



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MEXICO



## FACULTAD DE QUÍMICA

"Síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita  
recubiertas para aplicaciones biomédicas"

### TESIS

PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

Presenta

Diana Flores Rojas

Dirigido por:

**Dra. en C.Q Yareli Rojas Aguirre (UNAM-IIM)**

**Dr. en C.Q. Enrique Morales Ávila (UAEMéx)**



Toluca de Lerdo, Estado de México, 2018



Instituto de  
Investigaciones  
en Materiales

La investigación del presente trabajo de Tesis de Licenciatura, se realizó en el **Laboratorio L-E-105 (Laboratorio de Materiales Funcionales Orgánicos)** del **Instituto De Investigaciones en Materiales, de la Universidad Autónoma de México**. Se realizó con financiamiento de los proyectos IIM-1306 e IIM-1316.

**Responsable Técnico: Dra. En C.Q. Yareli Rojas Aguirre**



*Para mamá*

---

## Agradecimientos

A la Dra. Yareli Rojas Aguirre, tutor técnico de este proyecto. Le agradezco la oportunidad que me ofreció para ser parte de su equipo de trabajo, participar en su laboratorio, consejos y conocimientos que compartió conmigo. Sin su dedicación y amor por su trabajo, este proyecto no se hubiese concluido. ¡Muchas gracias!

Al Dr. Enrique Moles Ávila, tutor de este proyecto por mi casa de estudios. Le agradezco la oportunidad que me ofreció para guiar este trabajo, el tiempo brindado, las revisiones exhaustas, consejos, conocimientos y dedicación dedicada para pulir este trabajo. ¡Muchas gracias!

Al Instituto de Investigaciones en Materiales- UNAM por darme la oportunidad de trabajar en sus instalaciones.

A la Dra. Patricia Guadarrama por permitirnos ser parte del equipo de trabajo de los materiales magnéticos con el proyecto IIM-1316.

Al Dr. Gustavo López Téllez y al Dr. Alberto Morales Luckie, revisores de este trabajo, que gracias a sus comentarios y observaciones se logró pulir este trabajo.

A la M.C. Adriana Tejada por toda la ayuda y capacitación que me otorgo durante los análisis de rayos X.

A Cain González, por el mantenimiento con el equipo de cómputo y la ayuda compartida para los distintos softwares que se emplearon en el análisis de este trabajo de investigación.

Al Dr. Jaime Santoyo Salar. Depto. de Física, CINVESTAV, por las sesiones en las que nos compartió de su conocimiento para poder interpretar los resultados de este trabajo.

A los Doctores Genaro Vázquez Victorio y Beatriz Díaz Bello, del Laboratorio Nacional de Soluciones Biomiméticas para Diagnóstico y Terapia (LaNSBioDyT) por la realización de los ensayos biológicos.

A la técnico académico Karla E. Reyes, por la realización técnica de los análisis térmicos.

Al Técnico Académico Josué Romero Ibarra por el análisis de TEM.

A la Universidad Autónoma del Estado de México, por permitirme dar un paso más en mi formación académica y por todos los años de educación que me ha brindado.

---

# Contenido

Agradecimientos .....	4
Contenido.....	5
Índice de Figuras.....	7
Índice de Tablas .....	9
Abreviaturas.....	10
Resumen.....	11
1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1 Introducción a la nanotecnología.....	13
1.2 Aplicaciones de la Nanotecnología.....	16
1.3 Nanomedicina .....	20
1.4 Magnetita .....	21
1.5 Superparamagnetismo.....	23
1.6 Síntesis de Magnetita.....	25
1.6.1 Sol-Gel.....	27
1.6.2 Micro-emulsión.....	27
1.6.3 Coprecipitación.....	27
1.7 Técnicas de caracterización .....	30
1.8 Toxicidad de magnetita.....	33
Justificación .....	36
1. Objetivo general .....	39
2. Objetivos particulares .....	39
3. Hipótesis .....	40
4. Metodología.....	41
4.1 Reactivos.....	41
4.2 Equipos / Instrumentos .....	41
4.3 Síntesis.....	42

---

4.3.1. Síntesis de nanopartículas sin recubrir.....	43
4.3.2. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con Nonilamina .....	43
4.3.3. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con dodecilamina .....	44
4.3.3. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con tetradecilamina .....	44
4.3.2. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con Oleilamina .....	45
5. Resultados y Discusión.....	46
5.1 Materias primas.....	46
5.2 Síntesis general de nanopartículas recubiertas.....	49
5.2 Caracterización de Nanopartículas de magnetita funcionalizadas con lípidos .....	51
5.2.1 Espectroscopia infrarroja (IR) .....	51
5.2.2 Análisis termogravimétrico (TGA, DSC).....	54
5.2.3 Difracción de rayos X (XRD).....	67
5.2.4 Magnetización.....	70
5.2.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) .....	73
7.2.6 Evaluación de la toxicidad.....	75
6 Conclusiones generales.....	79
Referencias.....	82

---

## Índice de Figuras

Figura 1. Aplicaciones de la nanotecnología en diversos sectores.....	19
Figura 2. Sitios activos expuestos en el plano (111) de la superficie de magnetita de acuerdo a la información de (Noval and Puentes, 2017).....	21
Figura 3. Estructura de la magnetita (Modificada de Ríos, (2016). ....	22
Figura 4. Partícula Ferromagnética vs nanopartícula superparamagnética, modificada de (Qi et al., 2016). ....	24
Figura 5. Mecanismo de reacción de la formación de Nanopartículas de magnetita a partir de una mezcla acuosa de cloruro ferroso y cloruro férrico mediante la adición de una base (método de co-precipitación)(Gupta and Gupta, 2005).....	29
Figura 6. Representaciones esquemáticas de Nonilamina (NLA), Dodecilamina (DDA), Tetradecilamina (TDA) y Oleilamina (OLA).....	35
Figura 7. Síntesis general de nanopartículas recubiertas. Modificada de (Cruz, 2016). ....	42
Figura 8. Espectros infrarrojos de las aminas: nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA) utilizadas como materias primas en la síntesis de nanopartículas de magnetita. ....	48
Figura 9. Espectros infrarrojos de nanopartículas de magnetita recubiertas con nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA) en comparación de nanopartícula de magnetita sin recubrir. ( $Fe_3O_4$ ).....	53
Figura 10. Diagrama de un TGA referente al agua de hidratación en la superficie de partículas de magnetita.....	56
Figura 11. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-NLA) .....	58
Figura 12. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-NLA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-NLA(roja). ....	58
Figura 13. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-DDA).....	59
Figura 14. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-DDA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-DDA(roja).....	59

---

Figura 15. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-TDA) .....	60
Figura 16. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-TDA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-TDA(roja). .....	60
Figura 17. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-OLA.....	62
Figura 18. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-OLA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-OLA(roja). .....	63
Figura 19.DSC de NPM (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul) .....	64
Figura 20. DSC de NPM- NLA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul) .....	64
Figura 21. DSC de NPM- DDA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul) .....	65
Figura 22. DSC de NPM- TDA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul) .....	65
Figura 23. DSC de NPM-OLA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul) .....	66
Figura 24. Patrón de difracción de rayos X, de la síntesis de magnetita. El patrón rojo se obtuvo de la base de datos del equipo y corresponde a la fase de magnetita. ....	68
Figura 25. Patrón de difracción de rayos X, de las muestras NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA, NPM-OLA.....	69
Figura 26. Curvas de histéresis de NPM-Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA. ....	72
Figura 27. Micrografía de las Nanopartículas de magnetita sin recubrir (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) .....	73
Figura 28. Micrografía de nanopartículas de magnetita recubiertas con DDA. ....	74
Figura 29. Viabilidad de la línea celular HepG2. ....	78

