por la muestra, dicha re-emisión depende del número atómico del material, y así se forma una imagen por contraste de número atómico.

4.1.4 Rayos-X característicos

El análisis de rayos-X característico para proporcionar información química, es una de las herramientas más utilizadas en la microscopía electrónica de barrido. Cuando una colisión desplaza a un electrón de la capa interna de un átomo por colisión con un electrón del haz primario, un electrón de las capas externas puede ocupar su lugar para restablecer el equilibrio de cargas en ese orbital, por lo que ocurre una ionización. Al emitir un fotón de rayos-X, el átomo ionizado regresa a su estado base. Lo que se observa en SEM entonces son los picos de rayos-X característicos de los átomos que constatan el material del que se trata².

4.1.5 Construcción de un SEM

La parte principal de un microscopio electrónico de barrido es la columna de electrones, que está constituida por los siguientes elementos (Fig. 4.2):

- Un cañón de electrones con un filamento (tungsteno o LaB₆) que actúa como emisor o fuente de emisión.
- Un sistema de lentes electromagnéticas encargado de focalizar los electrones para producir un haz de un diámetro muy pequeño (5-200 nm).
- Bobinas de barrido que hacen recorrer el haz de electrones ya focalizado por la superficie de la muestra.
- Uno o varios sistemas de detección (detector de electrones secundarios, detector de electrones retrodispersados, detector de rayos-X, etc.) que permiten captar el resultado de la interacción del haz de electrones con la muestra y transformarlo en señal eléctrica.
- Una salida conectada a una o varias bombas que producen el vacío necesario para que el conjunto funcione adecuadamente. Además el microscopio posee señales eléctricas procedentes de los detectores, en forma de imágenes en un monitor de TV, fotografía, espectro de elementos, etc.

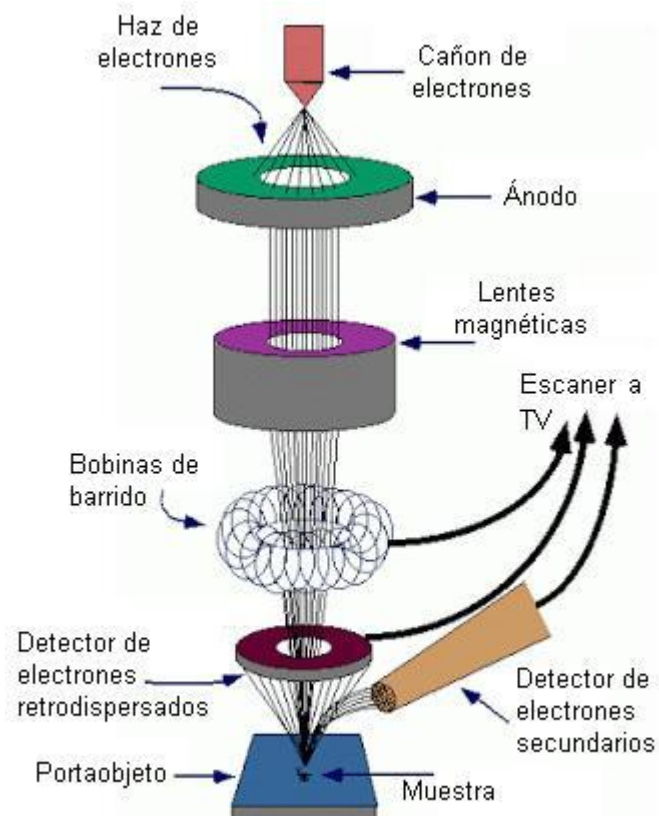


Figura 4.2 Diagrama esquemático del microscopio electrónico de barrido.

Se estudió la morfología de las muestras de Fe_3O_4 utilizando un microscopio electrónico de barrido de alta resolución AURIGA marca ZEISS con una fuente de emisión térmica tipo Schöttky. Las muestras se analizaron en forma de polvo, dispersando éste en agua y colocándolas sobre un sustrato de silicio. El voltaje de aceleración utilizado fue de 10 kV.

4.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

Los microscopios de electrones generan imágenes de microestructuras de materiales con mucha mayor magnificación y resolución que los microscopios ópticos. La alta resolución de los microscopios de electrones se debe a la longitud de onda corta de los electrones. La longitud de onda de los electrones en un microscopio electrónico es alrededor de 10,000 veces más pequeña que la luz visible. La resolución de los microscopios electrónicos alcanza 0.1 nm aproximadamente. Esta característica hace a los microscopios electrónicos muy útiles para el estudio de la morfología, la estructura y el ordenamiento

atómico de los materiales. Existen dos tipos principales de microscopios electrónicos: el **microscopio electrónico de transmisión** (TEM, por sus siglas en inglés, *Transmission electron microscope*) (Fig. 4.3)³ y el microscopio electrónico de barrido. Un TEM tiene los siguientes componentes a lo largo del camino óptico: una fuente de electrones, lentes condensadores, porta-muestras, lentes objetivos y lentes para proyectar. La principal diferencia entre un microscopio óptico y uno de transmisión consiste en que la luz visible es remplazada por un haz de electrones y que los lentes de vidrio son sustituidos por lentes electromagnéticos. Además de esto, es necesario un ambiente de alto vacío para evitar colisiones de los electrones de alta energía con las moléculas de aire, ya que estas absorben energía.

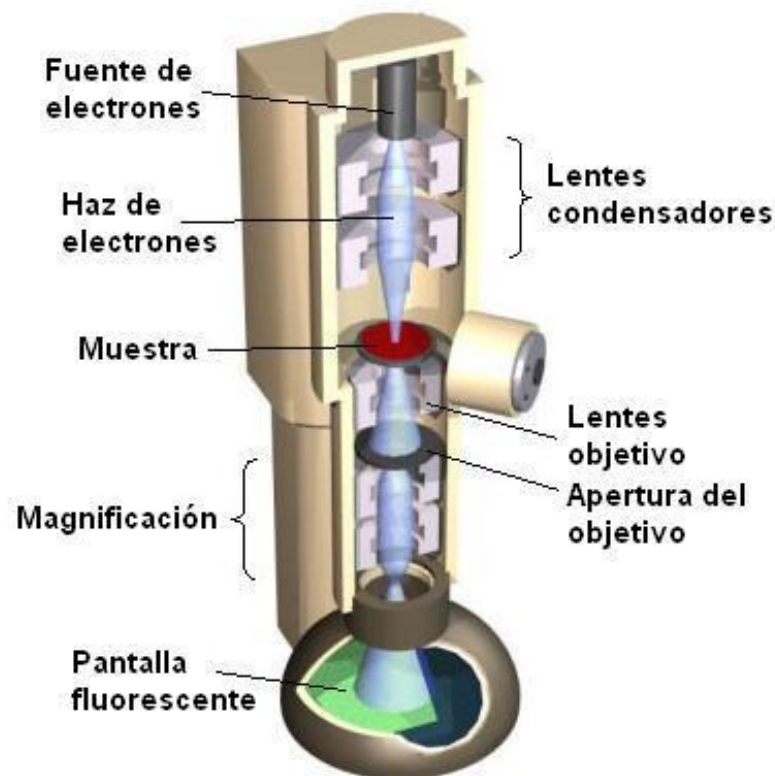


Figure 4.3 Diagrama esquemático de un microscopio electrónico de transmisión.

Un filamento trabaja como fuente de electrones, en la cual los electrones son emitidos de un cátodo y acelerados por un alto voltaje (V_0) para formar un haz de electrones de alta energía. Para lograr una alta resolución, el microscopio se opera en voltajes de aceleración mayores a 100 kV; en la práctica, 200 kV es lo más usado. La fuente de electrones está constituida por

tres partes principales: el cátodo, el electrodo Wehnelt y un ánodo. El electrodo Wehnelt, localizado entre el cátodo y el ánodo, conduce unos cientos de voltios negativos para estabilizar el haz de electrones contra fluctuaciones de voltaje, al reducir la corriente de electrones en caso necesario. Existen dos tipos de fuentes de electrones: por emisión termoiónica y por emisión de campo. La primera utiliza filamentos de tungsteno o de hexaboruro de lantano. Durante la operación, el filamento se calienta a alta temperatura mediante corriente eléctrica; la alta temperatura provee la energía cinética para que los electrones se desprendan de la superficie del filamento; un alto voltaje eléctrico entre el filamento y el ánodo acelera la fuga de los electrones de la superficie. La intensidad del haz de electrones está determinada por la temperatura del filamento y el voltaje de aceleración.

En la emisión de campo no es necesaria la energía térmica para que los electrones abandonen la superficie del cátodo. Los electrones salen expulsados al aplicar un alto campo eléctrico a la superficie del metal, lo que produce tunelamiento en lugar del efecto termoiónico⁴.

En este trabajo de investigación se utilizó un TEM de marca JEOL modelo JEM-2100F para la caracterización morfológica de los nanocompuestos de Fe₃O₄@mSiO₂, utilizando un voltaje de aceleración de 200 kV.

4.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS-X

La difracción de rayos-X (XRD, por sus siglas en inglés, *X-ray diffraction*) es una de las técnicas de caracterización más efectivas para determinar la estructura cristalina de los materiales. Los métodos de difracción incluyen la difracción de rayos-X, la difracción de electrones y la difracción de neutrones.

Los rayos-X poseen una longitud de onda pequeña, del orden de 0.5-2.5 Å,⁵ por lo que son altamente energéticos. Los producen electrones con alta velocidad acelerados por un alto voltaje que colisionan con un blanco metálico. La rápida desaceleración de los electrones en el blanco permite que la energía cinética de los electrones se convierta en rayos-X. El proceso de difracción de rayos-X se basa en el fenómeno de interferencia de ondas, es decir, dos ondas

de luz con la misma longitud de onda que viajan en la misma dirección pueden reforzarse (interferencia constructiva) o cancelarse (interferencia destructiva) entre ellas, dependiendo de la diferencia de fase. Cuando tienen una diferencia de fase de $n\lambda$ (n es un número entero), ocurre la interferencia constructiva. Cuando tienen una diferencia de fase de $n\lambda/2$, las ondas están fuera de fase y ocurre la interferencia destructiva; los haces de rayos-X que inciden en un sólido cristalino serán difractados por los planos cristalográficos (Fig. 4.4)⁵. Dos haces incidentes, haz 1 y haz 2, son desviados por dos planos cristalinos, A y B. Las ondas desviadas no estarán en fase excepto cuando se satisfaga la siguiente relación:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Ec. 4.2}$$

La ecuación 4.2 es la ley básica para la difracción, llamada ley de Bragg, que se obtiene calculando la diferencia de caminos de dos haces de rayos-X que se propagan. La diferencia de caminos depende del ángulo incidente (θ) y el espacio entre dos planos cristalinos paralelos (d). Para que los haces se mantengan en fase, la diferencia de caminos ($SQ + QT = 2d \sin \theta$) tiene que ser igual a uno o un múltiplo de la longitud de onda de los rayos-X ($n\lambda$).

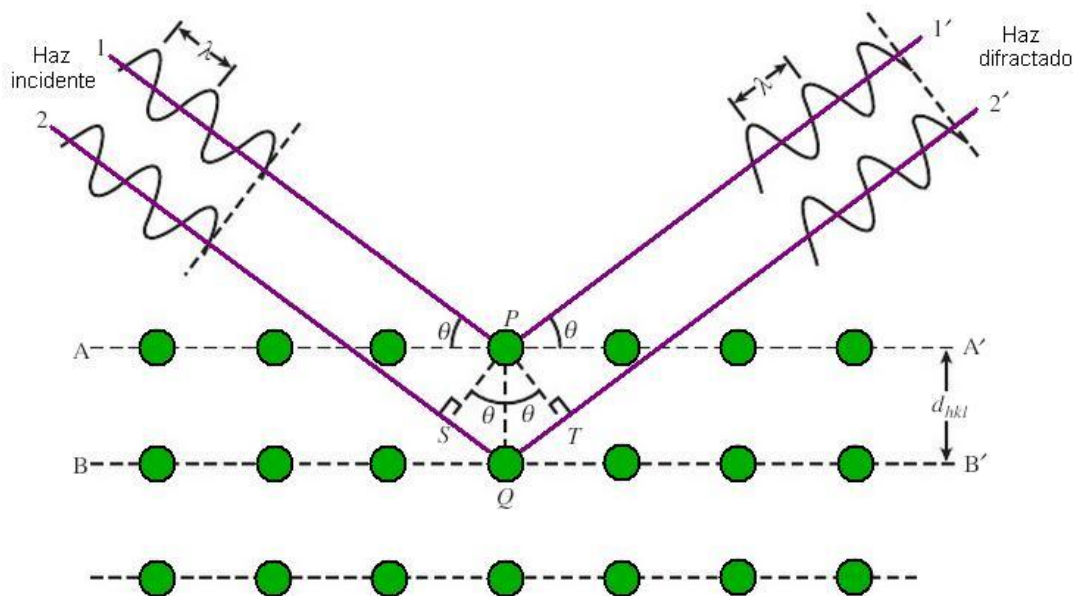


Figura 4.4 Difracción de Bragg por planos cristalinos. La diferencia de caminos entre los haces 1 y 2 es $SQ + QT = 2PQ \sin \theta$.

La difracción de rayos-X es una de las técnicas más usadas para caracterización de materiales; inicialmente se utilizó para determinar la estructura cristalina de una muestra en polvo, por lo que también se le conoce como difracción de rayos-X en polvo. En el equipo de XRD, llamado difractómetro, se usa un haz de rayos-X de una sola longitud de onda (monocromática) para examinar muestras policristalinas; cambiando continuamente el ángulo de su incidencia, se obtiene un espectro de la intensidad de difracción contra el ángulo entre el haz incidente y el reflejado. El patrón de difracción obtenido nos permite identificar la estructura cristalina y su calidad, al analizar y comparar los espectros con la base de datos conocida (*PDF files*)

La función básica de un difractómetro es detectar el haz de rayos-X difractado por los diversos materiales y registrar la intensidad de difracción como función del ángulo de difracción (2θ). La figura 4.5 muestra un arreglo geométrico de la fuente de rayos-X, de la muestra y del detector⁶. La radiación de rayos-X generada por un tubo de rayos-X atraviesa las aperturas, las cuales coliman el haz de rayos-X. Dicho haz colimado pasa a través de la muestra y es difractado. Los rayos-X difractados pasan a través de un monocromador antes de ser recibidos en el detector.

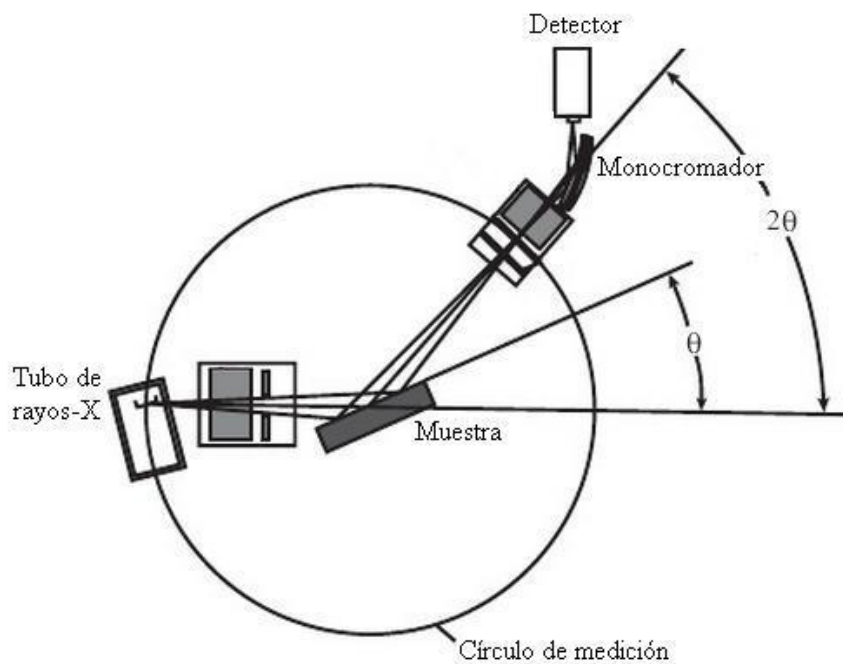


Figura 4.5 Arreglo geométrico de un difractómetro de rayos-X.

La mayoría de los difractómetros usan un arreglo tipo Bragg-Brentano, en el cual los rayos-X incidentes están fijos y la muestra rota alrededor de un eje para cambiar el ángulo de incidencia; el detector también rota, pero su velocidad angular es el doble de la rotación de la muestra, con la finalidad de mantener la correlación angular θ - 2θ entre la muestra y la rotación del detector⁶.

La caracterización estructural de las muestras de Fe_3O_4 se realizó en un difractómetro Discover-D8 marca Bruker utilizando una fuente de emisión $\text{K}\alpha$ de cobre ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), con una velocidad de barrido de $2^\circ/\text{min}$.

4.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN E INFRARROJO

Las principales técnicas espectroscópicas empleadas para detectar las vibraciones de las moléculas se basan en procesos de absorción infrarroja y dispersión Raman. Estas técnicas se usan ampliamente para recabar información de los grupos funcionales que forman un compuesto y para identificar sustancias, y poseen además la ventaja de que las muestras se pueden examinar en forma líquida, sólida o gaseosa.

El fenómeno de dispersión inelástica de la luz fue postulado por primera vez por Smekal en 1923 y observado experimentalmente en 1928 por Raman y Krishnan. Este fenómeno ha sido referido como espectroscopia Raman.

Cuando la luz interactúa con la materia, los fotones que componen la luz pueden ser absorbidos, dispersados, o no interactuar con el material y pasar directamente a través de éste (transmitidos). Si la energía de un fotón incidente corresponde a la brecha de energía entre el estado base de una molécula y su estado excitado, el fotón puede ser absorbido y la molécula promovida a un estado de energía mayor (estado excitado). Este cambio se monitorea en espectroscopia de absorción por la detección de la energía perdida de la radiación de la luz.

La radiación electromagnética tiene una longitud de onda (λ) característica de acuerdo a la región espectral de que se trate. Sin embargo, en

espectroscopia Raman e infrarrojo se estudia la interacción de la radiación con los estados energéticos de las moléculas y es más común usar frecuencia (ν) o número de onda (ω), que están relacionadas con la energía por las ecuaciones:

$$\lambda = c/\nu \quad \text{Ec. 4.3}$$

$$\nu = \Delta E/h \quad \text{Ec. 4.4}$$

$$\omega = \nu/c = 1/\lambda \quad \text{Ec. 4.5,}$$

donde h es la constante de Planck con un valor de 6.62608×10^{-34} J s.

De las ecuaciones 4.3 – 4.5 se constata que la energía es proporcional al recíproco de la longitud de onda. La manera en la cual se usa la radiación en las espectroscopias Raman e infrarrojo es diferente. En la espectroscopia infrarrojo, la energía que abarca un rango de frecuencias se dirige a la muestra. La absorción ocurre cuando la frecuencia de la radiación incidente coincide con la frecuencia natural de vibración de una molécula, por lo que ésta es promovida a un estado excitado. Se detecta la pérdida de la frecuencia de la radiación del haz después de pasar por la muestra. Por otro lado, en la espectroscopia Raman, se elige una sola frecuencia de radiación para irradiar las moléculas; esta radiación dispersada por las moléculas tendrá valores diferentes de energía con respecto del haz incidente y esto es lo que se detecta.

4.4.1 Dispersión Raman

En la dispersión Raman, la luz interactúa con la molécula y polariza la nube de electrones alrededor del núcleo para formar un estado temporal llamado estado virtual. Este estado no es estable y el fotón es rápidamente re-irradiado. Si el proceso de dispersión de luz por las moléculas es elástico, esta dispersión se denomina dispersión Raleigh. Sin embargo, si se induce el movimiento de los núcleos atómicos durante el proceso de dispersión, la energía se transferirá de los fotones incidentes a la molécula, en este caso el proceso de dispersión es inelástico y la energía del fotón dispersado es diferente a la del incidente. Este

proceso se denomina dispersión Raman. La figura 4.6 muestra los procesos básicos que se producen por una vibración. A temperatura ambiente, la mayoría de las moléculas están en su estado de mínima energía vibracional. Los estados virtuales no son estados reales de la molécula, sino que se crean cuando la fuente de radiación electromagnética (láser) interactúa con los electrones y causa la polarización. La energía de este estado está determinada por la frecuencia de la fuente de luz utilizada. El proceso Raleigh es el más intenso, ya que la mayoría de los fotones son dispersados de esta manera, y no involucra ningún cambio de energía, por lo que la luz retorna al mismo estado energético.

Si la luz es dispersada inelásticamente, tendremos el fenómeno de dispersión Raman, que incluye dos tipos: en uno de ellos la luz dispersada tiene mayor energía que la luz incidente, y se llama dispersión Raman anti-Stokes; en el otro la luz dispersada tiene menor energía que la incidente (la que tiene menor frecuencia) y el efecto se llama dispersión Raman Stokes (Fig. 4.6)⁷. Debido a que la mayor parte de las moléculas están en su estado base a temperatura ambiente, sólo se toman en cuenta las líneas Stokes, y por lo tanto éstas son las que conforman el espectro Raman de una muestra.

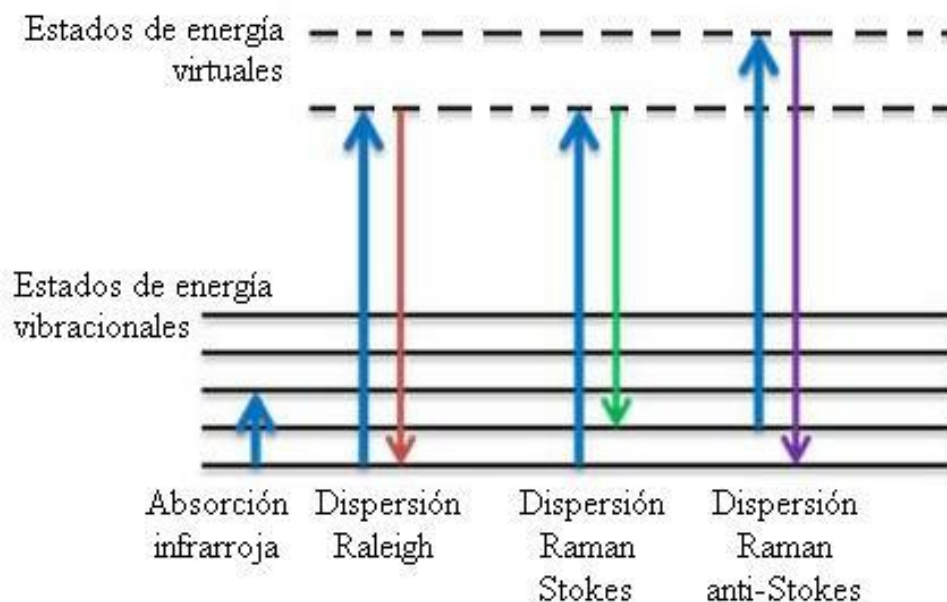


Figura 4.6 Diagrama de los procesos de dispersión infrarroja, Raleigh y Raman.

La dispersión Raman debe expresarse como el cambio en la energía de radiación con la cual excitamos la muestra y es referida como $\Delta \text{ cm}^{-1}$, pero se expresa simplemente como desplazamiento Raman en cm^{-1} .

Los estudios micro-Raman realizados a las muestras se efectuaron en un equipo OLYMPUS BX 41, marca Horiba JOBIN-YVON, acoplado con un detector CCD (por sus siglas en inglés, *charge coupled detector*) utilizando un láser de He-Ne con longitud de onda de 332.8 nm.

4.4.2 Espectroscopia de infrarrojo

Los espectros de absorción en la región infrarrojo tienen lugar a consecuencia de que los átomos enlazados vibran a frecuencias dentro de esta región. Estos cambios de energía se producen por las transiciones energéticas de los grupos atómicos al cambiar de unos estados vibracionales y rotacionales a otros. Cada grupo atómico o molécula tiene un espectro de absorción característico, compuesto por distintas bandas de absorción, cada una de ellas debidas a un tipo de enlace determinado (caracterizado por la fuerza de enlace y los átomos que lo forman) y a su modo de vibrar⁸ (Fig. 4.7).

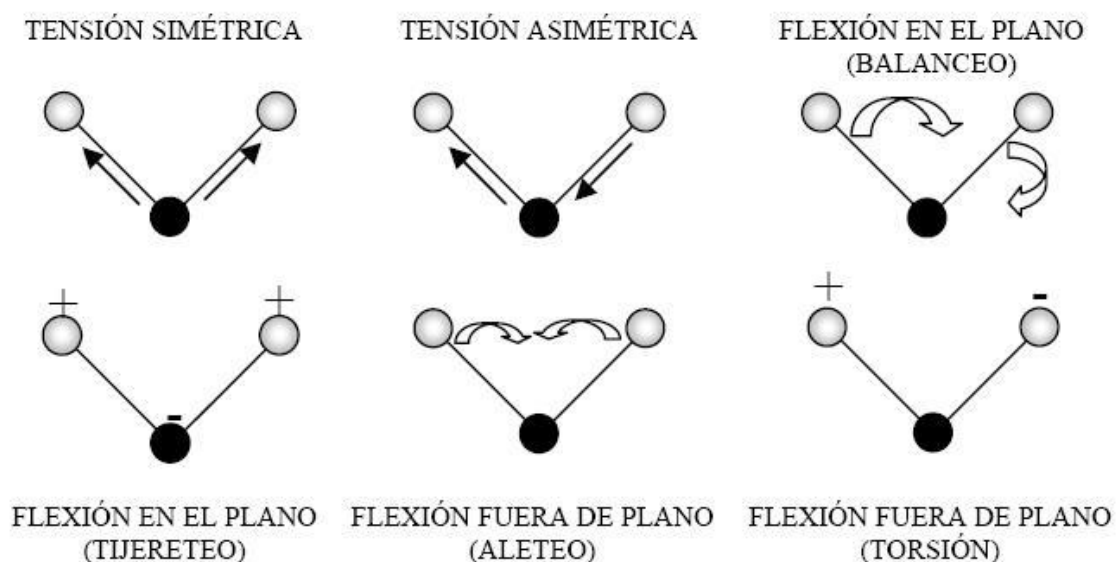


Figura 4.7 Distintos modos de vibración de una molécula triatómica.

Para que una vibración se registre en el espectro debe haber un cambio neto en el momento dipolar de la molécula o grupo atómico, es decir, en el espectro infrarrojo no se pueden registrar los modos de vibración de moléculas diatómicas formadas por el mismo átomo, tales como H₂ y N₂. La frecuencia a la que aparece cada vibración es inversamente proporcional a la masa reducida de los átomos que lo forman y directamente proporcional a la fortaleza del enlace⁹. Las energías a las que suelen aparecer los enlaces más comunes de las moléculas se muestran a continuación en la figura 4.8.

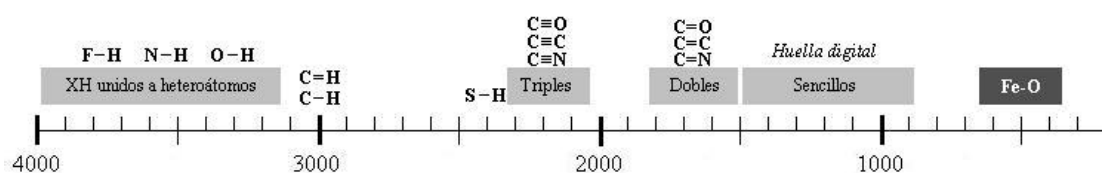


Figura 4.8 Energía a la que se encuentran los modos de vibración de los enlaces entre átomos más comunes.

4.4.2.1 Espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

Un espectrofotómetro de FT-IR contiene una fuente de radiación infrarroja, la cual pasa a través de un interferómetro de Michelson (elemento seleccionador de frecuencias) antes de incidir en la muestra. Este interferómetro está constituido por un divisor de haz y dos espejos, uno fijo y uno móvil. Así, el haz incidente se divide en dos haces perpendiculares de igual energía, uno incide sobre el espejo móvil y el otro sobre el espejo fijo. Generándose por lo tanto, dos ondas que viajan en fase en direcciones distintas hacia los espejos y una vez reflejadas las dos ondas se recombinan produciéndose una interferencia entre ambas. Este haz resultante es el que atraviesa la muestra (Figura 4.9)¹⁰.

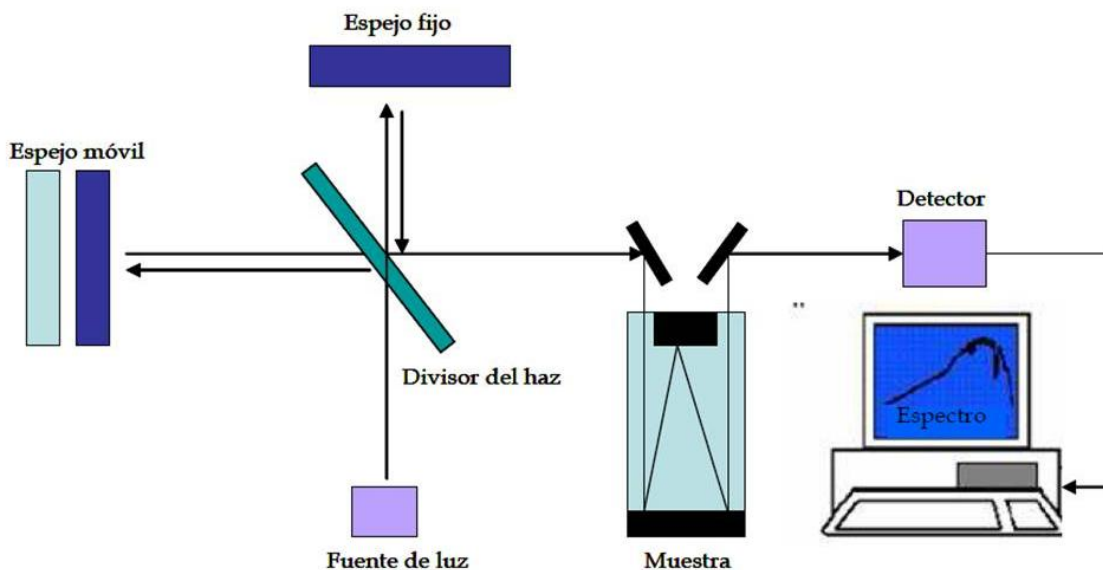


Figura 4.9 Representación esquemática de los componentes de un espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).

Una vez que se ha obtenido un interferograma, es necesario convertirlo en un espectro. Esto se consigue a través del algoritmo de la transformada de Fourier (FT, por sus siglas en inglés, *Fourier Transform*). Tras la aplicación de la transformada de Fourier y la corrección de la fase a los datos, se obtiene un único espectro de la muestra, que dividido por un espectro tomado en ausencia de muestra, da lugar a una representación del espectro de absorción como una medida de intensidad (absorbancia infrarroja) frente a frecuencia (o número de onda).

El efecto del tratamiento con ácido cítrico realizado a las muestras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ se estudió mediante la espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) utilizando un espectrofotómetro Vertex 70 Bruker, en el rango de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, en modo de transmisión.

4.5 CARACTERIZACIÓN MAGNÉTICA (MAGNETÓMETRO DE MUESTRA VIBRANTE (VSM))

En el electromagnetismo clásico, el parámetro fundamental del magnetismo es el momento magnético, el cual está asociado a un dipolo magnético originado por una distribución de corriente alrededor de una determinada área. En la materia, este momento magnético está asociado con cada uno de los

electrones de los átomos, originándose por los momentos orbitales angulares y de spin del electrón, cuando este gira alrededor del núcleo del átomo.

El momento magnético fundamental es el *magnetón de Bohr* μ_B , el cual tiene una magnitud de $9.27 \times 10^{-24} \text{ A}\cdot\text{m}^2$. Para cada electrón en un átomo el momento magnético del spin es $\pm\mu_B$ ("+" para el spin hacia arriba y "-" para el spin hacia abajo). Por otro lado, la contribución del momento magnético del orbital es igual a $m_l\mu_B$, siendo m_l el número cuántico magnético del electrón.

El hierro, algunos aceros y el mineral "lodestone" son ejemplos bien conocidos de materiales que exhiben propiedades magnéticas. Sin embargo, es un hecho que todos los materiales son influenciados de un grado u otro por la presencia de un campo magnético (H)¹¹.

Las propiedades magnéticas de los materiales se caracterizan no solo por la magnitud y signo de su magnetización (M) sino también por la manera en que M varía con respecto a H . La magnetización M está definida como el momento magnético por unidad de volumen y se mide en emu/cm^3 o emu/g y está relacionada con la susceptibilidad magnética mediante la siguiente relación,

$$\chi = \frac{M}{H} \quad \text{Ec. 4.6}$$

donde H es el campo magnético macroscópico el cual se mide en Oe en el sistema CGS y en A/m en el SI. La susceptibilidad magnética mide la facilidad de un material a ser magnetizado y es adimensional, tanto en el sistema CGS y SI¹².