---

## Índice de Tablas

Tabla 1. Cronología de la nanotecnología .....	15
Tabla 2. Rutas de síntesis de nanopartículas magnéticas de acuerdo a su origen .....	26
Tabla 3. Comparación entre los métodos de síntesis para la obtención de óxidos de hierros y sus propiedades. Modificada de Cruz, (2016) .....	29
Tabla 4. Especificaciones de las aminas utilizadas como materia prima, para la síntesis de nanopartículas de magnetita. (Nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA). .....	46
Tabla 5. Resultados termo analíticos de nanopartículas de magnetita sin recubrir y nanopartículas de magnetita recubiertas con diferentes lípidos .....	55
Tabla 6. Tamaño de partícula .....	67
Tabla 7. Magnetización .....	70

# Abreviaturas

<b>IR</b>	: Espectroscopia infrarroja	<b><math>\delta</math></b>	IR: Deformación
<b>TGA</b>	: Análisis termogravimétrico	<b><math>\delta_{as}</math></b>	IR: Deformación asimétrica
<b>dTGA</b>	: Derivada de análisis termogravimétrico	<b><math>\delta_{sy}</math></b>	IR: Deformación simétrica
<b>DSC</b>	: Calorimetría Diferencial de Barrido	<b><math>\gamma</math></b>	IR: Vibración de esqueletos
<b>DRX</b>	: Difracción de rayos X	<b><math>\delta_{oop}</math></b>	IR: vibración de tensión fuera del plano
<b>VSM</b>	: Magnetización	<b><math>\nu</math></b>	IR: vibración de tensión
<b>DDA</b>	:Dodecilamina	<b><math>\nu_{as}</math></b>	IR: Tensión asimétrica
<b>TDA</b>	:Tetradecilamina	<b><math>\nu_{sy}</math></b>	IR: Tensión simétrica
<b>OLA</b>	:Oleilamina	<b>SD</b>	:Sin datos disponibles
<b>NPM</b>	:Nanopartícula de magnetita	<b>FDA</b>	:( <i>ing.</i> ) Food and Drug Administration.
<b>NPM-NLA</b>	:Nanopartícula de magnetita recubierta con nonilamina	<b>HepG2</b>	: Línea celular de células epiteliales hepáticas humanas
<b>NPM-DDA</b>	:Nanopartícula de magnetita recubierta con dodecilamina		
<b>NPM-TDA</b>	:Nanopartícula de magnetita recubierta con tetradecilamina		
<b>NPM-OLA</b>	:Nanopartícula de magnetita recubierta con oleilamina		
<b>PECYT</b>	:Programa especial de ciencia, tecnología e innovación		
<b>GR</b>	:Grado reactivo		
<b>FCC</b>	: Cúbica Centrada en las Caras		
<b>MEM</b>	: Medio esencial mínimo		
<b>PI</b>	: Yoduro de propilo		
<b>c</b>	:cuentas		
<b>cps</b>	:Cuentas por segundo		

---

## Resumen

Los avances científicos en la nanotecnología en conjunto con las ciencias de los materiales han tenido un gran crecimiento en las últimas décadas, lo que ha dado lugar a numerosas innovaciones científicas, que prometen satisfacer ciertas necesidades de la sociedad. Un ejemplo de ello es la nanomedicina, la cual, en años recientes se ha constituido como una herramienta multidisciplinaria que dará lugar a novedosas estrategias terapéuticas con diversas aplicaciones médicas.

Dentro de la nanomedicina, las nanopartículas de óxido de hierro, conocidas también como magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) han cobrado gran relevancia y se vislumbran efectivas para aplicaciones biomédicas debido a:

- a) La posibilidad de conjugar fármacos en su superficie y ser utilizadas como acarreadores de fármacos;
- b) Sus propiedades magnéticas, ya que pueden ser utilizadas en la Hipertermia (terapia que conlleva un aumento de temperatura en una región específica de órganos o tejidos, entre  $42^\circ\text{C}$  y  $45^\circ\text{C}$  que ocasiona daños selectivos a tejidos específicos, por ejemplo células cancerosas) o bien como agentes teranósticos;
- c) Utilizarse en técnicas de transfección o separación de componentes celulares en métodos de diagnóstico.

Dado el potencial de los compuestos de magnetita, es fundamental identificar todos aquellos aspectos que permitan su traslado a las aplicaciones clínicas. Por ejemplo, recubrimientos que mantengan sus propiedades magnéticas; métodos de síntesis sencillos, reproducibles y escalables; así como la elucidación del comportamiento de estos materiales en los entornos biológicos.

El objetivo del presente trabajo fue la síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas de óxido de hierro (Magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con lípidos con distinto peso molecular: nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA); así como la exploración de su comportamiento biológico *in vitro* en la línea celular HepG2 (células epiteliales hepáticas humanas). Las nanopartículas de óxido de hierro, se sintetizaron por el método de coprecipitación, utilizando un protocolo desarrollado dentro del grupo de investigación, el cual se distingue por utilizar solamente una sal de hierro, con un tiempo de reacción de 5 minutos y sin necesidad de una atmósfera inerte.

Las muestras se caracterizaron por espectroscopia infrarroja, análisis termogravimétrico, difracción de rayos X y microscopía electrónica de transmisión. El análisis de las propiedades magnéticas se realizó empleando un magnetómetro de muestra vibrante.

---

La caracterización demostró que se obtuvieron nanopartículas de magnetita, con un tamaño de 14.56-26.5 nm con una estructura núcleo-coraza de NLA, DDA, TDA y OLA. Tanto los valores de magnetización de saturación, como los estudios preliminares sobre su efecto en células epiteliales, indican que las nanopartículas de magnetita obtenidas en este trabajo, son aptas para futuras aplicaciones biomedicas.

---

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Introducción a la nanotecnología

Hoy en día, el concepto de “Nanotecnología” ha ganado, gran popularidad. Este concepto fue visualizado por primera vez por Richard P. Feynman, Premio Nobel de Física (1965) en una conferencia en el Tecnológico de California (Caltech) en Diciembre de 1959, en donde mencionó:

**“There’s a plenty of room at the bottom”** (R.Feynman,1959)

En dicha conferencia, Feynman señaló: *“...De lo que deseo hablar, es sobre el problema de manipular y controlar las cosas en una escala pequeña, no discutiré cómo lo vamos a hacer, sino de que es posible...”*

Una década más tarde, el Dr. Norio Taniguchi introduce el término nanotecnología para describir sus investigaciones a base de lo ya mencionado por Feynman (Taniguchi, 1974). A partir de este momento, han surgido diversas definiciones para describir a la Nanotecnología.

Pugazhendhi *et al.*, (2018) por ejemplo, define a la Nanotecnología como el diseño, la caracterización, producción y aplicación de materiales, dispositivos y sistemas, controlando la forma y el tamaño dentro de la nanoescala. En otras palabras, es un proceso de ingeniería de ultra-precisión de cierto tipo de materiales dentro del rango de 1 a 100 nm; los nanomateriales están estructurados y/o tienen un tamaño dentro de este rango en por lo menos, una de sus dimensiones.

Sin embargo, una definición más amigable, es la descrita por Elnashaie, Danafar and Rafsanjani (2015,p.79): “Nanotecnología es el arte y la ciencia de manipulación de átomos y moléculas, para crear sistemas, materiales y dispositivos a nanoescala, así como su aplicación en diversos campos”.

Bajo la definición presentada y la aplicación que se ha realizado hasta el presente sobre este conocimiento, la nanotecnología se visualiza hoy en día como una nueva revolución

---

tecnológica de propósito general, tan reflexiva que impacta en la vida de la sociedad entera. La nanotecnología promete productos más resistentes, duraderos, limpios, seguros e inteligentes, para el hogar, las comunicaciones, la medicina, el transporte, la agricultura, y la industria en general. Esto es debido a que la Nanotecnología es un campo que integra varias disciplinas.

A pesar de que la Nanotecnología se definió como tal, hasta la década de los 70's, las observaciones sobre las propiedades de los materiales al ser reducidos en un rango de 1 a 100 nm (nanoescala) datan desde el siglo IV a.C en Roma, con la copa de Licurgo como el gran ejemplo histórico. La copa está hecha de un tipo de vidrio que cambia de un color verde opaco a un rojo brillante al incidirle luz. Hoy en día se sabe que este efecto se atribuye a cantidades muy pequeñas de cristales metálicos de plata y oro (aproximadamente de 70 nm) en un radio molar de 14:1 que le brinda esta propiedad óptica inusual. Otro ejemplo, es el “azul maya”, pigmento fabricado por primera vez en el siglo IX, por las culturas Maya y Azteca el cual resultó ser un material híbrido compuesto por partículas de material orgánico (índigo, derivado de las hojas de añil) e inorgánico (un filosilicato que se encuentra en algunas arcillas)(Elnashaie, Danafar and Rafsanjani, 2015).