La figura 4.10, muestra curvas típicas de M vs H , llamadas curvas de magnetización, de diferentes tipos de materiales. Las curvas (a) y (b) hacen referencia a materiales que tienen susceptibilidades de -2×10^{-6} y $+20 \times 10^{-6}$, respectivamente. Estos materiales (dia-, para-, o antiferromagnéticos) tienen un comportamiento lineal (M vs H) bajo circunstancias normales y no retienen magnetismo cuando el campo es removido. El comportamiento mostrado en la curva (c) de un material típico ferro- o ferrimagnético, es completamente

diferente. La curva de magnetización es no lineal, por lo que χ varía con H llegando a un valor máximo. Apareciendo dos fenómenos:

1. *Magnetización de saturación (M_s)*. A valores suficientemente grandes de H , la magnetización se vuelve constante hasta su valor de saturación.
2. *Histéresis*. Después de la saturación, la disminución de H hasta cero no reduce el campo M a cero. Por lo tanto los materiales ferro/ferrimagnéticos pueden convertirse en magnetos permanentes¹².

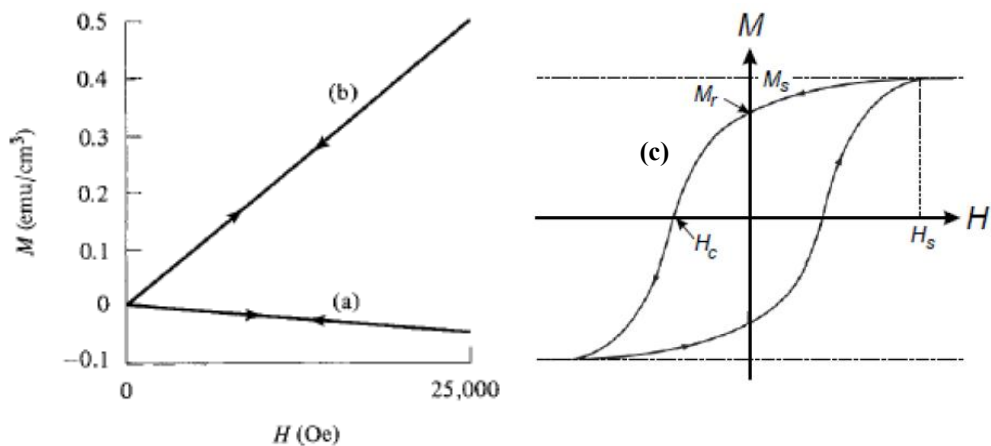


Figura 4.10 Curvas de magnetización típicas de un material (a) diamagnético, (b) paramagnético o antiferromagnético y (c) ferro/ferrimagnético.

Las técnicas utilizadas para la medición de las propiedades magnéticas de materiales pueden ser divididas en dos:

- a) La medición de la fuerza experimentada por una muestra inmersa en un campo magnético no uniforme. En este caso se usa la Balanza de Faraday o el Magnetómetro de Gradiente de Campo Alternado (AFGM por sus siglas en inglés).
- b) Medición de la inducción magnética debido al movimiento relativo entre un arreglo de bobinas detectoras y una muestra, por ejemplo el magnetómetro de muestra vibrante (VSM, por sus siglas en inglés, *Vibrating Sample Magnetometer*).

Un VSM consta de un electroimán (para campos menores de 3T) o una bobina superconductora (para campos magnéticos altos) que se encargan de

generar el campo magnético sobre la muestra; dos bobinas de detección que son las encargadas de registrar la fuerza electromotriz generada por el movimiento de la muestra; una cámara de temperatura rellena de He (protegida por una camisa de N₂ para evitar su rápida evaporación) que se ocupa de alcanzar y mantener la temperatura deseada en la medida; un dispositivo de vibración de la muestra que se ocupa de hacerla vibrar a una frecuencia y amplitud deseadas; un amplificador de señal para aumentar la sensibilidad de la medida y, por último, un ordenador desde el cual se controla el estado del magnetómetro, el tipo de experimento a realizar, las variables de éste y el registro de las distintas medidas llevadas a cabo por el magnetómetro^{12,13}.

Para obtener la medida del momento magnético de la muestra, ésta se sitúa entre las bobinas de detección, vibrando a una frecuencia y amplitud característica. Al aplicar un campo magnético perpendicular (en el caso del electroimán) o paralelo (para bobina) al movimiento de la muestra, se genera un cambio de flujo magnético según rige la ley de Faraday (ecuación 4.6):

$$V_i = N \frac{d\phi}{dt} \quad \text{Ec. 4.6}$$

donde V_i es el voltaje inducido, N el número de vueltas que posee la bobina y $d\phi/dt$ es el cambio de flujo.

Este cambio de flujo genera una fuerza electromotriz en las bobinas de detección proporcional al momento magnético de la muestra. La figura 4.9 muestra el esquema general de un VSM.

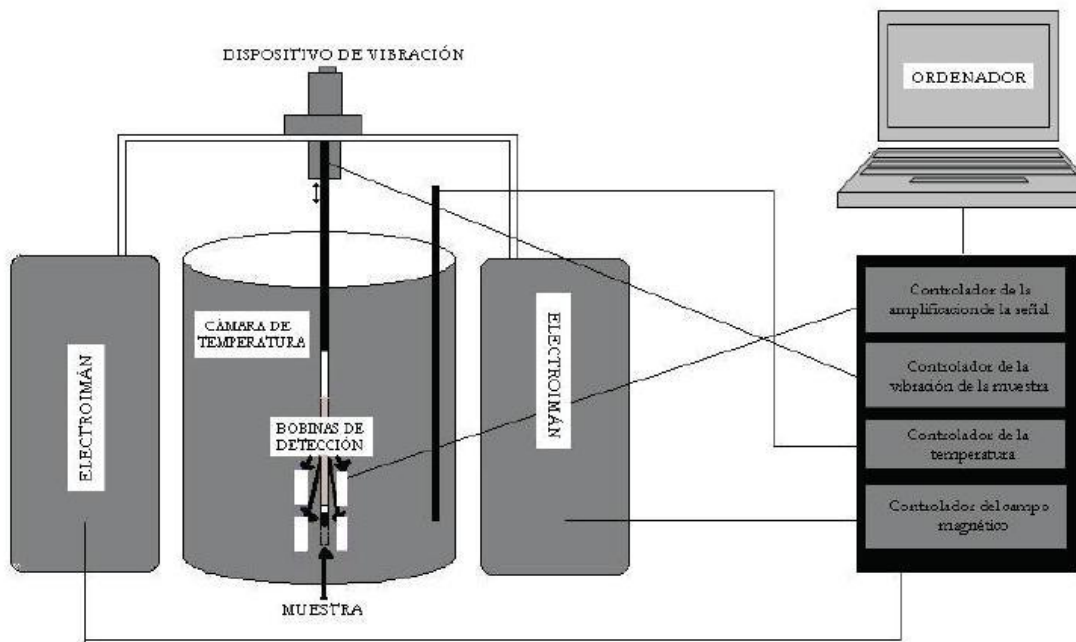


Figura 4.11 Esquema general del magnetómetro de muestra vibrante.

Las curvas de magnetización de las muestras de Fe_3O_4 se tomaron en un magnetómetro de muestra vibrante (VSM) MicroSense EV7 a temperatura ambiente.

4.6 POROSIMETRÍA, ADSORCIÓN – DESORCIÓN DE NITRÓGENO

Una manera de determinar el área superficial, tamaño y volumen de poro en materiales mesoporosos es utilizando la adsorción de nitrógeno^{14,15}.

Cualquier átomo o molécula que se aproxime a una superficie experimenta un potencial neto atractivo debido a la deficiencia de enlaces que presenta la superficie respecto al bulto. Por este motivo, las moléculas de N_2 se adsorben sobre la superficie de los óxidos mesoporosos por interacciones de Van der Waals.

Como se observa en la figura 4.10, la adsorción se produce en etapas, y de cada etapa, aplicando la teoría correspondiente, se puede extraer información de la superficie específica, volumen, tamaño y distribución de tamaños de poro y porcentaje de porosidad.

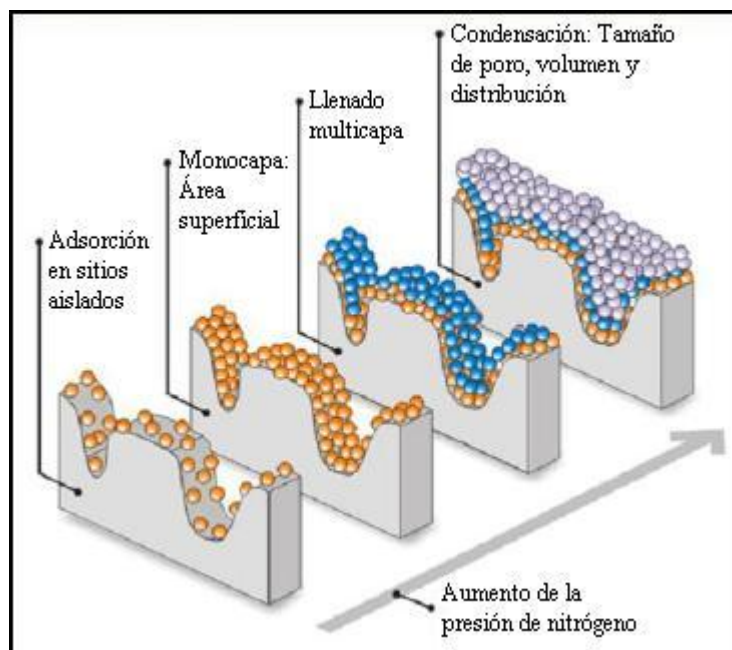


Figura 4.12 Etapas de fisisorción de un gas (N_2) en un sólido, con el aumento de la presión.

En una primera instancia, el N_2 se adsorbe en los microporos, que son los que poseen mayor energía de adsorción. Luego se continúa adsorbiendo hasta completar una monocapa; a partir de este punto se puede calcular el área superficial. La adsorción sigue formando multicapas que concluyen en la condensación capilar (fase final del proceso de adsorción de N_2); este punto permite conocer la distribución de tamaños de poros en sólidos mesoporosos a través de la ecuación de Kelvin.

De acuerdo con la IUPAC, existen 6 tipos de isothermas (Fig. 4.11 A)¹⁶:

- Tipo I, son isothermas reversibles tipo Langmuir, características de sólidos microporosos; el límite de la adsorción es gobernado por el volumen de los microporos más que por el área superficial interna.
- Tipo II, son características de sólidos poco porosos, con meso y macroporosidad. El punto B (fig. 4.11) es donde el cubrimiento de la monocapa es completo y está por empezar la adsorción en multicapa.
- Tipo III, son isothermas reversibles, características de sólidos no porosos o macroporosos; las interacciones adsorbato – adsorbente son débiles; no se observa el punto B.

- Tipo IV, son características de sólidos mesoporosos. Presentan ciclo de histéresis, asociado con la condensación capilar que toma lugar en los mesoporos. A bajas presiones, la parte inicial de la isoterma tipo IV se atribuye a una adsorción monocapa-multicapa, ya que sigue un camino similar al correspondiente en la isoterma tipo II.
- Tipo V, son similares a las tipo III, pero con histéresis; son características de sólidos poco porosos con meso y/o macroporos. Las interacciones adsorbato – adsorbente son débiles.
- Tipo VI, el proceso de adsorción es por capas; la adsorción es escalonada en multicapa sobre una superficie uniforme no porosa. La altura del escalón representa la capacidad de la monocapa para cada capa adsorbida. Es una adsorción en *parches energéticos*.

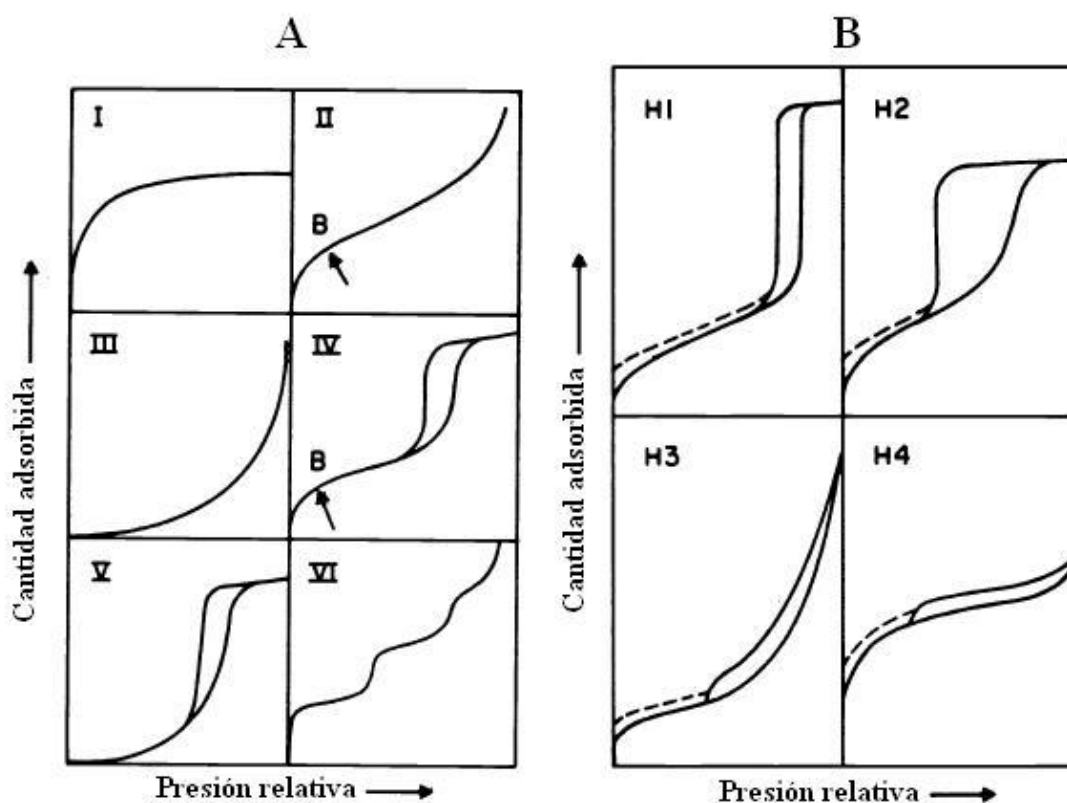


Figura 4.13 A) Tipos de isothermas de adsorción. B) tipos de histéresis.

Los ciclos de histéresis se pueden clasificar como se muestra en la figura 4.11 B. En la histéresis H1, las ramas de adsorción y desorción son casi verticales y aproximadamente paralelas, esto es característico de materiales porosos con una distribución muy estrecha de tamaño de poro, como también

de materiales que poseen poros de geometría cilíndrica y tamaño de poro uniforme.

La histéresis H2 es más difícil de interpretar, se puede deber a poros de tipo *cuello de botella* o a efectos de percolación debido a la interconexión en la red de poros; también se puede presentar en materiales con tamaño y forma de poros no uniforme.

La histéresis H3 es característica de materiales porosos formados por aglomerados de partículas formando placas, que originan poros en forma de rendijas. La distribución de tamaño de poro no es uniforme.

Por último, la histéresis H4 es característica de materiales porosos con poros estrechos en forma de rendijas. La distribución de tamaño de poros es uniforme.

4.6.1 Método Brunauer–Emmet–Teller (BET) para el cálculo del área superficial

Para calcular el área superficial (o superficie específica) se puede utilizar el método de Langmuir¹⁷ o el método BET (S. Brunauer, P. H. Emmet, E. Teller)¹⁸.

El método Langmuir, en general, no es válido para la fisisorción de gases sobre sólidos, ya que en la mayoría de los casos se produce adsorción de multicapas, aunque puede aproximarse para isothermas tipo I. Suele ser una buena aproximación en muchos casos de quimisorción. En cambio, el método BET (ecuación 4.7) es más acorde para el cálculo de área superficial. Este método supone que, en equilibrio termodinámico, la superficie puede ser considerada como una colección de sitios, cada uno de ellos cubierto con 0, 1, 2,..., m,... monocapas de moléculas. La energía de adsorción es E para la primera capa y E' para cualquier otra capa. No existen interacciones laterales adsorbato – adsorbato. A partir de la ecuación 4.7 se puede calcular el área superficial (S_{BET}) utilizando la ecuación 4.8.

$$\frac{P}{n_a} \frac{P_0}{1-P_0} = \frac{1}{n_m C} + \frac{C-1}{n_m C} \frac{P}{P_0} \quad \text{Ec. 4.7}$$

donde n_a es el número de moles de adsorbato por gramo de adsorbente, n_m es el número de moles de adsorbato para formar una monocapa por gramo de adsorbente y $C = (\exp^{E-E'})/kT$ con $E' = \Delta H_v$ del adsorbato.

$$S_{BET} = n_m A_m N \quad \text{Ec. 4.8}$$

donde n_m se obtiene de la ecuación 4.7; A_m es el área que ocupa una molécula de adsorbato y N es el número de Avogadro.

4.6.2 Método Barret–Joyner–Halenda (BJH) para determinar la distribución y tamaño de poro

Barret, Joyner y Halenda propusieron un método para calcular la distribución de poros y el tamaño medio de poros (método BJH, Fig. 4.12). Este método utiliza los datos de presión relativa (P/P_0) y el volumen adsorbido, aplica la ecuación de Kelvin para el radio de poro (r_k) y la ecuación de Halsey para el espesor de la capa adsorbida (t), y tiene en consideración que los poros de diferentes tamaños vuelven a fase gaseosa a diferentes presiones relativas. Por lo tanto, midiendo el volumen de gas inyectado o evacuado (rama de adsorción o desorción, respectivamente) a varias presiones relativas, se llega a una estimación del volumen de poros en un cierto rango de tamaño. Debido a las ecuaciones utilizadas y las suposiciones del método, es conveniente aplicarlo en la rama de desorción, ya que se considera que está en equilibrio; siempre y cuando no haya desorción por percolación (histéresis tipo H2).

$$r_k = -\frac{0,415}{\log\left(\frac{p}{p_0}\right)} \quad \text{Radio de Kelvin en nm para el N}_2 \text{ (ecuación de Kelvin)}$$

$$r_p = r_k + t \quad \text{Radio de poro. Donde } t \text{ es el espesor del film adsorbido sobre la superficie}$$

$$t = 3,54 \left[\frac{5,00}{\ln(p_0/p)} \right]^{1/3} \quad \text{Espesor de la capa adsorbida en nm (ecuación de Halsey)}$$

$$V_{pn} = \left[\frac{r_{pn}}{r_{kn} + \frac{\Delta t_n}{2}} \right]^2 \cdot [\Delta V_n - \Delta t_n \cdot \sum_{j=1}^{n-1} A_{c_j}] \quad \text{Volumen de poro a distintas presiones relativas}$$

ΔV Variación de volumen por la desorción o la adsorción
 Δt Variación del espesor por la desorción o la adsorción
 A_c Área

$$A_p = \frac{2V_p}{r_p} \quad \text{Área de cada poro (geometría cilíndrica)}$$

Graficando $V_{pn}/\Delta r_p$ vs. r_p promedio (entre dos puntos consecutivos) se obtiene la curva de distribución de tamaño de poro

Figura 4.12 Método BJH, ecuaciones involucradas en la determinación de la distribución de tamaño de poro.

Para determinar el área superficial y la distribución de tamaño de poro de las muestras se utilizó el método BET y el método BJH respectivamente, utilizando las isotermas de adsorción – desorción de N₂ obtenidas mediante un equipo Autosorb-1 Quantachrome Instrument sorbtometer; las muestras fueron previamente degasificadas durante 12 h a 150° C.

4.7 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN UV-Vis

Las medidas de absorción en rangos espectrales de ultravioleta y visible encuentran una enorme aplicación en la determinación cuantitativa de una gran variedad de muestras, tanto orgánicas como inorgánicas. La espectroscopia de absorción molecular se basa en las medidas de transmitancia (T) o de absorbancia (A). Generalmente, la concentración de un *analito* (elemento compuesto o ion de interés) absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia como:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad \text{Ec. 4.9}$$

donde:

A = absorbancia (densidad óptica)

P y P_0 = energía de la radiación que incide en el detector, por cm^2 y por segundo

b = camino óptico de la radiación

ϵ = coeficiente de extinción molar

c = concentración expresada en mol/L

Normalmente, la transmitancia y la absorbancia de una muestra en forma de polvo o coloidal no pueden medirse en el laboratorio, ya que la disolución del analito debe mantenerse en algún tipo de recipiente transparente, llamado celda o cubeta, fabricado de cuarzo, vidrio o plástico. Como se observa en la figura 4.13, en las dos interfaces aire/pared de las celdas, así como en las dos interfaces pared/disolución tienen lugar reflexiones¹⁹.

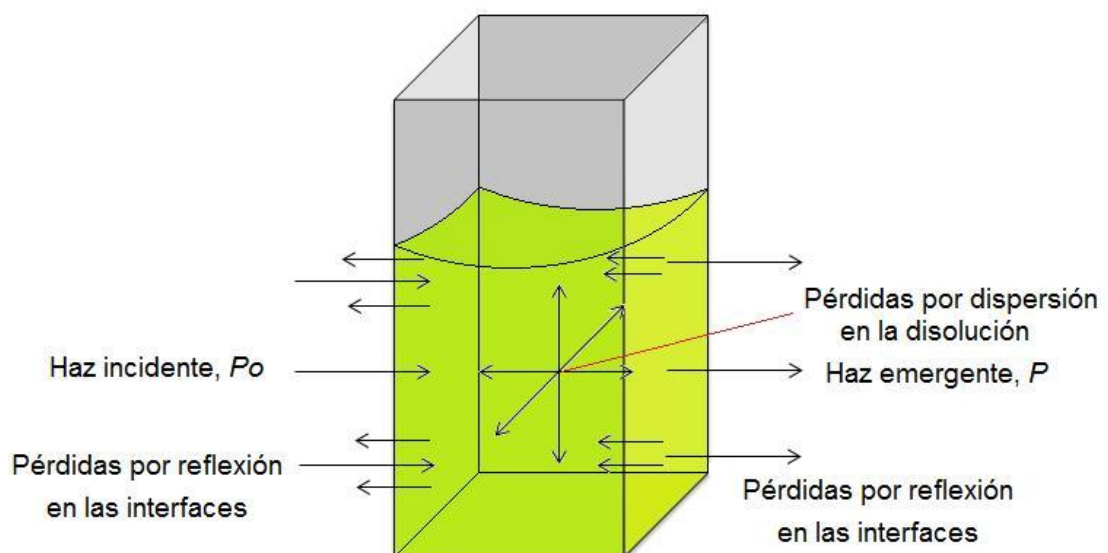


Figura 4.15 Pérdidas por reflexión y dispersión de un haz de luz que incide sobre un analito.

La atenuación del haz resultante es de aproximadamente el 8.5 % debido a la reflexión del haz de luz cuando pasa a través de una celda de vidrio rellena con agua. Además, la atenuación del haz puede ocurrir como consecuencia de la dispersión causada por moléculas grandes y, a veces, de la absorción por las paredes del recipiente. Para compensar todos estos efectos, la potencia del haz transmitido por la disolución del analito se compara, generalmente, con la potencia del haz transmitido por una celda idéntica que solo contiene el disolvente. Con las siguientes ecuaciones se obtienen resultados de la transmitancia y la absorbancia que se aproximan estrechamente a transmitancia/absorbancia experimentales.

$$T = \frac{P_{\text{disolución}}}{P_{\text{disolvente}}} \approx \frac{P}{P_0} \quad \text{Ec. 4.10}$$

$$A = \log \frac{P_{\text{disolvente}}}{P_{\text{disolución}}} \approx \log \frac{P_0}{P} \quad \text{Ec. 4.11}$$

La ecuación 4.9 representa la ley de Beer; esta relación puede explicarse si consideramos el bloque de material absorbente (sólido, líquido o gas) que se muestra en la figura 4.14¹⁹.

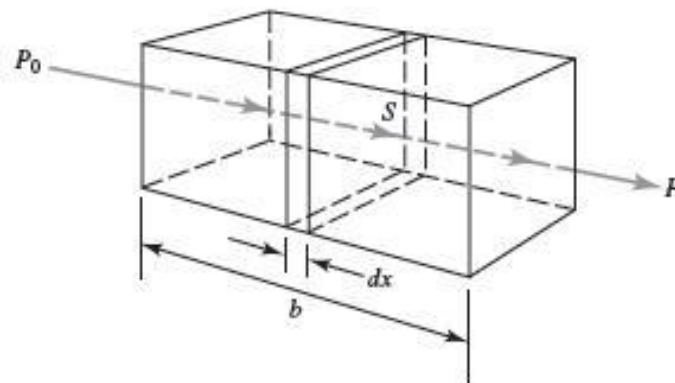


Figura 4.16 Atenuación de una radiación con una potencia inicial P_0 por una disolución que contiene c moles por litro de solución absorbente y con un camino óptico de b cm.

$$P < P_0.$$

Un haz de radiación monocromático paralelo de potencia P_0 choca contra el bloque de manera perpendicular a la superficie; después de pasar a través de una longitud b de material, que contiene n átomos, iones o moléculas absorbentes, su potencia disminuye hasta un valor P como resultado de la

absorción. Consideremos ahora una sección transversal del bloque de área S y espesor infinitesimal dx . Esta sección contiene un número de partículas absorbentes dn ; asociada a cada partícula podemos imaginar una superficie en la cual tendrá lugar la captura de un fotón. Es decir, si un fotón incide sobre el área de una partícula, tendrá lugar la absorción.

La proyección del área total de estas superficies de captura dentro de la sección se designa como dS . La relación entre el área de captura y el área total será entonces dS/S . La potencia del haz que entra en la sección, P_x , es proporcional al número de fotones por centímetro cuadrado y dP_x representa la cantidad absorbida en la sección; la fracción absorbida será entonces $-dP_x/P_x$.

La absorción de la radiación ultravioleta o visible de un analito resulta de la excitación de los electrones de enlace; los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlace de las especies objeto de estudio. Los electrones que contribuyen a la absorción por una molécula orgánica son: aquellos que participan directamente en la formación del enlace entre átomos y los electrones no enlazantes o electrones que no participan en ningún enlace que están en gran parte, localizados alrededor de átomos como oxígeno, halógenos, azufre y nitrógeno. La espectroscopia de absorción molecular es válida para identificar grupos funcionales en una molécula.

Los equipos utilizados para medir la absorción de radiación ultravioleta, visible y de infrarrojo cercano están compuestos por: una fuente, selectores de longitud de onda, recipientes para la muestra, detectores de radiación y procesadores de señal y dispositivos de lectura.

Muchos fotómetros y espectrofotómetros presentan diseño de doble haz. La figura 4.15 ilustra un espectrofotómetro de doble haz en el que, mediante un espejo en forma de V, llamado divisor de haz, se forman dos haces. Uno de ellos pasa a través de la disolución de referencia (blanco) y continúa hasta un fotodetector; simultáneamente el segundo haz atraviesa la muestra hasta un segundo detector contrastado. Las dos señales de salida se amplifican y su cociente se determina electrónicamente; finalmente, se visualiza el espectro de absorción mediante un dispositivo de lectura¹⁹.

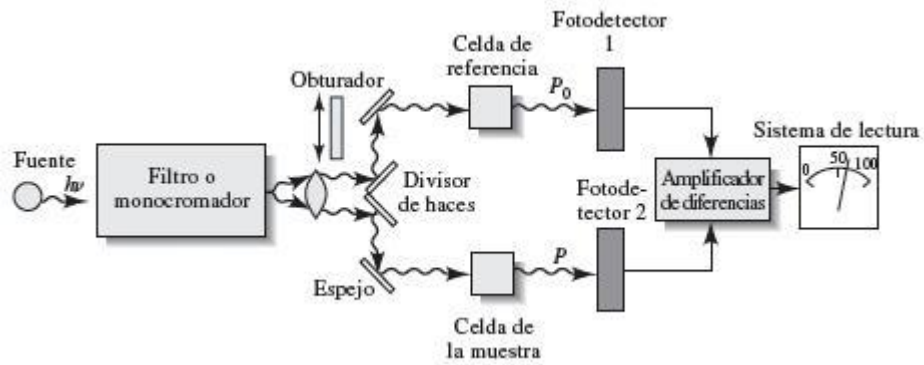


Figura 4.17 Diseño instrumental de un espectrofotómetro de doble haz.

El estudio de la capacidad de carga liberación de medicamento sobre las muestras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$ se llevó a cabo utilizando espectroscopia óptica de absorción en el rango UV-Vis, para lo que se empleó un espectrofotómetro Cary 7000.

REFERENCIAS

- 1 Glasgow, U. o. *Imaging Spectroscopy And Analysis Centre - Scanning Electron Microscopy*.
<http://www.gla.ac.uk/schools/ges/research/researchfacilities/isaac/services/scanningelectronmicroscopy/>
- 2 Weillie Zhou & Wang, Z. L. *Scanning Microscopy for Nanotechnology Techniques and Applications*. (Springer, Germany, 2006).
- 3 Barrett-group. *Nanotechnology: A Brief Overview*. <http://barrett-group.mcgill.ca/tutorials/nanotechnology/nano02.htm>
- 4 Egerton, R. F. *Physical Principles of Electron Microscopy An Introduction to TEM, SEM and AEM*. 1 edn, (Springer, Germany, 2005).
- 5 Cullity, B. D. & Stock, S. R. *Elements of X-Ray Diffraction*. 3 edn, (Prentice Hall, USA, 2001).
- 6 Leng, Y. *Materials Characterization Introduction to Microscopic and Spectroscopic Methods*. 1 edn, (John Wiley & Sons (Asia) Pte Ltd, Singapore, 2008).
- 7 Smith, E. & Dent, G. *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*. (John Wiley & Sons, Ltd, UK, 2005).
- 8 Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part A: Theory and Applications in Inorganic Chemistry*. 6 edn, (John Wiley & Sons, Inc, USA, 2009).
- 9 Colthup, N. B., Daly, L. H. & Wiberley, S. E. *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*. 3edn, (Academic Press, Inc., USA, 1990).
- 10 Smith, B. C. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. 2 edn (CRC Press, USA, 2011).
- 11 Callister, W. D. Rethwisch, D. G. *Materials Science and Engineering An Introduction*. 8 edn (John Wiley & Sons, Inc, USA, 2010).
- 12 Cullity, B. D. & Graham, C. D. *Introduction to Magnetic Materials*. 2 edn, (John Wiley & Sons, Inc, USA, 2009).
- 13 Foner, S. Versatile and sensitive vibrating-sample magnetometer. *Rev Sci Instrum* **30**, 548-557 (1959).

- 14 Gregg, S. J. & Sing, K. S. W. *Adsorption, Surface Area and Porosity*. 2 edn, (Academic Press Inc. (London) Ltd, UK, 1982).
- 15 Rouquerol, F., Rouquerol, J. & Sing, K. *Adsorption by Powders and Porous Solids - Principles, Methodology and Applications*. (Academic Press, UK, 1999).
- 16 Sing, K. S. W., Everett, D. H., Haul, R. A. W., Moscou, L., Pierotti, R. A., Rouquerol, J. & Siemieniewska, T. Reporting physisorption data for gas solid systems with special reference to the determination of surface-area and porosity (recommendations 1984). *Pure Appl Chem* **57**, 603-619 (1985).
- 17 Langmuir, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J Am Chem Soc* **40**, 1361-1403 (1918).
- 18 Brunauer, S., Emmett, P. H. & Teller, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J Am Chem Soc* **60**, 309-319 (1938).
- 19 Skoog, D. A., Holler, F. J. & Crouch, S. R. *Principios de análisis instrumental*. 6 edn, (Cengage Learning Editores, S.A. de C.V, México, 2008).

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos de la caracterización morfológica, estructural, magnética, etc. de las diferentes muestras sintetizadas en esta investigación. El capítulo se divide en tres partes, la primera presenta los resultados y el análisis correspondiente de las muestras sintetizadas mediante el método de co-precipitación asistido del tratamiento hidrotermal. En la segunda parte se presentan los resultados y su discusión para las muestras sintetizadas mediante el método hidrotermal. Finalmente en la tercera parte se analizan los resultados obtenidos de la caracterización de muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$.

5.1 MUESTRAS DE Fe_3O_4 PREPARADAS POR EL MÉTODO DE CO-PRECIPITACIÓN ASISTIDO POR TRATAMIENTO HIDROTERMAL (MÉTODO 1)

La caracterización de la muestra obtenida por el método 1 se dividió en dos partes: antes de aplicar el tratamiento hidrotermal y después del tratamiento hidrotermal.

5.1.1 Caracterización morfológica

En la figura 5.1 se muestran las imágenes SEM típicas de las muestras de Fe_3O_4 preparadas mediante el método 1, antes (a,b) y después (c,d) del tratamiento hidrotermal. Como se observa, las nanopartículas obtenidas antes del tratamiento hidrotermal (Fig. 5.1 (a,b)) presentan una morfología cuasi-esférica de tamaño muy pequeño, además de una extremada aglomeración. Debido al tamaño tan pequeño de estas nanopartículas, no se pudo obtener un

histograma de distribución de sus tamaños. Por otro lado, las nanopartículas obtenidas después del tratamiento hidrotérmal (Fig. 5.1 (c,d)) presentan mayor tamaño, con una morfología cuasi-esférica y, al igual que las nanopartículas sintetizadas antes del tratamiento hidrotérmal, una fuerte aglomeración. El tamaño promedio de estas nanopartículas fue de 29 nm aproximadamente, como se observa en el histograma de distribución de tamaño presentado en la figura 5.2.

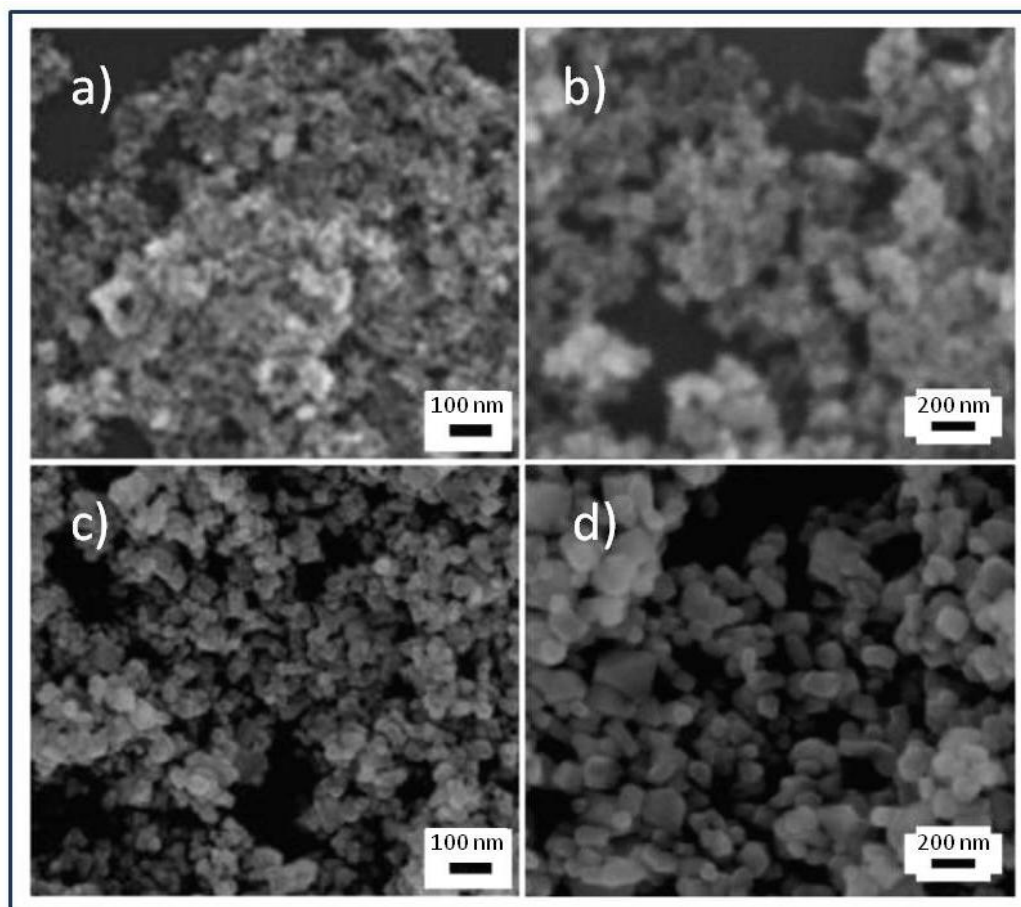


Figura 5.1 Imágenes típicas SEM de Fe_3O_4 sintetizadas a través del método 1. Muestra antes del tratamiento hidrotérmal (a,b) y posterior al tratamiento hidrotérmal (c,d).

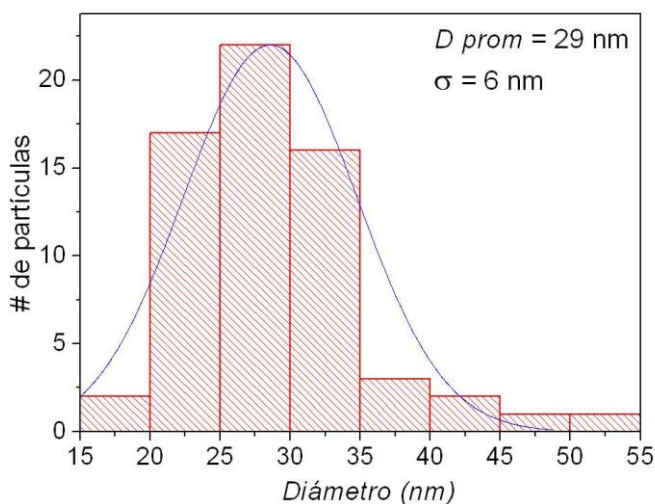


Figura 5.2 Histograma de distribución de tamaño correspondiente a la muestra sintetizada por el método 1 (muestra H-1).

Para determinar la composición de las muestras obtenidas, se procedió a realizar el análisis mediante espectroscopia de dispersión de energía (EDS, por sus siglas en inglés, *energy-dispersive spectroscopy*) mediante un sistema Bruker adaptado al microscopio electrónico de barrido que se utilizó. Como se observa en la figura 5.3, ambas muestras (muestra antes y después del tratamiento hidrotérmal) están conformadas por oxígeno y hierro principalmente, con una proporción muy cercana a la de la magnetita (Fe: 42.86 %_a, O: 57.14 %_a), lo que sugiere que ambas muestras corresponden al óxido de hierro en fase magnetita. El pico transparente (de más alta intensidad) no se tomó en cuenta en el análisis, ya que corresponde al sustrato de Si utilizado para soportar las muestras durante su análisis.

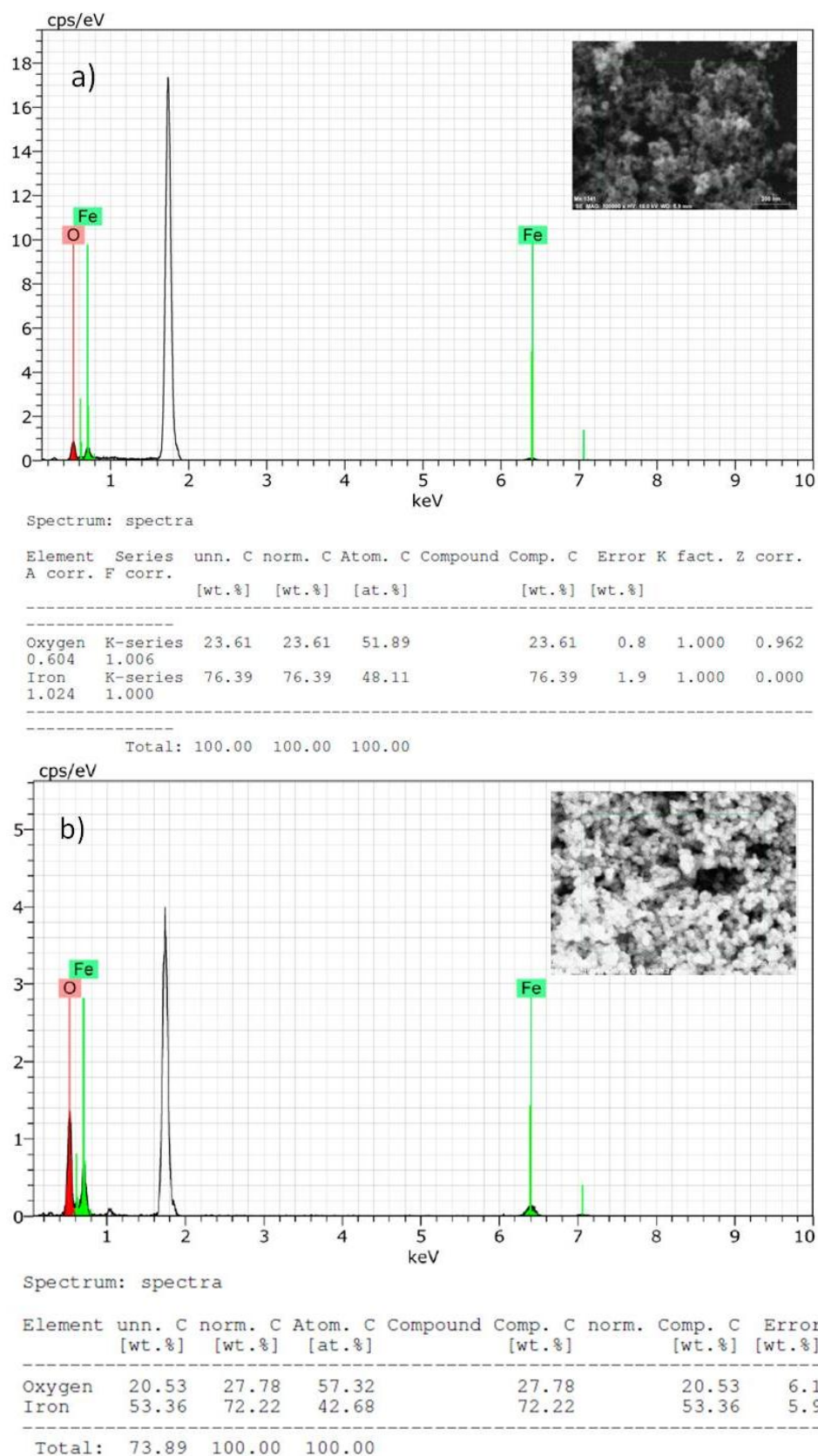


Figura 5.3 Resultados de la caracterización por EDS correspondientes a las muestras sintetizadas por el método 1. a) Muestra antes del tratamiento y b) después del tratamiento hidrotermal.

5.1.2 Caracterización estructural

5.1.2.1 Análisis XRD

Para determinar la estructura de las muestras sintetizadas a través del método 1, antes y después del método hidrotérmico, se analizaron por difracción de rayos-X. En la figura 5.4 se observan los difractogramas correspondientes a ambas muestras. Todos los picos de difracción detectados fueron indexados de acuerdo a la ficha JCPDS No. 89-0691 (Fig. A1, apéndice A) que corresponde a la estructura espinel inversa FCC de magnetita. Como se ve, ambas muestras corresponden a la magnetita; sin embargo, la muestra sintetizada antes del tratamiento hidrotérmico presenta picos de menor intensidad y más angostos (Fig. 5.4 (a)) que aquellos pertenecientes a la muestra obtenida después del tratamiento hidrotérmico (Fig. 5.4 (b)), lo que nos dice que la muestra antes del tratamiento hidrotérmico presenta menor cristalinidad y sus granos cristalinos son de menor tamaño.

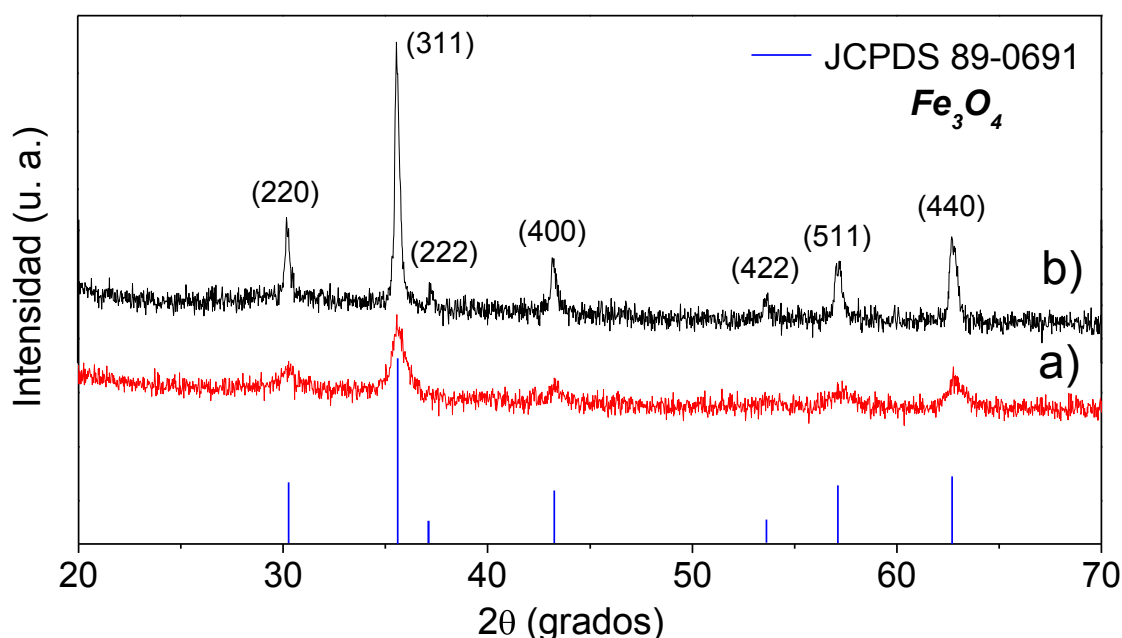


Figura 5.4 Patrón de difracción de rayos-X correspondiente a las muestras sintetizadas mediante el método 1 (a) antes y (b) después del tratamiento hidrotérmico.

Las barras verticales corresponden a las posiciones de los picos en magnetita estándar (JCPDS # 89-0691).

El tamaño promedio de los cristalitas de ambas muestras se calculó a partir de la relación de Scherrer¹ (ecuación 5.1), tomando en cuenta el pico más intenso (311). Como se observa en la tabla 5.1, el tamaño calculado correspondiente a la muestra sintetizada antes del tratamiento hidrotermal (8 nm) fue mucho menor al de la muestra posterior al tratamiento (28 nm), lo que concuerda con la forma de los difractogramas y corrobora las observaciones realizadas por SEM.

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad \text{Ec. 5.1,}$$

donde:

- D → Diámetro calculado del cristalito.
- $k = 0.9$ → Correspondiente a la forma del cristal.
- β → Ancho medio a la mitad de la máxima intensidad del pico (FWHM, *full width at half maximum*, por sus siglas en inglés).
- λ → Longitud de onda de la radiación incidente ($Cu\ k_{\alpha} = 1.5406\ \text{Å}$).
- θ → Ángulo de Bragg.

El parámetro de red de ambas muestras se calculó mediante las ecuaciones 5.2 y 5.3 correspondientes a la ley de Bragg para sistemas cúbicos¹,

$$\lambda = 2d \sin\theta \quad \text{Ec. 5.2}$$

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2+k^2+l^2}{a^2} \quad \text{Ec. 5.3}$$

Nuevamente tomando en cuenta el pico más intenso (3 1 1) se obtuvo un valor de parámetro de red $a = 8.379\ \text{Å}$ ligeramente menor al reportado en la ficha JCPDS No. 89-0691 del apéndice A ($a = 8.387\ \text{Å}$) lo cual puede ser debido a una posible oxidación del material al ser analizado.

5.1.2.2 Análisis micro-Raman

Debido a que el patrón de difracción de rayos-X de la magnetita es muy similar al patrón de la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), con la única diferencia de dos picos de

baja intensidad que aparecen en 23.7° y 26.1° (Fig. A2, apéndice A), se recurrió al análisis micro-Raman para confirmar la fase de la magnetita.

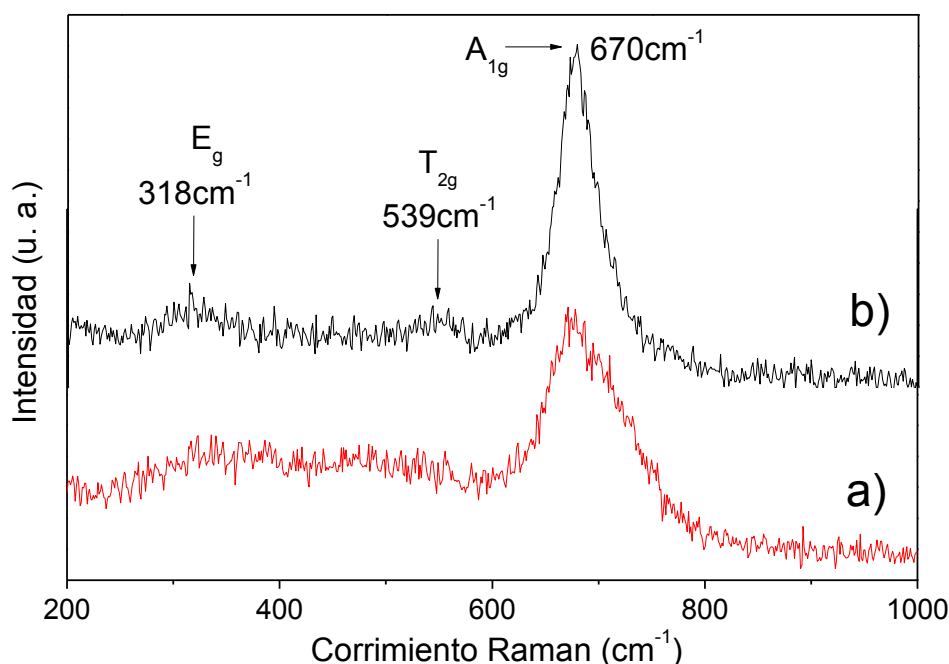


Figura 5.5 Espectros micro-Raman de las muestras sintetizadas mediante la metodología 1 (a) antes y (b) después del tratamiento hidrotermal.

Como se observa en los espectros de la figura 5.5, ambas muestras revelan un pico intenso centrado alrededor de 670 cm^{-1} , el cual corresponde al modo A_{1g} de la magnetita en fase pura. De igual manera, los dos picos de baja intensidad que se aprecian en el espectro de la figura 5.5 (a) alrededor de 318 y 539 cm^{-1} corresponden a los modos E_g y T_{2g} de la magnetita respectivamente^{2,3}. La inexistencia de picos alrededor de 700 , 500 o 350 cm^{-1} , que corresponden a los modos fonónicos de la maghemita⁴, confirma que nuestras muestras sintetizadas son de magnetita en fase pura.

5.1.3 Caracterización magnética

La figura 5.6 muestra las curvas típicas de magnetización así como el ciclo de histéresis de las muestras de magnetita sintetizadas por el método 1. Las magnetizaciones de saturación de las muestras antes y después del tratamiento hidrotermal son de 58 y 75 emu/g respectivamente. Estos valores

son menores al valor teórico reportado para la magnetita en bulto (92 emu/g)⁵. La disminución en el valor de la magnetización de saturación es atribuida a la distribución de los cationes, la relajación superparamagnética y la inclinación

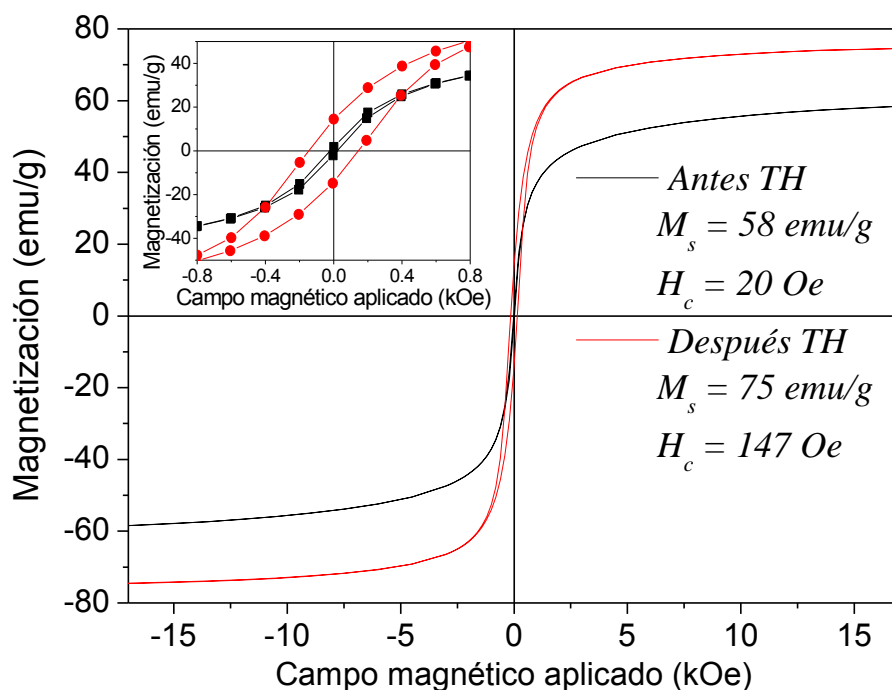


Figura 5.6 Curvas de magnetización típicas de las nanopartículas de magnetita sintetizadas por el método 1. La curva en color negro representa la muestra antes del tratamiento hidrotermal y la curva en color rojo corresponde a la muestra después del tratamiento hidrotermal.

de los espines debido a la naturaleza ultra-fina del material⁶. Por otro lado, la muestra sintetizada después del tratamiento hidrotermal presenta un campo coercitivo de 147 Oe, mucho mayor a la muestra sintetizada antes del tratamiento hidrotermal (20 Oe), lo que es razonable, ya que cuando el tamaño de las nanopartículas de magnetita es mayor a 20 nm ésta comienza a presentar un comportamiento ferrimagnético (v. sección 1.3).

Tabla 5.1 Comparación del tamaño de partícula y propiedades magnéticas de las muestras sintetizadas por el método 1, antes y después de tratamiento hidrotérmal.

Muestra Fe ₃ O ₄ Método 1	Diámetro promedio estimación SEM (nm)	Diámetro promedio estimación XRD (nm)	Magnetización de saturación M _s (emu/g)	Coercividad H _c (Oe)
Antes TH*	----	8	58	20
Después TH	29	28	75	147

*TH → *Tratamiento hidrotérmal*

5.2 MUESTRAS DE MAGNETITA SINTETIZADAS POR EL MÉTODO HIDROTÉRMAL (MÉTODO 2)

Por este método se sintetizaron 5 muestras diferentes, variando únicamente la concentración de acetato de sodio (NaAc) utilizada en la síntesis (v. sección 3.5); las muestras se nombraron S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5 para una concentración utilizada de NaAc de 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 y 1.5 M respectivamente.

5.2.1 Caracterización morfológica

La figura 5.7 muestra las imágenes típicas de SEM de las muestras preparadas mediante el método 2 a diferentes concentraciones de NaAc. Todas las muestras revelan la formación de agregados (nanoestructuras) esféricos de tamaños alrededor de 200-400 nm, formados por partículas primarias, lo que indica la formación de las nanoestructuras de magnetita a través de aglomerados de unidades más pequeñas. De los histogramas de distribución de las nanoestructuras (presentados como imágenes insertadas en las correspondiente imágenes de la figura 5.7), es claro que su tamaño final depende de la concentración de NaAc utilizada en la síntesis (figura 5.8). Usando imágenes de SEM de alta resolución (figuras B1-B5 del apéndice B), se pudo determinar el tamaño promedio de las partículas más pequeñas (partículas primarias) que conforman las nanopartículas de magnetita. Como se observa en la figura 5.9 y en la tabla 5.2, tanto el tamaño promedio de las

nanoestructuras como el tamaño promedio de las partículas primarias varían según la concentración de NaAc.

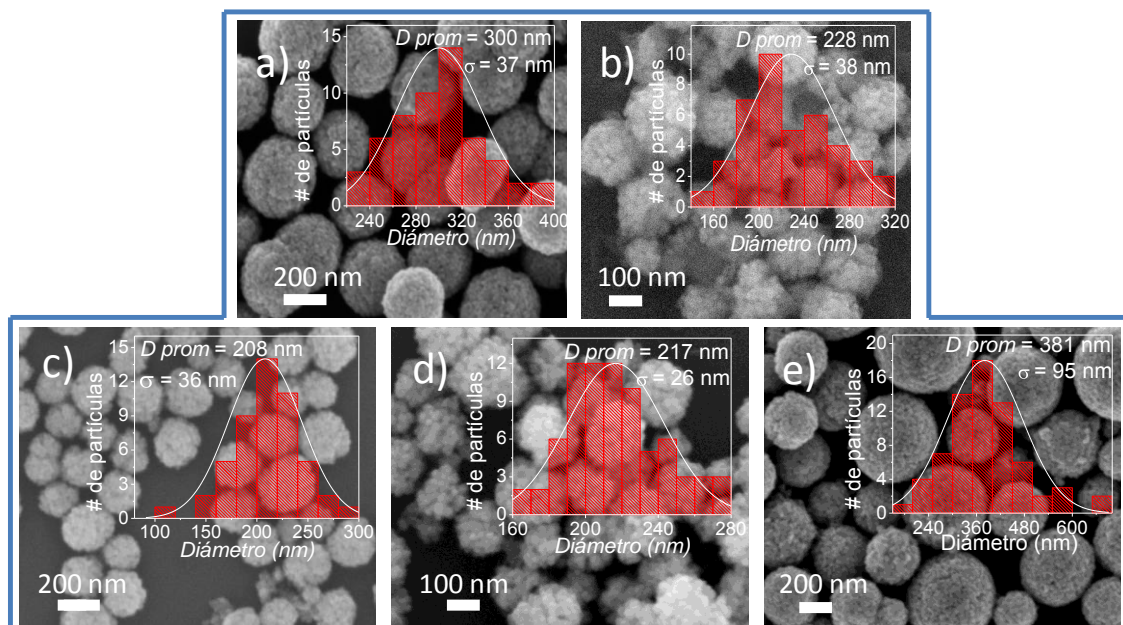


Figura 5.7 Imágenes típicas de SEM de las muestras a) S-1, b) S-2, c) S-3, d) S-4 y e) S-5. En las imágenes insertadas en cada inciso se muestran los histogramas de distribución de tamaño correspondientes a cada muestra.

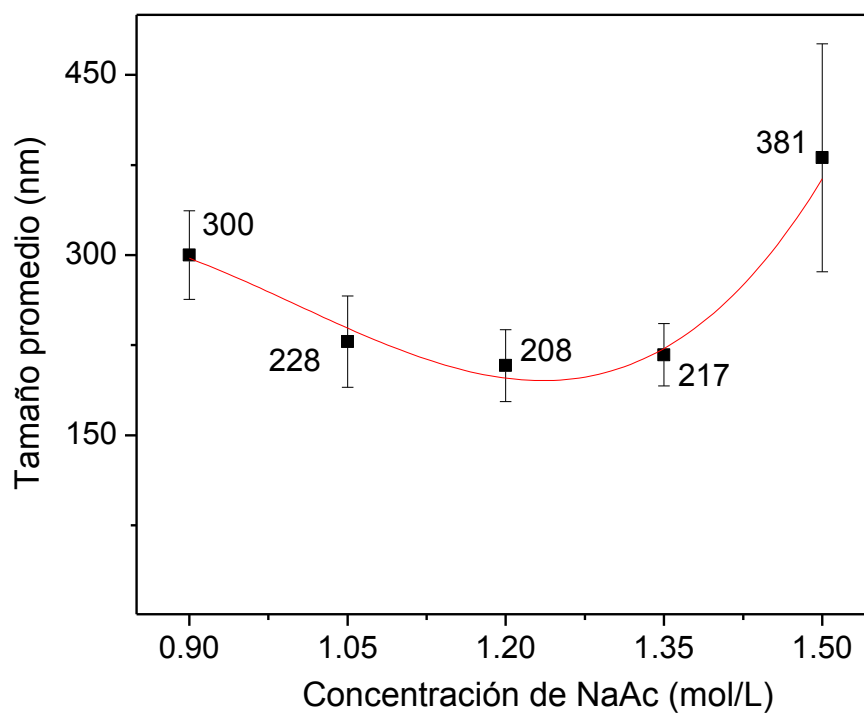


Figura 5.8 Variación del tamaño de las nanoestructuras de magnetita respecto a la concentración de NaAc utilizado en la síntesis.

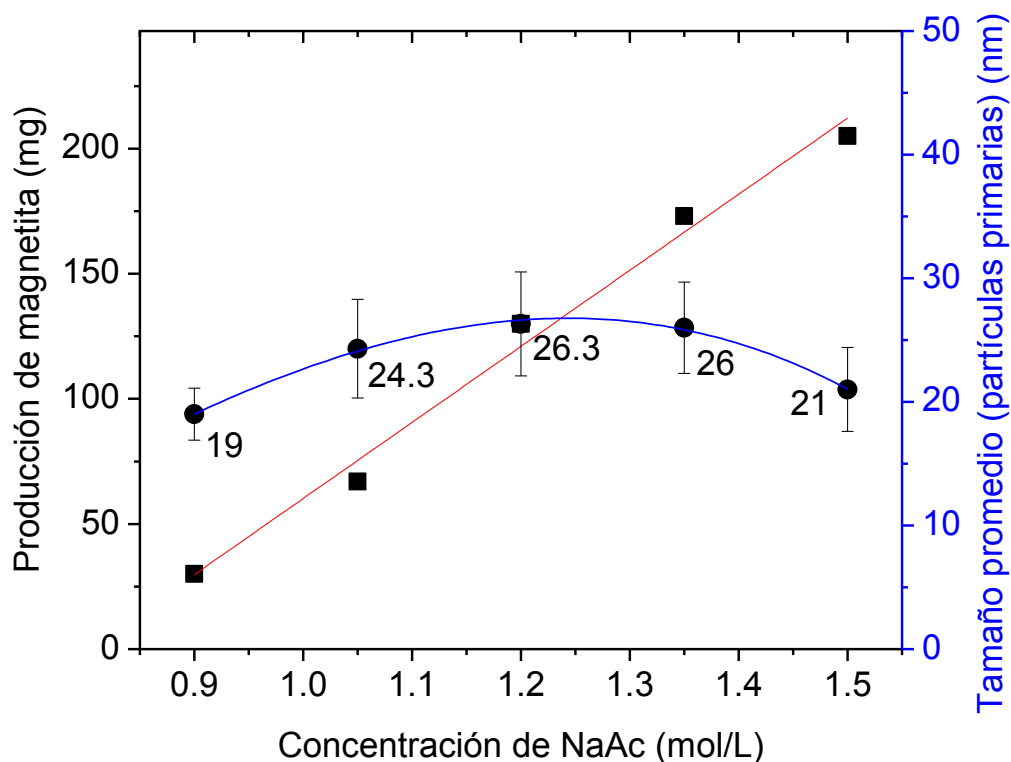


Figura 5.9 Variación de la producción y el tamaño promedio de las partículas primarias respecto a la variación de NaAc utilizado en la síntesis.

Mientras que la variación en el tamaño de las partículas primarias respecto a la variación de concentración de NaAc se puede entender del mecanismo de reacción ocurrido durante el proceso hidrotérmal (v. sección 3.5), el tamaño de los agregados depende del tamaño de las partículas primarias que los conforman. Como se observa en las figuras 5.8 y 5.9, el tamaño de los agregados y de las nanopartículas primarias que los componen varía inversamente. Debido a que la energía superficial de las partículas primarias más pequeñas es mayor que la de las grandes, la probabilidad de aglomeración de éstas es más alta y, por lo tanto, se aglomerará un número mayor de partículas primarias para formar los agregados.

5.2.2 Caracterización estructural

5.2.2.1 Análisis XRD

La figura 5.10 muestra los patrones de difracción de rayos-X de las nanoestructuras de magnetita sintetizadas a diferentes concentraciones de NaAc. Como se puede ver, todas las muestras revelan picos de difracción asociados a la magnetita en fase FCC en forma de espinel inversa (JCPDS No. 89-0691). Se calculó el tamaño promedio de los cristalitos en los aglomerados mediante de la ecuación de Scherrer (ecuación 5.1) utilizando el pico de difracción de mayor intensidad en cada una de las muestras (311). Como se observa en la tabla 5.2, el tamaño promedio de los cristalitos en las muestras depende fuertemente de la concentración de NaAc, obteniéndose una variación de tamaño promedio entre 19 y 26.3 nm, muy similar al tamaño observado por SEM de alta resolución.