En la edad media, las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas empezaron a ganar una buena reputación, puesto que los “poderes” curativos de varias enfermedades como epilepsia, enfermedades venéreas y del corazón, así como el éxito del diagnóstico de sífilis, se fundamentaban en el uso de oro soluble (Purohit *et al.*, 2017).

El primer libro que describe la síntesis de oro coloidal y casos exitosos de su aplicabilidad en la medicina, fue escrito por el médico y filósofo Francisci Antonii en 1618.

Con lo anterior, el desarrollo de la nanotecnología ha sido evidente, como ejemplo, los descubrimientos que tienen conexión con nanopartículas se presenta en la tabla 1. En dicha tabla se observa que las herramientas para caracterizar materiales en la nanoescala, como la microscopía, así como los avances en la química de materiales han sido fundamentales para saber que es debido al tamaño, la forma y el acomodo de las partículas, que se observaban efectos particulares.

## TABLA 1. CRONOLOGÍA DE LA NANOTECNOLOGÍA

AÑO	Acontecimiento	País / Autor
1200-1300 a.C.	Descubrimiento de oro soluble	Egipto y China
290-325 d.C.	Copa de Licurgo	Alexandria o Roma
1618	Primer libro sobre oro coloidal	F. Antonii (Europa Edad Media)
1676	Publicación del libro sobre oro bebible en un medio neutral	J. Von Löwenatern-Kunckel (Alemania)
1718	Publicación del tratado completo sobre oro coloidal	Hans Heinrich Helcher (Alemania)
1857	Síntesis de oro coloidal	M. Faraday (Gran Bretaña)
1908	Escaneo y absorción de campos electromagnéticos por nano-esferas	G.Mie (Alemania)
1931	Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)	M. Knoll y E. Ruska (Alemania)
1937	Microscopio Electrónico de Barrido (SEM).	M.Von Ardenne. (Alemania)
1959	Conferencia de Feynman sobre “Hay mucho espacio en el fondo”	R.P. Feynman (USA)
1972	Efecto de Honda- Fujishima. (Disociación fotocatalítica del agua, en un electrodo de TiO <sub>2</sub> )	E. Maruyama (Japón)
1974	Concepto sobre Nanotecnología.	N. Taniguchi (Japón)
1976	Nanofibra de carbono	M. Endo (Japón)
	Creación de la primera celda fotoeléctrica de silicio amorfo, con una eficacia de 1.1 %	D. Carlson y C. Wronski (Laboratorios RCA, USA)
1986	Microscopio de fuerza atómica (AFM)	G. Bining y H. Rohrer (Suiza)
1986	Manipulación espacial tridimensional de átomos demostrada (Premio Nobel)	S.Chu. (USA)

<b>1991</b>	Descubrimiento de nanotubos de carbono	S. Lijima (Japón)
<b>1992</b>	Comienza el Proyecto Nacional de Japón sobre máxima manipulación de átomos y moléculas	
<b>1995</b>	Nanoimpresión	S.Y. Chou (USA)
<b>1996</b>	Nanosheets	T. Sasaki (Japón)
<b>2000</b>	Iniciativa Nacional de Nanotecnología (NNI), Estados Unidos.	
<b>2001</b>	Programa especial de Ciencia y Tecnología (PECYT), México.	
<b>2003</b>	Ley de investigación y desarrollo en nanotecnología del siglo XXI, Estados Unidos.	
<b>2005</b>	Nanociencias y nanotecnologías: un plan de acción, Europa. Fundación de Argentina de Nanotecnología (FAN).	

A lo largo del tiempo se puede observar un crecimiento en el interés por la nanotecnología, impactando directamente las políticas públicas de diversos países, que invierten gran cantidad de recursos a su investigación. México no es la excepción, quien reafirma su posicionamiento en las nanociencias con el PECYT 2008-2012, en el cual se indica que junto con otras tecnologías emergentes, la nanotecnología es necesaria para contribuir a mejorar la calidad de vida de la sociedad y lograr una mayor competitividad a nivel mundial (CIMAV, 2011; Gutman, 2017)

## 1.2 Aplicaciones de la Nanotecnología

Dentro de las aplicaciones más importantes de la nanotecnología, se encuentran aquellas relacionadas con la biotecnología y biomedicina, por el impacto que pudiera tener en la salud de una población. Algunos agentes de contraste y sistemas de liberación de fármacos, basados en Nanotecnología ya han sido aprobados por FDA. Estos nanodispositivos están constituidos de nanopartículas, que a su vez están basadas en materiales inorgánicos, orgánicos o en estructuras híbridas (Pugazhendhi *et al.*, 2018). A continuación definiremos estos términos.

---

## **-Nanopartícula.**

Es el componente fundamental en la fabricación de una nanoestructura. En principio, cualquier colección de átomos unidos entre sí, con un radio estructural menor o igual a 100 nm es considerado como una nanopartícula (Singh, 2016).

Sin embargo la Asociación Americana para el Ensayo y Materiales (ASTM, 2006) la define como:

“**Nanopartícula**, *s—en nanotecnología*. Subclasificación de partículas ultra-finas con longitudes en dos o tres dimensiones superiores a 0,001 micrómetros (1 nanómetro) y menores que aproximadamente 0,1 micrómetros (100 nanómetros) y que pueden o no exhibir propiedades intensas relacionada con su tamaño”

**-Nanopartículas inorgánicas:** Están formadas por lo general de algún metal y/u óxidos de éstos. Algunos ejemplos son Plata (Ag), Oro (Au), óxidos de hierro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), Óxidos de Titanio ( $\text{TiO}_2$ ), Óxidos de Cobre ( $\text{CuO}$ ), y Óxidos de Zinc ( $\text{ZnO}$ ). En términos generales, se obtienen a través de síntesis sencillas y sus dimensiones pueden ser controladas desde 1 a 100 nm con una estrecha distribución de tamaños (Rösslein *et al.*, 2013)

**-Nanopartículas orgánicas:** Las nanopartículas orgánicas se describen comúnmente como partículas sólidas compuestas de compuestos orgánicos (principalmente lípidos o polímeros). Tienen una distribución de tamaño más amplia y pueden adoptar diferentes topologías (esferas, micelas, liposomas, polímeros ramificados, dendrímeros, polímeros estrella) (Perullini, Aldabe Bilmes and Jobbágy, 2013).

**-Nanopartículas Híbridas:** Obtenidas a partir de la combinación de compuestos orgánicos e inorgánicos. Este tipo de nanopartículas, se logra por medio de interacciones, entre el material orgánico y el inorgánico (por lo general, centros metálicos) o la interacción entre ligandos orgánicos y la superficie de una nanopartícula inorgánica, permitiendo acoplar sistemas de reconocimiento molecular a la generación de nuevos materiales (Pugazhendhi *et al.*, 2018).

Es así que el estudio de las propiedades físicas y químicas únicas de las nanopartículas en general, como características de superficie, reología, conductividad eléctrica, magnetismo, propiedades ópticas, electrónicas, catalíticas, entre otras, prometen aplicaciones en diversos

---

campos, las cuales se han clasificado en tres generaciones (Elnashaie, Danafar and Rafsanjani, 2015; Aguirre *et al.*, 2016).

La primera generación, comprende un diseño de nanoestructuras y materiales “pasivos” con funciones estables o relativamente simples, que se utilizan como componentes que mejoran productos. Por ejemplo, metales nanoestructurados, aerosoles y polímeros reforzados con nanopartículas.