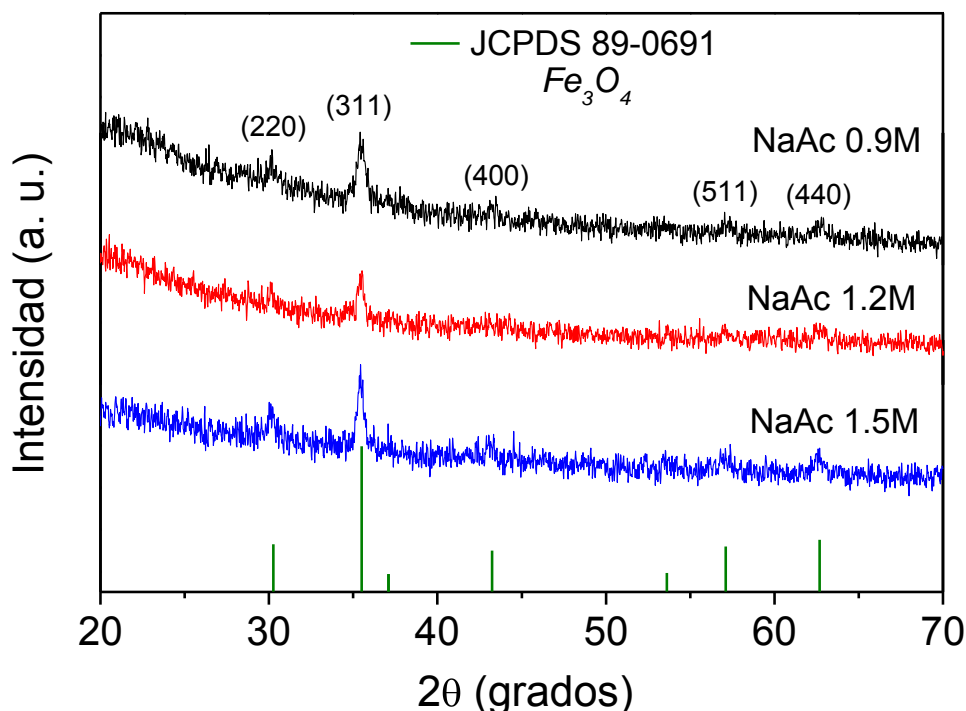


Figura 5.10 Patrones de difracción de rayos-X de las nanoestructuras de magnetita preparadas con diferentes concentraciones de NaAc. Las barras verticales corresponden a los posiciones de los picos estándares de magnetita (JCPDS#89-0691).

El parámetro de red obtenido mediante las ecuaciones 5.2 y 5.3 tomando en cuenta el pico más intenso (3 1 1) fue de $a = 8.387 \text{ \AA}$ mismo que se reporta en la ficha JCPDS No. 89-0691 del apéndice A correspondiente a la magnetita.

5.2.2.2 Análisis micro-Raman

Para confirmar la fase estructural de las nanoestructuras sintetizadas, se analizaron las muestras por espectroscopia micro-Raman. Como se observa en la figura 5.11, todas las muestras revelan un pico intenso centrado alrededor de 670 cm^{-1} , que corresponde al modo A_{1g} de la magnetita. El pico Raman de baja intensidad que aparece alrededor de 318 cm^{-1} corresponde al modo E_g de la magnetita^{2,3}. La ausencia de picos Raman cerca de 700 , 500 y 350 cm^{-1} correspondientes a los modos fonónicos de la maghemita⁴, confirma que todas las muestras preparadas por el método 2 corresponden a la magnetita en fase pura. Estos resultados concuerdan con el mecanismo propuesto (sección 3.5), que favorece la formación de nanopartículas de magnetita sobre nanopartículas de maghemita en presencia de etilenglicol en exceso, lo que garantiza la reducción de iones Fe^{3+} a Fe^{2+} , manteniendo la razón de la concentración 2:1, necesaria para la formación de magnetita.

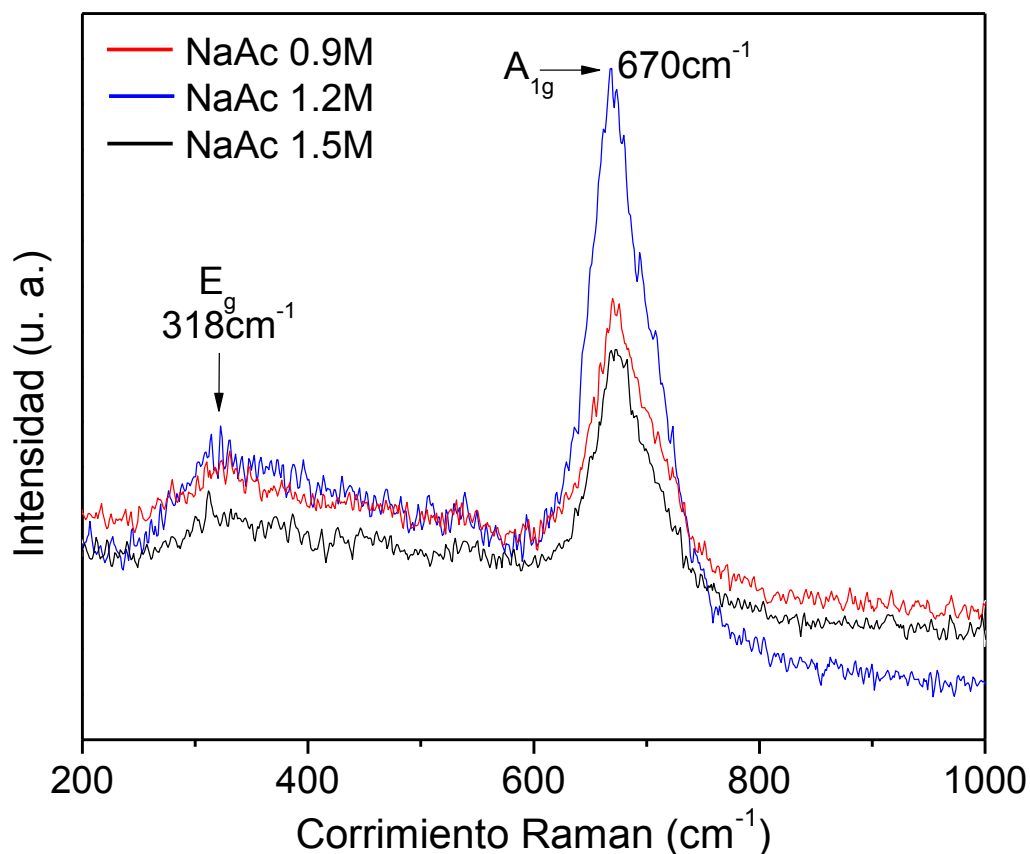


Figura 5.11 Espectros micro-Raman de las nanoestructuras de magnetita preparadas por el método 2 a diferentes concentraciones de NaAc.

5.2.3 Caracterización magnética

Las curvas de magnetización de las muestras sintetizadas a concentraciones de NaAc 0.9, 1.2 y 1.5 M se muestran en la figura 5.12, donde todas las muestras revelan comportamiento superparamagnético con valores de magnetización de saturación (M_s) de 74.3 – 77.4 emu/g. Estos valores son más altos que los valores reportados por varios grupos de investigación que han sintetizado magnetita por diferentes métodos⁷⁻¹⁰. Aunque algunos otros grupos de investigación han reportado valores hasta de 81 emu/g al sintetizar magnetita por el método hidrotermal¹¹⁻¹⁴, el proceso de temperatura que han utilizado ha sido más alto ($\geq 200^\circ$ C) que el usado en nuestro proceso hidrotermal, lo cual sugiere que a mayor temperatura utilizada en el proceso hidrotermal mejor cristalinidad obtendrán las nanopartículas. Se sabe que las nanopartículas crecidas a altas temperaturas alcanzan una alta magnetización

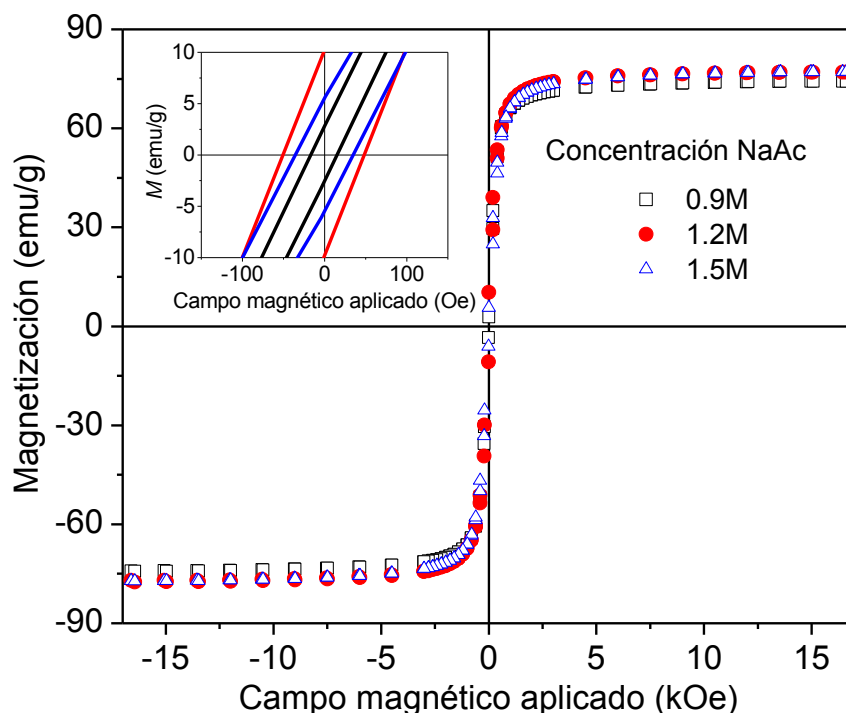


Figura 5.12 Curvas de magnetización de la nanoestructuras de magnetita sintetizadas por el método 2, con concentraciones de NaAc 0.9, 1.2 y 1.5 M. En la imagen insertada se presenta la coercividad de las muestras correspondientes.

de saturación¹⁵. Otro factor que influyó en la disminución de M_s en nuestras muestras es la impureza de NaCl presente, que se confirmó por mediciones de EDS (Fig. 6, apéndice B).

Como se observa en la imagen insertada en la figura 5.12, así como en la tabla 5.2, la coercividad de las muestras preparadas a diferentes concentraciones de NaAc varía entre 15 y 49 Oe. Aunque la mayoría de los trabajos publicados no reporta valores de coercividad para sus respectivas muestras de magnetita, Zhu and Diao¹⁶ han reportado coercividades de 35.5 Oe para agregados de magnetita conformados por partículas primarias de 12 nm. Nuevamente, la fluctuación de la coercividad en nuestras muestras puede asociarse a las impurezas en las nanoestructuras.

Tabla 5.2 Variación del tamaño de nanoestructuras y partículas primarias de Fe_3O_4 crecidas a diferentes concentraciones de NaAc y sus propiedades magnéticas.

Muestra	Conc. de NaAc (mol/L)	Tamaño prom. de los agregados SEM (nm)	Tamaño prom. de las partículas primarias HRSEM (nm)	Tamaño prom. del cristalito XRD (nm)	M_s (emu/g)	H_c (Oe)
Fe_3O_4	0.9	300	19	14	74.3	15
	1.05	228	24.3	15.4	77.3	27
	1.2	208	26.3	20.5	77	48
	1.35	217	26	18.1	76	49
	1.5	381	21	17.8	77.4	35

5.3 MUESTRAS DE MAGNETITA RECUBIERTAS CON SÍLICE MESOPOROSO ($\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$) SINTETIZADAS POR EL MÉTODO 3

Debido a que las muestras sintetizadas por el método 1 presentaron gran aglomeración, lo que obstaculiza el recubrimiento de las NPs con sílice mesoporoso de manera dispersa, y ya que de las muestras sintetizadas por el método 2 (muestras S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5) la que presentó un menor tamaño fue la muestra S-3 (208 nm en promedio), se determinó que el mejor grupo de muestras para realizar el recubrimiento con diferentes espesores de sílice mesoporoso era el grupo de muestras S-3 (concentración de NaAc = 1.2 M), sintetizándose así tres diferentes grupos de muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ (muestras M-1, M-2 y M-3).

En la figura 5.13 se muestran las imágenes típicas de SEM de la muestra S-3 que se utilizaron como núcleo para realizar la síntesis de las diferentes nanoestructuras compuestas tipo núcleo@coraza de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$. Las imágenes muestran la formación de nanoestructuras esféricas bien dispersadas entre 100 y 300 nm de diámetro, con un tamaño promedio de 208 nm. Como se discutió en la sección 5.2, estas nanoestructuras están formadas por partículas primarias de tamaño promedio de 20 nm, y corresponden a la estructura FCC de la magnetita en forma espinel inversa (Fig. 5.10 y Fig. 5.11). La curva de magnetización de la muestra presenta un comportamiento superparamagnético, con una magnetización de saturación de 77 emu/g. Estas

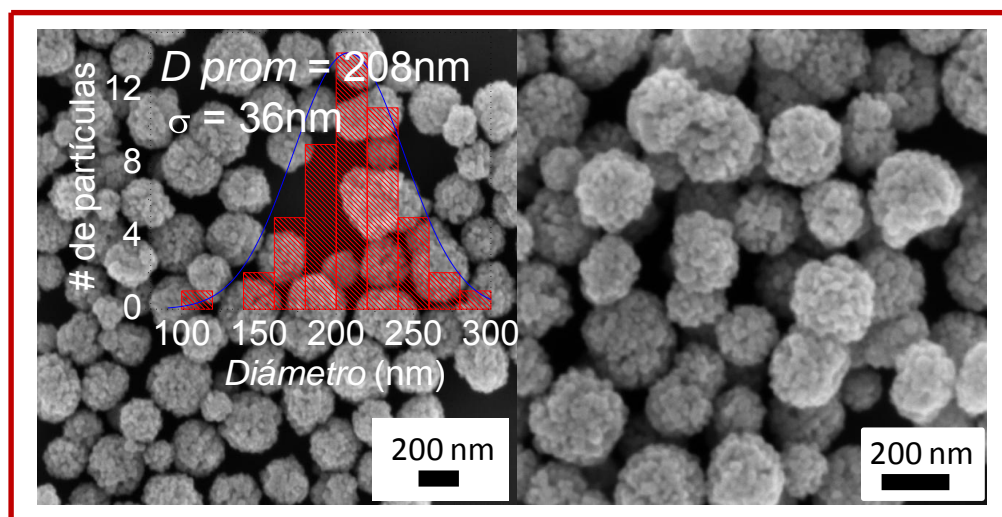


Figura 5.13 Imágenes típicas de SEM de las nanoestructuras de Fe_3O_4 (muestra S-3). Su histograma de distribución de tamaño se encuentra como imagen insertada.

propiedades hacen que estas nanoestructuras sean adecuadas para aplicaciones en entrega dirigida de medicamentos.

5.3.1 Caracterización morfológica

Como se ve en las figuras 5.14 – 5.16, las muestras sintetizadas mediante el método 3, con una concentración de TEOS utilizada en la síntesis de 0.05, 0.07 y 0.10 mL (muestras M-1, M-2 y M-3), presentan la formación de nanoestructuras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con espesores de la capa de sílice de 15, 25 y 40 nm, respectivamente. Así, el tamaño promedio de las nanoestructuras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$, como se puede ver en la tabla 5.3, fue de 238, 258 y 288 nm para las muestras M-1, M-2 y M3, respectivamente.

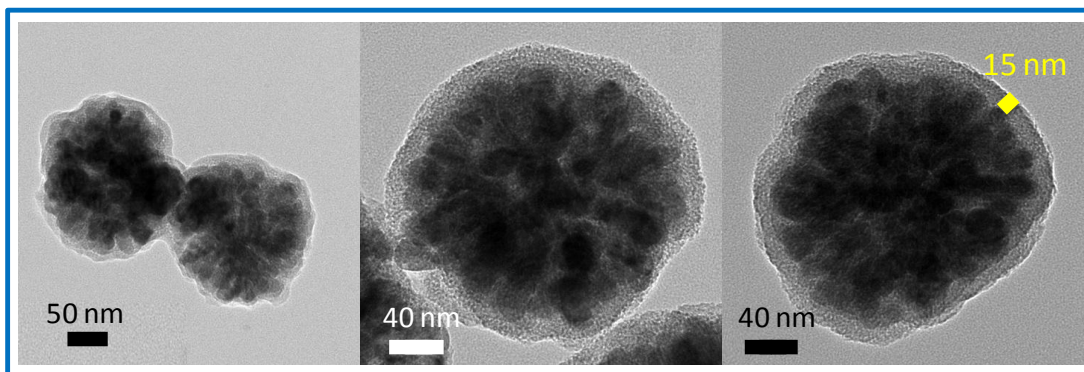


Figura 5.14 Imágenes típicas de TEM de la muestra M-1 sintetizada con una concentración de TEOS de 0.05 mL, mostrando la formación de nanoestructuras $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con un espesor de 15 nm.

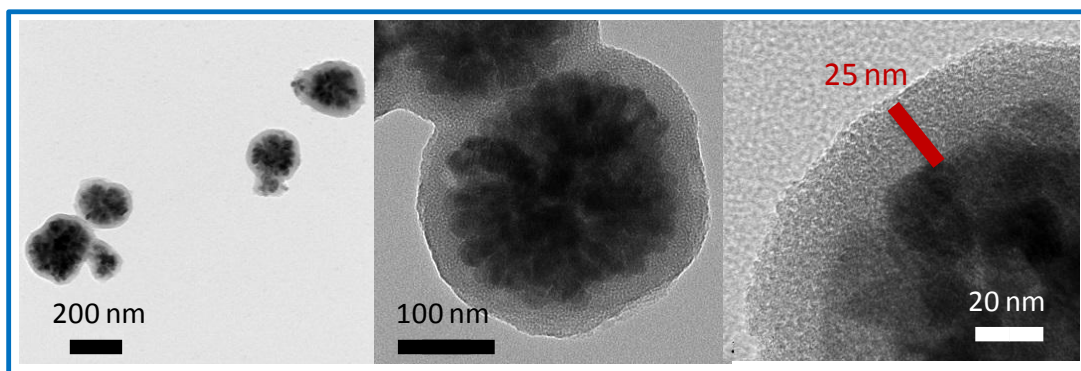


Figura 5.15 Imágenes típicas de TEM de la muestra M-2 sintetizada con una concentración de TEOS de 0.07 mL, mostrando la formación de nanoestructuras $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con un espesor de 25 nm.

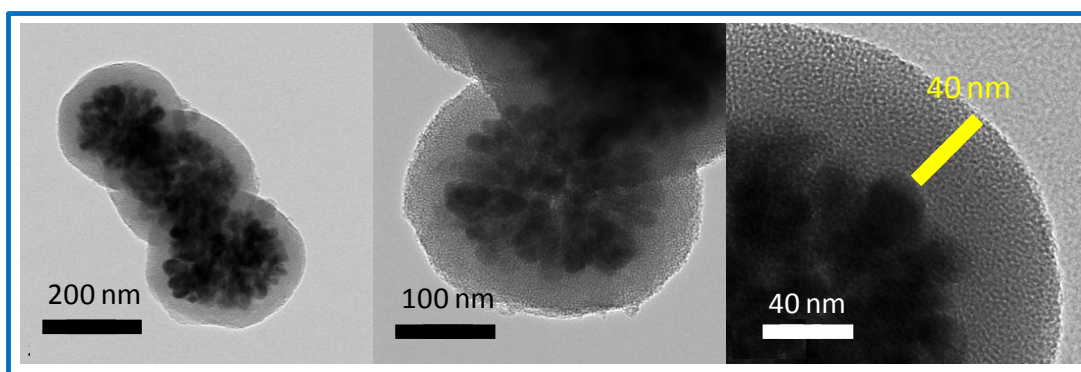


Figura 5.16 Imágenes típicas de TEM de la muestra M-3 sintetizada con una concentración de TEOS de 0.10 mL, mostrando la formación de nanoestructuras $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con un espesor de 40 nm.

5.3.2 Caracterización de la porosidad

Como se mencionó en la sección 3.6.3, para crear los mesoporos en las capas de sílice, se utilizó el surfactante catiónico CTAB como templete suave, y para eliminar este surfactante de las nanoestructuras compuestas se usó una solución ácida de etanol/ácido acético (95:5, v/v). La completa eliminación de CTAB del compuesto nanoestructurado durante el proceso de eliminación se demostró mediante la caracterización de las muestras por FT-IR.

5.3.2.1 Análisis FT-IR

La figura 5.17 muestra el espectro FT-IR de las nanoestructuras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con diferentes espesores de la capa de sílice. Como se puede observar, aparte de las bandas de absorción correspondientes al enlace Fe–O de la magnetita (580 cm^{-1}), los enlaces Si–O–Si ($1090, 1200\text{ cm}^{-1}$), Si–O–H (961 cm^{-1}) y Si–O (802 cm^{-1}) de las capas de sílice y los enlaces O–H (1630 y 3430 cm^{-1}) correspondientes al agua adsorbida en la superficie, aparecen dos bandas de absorción alrededor de 2921 y 2851 cm^{-1} en la muestra no tratada con la solución ácida (espectro (a); en color negro), las cuales corresponden a los enlaces $-\text{CH}_2-$ asociados al CTAB presente en la muestra¹⁷. En las muestras M-1, M-2 y M-3 tratadas con la solución ácida (espectros (b), (c) y (d); líneas roja, azul y verde respectivamente), estas bandas (2921 y 2851 cm^{-1}) desaparecen completamente, lo que indica una completa remoción del CTAB, formando así los canales de poros en el sílice.

Las bandas a 1090 y 961 cm^{-1} corresponden a vibraciones asimétricas de los enlaces Si–O y Si–OH respectivamente. El hombro que se observa alrededor de 1200 cm^{-1} corresponde a vibraciones asimétricas del enlace Si–O. Las bandas de absorción que aparecen a 800 cm^{-1} corresponden a vibraciones simétricas del enlace Si–O. Las bandas que aparecen alrededor de 3430 y 1630 cm^{-1} son asignadas a los modos *stretching* y *bending* del agua adsorbida sobre la superficie de las nanoestructuras^{18,19}. Finalmente, el pico que aparece alrededor de 580 cm^{-1} corresponde a la deformación del enlace Fe–O de la magnetita²⁰. Por todo lo anterior, el espectro FT-IR tomado a las muestras

compuestas confirma la presencia de capas de sílice sobre los núcleos de magnetita, como se esperaba.

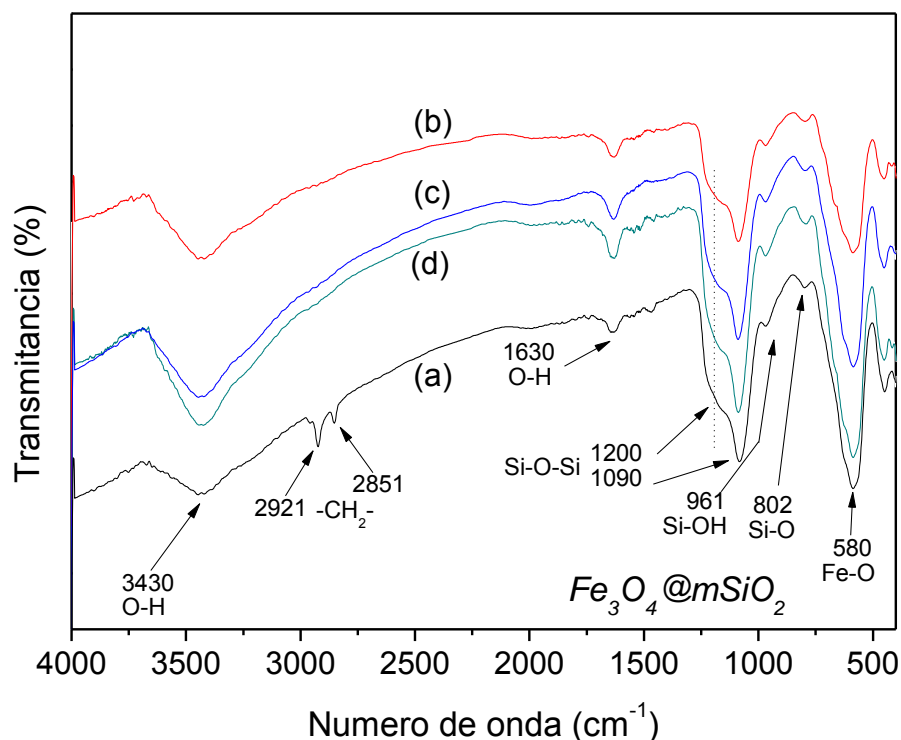


Figura 5.17 Espectro FT-IR de las nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$ antes del tratamiento con ácido acético (a) y muestras M-1, M-2 y M-3 posterior al tratamiento con ácido acético (b-d).

5.3.2.2 Adsorción – desorción de nitrógeno (análisis BET y BJH)

El área superficial y la porosidad de las muestras S-3, M-1, M-2 y M-3 se estudiaron mediante análisis de sus isothermas de adsorción – desorción de nitrógeno. Estas isothermas se obtuvieron a 77 K; se presentan en la figura 5.18. Mientras que las isothermas de adsorción – desorción de la muestra de magnetita pura (figura 5.18 (a)) revela isothermas tipo II y tipo IV (Fig. 4.11) características de materiales porosos (clasificación IUPAC²¹) debido a una distribución de poros no homogénea, todas las muestras compuestas revelan características de isothermas tipo IV, característica de materiales mesoporosos, lo que corrobora la presencia de capas mesoporosas de óxido de silicio en ellas. Ya que las nanoestructuras de magnetita están formadas por partículas primarias interconectadas entre sí de aproximadamente 20 nm de tamaño (v.

figura B3 del apéndice B) aglomeradas sin algún orden particular, se entiende la naturaleza macro- y mesoporosa de la muestra. Por otro lado, la naturaleza mesoporosa de las nanoestructuras compuestas proviene de los huecos columnarios formados en las capas exteriores de sílice por el efecto de la eliminación del templete CTAB, creadas sobre las nanoestructuras de magnetita.

De la distribución del tamaño de poros que aparece en las imágenes insertadas en la figura 5.18 (b-d), se constata que el diámetro promedio de poro en todas las muestras compuestas es constante (≈ 2.16 nm). El área superficial BET (analizada en el rango de presiones P/P_0 de 0.05–0.30) estimada para las muestras S-1, M-1, M-2 y M-3 fue de 42.3, 362.2, 493.1 y 543.0 m^2/g , respectivamente, lo que demuestra que el área superficial específica de las muestras compuestas se puede controlar mediante el control del espesor de las capas de sílice mesoporoso sobre las partículas o cúmulos de magnetita.

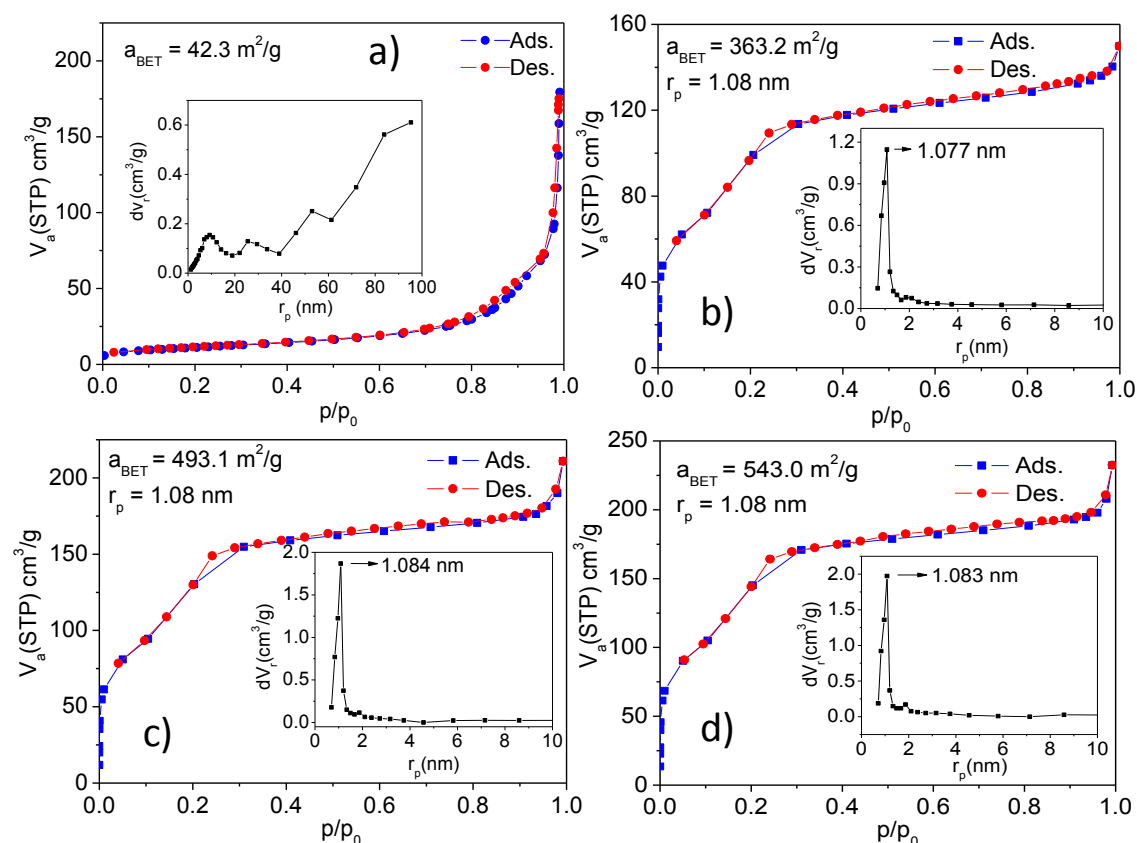


Figura 5.18 Isothermas de adsorción – desorción de nitrógeno obtenidas de las muestras (a) S-3, (b) M-1, (c) M-2 y (d) M-3. La distribución del tamaño de poro se encuentra como imagen insertada en su correspondiente isoterma de adsorción.

El área superficial específica de las capas mesoporosas se aumenta conforme el aumento de su espesor.

5.3.3 Caracterización magnética

Las curvas de magnetización correspondientes a las muestras S-3, M-1, M-2 y M-3 se pueden apreciar en la figura 5.19. En esta figura se puede ver que la magnetización de saturación de las muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ disminuyó un poco más del 25% respecto a la muestra de magnetita pura, este resultado es de esperarse debido a que con el aumento de la capa de sílice disminuye la fracción de la masa relativa de la magnetita [disminución de M_s respecto a la capa de sílice]. Por otro lado, el recubrimiento con sílice mesoporoso sobre la magnetita redujo la coercividad del material (imagen insertada) mejorando su comportamiento superparamagnético. Por lo tanto, la alta saturación de magnetización de las muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$, es apropiada para aplicaciones de entrega dirigida de medicamentos.

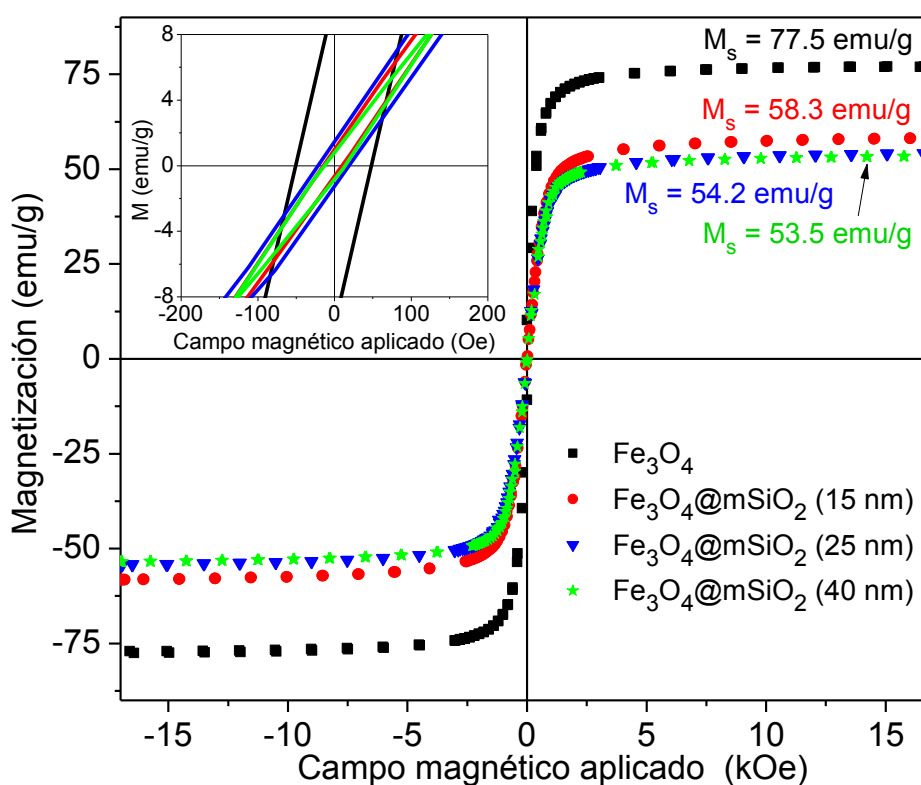


Figura 5.19 Curvas de magnetización de la magnetita y de las muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con diferentes espesores.

5.3.4 Carga y liberación de medicamentos

La figura 5.19 muestra el espectro de absorción UV-Vis de la solución de ibuprofeno/hexano (30 mg/mL respectivamente) antes (línea negra) y después de realizar la carga de medicamento a las muestras M-1, M-2 y M-3 (líneas roja, verde y azul respectivamente). Como se aprecia, la intensidad de la banda de absorción típica del ibuprofeno a 263 nm disminuye conforme se incrementa la capa de sílice de la nanoestructura compuesta, lo que indica una mayor concentración de ibuprofeno cargado sobre la nanoestructura compuesta con mayor espesor de la capa de meso-sílice.

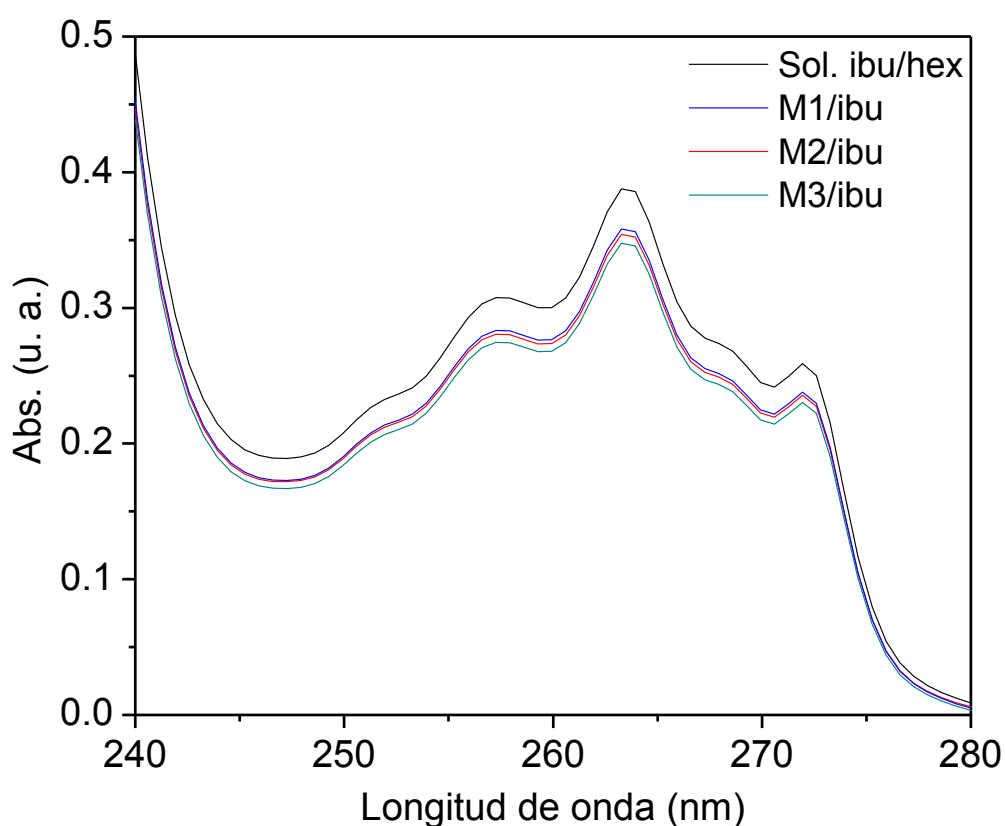


Figura 5.20 Espectro de absorción UV-Vis de las muestras M-1, M-2 y M-3 después de haber sido cargadas con ibuprofeno (muestras M1/ibu, M2/ibu y M3/ibu respectivamente). La línea negra representa la solución ibuprofeno/hexano antes de la carga de las muestras.

Usando una curva de calibración preparada previamente utilizando espectros de absorción UV-Vis de soluciones de ibuprofeno/hexano con diferentes concentraciones de ibuprofeno (ver Fig. B7 apéndice B), se calculó la cantidad de ibuprofeno cargado sobre cada nanoestructura compuesta. Las

cantidades estimadas de ibuprofeno cargado en las muestras después de 24 h de impregnación fue de 678, 828 y 954 $\text{mg}_{\text{ibu}}/\text{g}_{\text{muestra}}$ respectivamente (tabla 5.3).

Por lo tanto, el incremento en el espesor de la capa de sílice mesoporoso sobre los agregados de magnetita, es proporcional a la capacidad de almacenamiento de la droga, lo cual concuerda con el aumento en el área superficial específica del material.

La figura 5.20 muestra los perfiles de liberación de las muestras M1/ibu, M2/ibu y M3/ibu después de 72 h en una solución SBF a 37° C. Se estimó la cantidad de ibuprofeno liberado en la solución SBF de los espectros absorción de las alícuotas tomadas a diferentes intervalos de tiempo. Como se aprecia en la figura 5.20, después de 72 h en la solución de SBF, se había liberado alrededor de 81, 79, y 74% del ibuprofeno de las muestras M1/ibu, M2/ibu y M3/ibu, respectivamente. La velocidad de la liberación fue considerablemente rápida en las tres muestras durante las primeras 6 h de tratamiento. La razón de liberación fue más alta en la muestra M1/ibu, con el menor espesor de sílice mesoporoso, así, conforme el espesor de la capa de sílice en la muestra aumentaba, la razón de liberación del medicamento disminuía. Los resultados indican que la razón de liberación del medicamento se controla simplemente controlando el espesor de la capa de sílice mesoporoso alrededor de las nanoestructuras de magnetita.

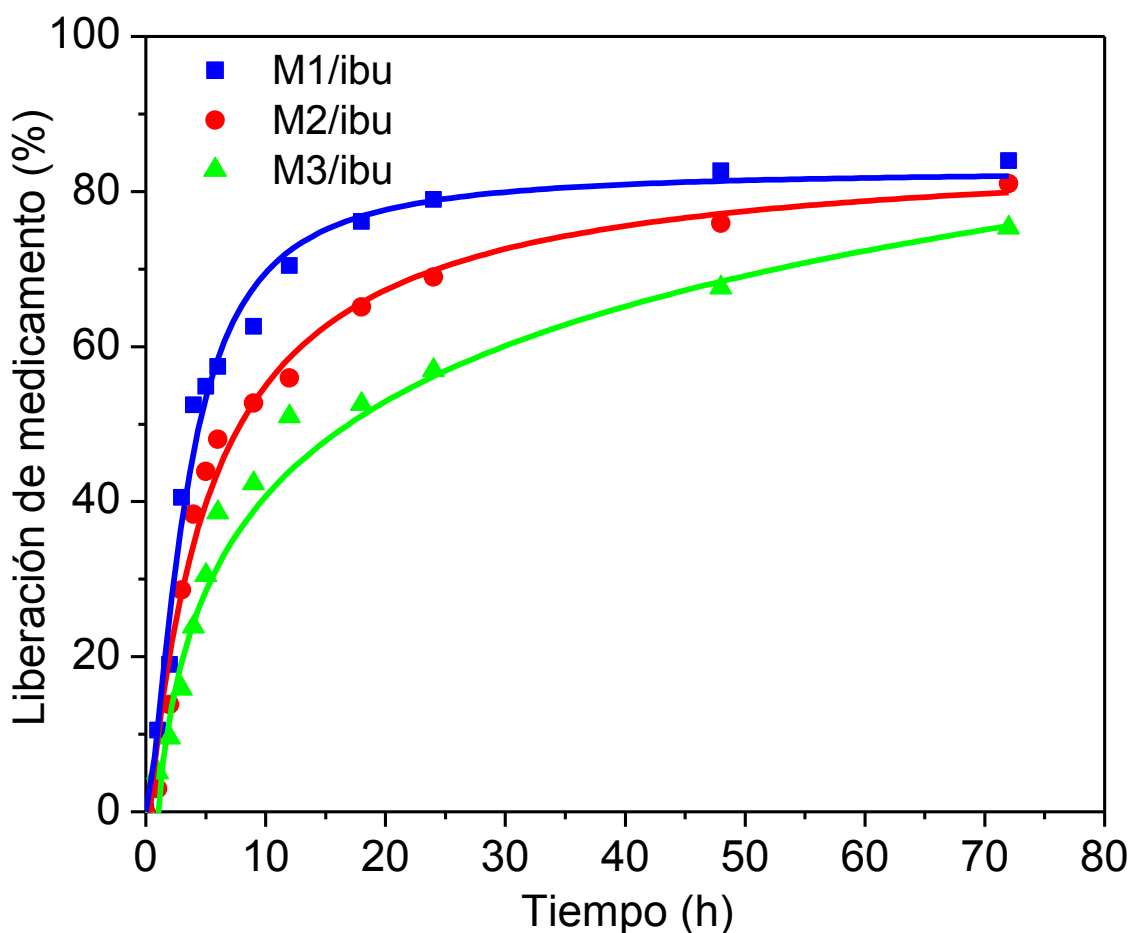


Figura 5.21 Perfiles de liberación de medicamento correspondientes a las muestra M1/ibu, M2/ibu y M3/ibu.

Tabla 5.3 Propiedades de las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$.

Muestra composita	Espesor promedio de la capa de sílice (nm)	Área superficial BET a_{BET} (m^2/g)	Radio del poro rp (nm)	Cantidad de droga cargada en la muestra ($\text{mg}_{\text{ibu}}/\text{g}_{\text{muestra}}$)	% de droga liberada después de 72 h
M-1	15	363.2	1.08	678	81
M-2	25	493.1	1.08	828	79
M-3	40	543.0	1.08	954	74

5.3.5 Pruebas de biocompatibilidad de las nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$

Para poder aplicar las nanoestructuras compuestas de $Fe_3O_4@mSiO_2$ como vehículos efectivos de entrega dirigida de medicamentos en el cuerpo humano, éstas deben de ser altamente biocompatibles. Por tanto, se determinó la biocompatibilidad de las muestras S-1, M-1, M-2 y M-3 mediante de pruebas de citotoxicidad, usando células humanas de cáncer de pecho línea MCF-7 y células de cáncer de ovario línea SKOV3. Se analizaron los potenciales inhibidores de las muestras S-1, M-1, M-2 y M-3 por conteo de células viables. Para este propósito, se sembraron 2×10^4 células MCF-4 y 1×10^4 células SKOV3 en platos separados de 35 mm y se cultivaron durante 2 días, utilizando 2 mL de DMEM (para las células MCF-7) y RPMI (para las células SKOV3). Posteriormente, se trataron las células sin ningún tipo de nanoestructuras (etiquetadas como control) y con 20 $\mu\text{g/mL}$ de cada una de las muestras S-1, M-1, M-2 y M-3 por 2 mL del medio celular durante 2 días. Se monitoreó el ensayo celular utilizando un microscopio invertido de contraste de fase después de dos días de exposición a las nanoestructuras magnéticas (muestras S-1, M-1, M-2 y M-3). Se contó el número de células viables de MCF-7 y SKOV3 tras los dos días de exposición de las muestras compuestas usando un contador de células automático ADAM.

Como muestra la figura 5.21, las nanoestructuras magnéticas tienen un efecto limitado sobre la morfología celular y la viabilidad de la línea de células de cáncer de pecho después de la incubación de 2 días a una concentración de 20 $\mu\text{g/mL}$. Después de 48 h de tratamiento, las muestras S-1, M-1 y M-2 causaron una citotoxicidad similar (aproximadamente 20%) en las células MCF-7. La citotoxicidad inducida por la muestra M-3 fue ligeramente más alta que las otras (figura 9 (a,c)). Los ensayos realizados en las líneas celulares de cáncer de ovario (células SKOV3) mostraron resultados similares (figura 9 (b,d)) a los obtenidos con la línea celular MCF-7. Por lo tanto, los ensayos de citotoxicidad a través de la evaluación de la morfología y la viabilidad celular revelan que las

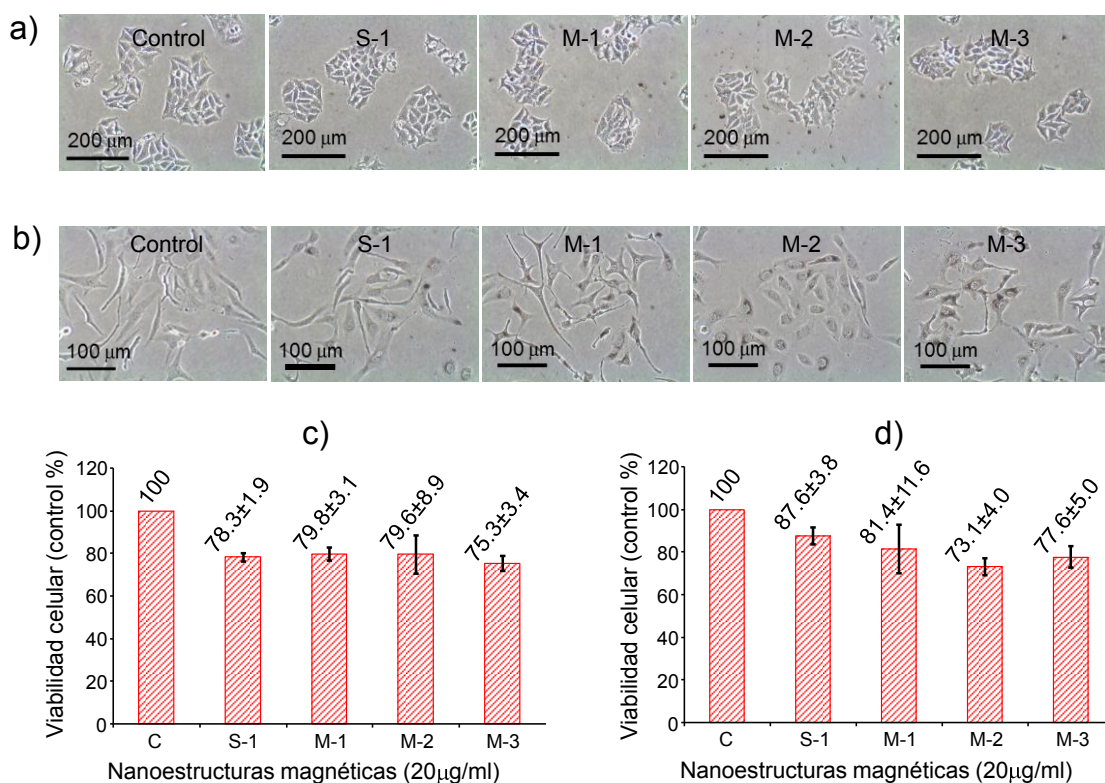


Figura 5.22 Comparación del efecto citotóxico de las nanoestructuras magnéticas en células de cáncer de pecho MCF-7 y células de cáncer de ovario SKOV3. (a) y (b) representan las imágenes del microscopio invertido de contraste de fase mostrando el crecimiento celular y la morfología de la colonia de las células. (a) Líneas celulares de MCF-7 y (b) líneas celulares de SKOV3 después de ser expuestas a las nanoestructuras magnéticas. (c) y (d) muestran la viabilidad celular de las nanoestructuras usadas en las células MCF-7 y SKOV3, respectivamente. C representa la muestra control donde no se han utilizado las nanoestructuras magnéticas.

nanoestructuras magnéticas son ligeramente citotóxicas para este tipo de células. El recubrimiento de las capas de sílice mesoporoso sobre las nanoestructuras de magnetita no tiene efectos significativos en su biocompatibilidad.

REFERENCIAS

- 1 Cullity, B. D. & Stock, S. R. *Elements of X-Ray Diffraction*. 3 edn, (Prentice Hall, USA, 2001).
- 2 Degiorgi, L., Blatter-Mörke, I. & Wachter, P. Magnetite: phonon modes and the Verwey transition. *Phys Rev B* **35**, 5421-5424 (1987).
- 3 Legodi, M. & Dewaal, D. The preparation of magnetite, goethite, hematite and maghemite of pigment quality from mill scale iron waste. *Dyes Pigm* **74**, 161-168 (2007).
- 4 de Faria, D. L. A., Venâncio Silva, S. & de Oliveira, M. T. Raman microspectroscopy of some iron oxides and oxyhydroxides. *J Raman Spectrosc* **28**, 873-878 (1997).
- 5 Han, D. H., Wang, J. P. & Luo, H. L. Crystallite size effect on saturation magnetization of fine ferrimagnetic particles. *J Magn Magn Mater* **136**, 176-182 (1994).
- 6 Panda, R. N., Gajbhiye, N. S. & Balaji, G. Magnetic properties of interacting single domain Fe₃O₄ particles. *J Alloys Compd* **326**, 50-53 (2001).
- 7 Iida, H., Takayanagi, K., Nakanishi, T. & Osaka, T. Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with various sizes and magnetic properties by controlled hydrolysis. *J Colloid Interface Sci* **314**, 274-280 (2007).
- 8 Park, J., An, K., Hwang, Y., Park, J. G., Noh, H. J., Kim, J. Y., Park, J. H., Hwang, N. M. & Hyeon, T. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. *Nat Mater* **3**, 891-895 (2004).
- 9 Zhao, S. Y., Lee, D. K., Kim, C. W., Cha, R. G., Kim, Y. H. & Kang, Y. S. Synthesis of magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ and their surface modification by surfactant adsorption. *Bull Kor Chem Soc* **27**, 237-242 (2006).
- 10 Sun, X., Zheng, C., Zhang, F., Yang, Y., Wu, G., Yu, A. & Guan, N. Size-controlled synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles coated with glucose and gluconic acid from a single Fe(III) precursor by a sucrose bifunctional hydrothermal method. *J Phys Chem C* **113**, 16002-16008 (2009).

- 11 Hu, P., Yu, L., Zuo, A., Guo, C. & Yuan, F. Fabrication of monodisperse magnetite hollow spheres. *J Phys Chem C* **113**, 900-906 (2009).
- 12 Deng, H., Li, X., Peng, Q., Wang, X., Chen, J. & Li, Y. Monodisperse magnetic single-crystal ferrite microspheres. *Angew Chem* **44**, 2782-2785, (2005).
- 13 Xu, Z., Li, C., Kang, X., Yang, D., Yang, P., Hou, Z. & Lin, J. Synthesis of a multifunctional nanocomposite with magnetic, mesoporous, and near-IR absorption properties. *J Phys Chem C* **114**, 16343-16350 (2010).
- 14 Deng, Y., Qi, D., Deng, C., Zhang, X. & Zhao, D. Superparamagnetic high-magnetization microspheres with an Fe₃O₄@SiO₂ core and perpendicularly aligned mesoporous SiO₂ shell for removal of microcystins. *J Am Chem Soc* **130**, 28-29 (2008).
- 15 Guardia, P., Batlle-Brugal, B., Roca, A. G., Iglesias, O., Morales, M. P., Serna, C. J., Labarta, A. & Batlle, X. Surfactant effects in magnetite nanoparticles of controlled size. *J Magn Magn Mater* **316**, e756-e759 (2007).
- 16 Zhu, M. Y. & Diao, G. W. Synthesis of porous Fe₃O₄ nanospheres and its application for the catalytic degradation of xylene orange. *J Phys Chem C* **115**, 18923-18934 (2011).
- 17 Fang, X., Chen, C., Liu, Z., Liu, P. & Zheng, N. A cationic surfactant assisted selective etching strategy to hollow mesoporous silica spheres. *Nanoscale* **3**, 1632-1639 (2011).
- 18 Kung, K. H. S. & Hayes, K. F. Fourier transform infrared spectroscopic study of the adsorption of cetyltrimethylammonium bromide and cetylpyridinium chloride on silica. *Langmuir* **9**, 263-267, (1993).
- 19 Beganskienė, A., Sirutkaitis, V., Kurtinaitienė, M., Juškėnas, R. & Kareiva, A. FTIR, TEM and NMR investigations of Stöber silica nanoparticles. *Mater Sci* **10**, 287-290 (2004).
- 20 Nikolić, M., Giannakopoulos, K. P. & Srdić, V. V. Synthesis and characterization of mesoporous silica core-shell particles. *Process Appl Ceram* **4**, 81-85 (2010).

- 21 Sing, K. S. W., Everett, D. H., Haul, R. A. W., Moscou, L., Pierotty, R. A., Rouquerol, J. & Siemieniowska, T. Reporting physisorption data for gas solid systems with special seference to the determination of surface-area and porosity (recommendations 1984). *Pure Appl Chem* **57**, 603-619 (1985).

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

A continuación se presentan las conclusiones más relevantes obtenidas de esta investigación.

- Por medio del método de co-precipitación asistido por tratamiento hidrotermal (método 1) se logró obtener nanopartículas de magnetita de diferentes tamaños. Cuando las nanopartículas obtenidas sin tratamiento hidrotermal son de tamaño promedio de 8 nm y cristalinidad inferior, el tratamiento hidrotermal produce nanopartículas de magnetita de mayor tamaño promedio (29 nm) con cristalinidad superior. Las nanopartículas obtenidas de ambas maneras presentan una fuerte aglomeración.
- Utilizando $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ como único precursor del hierro, se pueden sintetizar cúmulos de magnetita de alta estequiometría y fase FCC pura por el método hidrotermal (método 2) utilizando etilenglicol como solvente y acetato de sodio como precipitante.
- Variando la concentración del acetato de sodio en el proceso anterior, se logró controlar el tamaño (diámetro) de los cúmulos de magnetita entre 208 y 381 nm.
- Los cúmulos sub-micrométricos obtenidos por el método hidrotermal se formaron por aglomeración de nanopartículas primarias de 19-26.3 nm de tamaño. El tamaño de los cúmulos grandes varía de manera inversa al tamaño promedio de las nanopartículas primarias que las conforman.
- Todas las muestras sintetizadas por el método 2 presentaron comportamiento superparamagnético, con una magnetización de saturación hasta de 77.4 emu/g, lo que es de vital importancia para su aplicación en el campo biomédico como en la entrega dirigida de medicamentos.

- Por medio del método sol-gel (método 3), utilizando CTAB como template suave, se lograron obtener nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con diferentes espesores de las capas de sílice mesoporoso, controlando únicamente la concentración del precursor de silicio (TEOS).
- Las nanoestructuras compuestas $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ poseen alta capacidad de cargar fármaco, pueden almacenar hasta 954 mg/g_{muestra}; además pueden liberar hasta 80% de este fármaco cargado previamente en un medio similar al medio sanguíneo del cuerpo humano. La razón de liberación de fármaco depende del espesor de la capa mesoporosa del sílice.
- El recubrimiento de sílice mesoporoso sobre las nanoestructuras de magnetita no afecta su biocompatibilidad, pero apoya para almacenar fármaco y evita su agregación o aglomeración, para ser utilizado en entrega de fármaco en cuerpo humano de manera dirigida.
- Por todo lo anterior, las muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ sintetizadas en este trabajo de investigación tienen potencial para ser aplicadas en sistemas de entrega dirigida de medicamentos.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Fotografía de un mineral de magnetita	9
Figura 1.2 Estructura cristalina FCC en forma de espinel inversa correspondiente a la magnetita (Fe_3O_4).	10
Figura 1.3 (a) Esquema representativo del momento magnético de un material ferromagnético y un material superparamagnético [...]	11
Figura 2.1 Concepto de entrega de medicamento dirigida magnéticamente	14
Figura 3.1 Presentación esquemática del proceso de co-precipitación para obtener nanopartículas de óxidos metálicos	26
Figura 3.2 Esquema de síntesis de magnetita utilizando el método de co-precipitación asistido por tratamiento hidrotermal (muestra C-1)	28
Figura 3.3 Esquema de síntesis de magnetita utilizando el método hidrotermal	30
Figura 3.4 Esquema general de síntesis de óxidos mesoporosos	32
Figura 3.5 Variación de la conformación del surfactante con la concentración en un solvente polar	34
Figura 3.6 Esquema de síntesis de las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$	35
Figura 3.7 Esquema representativo de la carga de ibuprofeno sobre las nanoestructuras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$	37
Figura 3.8 Esquema para la preparación de un fluido corporal simulado, SBF	38
Figura 4.1 Señales generadas por la interacción del haz de electrones y la muestra, y las regiones donde se puede detectar	45
Figura 4.2 Diagrama esquemático del microscopio electrónico de barrido	48
Figure 4.3 Diagrama esquemático de un microscopio electrónico de transmisión	49
Figura 4.4 Difracción de Bragg por planos cristalinos. La diferencia de caminos entre los haces 1 y 2 es $SQ + QT = 2PQ \sin \theta$	51

Figura 4.5 Arreglo geométrico de un difractómetro de rayos-X	52
Figura 4.6 Diagrama de los procesos de dispersión infrarroja, Raleigh y Raman	55
Figura 4.7 Distintos modos de vibración de una molécula triatómica	56
Figura 4.8 Energía a la que se encuentran los modos de vibración de los enlaces entre átomos más comunes	57
Figura 4.9 Representación esquemática de los componentes de un espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	58
Figura 4.10 Curvas de magnetización típicas de un material (a) diamagnético, (b) paramagnético o antiferromagnético y (c) ferro/ferrimagnético	60
Figura 4.11 Esquema general del magnetómetro de muestra vibrante	62
Figura 4.12 Etapas de fisisorción de un gas (N_2) en un sólido, con el aumento de la presión	63
Figura 4.13 A) Tipos de isothermas de adsorción. B) tipos de histéresis	64
Figura 4.14 Método BJH, ecuaciones involucradas en la determinación de la distribución de tamaño de poro	67
Figura 4.15 Pérdidas por reflexión y dispersión de un haz de luz que incide sobre un analito	68
Figura 4.16 Atenuación de una radiación con una potencia inicial P_0 por una disolución que contiene c moles por litro de solución absorbente y con un camino óptico de b cm. $P < P_0$	69
Figura 4.17 Diseño instrumental de un espectrofotómetro de doble haz.	71
Figura 5.1 Imágenes típicas SEM de Fe_3O_4 sintetizadas a través del método 1. Muestra antes del tratamiento hidrotérmal (a,b). Y posterior al tratamiento hidrotérmal (c,d)	75
Figura 5.2 Histograma de distribución de tamaño correspondiente a la muestra sintetizada por el método 1 (muestra H-1)	76

Figura 5.3 Resultados de la caracterización por EDS correspondientes a las muestras sintetizadas por el método 1. a) Muestra antes del tratamiento y b) después del tratamiento hidrotermal	77
Figura 5.4 Patrón de difracción de rayos-X correspondiente a las muestras sintetizadas mediante el método 1 (a) antes y (b) después del tratamiento hidrotermal	78
Figura 5.5 Espectros micro-Raman de las muestras sintetizadas mediante la metodología 1 (a) antes y (b) después del tratamiento hidrotermal	80
Figura 5.6 Curvas de magnetización típicas de las nanopartículas de magnetita sintetizadas por el método 1. La curva en color negro [...]	81
Figura 5.7 Imágenes típicas de SEM de las muestras a) S-1, b) S-2, c) S-3, d) S-4 y e) S-5. En las imágenes insertadas en cada inciso [...]	83
Figura 5.8 Variación del tamaño de las nanoestructuras de magnetita respecto a la concentración de NaAc utilizado en la síntesis	83
Figura 5.9 Variación de la producción y el tamaño promedio de las partículas primarias respecto a la variación de NaAc utilizado [...]	84
Figura 5.10 Patrones de difracción de rayos-X de las nanoestructuras de magnetita preparadas con diferentes concentraciones de NaAc	85
Figura 5.11 Espectros micro-Raman de las nanoestructuras de magnetita preparadas por el método 2 a diferentes concentraciones de NaAc	87
Figura 5.12 Curvas de magnetización de la nanoestructuras de magnetita sintetizadas por el método 2, con concentraciones [...]	88
Figura 5.13 Imágenes típicas de SEM de las nanoestructuras de Fe ₃ O ₄ (muestra S-3). Su histograma de distribución de tamaño se encuentra como imagen insertada	90

Figura 5.14 Imágenes típicas de TEM de la muestra M-1 sintetizada con una concentración de TEOS de 0.05 mL, mostrando la formación de nanoestructuras $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con un espesor de 15 nm	91
Figura 5.15 Imágenes típicas de TEM de la muestra M-2 sintetizada con una concentración de TEOS de 0.07 mL, mostrando la formación de nanoestructuras $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con un espesor de 25 nm	91
Figura 5.16 Imágenes típicas de TEM de la muestra M-3 sintetizada con una concentración de TEOS de 0.10 mL, mostrando la formación de nanoestructuras $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con un espesor de 40 nm	91
Figura 5.17 Espectro FT-IR de las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ antes del tratamiento con ácido acético (a) y muestras M-1, M-2 y M-3 posterior al tratamiento con ácido acético (b-d)	93
Figura 5.18 Isotermas de adsorción – desorción de nitrógeno obtenidas de las muestras (a) S-3, (b) M-1, (c) M-2 y (d) M-3. La distribución [...]	94
Figura 5.19 Curvas de magnetización de la magnetita y de las muestras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ con diferentes espesores	95
Figura 5.20 Espectro de absorción UV-Vis de las muestras M-1, M-2 y M-3 después de haber sido cargadas con ibuprofeno [...]	96
Figura 5.21 Perfiles de liberación de medicamento correspondientes a las muestra M1/ibu, M2/ibu y M3/ibu	98
Figura 5.22 Comparación del efecto citotóxico de las nanoestructuras magnéticas en células de cáncer de pecho MCF-7 y células [...]	100
Figura A1 Ficha JPCDS No. 89-0691 Correspondiente a la magnetita (Fe_3O_4)	113
Figura A2 Ficha JPCDS No. 39-1346 Correspondiente a la maghetita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)	114

Figura B1 Imagen típica de SEM de alta resolución (HRSEM) correspondiente a la muestra S-1 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 0.9 M	116
Figura B2 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-2 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.05 M	116
Figura B3 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-3 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.2 M	117
Figura B4 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-4 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.35 M	117
Figura B5 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-5 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.5 M	118
Figura B6 Espectro EDS representativo de las muestras sintetizadas a través del método 2. El pico correspondiente al Si es debido al sustrato utilizado para realizar el análisis	118
Figura B7 a) Espectro de absorción UV-Vis de una solución de ibuprofeno/hexano preparada con diferentes [...]	119

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Reactivos utilizados en la síntesis de las diferentes muestras de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$	23
Tabla 5.1 Comparación del tamaño de partícula y propiedades magnéticas de las muestras sintetizadas por el método 1, antes y después de tratamiento hidrotermal	82
Tabla 5.2 Variación del tamaño de nanoestructuras y partículas primarias de Fe_3O_4 crecidas a diferentes concentraciones de NaAc y sus propiedades magnéticas	89
Tabla 5.3 Propiedades de las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$	98

Apéndice A

Figura A1 Ficha JPCDS No. 89-0691 correspondiente a la magnetita (Fe_3O_4).