La segunda generación, introduce productos más sofisticados con nanoestructuras y dispositivos activos para realizar multitareas y para satisfacer las necesidades que no se abordan por las tecnologías actuales. Por ejemplo, sondas y actuadores ópticos basados en nanopartículas metálicas, herramientas de diagnóstico molecular en el punto de atención y productos terapéuticos específicos (Bragas, 2007; Boraschi, Swartzwelter and Italiani, 2018; Roy *et al.*, 2018).

La tercera generación presentó el descubrimiento y desarrollo de clases completamente nuevas de materiales, tanto científica como tecnológicamente. Estas incluyen nanoalambres unidimensionales y puntos cuánticos de varias composiciones, nanoestructuras de metales nobles polivalentes, grafeno, metamateriales y una amplia variedad de otras composiciones de partículas.

La cuarta generación, aprueba conceptos completamente nuevos: el primer dispositivo cuántico se construyó y probó en 2010 y se completó la primera célula artificial con genoma sintético.

En general, la nanotecnología promete la resolución de necesidades de alto impacto en áreas como comunicaciones (computación y dispositivos de comunicación), aeroespacial, aeronáutica, geingeniería, ambiente (apoyo para un entorno sostenible en términos de conversión, almacenamiento de energía, purificación de agua, energía renovable y clima), alimentos, agricultura (sistemas alimentarios) textiles (aislantes, fibras más resistentes) y medicina (cuidados a la salud, aspectos de biología sintética) (Figura 1).

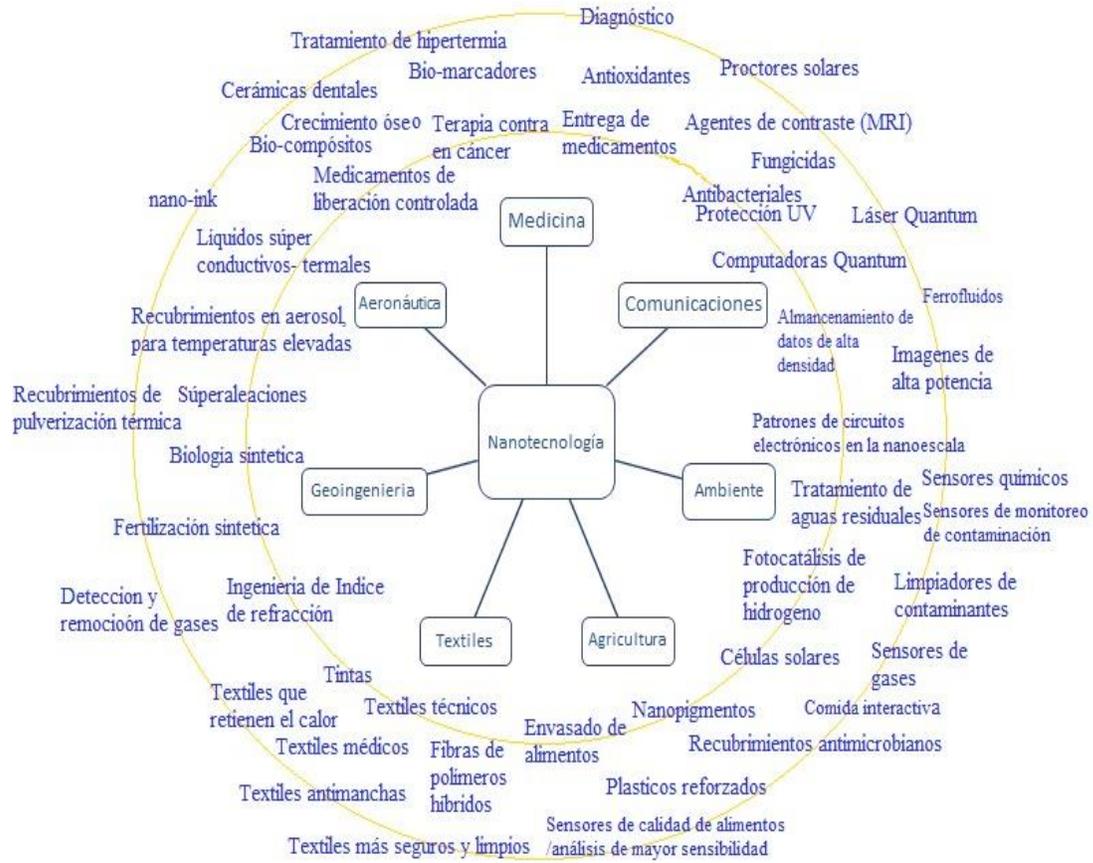


Figura 1. Aplicaciones de la nanotecnología en diversos sectores.

---

## 1.3 Nanomedicina

En 2011, “The European Science Foundation” establece que la Nanomedicina es la aplicación de la nanotecnología al diagnóstico, la prevención y el tratamiento de enfermedades y, en consecuencia, al entendimiento de los procesos pato- fisiológicos que intervienen en el origen y curso de una enfermedad determinada (Rojas-Aguirre *et al.*, 2016).

Para cubrir las necesidades del sector salud, la nanomedicina integra las siguientes áreas (Rojas-Aguirre *et al.*, 2016):

1. *Liberación de fármacos.* Encargada del desarrollo de biomateriales nanoestructurados para construir sistemas que transporten y entreguen fármacos de manera controlada. Esto es, dirigir el fármaco al sitio de la enfermedad con una concentración mínima, a través de una orientación, localización eficiente y específica. A la fecha Doxil y Abraxan, son ejemplos de estos nanosistemas.
2. *Diagnóstico.* Esta área se enfoca en el diseño de nanodispositivos con componentes biológicos (por ejemplo ,secuencias cortas de DNA o RNA o bien anticuerpos), con la finalidad de identificar una enfermedad a nivel celular o molecular a través de nanosistemas de imagen o nanobiosensores y ser capaces de detectar en tiempo real y con una alta sensibilidad un analito determinado. Por ejemplo el Sistema Verigene® es una herramienta de diagnóstico médico para el punto de atención de infecciones por patógenos sin necesidad de cultivos microbiológicos (Consultada en 12/Marzo/2018; Luminex, 2016)
3. *Teranosticos.* Aquí se busca diseñar y aplicar nanomateriales que identifiquen una patología y liberen moléculas terapéuticas simultáneamente y de manera controlada.

Los materiales utilizados para la construcción de nanosistemas inmersos en las tres áreas que comprende la nanomedicina, pueden ser orgánicos, inorgánicos o híbridos. Sin embargo, resalta el caso de los óxidos metálicos ya que se pueden utilizar en las tres áreas simultáneamente. En particular las nanopartículas de óxido de Fe, entre ellas las de magnetita.

## 1.4 Magnetita

La magnetita, es un óxido de hierro de color negro que se encuentra inmerso en la naturaleza en forma de mineral. Es un óxido mixto de hierro; contiene hierro en los estados de oxidación  $2^+$  y  $3^+$ , con fórmula química de unidades repetidas de  $[\text{Fe}^{2+} (\text{Fe}^{3+})_2 \text{O}_4]$ . Su composición corresponde a 27.6% de oxígeno y 72.4% de hierro. Cristaliza en un sistema cúbico centrado en caras (FCC de oxígenos,  $a=8.40 \text{ \AA}$ ) con estructura de espinela inversa con un grupo espacial  $\text{Fd}3\text{m}$ , como se ilustra en la figura 3. En su celda unitaria de 56 átomos, 32 son de oxígeno y 24 son cationes de hierro, de los cuales 16 están en forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y 8 en forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Los átomos de oxígeno forman la celda unitaria cúbica centrada en las caras y los cationes de hierro están alojados en los espacios intersticiales. Las posiciones tetraédricas corresponden específicamente a cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y en las posiciones octaédricas se alojan cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$  por igual. A nivel de la superficie, los sitios activos de la magnetita son tanto los cationes de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$  como los átomos de oxígeno ( $\text{O}^{2-}$ ) y su nivel de exposición depende de los planos mostrados preferencialmente por el cristal. Para el plano (111) que se considera más estable en las estructuras FCC, los cationes  $\text{Fe}^{3+}$  (que se comportan como ácidos de Lewis) y los átomos de oxígeno (que no están totalmente coordinados actúan como bases de Brönsted) quedan expuestos y por tanto ambos sitios activos se encuentran en la superficie accesible a los sustratos (Noval and Puentes, 2017) (Ver figura 2).

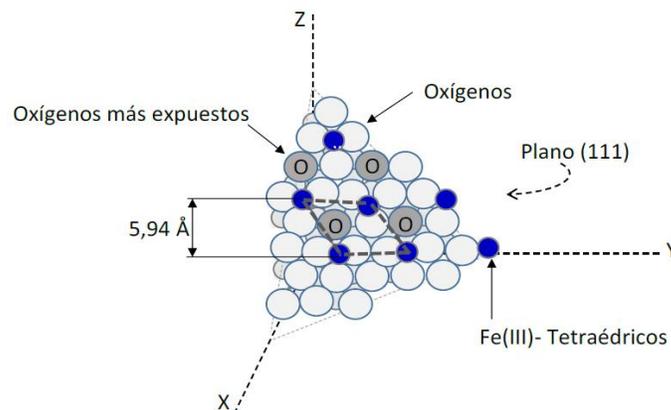


Figura 2. Sitios activos expuestos en el plano (111) de la superficie de magnetita de acuerdo a la información de (Noval and Puentes, 2017)

Por otro lado, las propiedades magnéticas de este tipo de ferrita, dependen fuertemente del tamaño de partícula. Cuando las partículas se reducen a escala nanométrica, sus propiedades magnéticas decaen: la magnetización de saturación, la remanencia magnética y la fuerza coercitiva disminuyen drásticamente y en consecuencia las nanopartículas de magnetita exhiben un comportamiento denominado superparamagnético (Ver apartado 1.5). Este comportamiento se produce cuando la energía térmica de estas partículas puede superar ciertas fuerzas de unión ocasionando que los momentos magnéticos atómicos fluctúen al azar. Así, las partículas superparamagnéticas adquieren cierta magnetización cuando se aplica un campo magnético externo pero, debido a su energía térmica dicha magnetización se pierde cuando éste último es retirado.

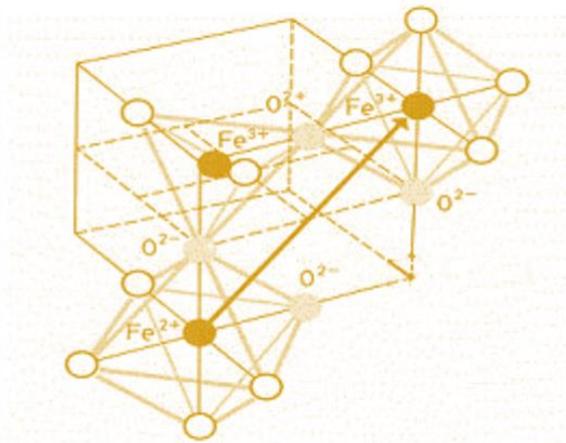


Figura 3. Estructura de la magnetita (Modificada de Ríos, (2016)).

Para un mejor entendimiento de lo anterior, las propiedades magnéticas de magnetita, suelen clasificarse de acuerdo a las interacciones de sus momentos magnéticos en ausencia o presencia de un campo magnético externo. Estas propiedades dependen de la configuración electrónica de los átomos, moléculas y de su estructura cristalina:

- I) Diamagnéticos: En ausencia de un campo magnético externo, no presentan momentos magnéticos; sin embargo, al aplicar un campo externo se producen momentos magnéticos que apuntan en dirección opuesta a éste. Siendo este tipo de material, repelido por un imán. Su momento magnético es cero.

- 
- II) Paramagnéticos: Los momentos magnéticos existentes, están distribuidos al azar, sin embargo se alinean al aplicar un campo magnético externo y tienden a apuntar hacia la dirección de éste.
  - III) Ferromagnéticos: Los materiales con este comportamiento, en al menos alguno de sus átomos, los momentos magnéticos están alineados paralelamente entre sí en ausencia de un campo magnético.
  - IV) Ferrimagnéticos: Presentan un momento magnético neto distinto de cero, debido a que los momentos magnéticos están alineados de manera antiparalela, pero estos no son de la misma magnitud.
  - V) Antiferromagnéticos: Presentan un momento magnético neto igual a cero, puesto que los momentos magnéticos están alineados antiparalelamente entre sí. Cuando la magnitud de los momentos magnéticos vecinos es igual, da como resultado una magnetización cero.

## 1.5 Superparamagnetismo

De acuerdo con Qi *et al.*, (2016) el superparamagnetismo es una propiedad que poseen las nanoestructuras, compuestas por materiales magnéticos y se derivan, cuando la energía térmica es suficientemente alta para superar la energía de estabilización de la partícula, explicando como la coercitividad de las nanopartículas varia, cuando su tamaño disminuye, hasta que el estado superparamagnético es alcanzado. En la figura 4, se observa el comportamiento de una partícula ferromagnética vs una nanopartícula superparamagnética en ausencia de un campo magnético externo (i), en la presencia de un campo magnético externo (ii) y cuando el campo magnético se apaga (iii). El momento magnético de las partículas superparamagnéticas en ausencia de un campo externo, el momento magnético neto es cero, de forma similar al momento magnético neto de un ensamblaje de partículas superparamagnéticas. En presencia de un campo magnético externo, los momentos de las partículas se alinean con éste. Cuando el campo magnético se apaga, los momentos magnéticos de partículas superparamagnéticas quedan aleatorizados y carecen de una

magnetización remanente, mientras que en las partículas ferromagnéticas, se observa un remanente de magnetización.

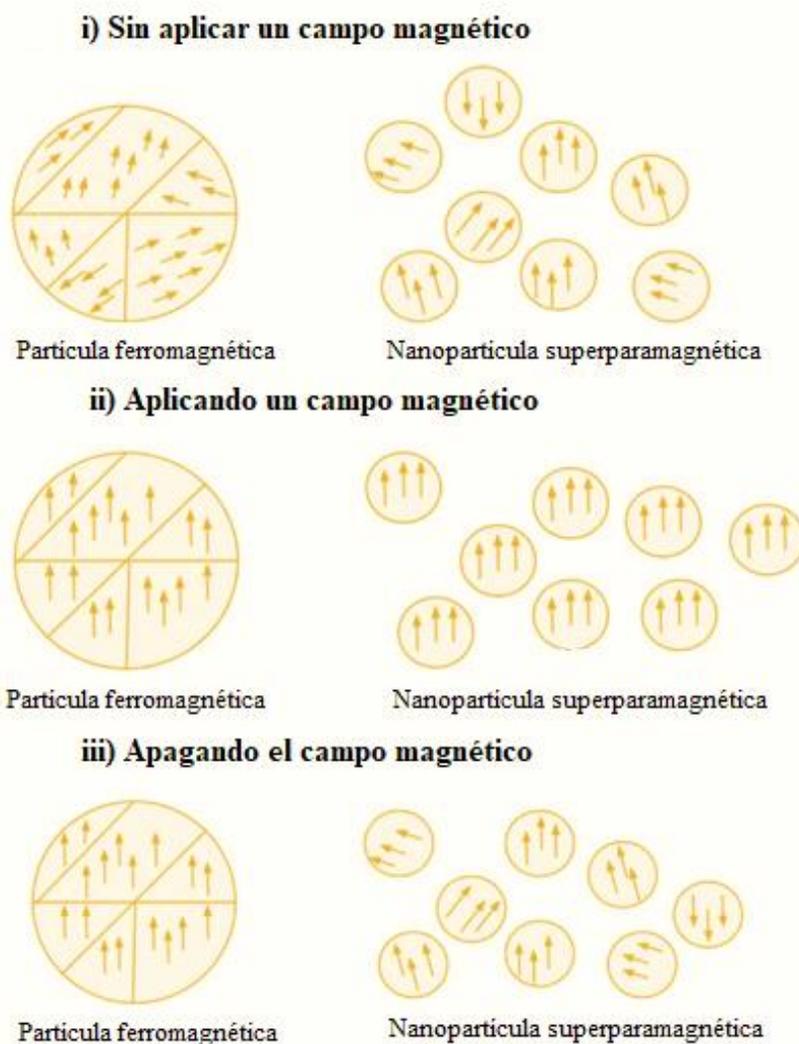


Figura 4. Partícula Ferromagnética vs nanopartícula superparamagnética, modificada de (Qi et al., 2016).