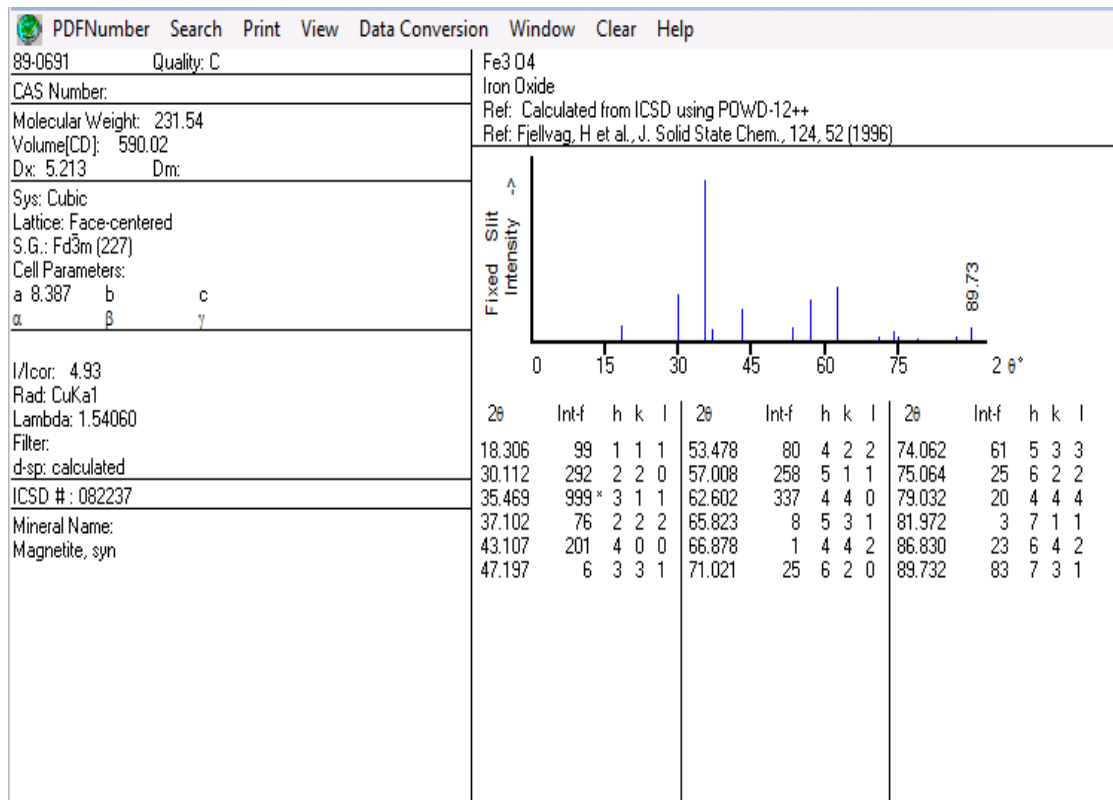
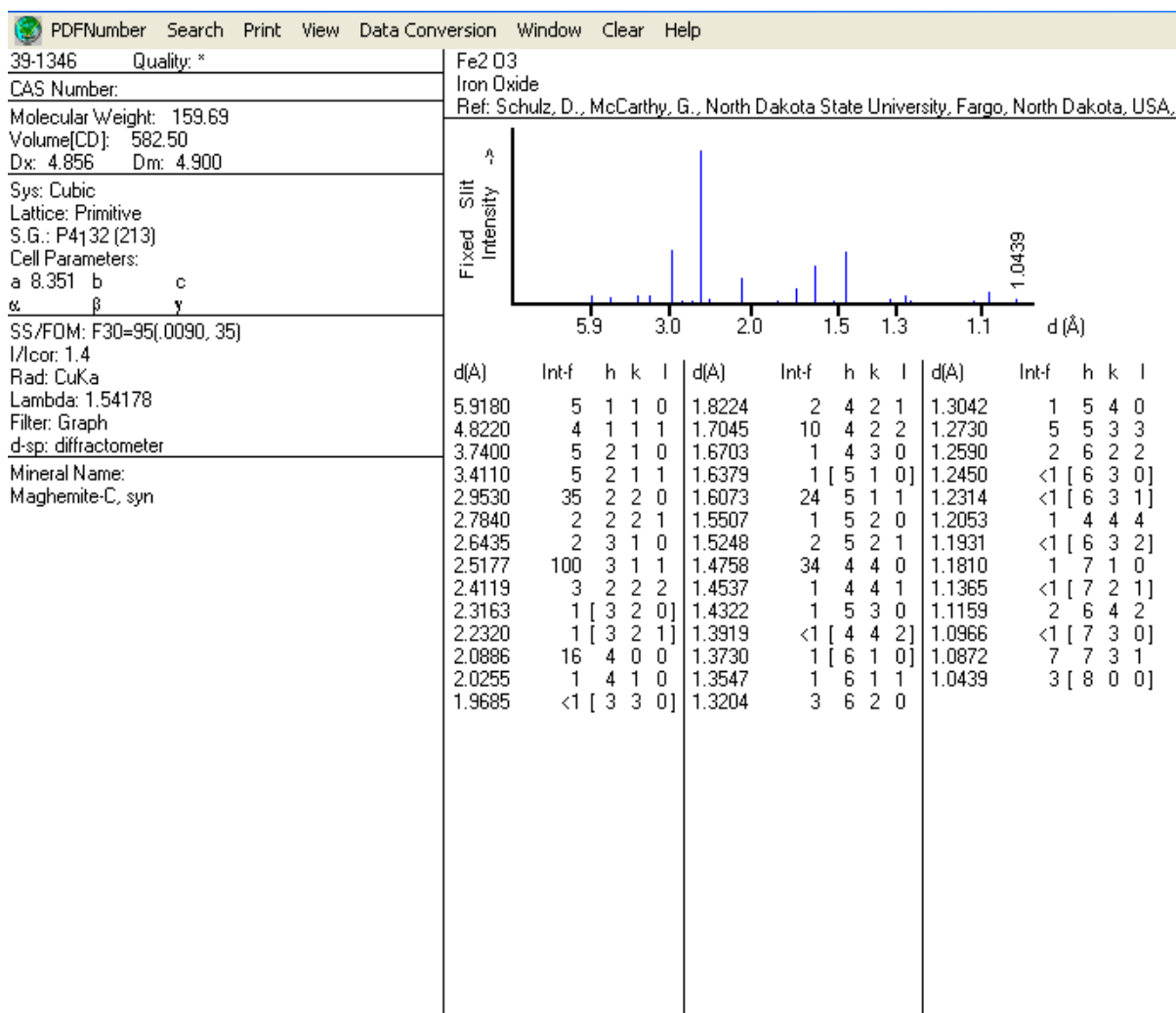


Figura A2 Ficha JPCDS No. 39-1346 correspondiente a la maghetita (γ -Fe₂O₃).



Apéndice B

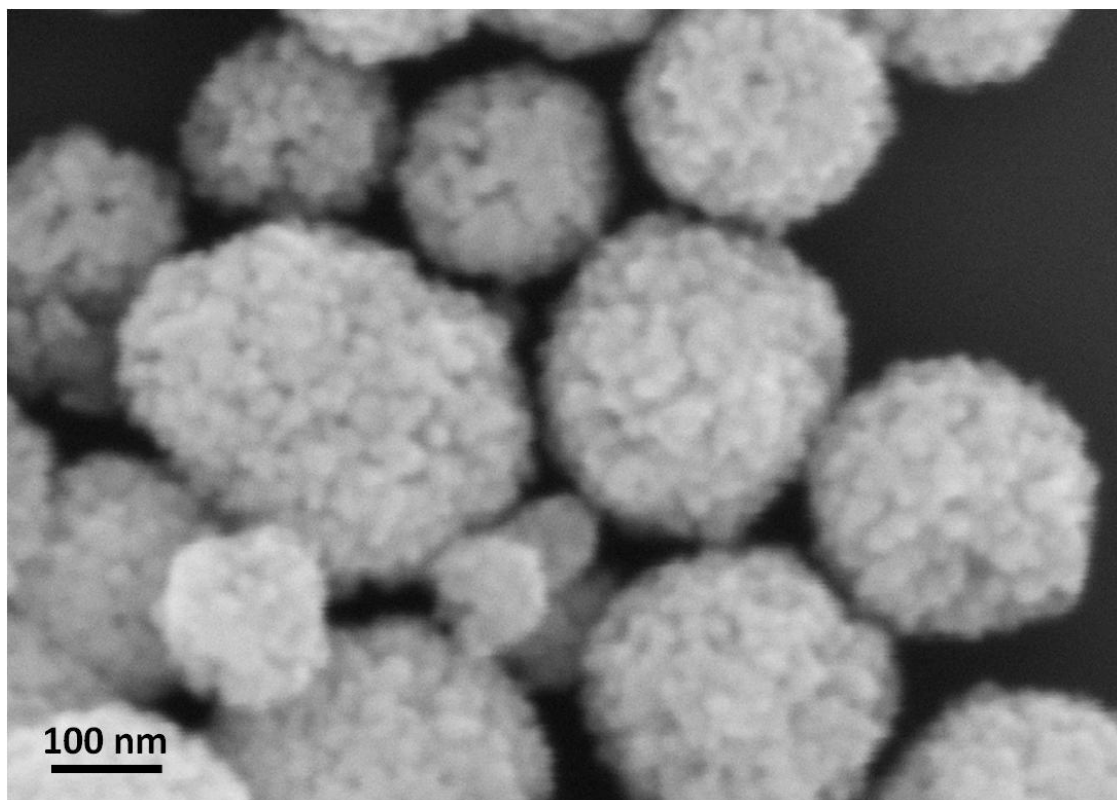


Figura B1 Imagen típica de SEM de alta resolución (HRSEM) correspondiente a la muestra S-1 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 0.9 M.

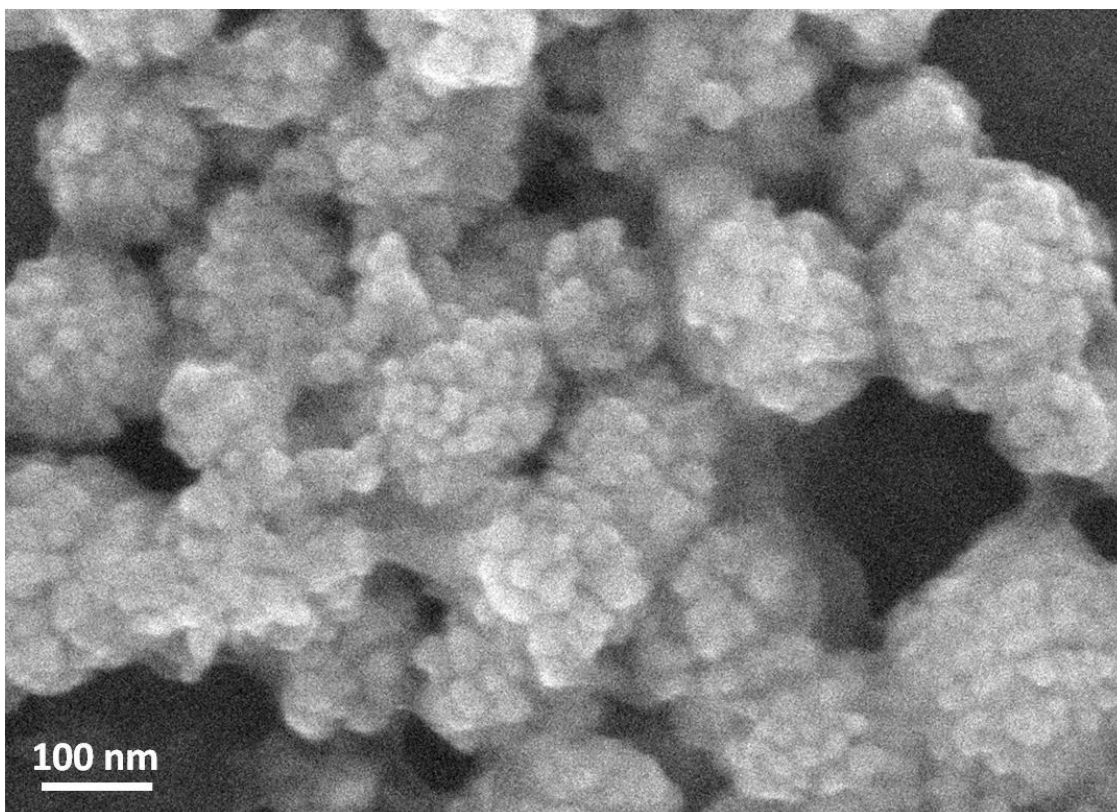


Figura B2 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-2 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.05 M.

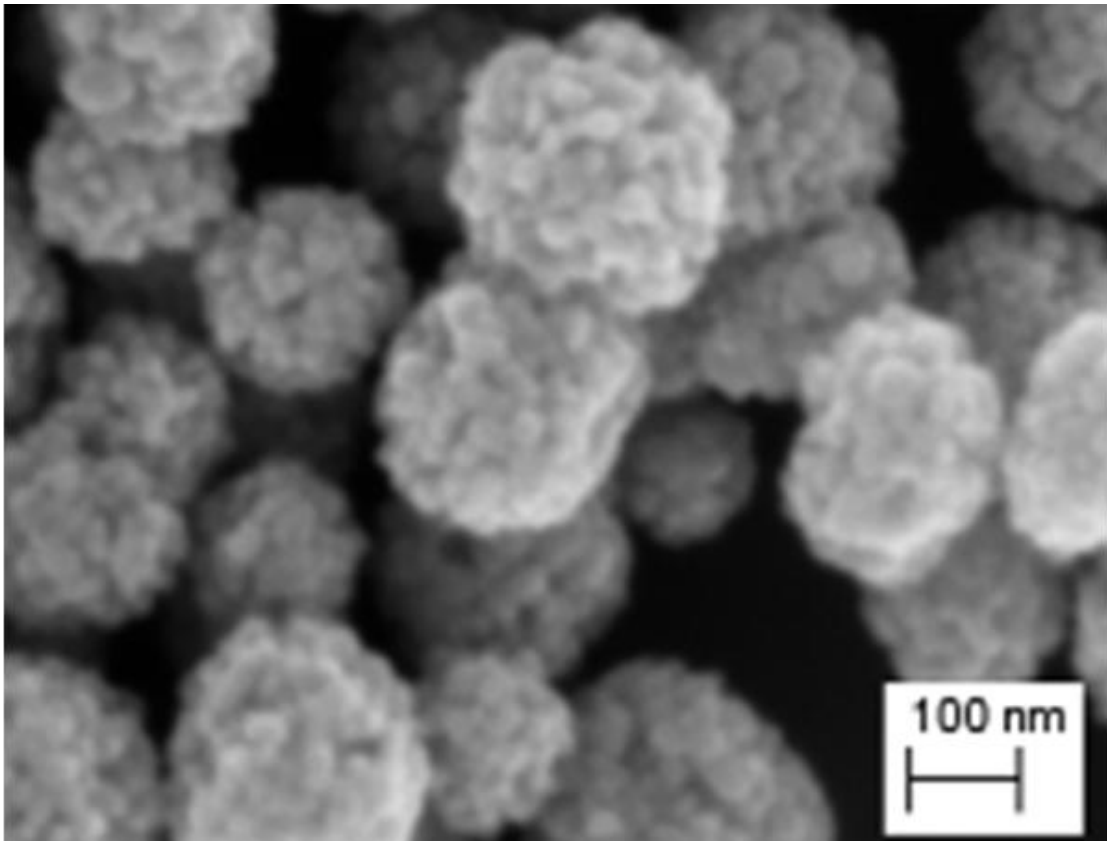


Figura B3 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-3 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.2 M.

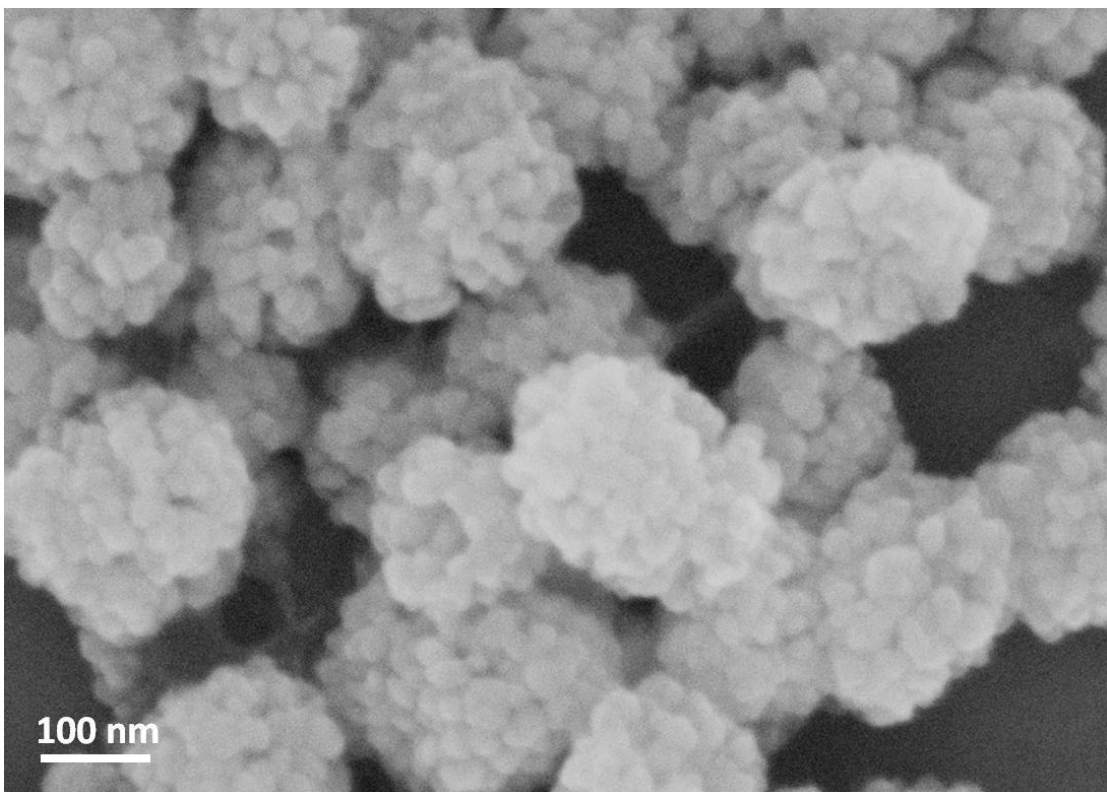


Figura B4 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-4 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.35 M.

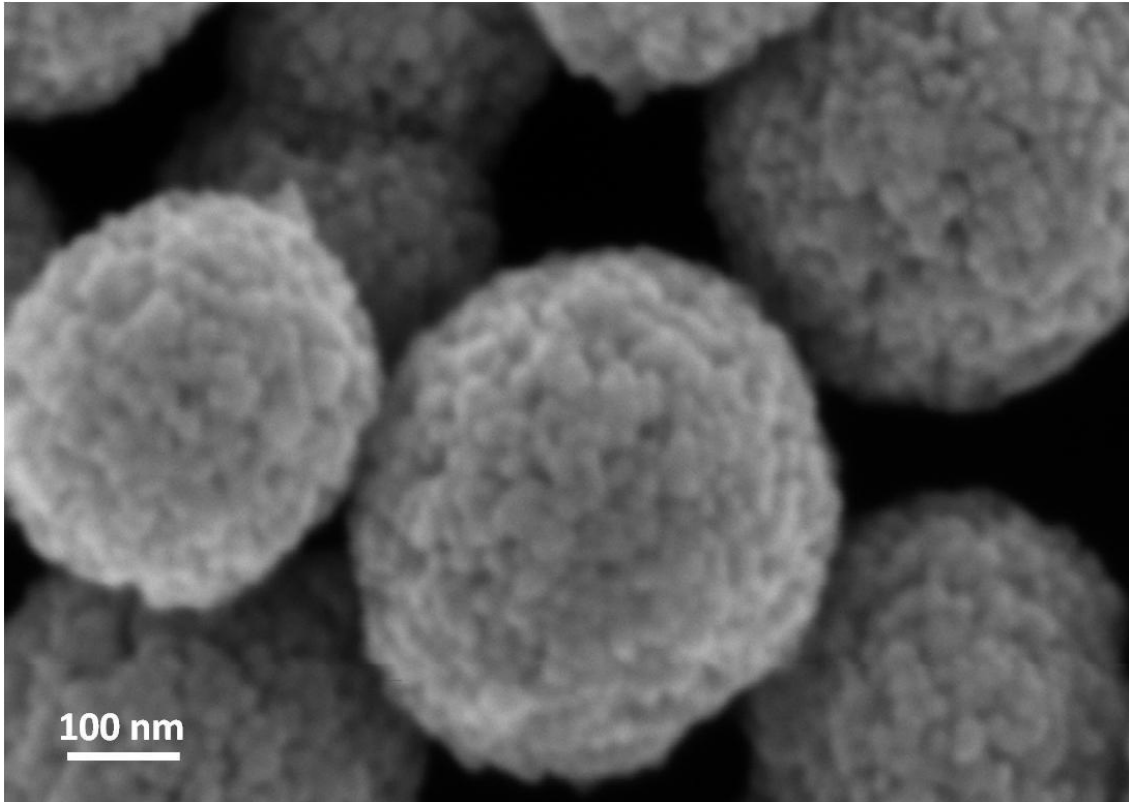


Figura B5 Imagen típica de HRSEM correspondiente a la muestra S-5 sintetizada mediante el método 2 con una concentración de acetato de sodio 1.5 M.

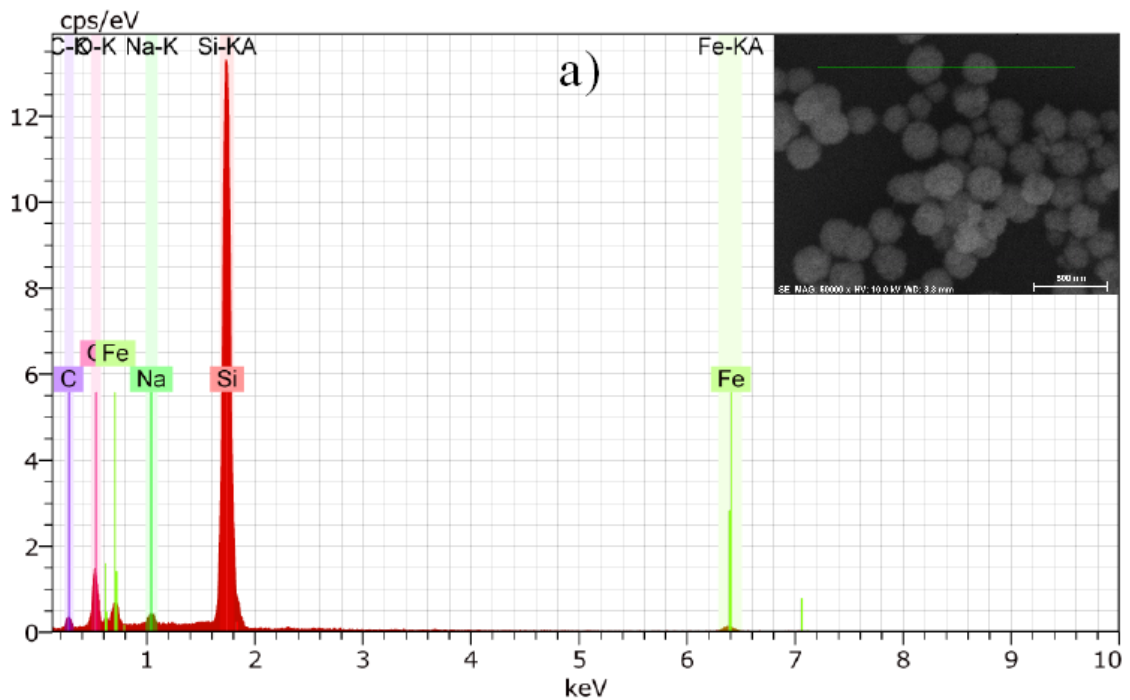


Figura B6 Espectro EDS representativo de las muestras sintetizadas a través del método 2. El pico correspondiente al Si es debido al sustrato utilizado para realizar el análisis.

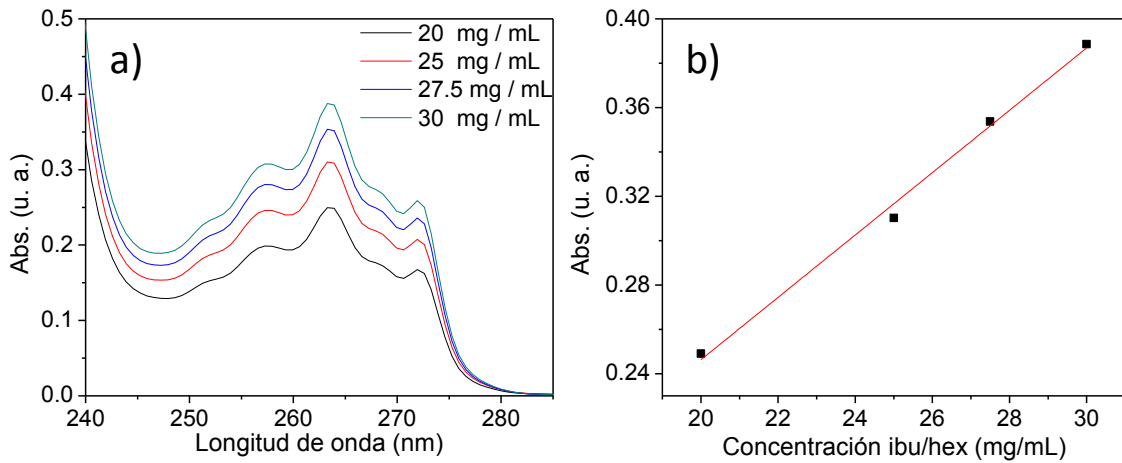


Figura B7 a) Espectro de absorción UV-Vis de una solución de ibuprofeno/hexano preparada con diferentes concentraciones de ibuprofeno, b) perfil de calibración de concentración usado para estimar la capacidad de almacenamiento en las nanoestructuras compuestas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mSiO}_2$.

El perfil de concentración de la figura 7 (b) se preparó usando los datos de la figura 7 (a) considerando la intensidad de la banda de absorción en 263 nm, obteniéndose la siguiente relación (ecuación B-1):

$$A = -0.0348 + 0.0141C \quad \text{Ec. (B-1)}$$

Donde:

$A \rightarrow$ absorbancia.

$C \rightarrow$ concentración de ibuprofeno en mg/mL.

Apéndice C

ARTÍCULOS PUBLICADOS Y TRABAJOS PRESENTADOS EN CONGRESOS

Publicaciones

Sergio I. Uribe Madrid, Umapada Pal, Felix Sánchez-De Jesús, “**Controlling size and magnetic properties of Fe₃O₄ clusters in solvothermal process**”, *Advances in Nano Research*, **2**(4) 187-198 (2014).

S. I. Uribe Madrid, U. Pal, C. L. Gómez Muñoz, “**Fabrication of porous composite nanostructures for drug-delivery applications**”, capítulo de libro *Processing and Fabrication of Advanced Materials-XXI* (ISBN: 978-9382332169) India. Editores; P. S. Robi, N. Bhatnagar, T. S. Srivatsan (I K International Publishing House, Delhi, 2013) Edn. 1, **1**(38), 256-261.

Sergio I. Uribe Madrid, Umapada Pal, Young Soo Kang, Junghoon Kim, Hyungjin Kwon, Jungho Kim, “**Fabrication of Fe₃O₄@mSiO₂ Core-shell Composite Nanoparticles for Drug Delivery Applications**” *Nanoscale Research Letters* (2015) (en revisión)

Umapada Pal, Alberto Sandoval, **Sergio Isaac Uribe-Madrid**, Griselda Corro, Vivek Sharma, Paritosh Mohanty, “**Mixed titanium, silicon, and aluminium oxide nanostructure as novel adsorbent for cationic dye removal**” *Journal of Physical Chemistry C* (2015) (listo para enviar al J. Phys. Chem. C)

Participación en congresos

1. **S. I. Uribe**, U. Pal, “**Effect of hydrothermal treatment on the particle size, cristallinity, and defect structure of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles**”, *NanoMex'11*, 9-11 de noviembre del 2011, Mérida, Yucatán, México (presentación oral).
2. **S. I. Uribe**, U. Pal, “**Caracterización estructural y morfológica de nanopartículas de magnetita (Fe₃O₄) crecidas por el método hidrotermal**”, *NanoMex'12*, 13-15 de junio del 2012, Puebla, México (presentación mural)
3. **Sergio Isaac Uribe Madrid**, Umapada Pal, “**Synthesis and characterization of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles of different sizes**” *XXI International Material Research Congress (IMRC 2012)*, 12-16 de agosto del 2012, Cancún, México (presentación mural).
4. **Sergio Isaac Uribe Madrid**, Umapada Pal, “**Synthesis of Fe₃O₄@m-SiO₂ nanostructures**” *V International Conference on Surfaces, Materials and*

Vacuum, 24-28 de septiembre del 2012, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México (presentación oral).

5. **S. I. Uribe Madrid**, U. Pal, C. L. Gómez Muñoz, “**Fabrication of porous composite nanostructures for drug-delivery applications**”, en *Processing and Fabrication of Advanced Materials (PFAM-XXI)*, 10-13 de diciembre de 2012, Guwahati, India (presentación oral).
6. **Sergio Isaac Uribe Madrid**, Félix Sánchez de Jesús, Umapada Pal, “**Effect of sodium acetate content on the synthesis of magnetite nanoparticles by hydrothermal method**” *VI International Conference on Surface, Materials and Vacuum*, 23-27 de septiembre del 2013, Mérida, Yucatán, México (presentación mural).
7. **Sergio I. Uribe Madrid**, Young Soo Kang, Umapada Pal, “**Synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles coated with mesoporous silica (mSiO₂)**” *Korean Chemical Society Meeting 2014 (KCS'14)*, 16-18 de abril del 2014, Seul, Corea del Sur (presentación mural)
8. **Sergio Isaac Uribe Madrid**, Umapada Pal, Young Soo Kang, Chang Woo Kim, “**Synthesis of Fe₃O₄@mSiO₂ core-shell nanoparticles with different shell thicknesses for target drug delivery applications**” *XXIII International Materials Research Congress (IMRC 2104)*, 17-21 de agosto del 2014, Cancún, México (presentación mural).

Conferencias de divulgación científica

Síntesis de magnetita (Fe₃O₄) de diferentes tamaños para aplicaciones biológicas, impartida el 22 de febrero de 2013 en *Instituto Tecnológico Superior de Tlaxco, México*.

Controlling size and magnetic properties of Fe₃O₄ clusters in solvothermal process

Sergio I. Uribe Madrid¹, Umapada Pal*¹ and Félix Sánchez-De Jesús²

¹Instituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,
Apdo. Postal J-48, Puebla, Pue. 72570, Mexico

²Area Academica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo,
Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, 42184 Pachuca, Hidalgo, Mexico

(Received August 5, 2014, Revised January 13, 2015, Accepted January 14, 2015)

Abstract. Magnetite nanoparticles (MNPs) of different sizes were synthesized by solvothermal process maintaining their stoichiometric composition and unique structural phase. Utilizing hydrated ferric (III) chloride as unique iron precursor, it was possible to synthesize sub-micrometric magnetite clusters of sizes in between 208 and 381 nm in controlled manner by controlling the concentration of sodium acetate in the reaction mixture. The sub-micrometer size nanoclusters consist of nanometric primary particles of 19 - 26.3 nm average size. The concentration of sodium acetate in reaction solution seen to control the final size of primary MNPs, and hence the size of sub-micrometric magnetite nanoclusters. All the samples revealed their superparamagnetic behavior with saturation magnetization (M_s) values in between 74.3 and 77.4 emu/g. The coercivity of the nanoclusters depends both on the size of the primary particles and impurity present in them. The mechanisms of formation and size control of the MNPs have been discussed.

Keywords: magnetite nanoclusters; solvothermal synthesis; size control; magnetic properties

1. Introduction

Synthesis of magnetite nanoparticles (MNPs) has attracted much attention in recent years due to their wide range of applications in different fields such as in magnetic recording (Dai *et al.* 2010), water splitting (Parkinson *et al.* 2011), magnetic resonance imaging (MRI) (Jun *et al.* 2005), targeted drug delivery (Roullin *et al.* 2002), catalysis (Jung *et al.* 2008), etc. However, for each of these applications, MNPs of specific size range, specific magnetic behavior, and surface characteristics are required. For example, MNPs of 10-50 nm size range with superparamagnetic behavior are required for MRI applications (Huh *et al.* 2005, Haw *et al.* 2010, Song *et al.* 2011). On the other hand, for targeted drug delivery and biomedical applications, apart from superparamagnetic nature, MNPs of 100-300 nm size range with high saturation magnetization have been utilized (Berry *et al.* 2003). Although for therapeutic applications, MNPs of a wider size range (5-1200 nm) could be utilized depending on specific usage, the performance of most of the MNP-based drug delivery systems depends on the size and shape of MNPs (Devadasu *et al.* 2013).

*Corresponding author, Professor, E-mail: upal@ifuap.buap.mx

On the other hand, principal characteristics of MNPs required for their catalytic applications are their porosity and high specific surface area (Zhu *et al.* 2011). Most of these characteristics of MNPs depend strongly on the method employed for their synthesis (Iida *et al.* 2007).

Several techniques like thermal decomposition (Park *et al.* 2004), micro-emulsion (Ha *et al.* 2008), sonochemical (Wu *et al.* 2007), sol-gel (Larumbe *et al.* 2012), polyol (Cai and Wan 2007), co-precipitation (Zhao *et al.* 2006) and hydrothermal/solvothermal (Haw *et al.* 2010), have been employed to synthesize MNPs. While every method has its advantages and disadvantages, the latter two are most popular as they produce crystalline MNPs with controlled size and morphology in reasonable cost and good yield. In addition, no post-synthesis heat treatment is required for the MNPs produced by these techniques, especially for the MNPs prepared by hydrothermal/solvothermal technique; which made this method highly desirable as any post-synthesis heat treatment might result in particle agglomeration (Devadasu *et al.* 2013), along with a change in their magnetic behaviors.

In thermal decomposition synthesis, frequently iron pentacarbonyl (FeCO_5) is used as iron precursor (Park *et al.* 2005), which is toxic and expensive. Some researchers (Chin *et al.* 2011) have also reported the use of non-toxic organic precursors for thermal decomposition. However, in both the cases, synthesized MNPs were below 10 nm size. Using sonochemical method, Marchegiani *et al.* (2012) could synthesize MNPs in 10 - 30 nm size range, with saturation magnetization lower than 75 emu/g. On the other hand, using sol-gel and micro-emulsion techniques, Larumbe *et al.* (2012) and Liu *et al.* (2004) could synthesize MNPs of about 7.5 and 10 nm average size, respectively. However, Cai and Wan (2007) could tune the size of MNPs in between 5 and 40 nm in their polyol synthesis process.

As can be noted, while thermal decomposition, sol-gel and micro-emulsion techniques can produce homogeneous MNPs of sizes below 10 nm, sonochemical and polyol synthesis can produce MNPs of relatively bigger sizes, although the size dispersion in the MNPs produced by latter methods is often higher.

The solvothermal process normally produces MNPs of bigger sizes in the range of 250-400 nm, mostly as agglomerate of smaller particles of 9-30 nm sizes, due to their high surface energy and strong effective surface tension. As these bigger agglomerated clusters contain closely packed MNPs of smaller sizes, they manifest strong superparamagnetic behaviors and high saturation magnetization, which are essential requirements for several biomedical applications. As has been stated earlier, MNPs of a wide size-range are useful for biomedical applications depending on their specific usage. Therefore, synthesis of superparamagnetic MNP clusters with controlled size and size dispersion in the 200-500 nm size range is a big challenge for their biomedical and therapeutic applications. Using solvothermal process, recently Kumar *et al.* (2013) prepared monodispersed MNPs of different sizes by varying the concentration of iron precursor in reaction mixture. Using dodecylamine as surfactant and ethylene glycol as solvent, Chen *et al.* (2012) could prepare relatively bigger MNPs (300-700 nm average sizes) through solvothermal process. Through solvothermal process, Xuang *et al.* (2011) could prepare MNPs of wider size range (50-200 nm), utilizing poly (acrylic acid) spheres as template. However, the saturation magnetization M_s of their nanoparticles were relatively low. Solvothermal synthesis of highly monodispersed superparamagnetic MNPs of about 300 nm average size and $M_s > 80$ emu/g has been reported by Xu *et al.* (2010) using sodium acetate (NaAc) as precipitating agent and ethylene glycol (EG) as solvent. Although several routes and a variety of solvents, surfactants, and precipitating agents have been utilized to synthesize MNPs of different sizes and different surface properties, controlling their size, dispersion, and magnetic behaviors remain a great challenge for their practical

applications.

In this article, we report the synthesis of hydrophilic MNPs through a low temperature sodium acetate mediated solvothermal process, where both their size and magnetic behaviors could be controlled by controlling reaction conditions. We demonstrate that the size of the magnetite clusters can be controlled in between 208 and 381 nm using single iron (III) chloride precursor, just by controlling the molar ratio of iron precursor and sodium acetate in the reaction mixture.

2. Materials and methods

2.1 Chemicals & solvent

Ferric chloride hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 97%) and anhydrous sodium acetate (NaAc) (CH_3COONa , 99.9%) were obtained from Sigma-Aldrich, USA. Ethylene glycol (EG, $C_2H_6O_2$, 99.7 %) was purchased from J. T. Baker, Mexico. *E*-pure deionized (DI) water ($\rho > 18.2 \Omega \cdot cm$) was used as solvent for washing. All the chemicals were of analytical grade and used as received.

2.2 Solvothermal synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles

In a typical synthesis process, first a 0.6M $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ solution was prepared by dissolving 1.621 g of $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ in 10 mL of EG. The solution was added to 40 mL of EG in a two-necked round bottom flask under Ar flow and magnetic agitation. After 30 min of stirring, 10 mL of sodium acetate solution of a particular molar concentration (0.9 M - 1.5 M, using EG as solvent, M represents mol/L) was added to the previous mixture under vigorous magnetic stirring. The stirring process was continued for another 3 h and then the mixture was transferred to a Teflon-lined stainless steel autoclave and heated at 190°C for 24 h. Finally the autoclave was cooled down to room temperature and the product was magnetically separated, washed with water and ethanol several times, dried at 65°C for 12 h and stored under Ar atmosphere. All the synthesized samples (MNPs) were highly hydrophilic, and therefore, could be dispersed in water very easily.

2.3 Characterization of MNPs

Field emission high-resolution scanning electron microscopy (FE-HRSEM; Zeiss Auriga 3916) and high resolution transmission electron microscopy (HRTEM; JEM-ARM200F) were used to determine the size and morphology of the synthesized nanoclusters. Crystalline phase of the nanostructures was studied by X-ray diffraction (XRD) using the CuK_{α} emission ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) of a Bruker Discover D8 diffractometer. Room temperature Raman spectra of the samples were collected using a microRaman system (Horiba JOBIN-YVON spectrophotometer) utilizing a He-Ne laser ($\lambda = 532.6 \text{ nm}$) excitation source and a thermoelectrically cooled charge-coupled device (CCD). A MicroSense EV7 vibrating sample magnetometer (VSM) was used to record the room temperature (RT) magnetization curve of the nanostructures. To determine the specific surface area of the magnetite clusters, their N_2 adsorption-desorption isotherms at 77K were recorded using Belsorp-Mini II (BEL Japan, Inc) analyzer. The samples were degassed at 150°C for 6 h in vacuum prior to the measurements.

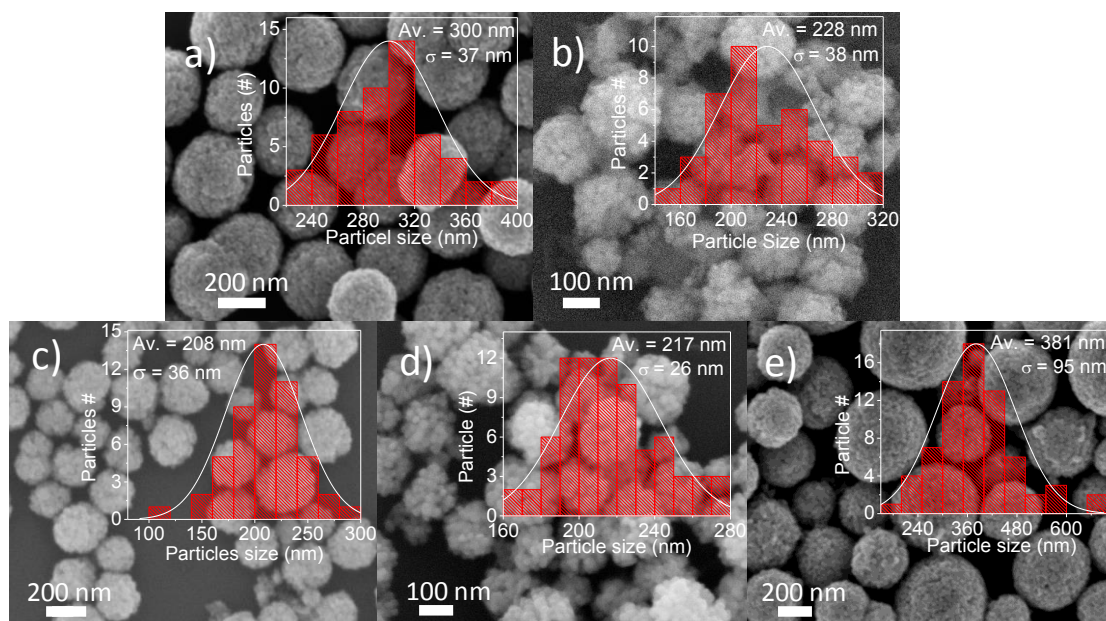


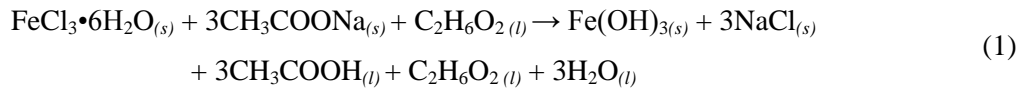
Fig. 1 Typical SEM images of Fe_3O_4 clusters prepared with (a) 0.9M, (b) 1.05M, (c) 1.2M, (d) 1.35M, (e) 1.5M concentrations of sodium acetate in the reaction mixture. The insets present the size distribution histograms of the corresponding magnetite clusters

3. Results and discussion

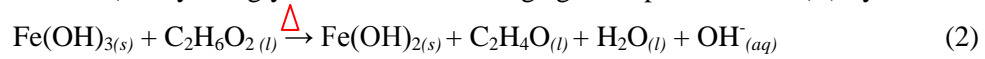
Fig. 1 shows the typical SEM images of the magnetite samples prepared at different sodium acetate concentrations. All the samples revealed the formation of spherical clusters of sub-micrometer sizes made of nanometer size primary particles, indicating their formation through agglomeration of smaller units. From the size distribution histograms of the clusters (presented as insets of the corresponding SEM images), it is clear that their final size depends on the concentration of sodium acetate in reaction mixture (Fig. 2). Using high-resolution SEM images of the clusters, the average size of the constituting smaller particles (primary particles here after) in the clusters of each sample could be estimated (see Fig. 3 and Fig. S1-S5 of the supplementary information). As can be seen, both the average size of the sub-micrometric clusters and average size of the nanometric primary particles vary with the concentration of sodium acetate in reaction mixture. While the size variation of the primary particles with the variation of sodium acetate concentration can be understood from the mechanism of reactions occurred during the solvothermal process (discussed later), the size variation of the sub-micrometer clusters is seen to depend on the size of primary particles. As can be seen from Figs. 2, 3, the size of the sub-micrometer clusters and their constituting primary particles vary oppositely. As the surface energy of smaller primary particles is higher than the bigger ones, the probability of their agglomeration is higher; and hence, a larger number of smaller primary particles agglomerate to form bigger clusters, and vice versa. However, agglomeration of magnetic particles in solution containing surfactant is controlled not only by their surface energy, but also by van der Waals, electrostatic, and magnetic-dipole forces, along with non-DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) steric repulsion (Ching *et al.* 2002).

Although there exist many reports on the reaction mechanism involved in the formation of magnetite in the thermal decomposition (Ravikumar *et al.* 2011), co-precipitation (Mascolo *et al.* 2013), polyol (Cha *et al.* 2013) and other processes, the reaction mechanism involved in solvothermal synthesis of MNPs is not yet clear. Considering the reducing behavior of EG at high temperatures in the polyol process (Blin *et al.* 1989), the reaction involved in the solvothermal process while using FeCl₃•6H₂O as unique iron precursor can be expressed as follows.

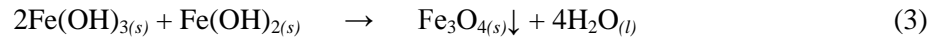
Initially when we dissolve iron (III) chloride and sodium acetate in ethylene glycol, the Fe(OH)₃ is produced following the reaction



On heating the reaction mixture at high temperature (190°C, which is close to the boiling point of ethylene glycol, 197°C), ethylene glycol acts as a reducing agent to produce iron (II) hydroxide



Finally, these iron (III) and iron (II) hydroxides react in 2:1 molar ratio at higher temperature (190°C) to form magnetite nanostructures following the reaction



In fact, the concentration of sodium acetate in reaction mixture determines the size of primary particles, and hence the final size of the magnetite clusters, as has been proposed by Yu and Kwak (2011) for their solvothermally synthesized metal ferrites. A higher concentration of sodium acetate in reaction mixture produces iron (III) hydroxide in higher concentration, which during solvothermal process reacts with iron (II) hydroxide, producing magnetite nanostructures with yield in between 6-50% (Fig. 3). While the production yield of magnetite increases linearly with the increase of sodium acetate concentration in the reaction mixture, after a critical concentration, the size of the primary MNPs decreases (Fig. 3).

The size reduction of the primary MNPs at very high concentrations of sodium acetate is expected, as the production of Fe(OH)₃ is very high for high sodium acetate concentration. While both the nucleation and growth rate of primary MNPs increase initially on increasing the Fe(OH)₃ in the reaction mixture, and hence increasing their average size and the production yield. Presence of excessive Fe(OH)₃ in the reaction mixture (in excess of Fe³⁺ ions) will generate a dielectric double-layer around the primary particles, restricting their further growth. Therefore, the used sodium acetate not only acts as a precipitating agent, but also as protecting agent of the primary MNPs. As both the nucleation and growth rate of the primary particles are very high for a high sodium acetate concentration, they become more dispersed in size, as has been observed in our SEM analysis (Fig. 2). However, generation of Fe(OH)₃ in excess in the reaction mixture for high sodium acetate concentration (which form the protecting layer around the primary particles) improve their size dispersion by restricting further growth.

The magnetization curves (M vs. H curves) for the samples synthesized at 0.9, 1.2, and 1.5M concentrations of sodium acetate are shown in Fig. 4. All the samples revealed superparamagnetic behavior with saturation magnetization (M_s) varying in-between 74.3 and 77.4 emu/g. The values are higher than the M_s values reported by several research groups for the MNPs prepared by different synthesis techniques (Iida *et al.* 2007, Park *et al.* 2004, Zhao *et al.* 2006, Sun *et al.* 2009). It should be noted that the M_s reported for bulk magnetite is about 92 emu/g (Han *et al.* 1994). Though the saturation magnetization as high as 81 emu/g has been reported by some researchers

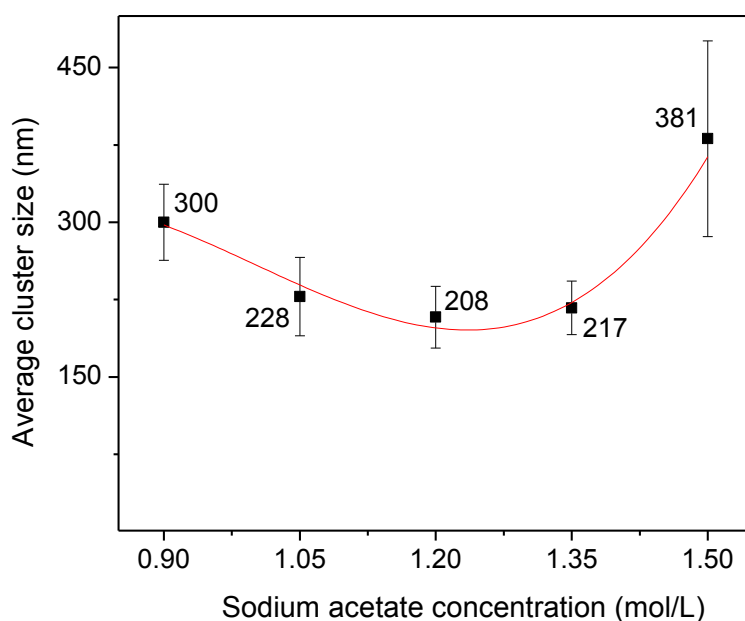


Fig. 2 Variation of magnetite cluster size with the concentration of sodium acetate in reaction mixture

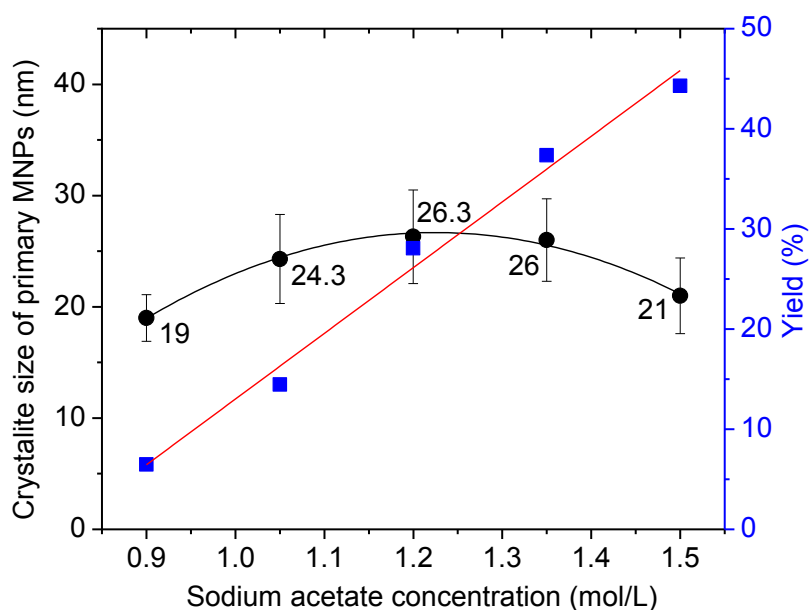


Fig. 3 Variation of production yield and average crystallite size of the primary MNPs with the variation of sodium acetate concentration in the reaction mixture

(Hu *et al.* 2009, Deng *et al.* 2005, Xu *et al.* 2010, Deng *et al.* 2008) for the MNPs synthesized by hydrothermal/solvothermal technique, their process temperature was higher (200°C) than the temperature (190 °C) we used for solvothermal treatment. The MNPs prepared at higher hydrothermal/solvothermal temperature have better crystallinity. As can be seen from the HRTEM

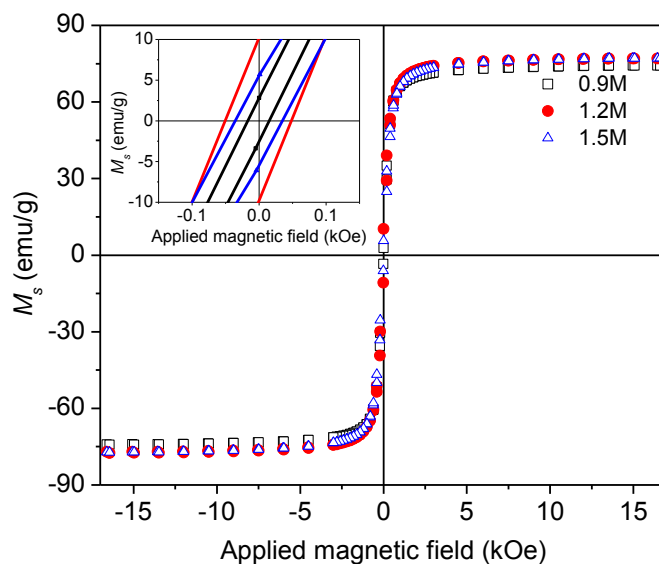


Fig. 4 Magnetization curves for the magnetite clusters synthesized with sodium acetate concentration of 0.9M, 1.2M and 1.5M in the reaction mixture

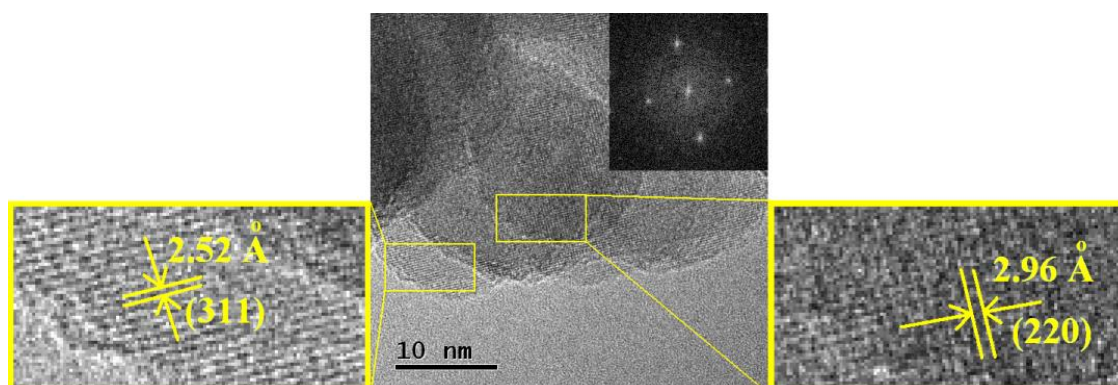


Fig. 5 Representative HRTEM images of a magnetite cluster synthesized with sodium acetate concentration of 1.2M. Clear lattice fringes in the high-resolution image clearly demonstrate good crystallinity of the primary MNPs

image of our samples presented in Fig. 5, all the primary MNPs in the clusters are highly crystalline, though not of single-crystalline nature. Therefore, we believe, the lower M_s values in our samples is associated to arbitrary orientation of the magnetic domains and the presence of NaCl as impurity formed during the reaction, which was not removed completely during washing. While a higher M_s for the MNPs grown at higher temperature is well known (Guardia *et al.* 2007), the effect of NaCl impurity was verified by measuring the EDS spectra of a sample after repeated washing (Fig. S6 of SI). As can be seen from the inset of the Fig. 4 and Table 1, the coercivity of our samples prepared with different concentrations of sodium acetate vary in between 15 and 49 Oe. Though most of the published works do not report the coercivity values for their synthesized MNPs, Zhu and Diao (2011) have reported a coercivity of 35.5 Oe for their magnetite clusters

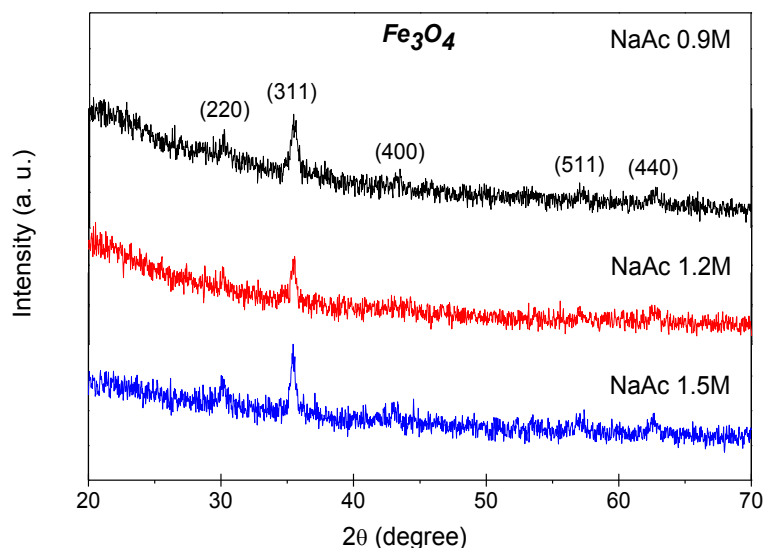


Fig. 6 XRD patterns of the magnetite clusters prepared with different concentrations of sodium acetate in the reaction mixture

Table 1 Particle and grain size variation of magnetite nanoparticles grown at different synthesis conditions

Sample	Sodium acetate conc. (mol/L)	SEM estimated av. cluster size (nm)	HRSEM estimated av. primary particle size (nm)	XRD estimated av. grain size (nm)	M_s (emu/g)	H_c (Oe)
Fe_3O_4	0.9	300	19	14	74.3	15
	1.05	228	24.3	15.4	77.3	27
	1.2	208	26.3	20.5	77	48
	1.35	217	26	18.1	76	49
	1.5	381	21	17.8	77.4	35

consisting 12 nm primary nanoparticles. Again, the fluctuation of coercivity in our samples can be associated to the presence of NaCl as impurity.

Fig. 6 shows the XRD patterns of the Fe_3O_4 clusters prepared at different sodium acetate concentrations. As can be seen, all the samples revealed diffraction peaks associated to magnetite in cubic phase (PDF #89-0691). The average crystallite size in the clusters was estimated through Debye-Scherrer equation ($D=0.9\lambda/\beta\cos\theta$) using the most intense (311) diffraction peak of the samples (Table 1), where D is the crystallite size, λ is the radiation wavelength ($CuK_{\alpha}=0.15406$ nm), θ is the diffraction peak angle, and β is the full width at half maximum (FWHM) of the diffraction peak. From the Table 1, we can see that the crystallite size of the samples depend strongly on the concentration of sodium acetate, which vary in between 19 and 26.3 nm.

We must recognize that the XRD pattern of standard Fe_3O_4 (magnetite) is very similar to the standard $\gamma-Fe_2O_3$ (maghemite) sample, with only difference of two low intensity peaks appearing at about 23.7 and 26.1 degrees in the later. However, these diffraction peaks are not present in our samples (Fig. 6). However, as the intensity of these peaks in XRD pattern of maghemite generally appear in very low intensities, we cannot exclude the possibility of the presence of $\gamma-Fe_2O_3$ in our samples considering their XRD patterns only. To verify the phase pure nature of our samples, we

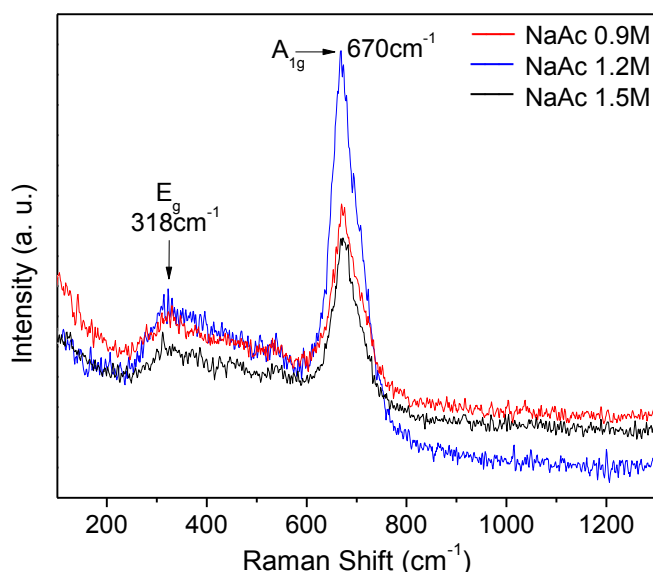


Fig. 7 Room temperature micro Raman spectra of the magnetite clusters prepared at different sodium acetate concentrations in reaction mixture

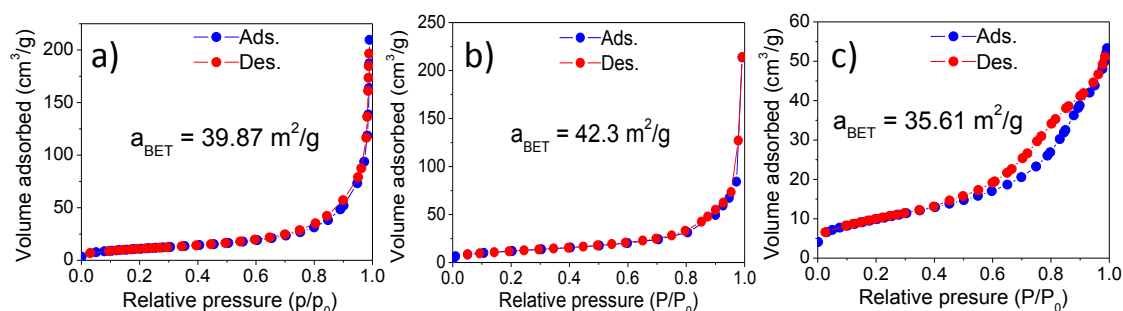


Fig. 8 N_2 adsorption–desorption isotherms of the magnetite clusters prepared with (a) 0.9M, (b) 1.2M, (c) 1.5M concentrations of sodium acetate in the reaction mixture

recorded their Raman spectra at room temperature.

To confirm the structural phase of the synthesized nanostructures, we analyzed all the samples by microRaman spectroscopy at room temperature (Fig. 7). All the samples revealed an intense peak centered around 670 cm^{-1} , which corresponds to the A_{1g} mode (Fe-O symmetric stretching) of pure Fe_3O_4 . The low intensity Raman peak appeared at about 318 cm^{-1} corresponds to the E_g mode (Fe-O symmetric bending) of Fe_3O_4 (Degiori *et al.* 1987, Legodi and Waal 2007). Absence of any Raman peak near 700 , 500 or 350 cm^{-1} , which correspond to the phonon modes of $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (De Faria *et al.* 1997), indicates all the samples we prepared are of pure Fe_3O_4 phase. The observation is also in good agreement with the proposed mechanism that favors the formation of magnetite over the $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles in the presence of excess EG, which guarantee the reduction of Fe^{3+} to Fe^{+2} keeping their concentration ratio 2:1 in the reaction mixture necessary for producing magnetite.

The specific surface area of the porous magnetite clusters prepared with 0.9, 1.2, and 1.5 M

concentrations of sodium acetate have been studied by recording their N₂ adsorption-desorption isotherms at 77K (Fig. 8). From Fig. 8, we can see that all the samples revealed characteristics of both type II and type IV porous materials (IUPAC classification) (Sing *et al.* 1985). As the magnetite clusters are formed by the interconnected primary particles of about 20 nm size, without following any order, both type II and type IV characteristics of the isotherms indicate the mixed macro- and mesoporous nature of the samples with inhomogeneous pore size distribution. The BET estimated specific surface area of the clusters prepared with 0.9, 1.2, and 1.5 M concentrations of sodium acetate were of 39.87, 42.3 and 35.61 m²/g, respectively.

4. Conclusions

In summary, we could synthesize magnetite nanoclusters of different sizes in controlled manner through solvothermal process, maintaining their stoichiometric composition and unique structural phase. By varying the concentration of precipitating agent (sodium acetate) in the reaction mixture, the size and morphology of the nanoclusters could be controlled in between 208 and 381 nm, utilizing FeCl₃•6H₂O as unique iron precursor and ethylene glycol as solvent. The sub-micron size magnetite clusters are formed by the agglomeration of smaller primary nanoparticles of 19-26.3 nm sizes. While the size of sub-micrometer magnetite clusters depends on the average size of primary nanoparticles, their surface energy and aggregation behaviors, their magnetic properties depend on the size of primary particles and impurity content. While an increase of sodium acetate concentration in the reaction mixture enhances the production yield of the magnetite clusters linearly, sodium acetate concentration higher than an optimum value reduces the size of primary nanoparticles.

Acknowledgements

The work has been carried out with the financial helps extended by VIEP-BUAP and CONACyT, Mexico, through the project grants # VIEP/EXC/2014 and CB-2010/151767, respectively. Authors are thankful to the Advance Electronic Nanoscopy Laboratory, CINVESTAV, Mexico, for extending SEM facility.