El estudio de las nanopartículas magnéticas, se centra en la respuesta de estas ante un campo magnético externo, principalmente en aquellas ferromagnéticas y ferrimagnéticas, debido a que las nanopartículas de esta índole, presentan un comportamiento especial denominado superparamagnetismo, el cual es de suma importancia para las aplicaciones biológicas.

---

Así la combinación de la biología con el magnetismo es de suma importancia, debido a que la bioquímica permite una unión selectiva de las partículas, mientras que el magnetismo permite una fácil detección y manipulación de las nanopartículas magnéticas. Cuando se aplica campo magnético a las partículas magnéticas, están sometidas a fuerzas significativas incluso cuando se incrustan en un ambiente biológico pero cuando éste campo se retira, las nanopartículas no presentan propiedades magnéticas y por lo tanto no hay atracción entre sí, eliminando la principal fuerza impulsora para la aglomeración. Lo anterior resulta una ventaja, ya que la falta de momento magnético neto cero, de este tipo de partículas, una vez incluidas en el diagnóstico y/o terapia, evita la acumulación potencial de las nanopartículas, y por lo tanto la formación de embolias en los vasos sanguíneos (Salado *et al.*, 2012; Qi *et al.*, 2016)

Hoy en día, esta propiedad promete solución a varios problemas, tales como el tratamiento de las células cancerosas, liberación de fármacos, imagen por resonancia magnética, biosensores, etc.

## 1.6 Síntesis de Magnetita

En el caso de las nanopartículas de magnetita su alto rendimiento desempeña un papel importante como una herramienta en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, así como en la visualización en tiempo real de otros eventos biológicos como la, metástasis, señalización celular e interacciones a nivel molecular y celular (Cham, 2013)

En ausencia de cualquier recubrimiento de superficie, las nanopartículas de magnetita, tienen superficies hidrófobas con una gran relación de área superficial a volumen. Debido a las interacciones de Van der Waals entre las nanopartículas, estas tendrán tendencia a la aglomeración dando como resultado agregados de mayor tamaño. Además, estos agregados presentan fuertes atracciones magnéticas dipolo-dipolo entre ellos, lo que conlleva a un comportamiento ferromagnético y la subsecuente desaparición del superparamagnetismo. Para disminuir tanto las interacciones de van der Waals como la atracción magnética, será necesaria la modificación de la superficie. Tal modificación puede consistir en la adición de tensoactivos, polímeros, lípidos, péptidos o proteínas, y se puede llevar a cabo durante la

formación de la nanopartícula para evitar, desde un inicio, su agregación, en el momento de la preparación, para evitar la agregación de las partículas a nanoescala (Gupta and Gupta, 2005).

Actualmente, existen diferentes rutas de síntesis reportadas para magnetita y se pueden clasificar en 3 grandes grupos (Tabla 2):

Tabla 2. Rutas de síntesis de nanopartículas magnéticas de acuerdo a su origen

<i>Naturaleza de Síntesis</i>	<b>Método</b>
<i>Físicas</i>	Ablación con láser pulsado
	Deposición en fase gaseosa
	Polvo con molina de bolas
<i>Químicas</i>	Coprecipitación
	Sol-Gel
	Microemulsión
<i>Biológicas</i>	Mediada por bacterias
	Mediada por hongos
	Mediada por extractos biológicos

---

### 1.6.1 Sol-Gel.

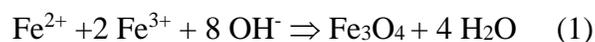
La reacción de sol-gel se lleva a cabo en la interface de aceite y agua, por lo que una solución acuosa que contiene las sales de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  se le agrega a un solvente orgánico con un estabilizador. Esta reacción se basa en la hidroxilación y condensación de los precursores en la solución. En cuanto a las condiciones de reacción, se emplea una temperatura moderada, tiempo de reacción de horas, y con precursores generalmente caros (Nyiro-Kosa, Rečnik and Pósfai, 2012; Kudr *et al.*, 2017).

### 16.2 Micro-emulsión

La magnetita se forma en microgotas de agua (o algún glicol) dentro de micelas dispersas en uno o más solventes orgánicos de alto punto de ebullición a 1 atm y temperaturas superiores a 100 °C. Suelen llamarse micelas inversas por tener las cabezas hidrofílicas hacia adentro y exponer colas hidrófobas hacia afuera. El agente precursor es una sal disuelta de Fe(III) -como  $\text{FeCl}_3$ - que se agrega a la microemulsión formada por una base (por ej. KOH acuoso) y la mezcla de solventes, tales como n-octanol y ciclohexano (Nacional and Sur, 2017).

### 1.6.3 Coprecipitación.

La coprecipitación es una de las metodologías más utilizadas en la obtención de magnetita. Convencionalmente esta metodología, involucra añadir una base, a una mezcla acuosa de cloruro de  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , en una relación molar de 1:2. La reacción química de la precipitación de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) se visualiza en la figura 5. La reacción general se describe, de la siguiente manera:



---

De acuerdo con la termodinámica de esta reacción, debe esperarse una precipitación completa de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> a un pH entre 9 y 14, en un ambiente no oxidante libre de oxígeno (atmósfera de Nitrógeno o Argón). De lo contrario, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> podría oxidarse.



Se reporta que la oxidación, afecta críticamente las propiedades físicas y químicas de las partículas de magnetita de tamaño nanométrico. Con el fin de evitar su posible oxidación en el aire así como también en la aglomeración, las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> producidas por la reacción (1) se pueden recubrir y la síntesis debe realizarse en un entorno libre de oxígeno mediante una atmósfera de nitrógeno (o argón). El burbujeo de nitrógeno a través de la solución no sólo protege la oxidación crítica de la magnetita, sino que también favorece la formación de nanopartículas de magnetita de un más pequeño tamaño en comparación con una atmósfera oxidante. Bajo esta modalidad, la formación de nanopartículas de magnetita se puede dar en un rango de temperatura de 20 °C a 90°C, mientras que el tiempo de reacción varía entre minutos y horas. Las condiciones de reacción suelen estar en un rango de temperatura de 20 a 90 °C, con un tiempo de reacción de horas (Zhu and Wu, 1999; Gupta and Gupta, 2005; Zhang *et al.*, 2007; Nyiro-Kosa, Rečnik and Pósfai, 2012; Salavati-Niasari, Mahmoudi and Amiri, 2012; Ebrahimian Pirbazari, Saberikhah and Habibzadeh Kozani, 2014; Unsoy *et al.*, 2015).

Se ha observado que el método de síntesis empleado, influye directamente en la forma, la distribución de tamaño y fases presentes (Ver tabla 3).

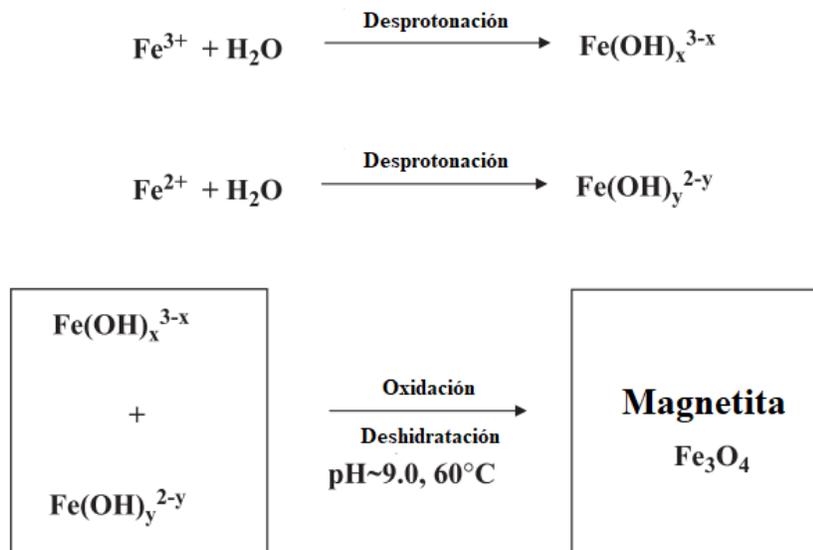


Figura 5. Mecanismo de reacción de la formación de Nanopartículas de magnetita a partir de una mezcla acuosa de cloruro ferroso y cloruro férrico mediante la adición de una base (método de co-precipitación) (Gupta and Gupta, 2005).

Tabla 3. Comparación entre los métodos de síntesis para la obtención de óxidos de hierros y sus propiedades. Modificada de Cruz, (2016)

Comparación entre los métodos de síntesis para la obtención de óxidos de hierro					
Método de Síntesis	Características del nanopartículas obtenidas				
	Distribución de tamaño	Morfología	Valores de magnetización	Ventajas	Desventajas
Sol-Gel	Distribución de tamaños amplia.	Esféricas con alta porosidad.	Entre 10 y 50 emu/g con un comportamiento paramagnético.	Forma y tamaño controlado. Producto monodisperso.	El producto final contiene restos de los componentes del matriz sol-gel en la superficie.
Microemulsión	Distribución estrecha de tamaños.	Cúbicas o esféricas.	>30 emu/g con un comportamiento superparamagnético.	Propiedades uniformes, tamaño puede ser controlado.	Implica manipular grandes volúmenes de reactivos inflamables generando residuos peligrosos en términos de su toxicidad. Difícil remoción de los surfactantes, rendimiento bajo.

Coprecipitación	Distribución estrecha de tamaños.	Cúbicas o esféricas	Entre 30 - 80 emu/g con un comportamiento superparamagnético.	Muestras obtenidas son directamente hidrofílicas y por lo tanto estables en medio acuoso. Barato, robusto, no son necesarios reactivos y condiciones especiales. Fácil escalamiento para su utilización en la industria, no se requiere purificación posterior debido a la nobleza de sus precursores.	Poco control de forma, y del tamaño, puede formar agregados.
-----------------	-----------------------------------	---------------------	---	--	--

## 1.7 Técnicas de caracterización

Hoy en día, existe un gran número de métodos para caracterizar magnetita y los empleados dependerán de la información que se desee recabar. La información acerca de la estructura de las nanopartículas se puede obtener por espectroscopia infrarroja (IR), difracción de rayos X (DRX) y métodos termo-analíticos como calorimetría de barrido (DSC) y análisis gravimétrico (TGA) mientras que para tamaño de partícula, se emplea microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía de transmisión (TEM).

▪ **Espectroscopia infrarroja (IR).** Cuando las nanopartículas están funcionalizadas con moléculas orgánicas, IR proporcionará la información estructural correspondiente a dicho recubrimiento. o unidas a grupos orgánicos, es importante identificar los grupos funcionales que residen en la superficie de la nanopartícula, su fuerza de unión (covalente o iónica). Los fotones que transportan la radiación infrarroja no tienen energía suficiente para provocar transiciones electrónicas, pero si pueden conseguir vibraciones de los enlaces covalentes de las moléculas orgánicas. Los átomos no se encuentran estáticos dentro de una molécula sino que están en movimiento constante, estos sólo pueden vibrar a frecuencias específicas, conocidas como estados de vibración. Una molécula absorbe luz infrarroja sólo cuando dicha energía incidente es igual a la necesaria para que se dé el estado de vibración de la molécula.

---

Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja. Las bandas de absorción características de casi todos los grupos funcionales se encuentran entre  $4,000\text{ cm}^{-1}$  y  $400\text{ cm}^{-1}$ . Los espectros de infrarrojo se representan como gráficas de absorbancia frente a número de onda (Fadeel and Garcia-Bennett, 2010).

▪ **Análisis termogravimétrico.** (TGA por sus siglas en inglés) es una técnica que nos permite saber la composición de un sistema multicomponente. Registra de manera continua, el cambio de la masa de una muestra colocada en una atmósfera controlada, en función de la temperatura o del tiempo. En el primer caso (experimento dinámico) la temperatura de la muestra va aumentando de manera controlada (normalmente de forma lineal con el tiempo), y en el segundo la temperatura se mantiene constante durante todo el experimento. La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo o de la temperatura se denomina termograma o curva de descomposición térmica (Madrid, 2010). Esta técnica permitirá analizar cuantitativamente el recubrimiento orgánico de las NPM.

▪ **Difracción de Rayos X.** La difracción es un fenómeno que consiste en la dispersión aparente de las ondas. En el espectro electromagnético, los rayos X tienen longitudes de onda similares a las distancias interatómicas en la materia, por lo que es posible utilizar la difracción de rayos X como un método para explorar la naturaleza de la estructura cristalina. La difracción producida por una estructura cristalina, verifica la ley de Bragg que proporciona una representación de la difracción de los rayos X, considerando el fenómeno desde el punto de vista de una reflexión pura en los planos paralelos de un cristal perfecto. Es así que la señal obtenida, consiste en un conjunto de máximos de difracción, caracterizados por dos parámetros: su distancia interplanar (en unidades de angstrom o nanómetros) y su intensidad (en cuentas c o en cuentas por segundo cps). La posición de los máximos dependerá de la radiación utilizada. Bajo estos parámetros, el patrón es único para cada material por lo que se le considera como una “huella digital” de cada fase cristalina, que se puede comparar con patrones de las distintas bases de datos existentes (COD, MINCRYST, AMCSD, IDCC) para la identificación de la o de las fases cristalinas presentes en el material, cálculos de tamaño cristalino, determinación de la relación amorfo vs

---

cristalino, entre otros (Mendoza, 2011). Esta técnica nos permitirá analizar el núcleo de magnetita sin importar su recubrimiento.

▪ **La Microscopia Electrónica de Barrido** (SEM por sus siglas en inglés) nos permite la observación y la caracterización superficial de materiales, proporcionando información morfológica del material analizado. Las ventajas que presenta esta técnica, son la alta resolución, la profundidad de campo que le da la apariencia tridimensional a las imágenes y a sencilla preparación de las muestras.

▪ **La Microscopia Electrónica de Transmisión.** (TEM por sus siglas en inglés) permite determinar con un alto grado de precisión la estructura policristalina o monocristalina del cristal, es decir, conocer los elementos de simetría, las direcciones de crecimiento, constantes geométricas como el parámetro de red hasta la posibilidad de conocer defectos estructurales y fases estructurales de éstas. El resultado es una imagen directa de la estructura de las nanopartículas inmersas en la escala nanométrica. De izquierda a derecha, los electrones provenientes de la fuente (cañón de electrones) atraviesan la muestra siendo dispersados por esta; se enfocan por la lente objetivo y se magnifican por la proyectora para producir la imagen de la muestra.

Cuando el haz de electrones interacciona con la muestra, se producen distintas señales, que permiten la caracterización estructural y química de ésta. Electrones retrodispersados y secundarios: dan información sobre la superficie de la muestra; Electrones absorbidos: dan información sobre la resistividad de la muestra; Electrones Auger y rayos X: permiten el análisis químico de la muestra y Electrones transmitidos: forman la imagen (unos atraviesan la muestra sin cambiar su dirección de incidencia y los que se difractan (Rösslein *et al.*, 2013; Cruz, 2016; Ríos, 2016)

---

## 1.8 Toxicidad de magnetita

Las aplicaciones de las nanopartículas de magnetita, están influenciadas por sus propiedades físicas, químicas y magnéticas junto con su forma y tamaño. Son prometedoras en nanomedicina para una amplia gama de aplicaciones, como administración de fármacos quimioterapéuticos, terapia dirigida, imagen por resonancia magnética, teranósticos, transfección y separación celular e hipertermia.

Sin embargo, la toxicidad de éstas hacia las células normales es un factor que limita su uso como agente terapéutico y/o teranóstico en la clínica. El alto grado de unión no específica a los componentes celulares y los fluidos biológicos de las nanopartículas de magnetita, así como su inestabilidad coloidal durante la administración en los medios biológicos, se consideran como la causa principal de la toxicidad.