References

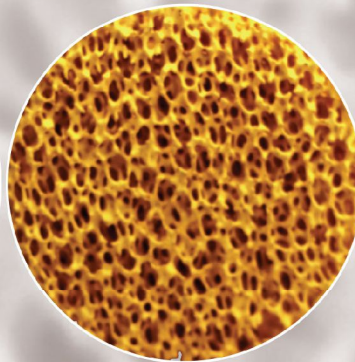
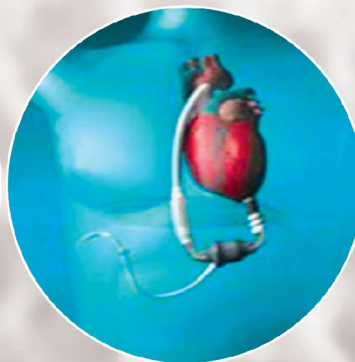
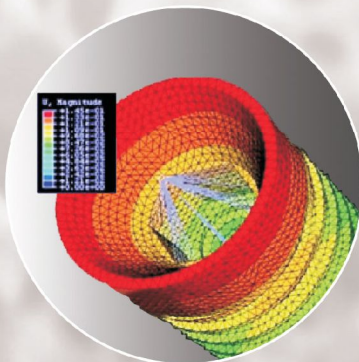
- Berry, C.C. and Curtis, A.S.G. (2003), "Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **36**(13), R198-R206.
- Blin, B., Fievet, F., Beaupere, D. and Filglarz, M. (1989), "Oxydation duplicative de l'éthylène glycol dans un nouveau procédé de préparation de poudres métalliques", *Nouv. J. Chim.*, **13**, 67-72.
- Cai, W. and Wan, J. (2007), "Facile synthesis of superparamagnetic magnetite nanoparticles in liquid polyols", *J. Colloid Interf. Sci.*, **305**(2), 366-370.
- Cha, J., Lee, J.S., Yoon, S.J., Kim, Y.K. and Lee, J.K. (2013), "Solid-state phase transformation mechanism for formation of magnetic multi-granule nanoclusters", *RSC Adv.*, **3**(11), 3631-3637.
- Chen, Y., Xia, H., Lu, L. and Xue, J. (2012) "Synthesis of porous hollow Fe₃O₄ beads and their application in lithium ion batteries", *J. Mater. Chem.*, **22**, 5006-5012.
- Chin, S.F., Pang, S.C. and Tan, C.H. (2011), "Green synthesis of magnetite nanoparticles (via thermal

- decomposition method) with controllable size and shape”, *J. Mater. Environ. Sci.*, **2**(3) 299-302.
- Ching, C.J., Yiacomini, S. and Tsouris, C. (2002), “Agglomeration of magnetic particles and breakup of magnetic chains in surfactant solutions”, *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspect.*, **204**(1-3), 63-72.
- De Faria, D.L.A., Venancio Silva, S. and de Oliveira, M.T. (1997), “Raman microspectroscopy of some iron oxides and oxyhydroxides”, *J. Raman Spectrosc.*, **28**(11), 873-878.
- Dai, Q., Berman, D., Virwani, K., Frommer, J., Jubert, P.O., Lam, M., Topuria, T., Imaino, W. and Nelson, A. (2010), “Self-assembled ferrimagnet-polymer composites for magnetic recording media”, *Nano Lett.*, **10**(8), 3216-3221.
- Degiorgi, L., Blatter-Mörke, I. and Wachter, P. (1987), “Magnetite: phonon modes and the Verwey transition”, *Phys. Rev. B*, **35**(11), 5421-5424.
- Deng, H., Li, X., Peng, Q., Wang, X., Chen, J. and Li, Y. (2005), “Monodisperse magnetic single-crystal ferrite microspheres”, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**(18), 2782-2785.
- Deng, Y., Qi, D., Deng, C., Zhang, X. and Zhao, D. (2008), “Superparamagnetic high-magnetization microspheres with a Fe₃O₄@SiO₂ core and perpendicularly aligned mesoporous SiO₂ shell for removal of microcystins”, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**(1), 28-29.
- Devadasu, V.R., Bhardwaj, V. and Ravi Kumar, M.N.V. (2013), “Can controversial nanotechnology promise drug delivery?”, *Chem. Rev.*, **113**(3), 1686-1735.
- Guardia, P., Batlle-Brugal, B., Roca, A.G., Iglesias, O., Morales, M.P., Serna, C.J., Labarta, A. and Batlle, X. (2007), “Surfactant effects in monodisperse magnetite nanoparticles of controlled size”, *J. Magn. Magn. Mater.*, **316**(2), e756-e759.
- Ha, N.T., Hai, N.H., Luong, N.H., Chau, N. and Chinh, H.D. (2008), “Effects of the conditions of the microemulsion preparation on the properties of Fe₃O₄ nanoparticles”, *VNU J. Sci. Natl. Sci. Technol.*, **24**, 9-15.
- Han, D.H., Wang, J.P. and Luo, H.L. (1994), “Crystallite size effect on saturation magnetization of fine ferrimagnetic particles”, *J. Magn. Magn. Mater.*, **136**(1-2), 176-182.
- Haw, C.Y., Mohamed, F., Chia, C.H., Radiman, S., Zakaria, S., Huang, N.M. and Lim, H.N. (2010), “Hydrothermal synthesis of magnetite nanoparticles as MRI contrast agents”, *Ceram. Int.*, **36**(4), 1417-1422.
- Hu, P., Yu, L., Zuo, A., Guo, C. and Yuan, F. (2009), “Fabrication of monodisperse magnetite hollow spheres”, *J. Phys. Chem. C*, **113**(3), 900-906.
- Huh, Y.M., Jun, Y.W., Song, H.T., Kim, S., Choi, J.S., Lee, J.H., Yoon, S., Kim, K.S., Shin, J.S., Suh, J.S. and Cheon, J. (2005), “In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals”, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**(35), 12387-12391.
- Iida, H., Takayanagi, K., Nakanishi, T. and Osaka, T. (2007), “Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with various sizes and magnetic properties by controlled hydrolysis”, *J. Coll. Interf. Sci.*, **314**(1), 274-280.
- Jun, Y.W., Huh, Y.M., Choi, J.S., Lee, J.H., Song, H.T., Kim, S., Yoon, S., Kim, K.S., Shin, J.S., Suh, J.S. and Cheon, J. (2005), “Nanoscale size effect of magnetic nanocrystals and their utilization for cancer diagnosis via magnetic resonance imaging”, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**(16), 5732-5733.
- Jung, H., Kim, J.W., Choi, H., Lee, J.H. and Hur, H.G. (2008), “Synthesis of nanosized biogenic magnetite and comparison of its catalytic activity in ozonation”, *Appl. Catal. B: Environ.*, **83**(3-4), 208-213.
- Kumar, S., Rajesh Raja, M., Manivel Mangalaraj, D., Viswanathan, C. and Ponpandian, N. (2013), “Surfactant free solvothermal synthesis of monodispersed 3D hierarchical Fe₃O₄ microspheres”, *Mater. Lett.* **110**, 98-101.
- Larumbe, S., Gómez Polo, C., Pérez Landazábal, J.I. and Pastor, J.M. (2012), “Effect of a SiO₂ coating on the magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles”, *J. Phys.: Cond. Matter.*, **24**(26), 266007-266013.
- Legodi, M.A. and de Waal, D. (2007), “The preparation of magnetite, goethite, hematite and maghemite of pigment quality from mill scale iron waste”, *Dye. Pigmen.*, **74**(1), 161-168.
- Libert, S., Gorshkov, V., Goia, D., Matijevic, E. and Privman, V. (2003), “Model of controlled synthesis of uniform colloid particles: cadmium sulfide”, *Langimur*, **19**(26), 10679-10683.
- Liu, Z.L., Wang, X., Yao, K.L., Du, G.H., Lu, Q.H., Ding, Z.H., Tao, J., Ning, Q., Luo, X.P., Tian, D.Y. and Xi, D. (2004), “Synthesis of magnetite nanoparticles in W/O microemulsion”, *J. Mater. Sci.*, **39**(7),

- 2633-2636.
- Marchegiani, G., Imperatori, P., Mari, A., Pilloni, L., Chiolerio, A., Allia, P., Tiberto, P. and Suber, L. (2012), "Sonochemical synthesis of versatile hydrophilic magnetite nanoparticles", *Ultra. Sonochem.*, **19**(4), 877-882.
- Mascolo, M.C., Pei, Y. and Ring, T.A. (2013), "Room temperature co-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases", *Mater.*, **6**(12), 5549-5567.
- Park, J., Lee, E., Hwang, N.M., Kang, M., Kim, S.C., Hwang, Y., Park, J.G., Noh, H.J., Kim, J.Y., Park, J.H. and Hyeon, T. (2005), "One-nanometer-scale size-controlled synthesis of monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**(19), 2872-2877.
- Park, J., An, K., Hwang, Y., Park, J., Noh, H., Kim, J., Park, J., Hwang, N. and Hyeon, T. (2004), "Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals", *Nat. Mater.*, **3**, 891-895.
- Parkinson, G.S., Novotný, Z., Jacobson, P., Schmid, M. and Diebold, U. (2011), "Room temperature water splitting at the surface of magnetite", *J. Am. Chem. Soc.*, **133**(32), 12650-12655.
- Ravikumar, C. and Bandyopadhyaya, R. (2011), "Mechanistic study on magnetite nanoparticle formation by thermal decomposition and coprecipitation routes", *J. Phys. Chem. C*, **115**(5), 1380-1387.
- Roullin, V.G., Deverre, J.R., Lemaire, L., Hindre, F., Venier-Julienne, M.C., Vienet, R. and Benoit, J.P. (2002), "Anti-cancer drug diffusion within living rat brain tissue: an experimental study using [3H](6)-5-fluorouracil-loaded PLGA microspheres", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **53**(3), 293-299.
- Sing, K.S.W., Everett, D.H., Haul, R.A.W., Moscou, L., Pierotty, R.A., Rouquerol, J. and Siemieniewska, T. (1985), "Reporting physisorption data for gas/solid systems. With special reference to determination of surface area and porosity (recommendations 1984)", *Pure Appl. Chem.*, **57**(4), 603-619.
- Song, Y., Wang, R., Rong, R., Ding, J., Liu, J., Li, R., Liu, Z., Li, H., Wang, X., Zhang, J. and Fang, J. (2011), "Synthesis of well-dispersed aqueous-phase magnetite nanoparticles and their metabolism as an MRI contrast agent for the reticuloendothelial system", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2011**(22), 3303-3313.
- Sun, X., Zheng, C., Zhang, F., Yang, Y., Wu, G., Yu, A. and Guan, N. (2009), "Size-controlled synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles coated with glucose and gluconic acid from a single Fe(III) precursor by a sucrose bifunctional hydrothermal method", *J. Phys. Chem. C*, **113**(36), 16002-16008.
- Wu, W., He, Q., Chen, H., Tang, J. and Nie, L. (2007), "Sonochemical synthesis, structure and magnetic properties of air-stable Fe₃O₄/Au nanoparticles", *Nanotech.*, **18**(14), 145609-145617.
- Xu, Z., Li, C., Kang, X., Yang, D., Yang, P., Hou, Z. and Lin, J. (2010), "Synthesis of a multifunctional nanocomposite with magnetic, mesoporous, and near-IR absorption properties", *J. Phys. Chem. C*, **114**(39), 16343-16350.
- Xuang, S., Wang, F., Lai, J.M.Y., Sham, K.W.Y., Wang, Y.X.J., Lee, S.F., Yu, J.C., Cheng, C.H.K. and Leung, K.C.F. (2011), "Synthesis of biocompatible, mesoporous Fe₃O₄ nano/microspheres with large surface area for magnetic resonance imaging and therapeutic application", *ACS Appl. Mater. Interf.*, **3**, 237-244.
- Yu, B.Y. and Kwak, S.Y. (2011), "Self-assembled mesoporous Co and Ni-ferrite spherical clusters consisting of spinelnanocrystals prepared using a template-free approach", *Dalton Trans.*, **40**(39), 9989-9998.
- Zhao, S.Y., Lee, D.K., Kim, C.W., Cha, H.G., Kim, Y.H. and Kang, Y.S. (2006), "Synthesis of magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ and their surface modification by surfactant adsorption", *Bull. Korean Chem. Soc.*, **27**(2), 237-242.
- Zhu, M. and Diao, G. (2011), "Synthesis of porous Fe₃O₄ nanospheres and its application for the catalytic degradation of xylenol orange", *J. Phys. Chem. C*, **115**(39), 18923-18934.

Processing and Fabrication of Advanced Materials-XXI

Volume 1



Editors

P.S. Robi • N. Bhatnagar

T.S. Srivatsan



Fabrication of Porous Composite Nanostructures for Drug-Delivery Applications

S.I. Uribe Madrid, U. Pal^a and C.L. Gómez Muñoz

Institute of Physics, Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico.

^a*upal@ifuap.buap.mx*

ABSTRACT

In the present work, we describe the fabrication of composite nanoparticles containing magnetite-core and mesoporous silica-shell ($\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{-SiO}_2$) through wet-chemical synthesis. The composite nanostructures with strong superparamagnetic behaviors are potential candidates for targeted drug delivery applications. Crystallinity, structure and magnetic phases of the composite nanoparticles have been studied by X-ray diffraction, scanning electronic microscopy, and transmission electron microscopy techniques.

Keywords: Fabrication, porous composite nanostructures, drug-delivery.

NS_62

1. INTRODUCTION

Magnetic nanomaterials have been widely studied for their applications in magnetic media recording [1], water splitting [2], magnetic resonance imaging [3], targeted drug delivery [4], and so on. In the field of biomedicine, magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles have attracted much attention because of their biocompatibility and high magnetic response. However, these nanoparticles, if not protect correctly against biological mediums where they are transported, get degraded easily. Therefore, it is important to choose the correct protection for these nanoparticles before applying them in biological media [5]. On the other hand, mesoporous silica as drug vehicle in drug delivery systems has also been studied for its biocompatibility and the great capacity to preserve drugs [6,7].

Thereby, in this work, we have synthesized $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ nanocomposites, to exploit the properties of both the materials, i.e., the excellent magnetic response of magnetite and the high capacity of drug holding of mesoporous-silica. To create the mesoporous in silica shell layer we used a soft template method [8]. Cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) has been used to form micelles over the magnetite core particles, which also act as template for the formation of mesoporous silica layers over the prefabricated magnetite particles. Finally, the CTAB was extracted through of an acid treatment to obtain the $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ composite particles.

2. MATERIALS AND METHODS

The chemical reagents used were ferric chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), anhydrous sodium acetate (CH_3COONa), ethylene glycol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$), tetraethyl-orthosilicate (TEOS), ethanol, ammonium hydroxide 28%wt, CTAB, and deionized (DI) water.

Synthesis of magnetite nanoparticles. For the synthesis of magnetite nanoparticles we employed a hydrothermal method. Firstly, in a three-necked round-bottom flask, a 10 mL solution of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.6M) was mixed with 10 mL solution of sodium acetate (0.9M). Both the solutions were prepared in ethylene glycol (EG) under magnetic stirring and Ar flow. To this mixture

another 40 mL was added under magnetic stirring. The obtained homogeneous yellow solution was transferred to a Teflon-lined stainless-steel autoclave and sealed to heat at 190°C. After 24 hrs of hydrothermal treatment, the autoclave was cooled down to room temperature. The obtained black precipitate was washed with water and ethanol several times, and then dried in an oven at 65°C for 12 h.

Synthesis of Fe₃O₄@mSiO₂ composites. The synthesis process of the composite particles was as following: 100 mg of magnetite nanoparticles were disperse in 50 mL of ethanol under ultrasonic agitation. After that the nanoparticles were magnetically separated and dispersed in a solution of 100 mL of water/ethanol (1:4, v/v) and 1 mL NH₄OH (28 wt%) mixtures, which followed by the addition of 0.03 mL of TEOS. After stirring for 6 h at room temperature, the nanoparticles were magnetically separated, washed with ethanol and water, and redispersed in another solution with 120 mL water/ethanol (4:3, v/v), NH₄OH 28%wt (0.5 mL) and CTAB (0.3 g). This solution was stirred for 30 minutes to form a homogeneous mixture. After that, about 0.43 mL of TEOS was added drop-wise under mechanical stirring. After 6 h of reaction at room temperature, the precipitates were separated magnetically, washed with water and ethanol several times, and then dried in an oven at 65°C for 12 h. To extract CTAB from the composite nanoparticles, they were dispersed in an ethanol/acetic acid (glacial) mixture (95/5, v/v) and stirred for 30 min, after which they were washed with ethanol and water, and finally dried at 80°C for 24 h.

Characterization. Morphology of the magnetite and composite samples were studied using a Jeol JSM-5300 scanning electron microscope. Average sizes of the nanoparticles were obtained from their size distribution histograms counting over approximately 50 particles from their SEM images. Transmission electron microscopy (TEM) images of the samples were obtained using a 2010 F microscope operating at 200 kV accelerating voltage, with a resolution of 0.19 nm. Powder X-ray diffraction (XRD) patterns of the samples were recorded on a Phillips X×Pert diffractometer with a CuKα radiation source ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). Finally the Fourier transform infrared (FT-IR) spectra of the samples were collected in a Nicolet 750 spectrometer.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

To determine the structure and structural phase of the synthesized products, we used the XRD technique. Figure 1 shows the XRD pattern of the Fe₃O₄ sample synthesized by hydrothermal method. As can be seen, all the diffraction peaks correspond to the magnetite in cubic phase (PDF #89-0691), without any other phase present. Applying the Debye-Scherrer equation ($D = 0.9\lambda/\beta\cos\theta$) on the (311) reflection, the average crystallite size of the nanostructures was determinate to be of 16 nm.

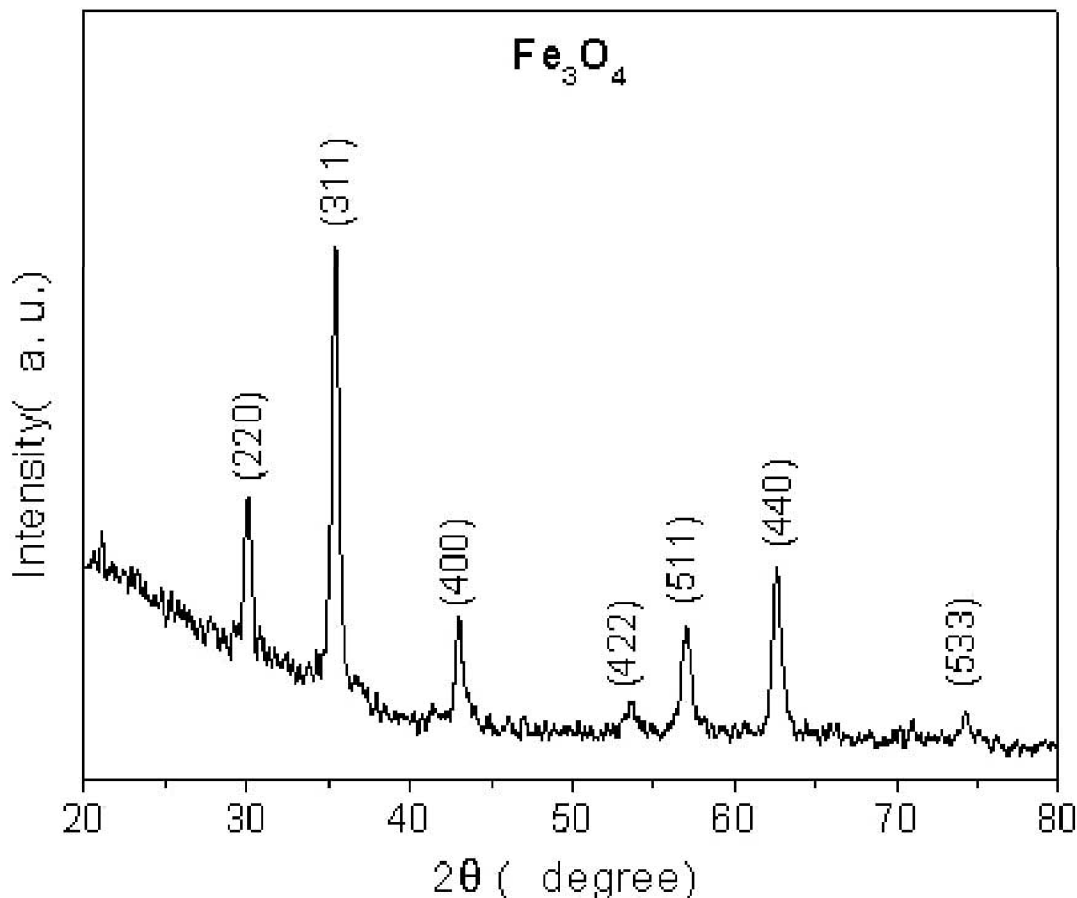


Fig. 1. XRD pattern of the Fe_3O_4 nanoparticles.

On the other hand, Figure 2 (a) presents a representative SEM image, showing the formation of large spherical particles with an average diameter of 242 nm. The TEM images of the sample presented in Figure 3 suggest that the large particles (242 nm av. diameter) consist of smaller particles of about 16 nm, same as of the average crystallite size obtained from their XRD analysis.

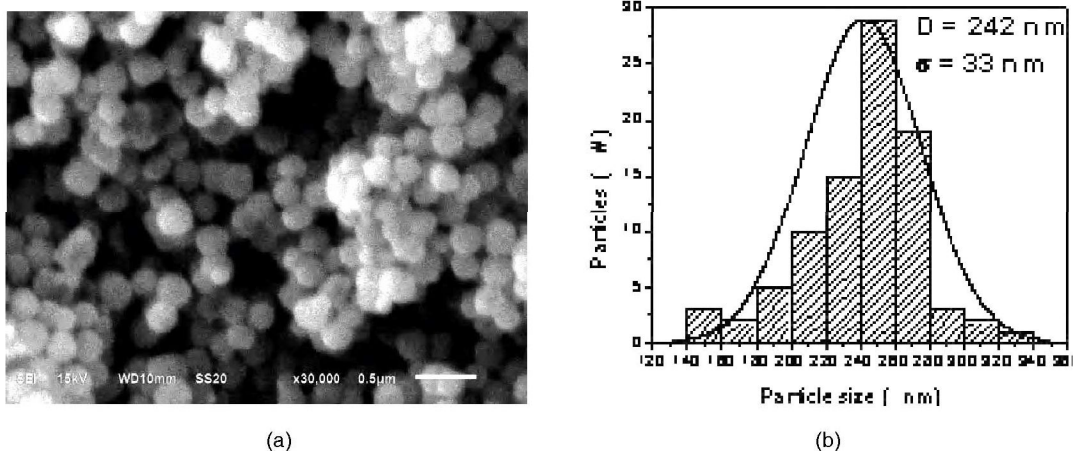


Fig. 2. (a) A typical SEM image of Fe_3O_4 nanoparticles and their (b) size distribution histogram.

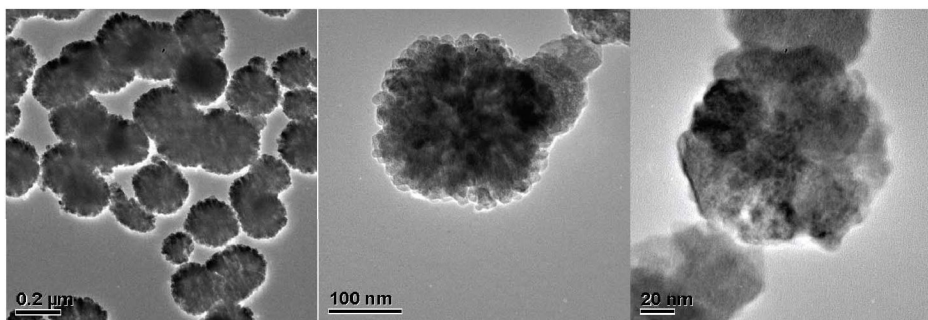


Fig. 3. Typical TEM images of Fe_3O_4 nanoparticles at different magnifications.

Typical SEM images of the magnetite nanoparticles covered by mesoporous silica-shell are shown in Figure 4. We can see that the spherical form of the original magnetite nanoparticles is retained in their composite structures. However, the average size of these composite particles was estimated from their size distribution histogram to be of 324 nm, which indicate the formation of about 41 nm thick silica shell over the magnetite particles. The formation of silica-shell around the magnetite nanoparticles is clear from the contrast difference in their images presented in Figure 4.

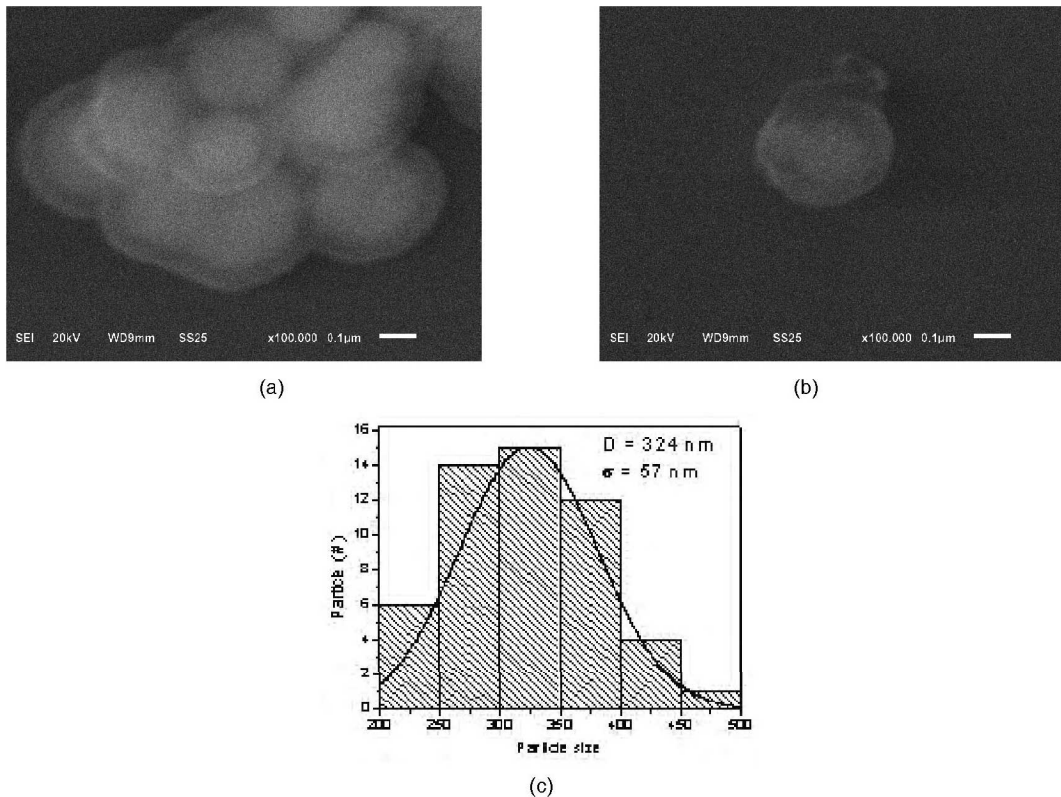


Fig. 4. (a, b) Typical SEM images of Fe₃O₄@mSiO₂ particles and their (c) size distribution histogram.

To be sure that CTAB was completely removed from the composite samples, FT-IR analysis was performed over them before and after the acetic acid treatment over them. In FT-IR spectrum of the sample without acetic acid treatment presented in Figure 5 (curve “a”), there appeared two absorption peaks at about 2921 and 2851 cm⁻¹. Both the peak correspond to the vibration of -CH₂- bonds of CTAB[8], which disappeared after the acetic acid treatment (curve “b”), suggesting a complete removal of CTAB from the sample on acetic acid treatment.

We can see in both spectrum of Figure 5 (curves “a” and “b”) there appeared two absorption peaks at about 1085 and 961 cm⁻¹, which correspond to the asymmetric vibration of Si-O and Si-OH bonds, respectively. The shoulder peak at about 1200 cm⁻¹ corresponds to an asymmetric vibration of Si-O bond. Another absorption peak appeared at about 800 cm⁻¹ corresponds to the symmetric vibration of Si-O bond. On the other hand, the absorption peaks around 3430 cm⁻¹ and 1630 cm⁻¹ correspond to the stretching and bending vibration modes of water absorbed at the surface of the nanostructures [9, 10]. Finally, the peak appeared around 580 cm⁻¹ correspond to the deformation of Fe-O bonds of magnetite [11]. The FT-IR spectra of the samples confirm the presence of silica shells over the core magnetite particles.

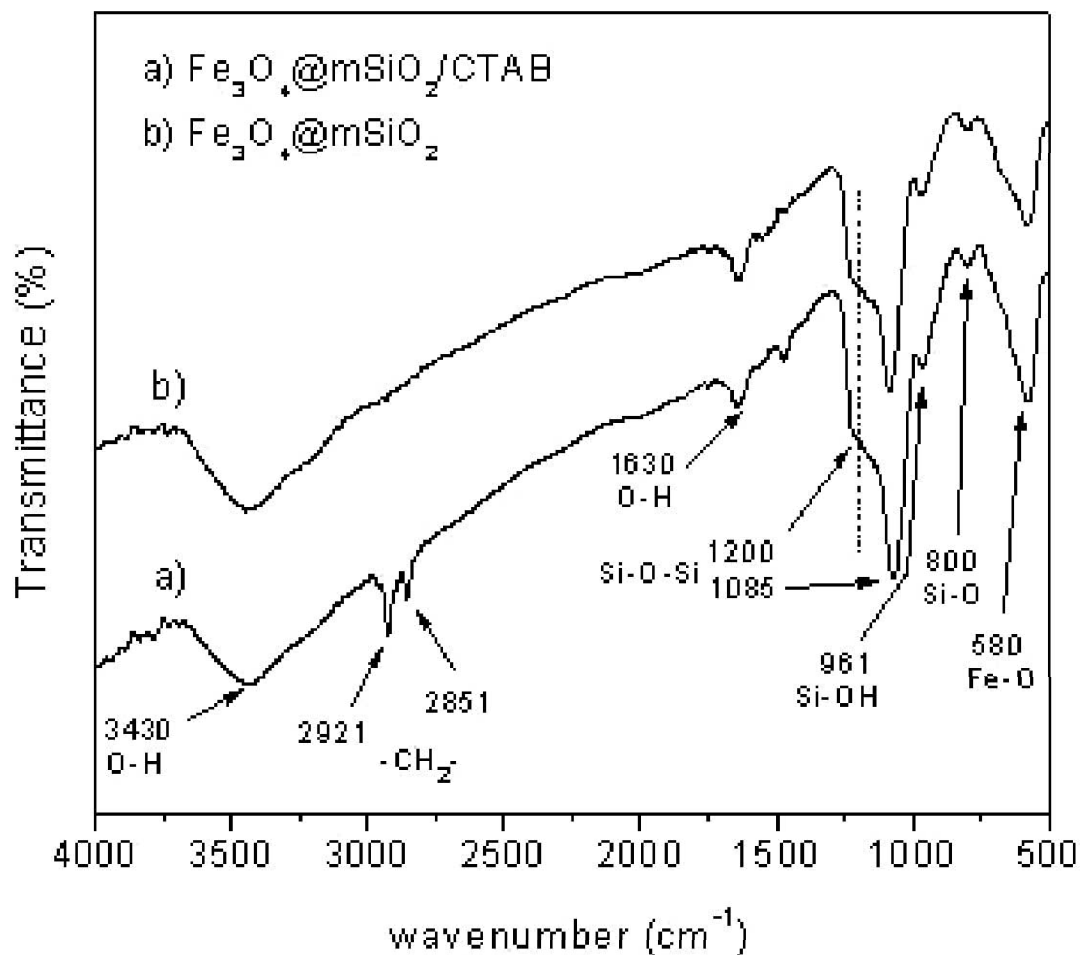


Fig. 5. FT-IR spectra of $\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{CTAB}$ composite nanoparticles (a) before, and (b) after the acetic acid treatment.

4. SUMMARY AND CONCLUSION

We demonstrate the possibility of synthesizing phase pure magnetite nanoparticles through hydrothermal method. In this method, bigger, spherical magnetite nanoparticles of about 242 nm average size assembling smaller, of about 16 nm magnetite nanoclusters were formed. Using a modified Stöber method, mesoporous silica layers of about 42 nm thicknesses could be formed over the magnetite nanoparticles. Fabrication of mesoporous silica-shell layer over magnetite nanoparticles has been demonstrated using CTAB as organic template, which could be removed successfully and easily from the composite structures using ethanol-acetic acid solution.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was supported by CONACyT, Mexico, and VIEP-BUAP through the project grants # CB-2010/151767, and VIEP/EXC/2012/137, respectively.

REFERENCES

1. Q. Dai, D. Berman, K. Virwani, J. Frommer, P.O. Jubert, M. Lam, T. Topuria, W. Imano, and A. Nelson, *Nano Letters*, 10: 3216-3221 (2010).
2. G.S. Parkinson, Z. Novotný, P. Jacobson, M. Schmid, and U. Diebold, *J. Am. Chem. Soc.* 133: 12650-12655 (2011).
3. Y.W. Jun, Y.M. Huh, J.S. Choi, J.H. Lee, H.T. Song, S. Kim, S. Yoon, K.S. Kim, J.S. Shin, J.S. Suh, and J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* 127(16): 5732-5733 (2005).
4. V.G. Roullin, J.R. Deverre, L. Lemaire, F. Hindre, M.C.V. Julienne, R. Vienet, and J. P. Benoit, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 53 (3): 293-299 (2002).
5. L.A. Harris, J.D. Goff, A.Y. Carmichael, J.S. Riffle, J.J. Harburn, T.G. St Pierre, M. Saunders, *Chem. Mater.* 15(6): 1367-1377 (2003).
6. A. Rámila, B. Muños, J. Prez-Pariente, and M. Vallet-Regí, *J. of Sol-Gel Sci. and Tech.* 26: 1199-1202 (2003).
7. Y. Zhao, B.G. Trewyn, I.I. Slowing, and V.S.Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* 131: 8398-8400 (2009).
8. X. Fang, C. Chen, Z. Liu, P. Liu, and N. Zheng, *Nanoscale* 3: 1632-1639 (2011).

9. K.H.S. Kung, and K.F. Hayes, *Langmuir* 9(1): 263-267 (1993).
10. A. Beganskienė, V. Sirutkaitis, M. Kurtinaitienė, R. Jučkėnas, and A. Kareiva, *Material Science* 10(4): 287-290 (2004).
11. M. Nikolaić, K.P. Giannakopoulos, and V.V. Srdić, *Processing and Application of Ceramics* 4(2): 81-82 (2010).
12. G. Marcelo, E. Pérez, T. Corrales, and C. Peinado, *J. Phys. Chem. C* 115: 25247-25256 (2011).



BUAP

MEMORANDUM

Para: Dra. Nini Rose Mathews. (Presidenta)
Dr. Enrique Sánchez Mora.
Dr. José Luis Eustolio Carrillo Estrada.
Dr. Antonio Méndez Blas.
Dr. Umapada Pal.

De: Dr. Felipe Pérez Rodríguez, Coordinador del área de Ciencia de Materiales.

Asunto: Se cita al Examen de Grado del M.C. Sergio Isaac Uribe Madrid, Doctorado en Ciencias (en la especialidad de Ciencia de Materiales)

Fecha: Martes 21 de abril de 2015

CC: Expediente.

Me permito informarles que el Comité Académico del IFUAP, los ha designado integrantes del Comité Examinador de la Tesis de Doctorado en Ciencias (en la especialidad de Ciencia de Materiales) del **M.C. SERGIO ISAAC URIBE MADRID**, con su tesis cuyo título es: "Fabricación De Nanoestructuras Compuestas De Fe_3O_4 meso- SiO_2 para aplicaciones biológicas", el día viernes 24 de abril de 2015 a las 17hrs. en el auditorio del IFUAP.

Dr. Felipe Pérez Rodríguez
Coordinador



/LAEmhr

Instituto de Física
"Ing. Luis Rivera
Terrazas"

Av. San Claudio esq. 18 sur, edif 110 A, B y C.
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel,
Puebla, Pue. C.P. 72570
01(222) 2295610, Fax: ext. 5611