Se ha observado que nanopartículas de magnetita de un tamaño muy pequeño pueden ser secuestradas en varios sistemas del cuerpo e interferir con su funcionamiento normal. Por ejemplo, cruzar la barrera hematoencefálica y dañar las funciones neuronales; atravesar la membrana nuclear y causar mutaciones; existen reportes que indican que nanopartículas de magnetita sin recubrir pueden aglomerarse y formar agregados que obstruyan los vasos sanguíneos. Aunque las nanopartículas de magnetita se recubren en muchos casos para aumentar su estabilidad y biocompatibilidad, es de suma importancia determinar el efecto tóxico de dicho recubrimiento, especialmente los de naturaleza polimérica (Fadeel and Garcia-Bennett, 2010; Bregoli *et al.*, 2016; Patil *et al.*, 2018).

Actualmente, el enfoque más confiable y fácil para estudiar de manera preliminar la toxicidad de las nanopartículas de magnetita, es mediante estudios de citotoxicidad, *in vitro*, en diferentes líneas celulares.

Bajo este contexto, en este trabajo de investigación se presenta la síntesis de nanopartículas de magnetita con cuatro diferentes recubrimientos. Los recubrimientos consisten en cuatro lípidos: nolilamina, dodecilamina, tetradecilamina y oleilamina (NLA, DDA, TDA, OLA, respectivamente). Es decir, recubrimientos de la misma naturaleza pero de distinto peso molecular, ya que solamente varían en número de carbonos de su cadena hidrocarbonada

---

(Figura 6). Bajaj, Malhotra and Choi, (2010) reportó por primera vez la síntesis de nanopartículas de magnetita con DDA. En este trabajo se encontró que DDA se compleja electrostáticamente con iones de hierro en agua y que recubre las nanopartículas formadas, controlando así su tamaño al evitar la aglomeración entre ellas. El trabajo de Bajaj, Malhotra and Choi, (2010) se tomó como punto de partida para las nanopartículas de magnetita que sintetizamos en el grupo de investigación y es por eso que se investigará si nolilamina, tetradecilamina y oleilamina (NLA, TDA, OLA, respectivamente) tienen la misma función. Por otro lado, Cruz, (2016) implementó un método de síntesis de nanopartículas de magnetita con DDA utilizando solamente una sal de Fe con resultados en términos de morfología (semiesférica) y tamaño de las nanopartículas de magnetita (<50 nm) lo cual impactó positivamente en las propiedades magnéticas que dieron lugar a respuestas favorables en pruebas de hipertermia. También este método, resultó ser innovador al implicar tiempos de reacción (5 minutos), por lo que es sencillo y eficiente, prescindiendo de una atmósfera inerte.

Lo anterior constituyó la motivación para el planteamiento de este trabajo, ya que:

- 1) se determinará si NLA, TDA, OLA, son moléculas adecuadas para recubrir nanopartículas de magnetita manteniendo un tamaño <50 nm, estabilidad y propiedades magnéticas;
- 2) se investigará si el método de síntesis implementado en el laboratorio para obtener nanopartículas de magnetita recubiertas con DDA es extrapolable a nanopartículas de magnetita recubiertas con NLA, TDA, OLA.

Aunado a esto, se presenta un estudio de toxicidad preliminar de estas nanopartículas de magnética en células epiteliales, proporcionando información novedosa para medir su estudio potencial en aplicaciones biomédicas.



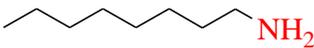
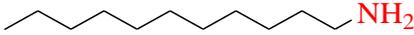
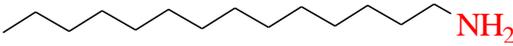
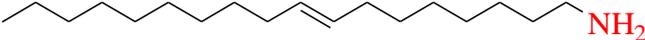
LIPIDO	Formula	Nombre
	$C_9H_{19}N$	Nonilamina
	$C_{12}H_{27}N$	Dodecilamina
	$C_{14}H_{31}N$	Tetradecilamina
	$C_{18}H_{37}N$	Oleilamina

Figura 6. Representaciones esquemáticas de Nonilamina (NLA), Dodecilamina (DDA), Tetradecilamina (TDA) y Oleilamina (OLA).

---

## Justificación

Las nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) se vislumbran altamente efectivas para aplicaciones biomédicas debido a:

- a) La posibilidad de conjugar fármacos en su superficie y ser utilizadas como acarreadores de fármacos;
- b) Sus propiedades magnéticas, ya que pueden ser utilizadas en la Hipertermia (terapia que funciona como soporte a las terapias convencionales utilizadas para combatir el cáncer; conlleva un aumento de temperatura en alguna zona del cuerpo entre  $42^\circ\text{C}$  y  $45^\circ\text{C}$  para dañar las células cancerosas sin dañar las células sanas) o bien como agentes teranósticos;
- c) Utilizarse en técnicas de transfección o separación de componentes celulares en métodos de diagnóstico.

Para lograr una aplicación específica, se deben abordar cuestiones como:

- I. Eficacia de la orientación en un sistema in vivo.** La orientación magnética depende de la magnetización de partículas, esto se controla ajustando las condiciones de reacción durante la síntesis.
- II. Recubrimiento de superficie.** La tendencia de agregación de las nanopartículas de magnetita limita sus uso terapéutico in vivo, por lo que la modificación superficial de éstas, produciría altas cargas positivas o negativas para reducir esta agregación y/o evitar su oxidación introduciendo repulsión estérica o electrostática entre ellas.

Actualmente existen numerosas vías de síntesis de nanopartículas de magnética (NPM), que han demostrado su viabilidad para utilizarlas en nanomedicina, no obstante se necesitan nuevos métodos y estrategias que aborden las dos cuestiones anteriores y contribuyan con el desarrollo de mejoras significativas en la sensibilidad, eficacia y seguridad de estas nanoestructuras, sin perder de vista las oportunidades comerciales que podrían surgir de este mercado emergente. A pesar de las inversiones y de las publicaciones en este campo de la ciencia, son pocos los productos que han llegado al mercado, debido a que la preparación a escala tanto industrial como de laboratorio de las nanopartículas enfrenta varios desafíos. En parte, esto se debe a que los métodos de síntesis resultan costosos, poco reproducibles y

---

difíciles de escalar. A la fecha, no existe un de proceso de producción único para la síntesis de nanopartículas de magnetita (Freitas, 2005; Bregoli *et al.*, 2016; Rösslein *et al.*, 2017; Jang and Lee, 2018; Roco, Mirkin and Hersam, 2011; Rösslein *et al.*, 2013; Boraschi, Swartzwelter and Italiani, 2018).

Ante estas premisas, parte de la motivación de este trabajo involucra, desarrollar un método de síntesis para nanopartículas de magnetita por medio de coprecipitación que resulta sencillo, eficiente, robusto, y escalable. Nuestro método resulta innovador al usar cloruro de hierro tetrahidratado como única fuente de hierro, sin una atmósfera inerte (nitrógeno o argón) durante el proceso de síntesis y con un tiempo de reacción de 5 minutos, en contraste con la síntesis convencional, que involucra dos sales de Fe , atmósfera inerte y tiempos de reacción que van de horas hasta días (Zhu and Wu, 1999; Nyiro-Kosa, Rečnik and Pósfai, 2012; Goswami *et al.*, 2016; Arora *et al.*, 2017). Con los resultados generados, se espera contribuir a la implementación de protocolos de producción de nanopartículas de magnetita con potencial de trasladarse a una escala mayor.

Por otro lado, se trabajará con la modificación de la superficie evaluando distintos recubrimientos. Se espera que éstos contribuyan a generar nanopartículas de magnetita con un tamaño adecuado que retarden o eviten la aglomeración. Así mismo, se espera que los recubrimientos sean biocompatibles y permitan una futura funcionalización con fármacos o moléculas bioactivas.

Existen reportes con recubrimientos de nanopartículas de magnetita con dodecilamina y oleilamina, (este último con vías de síntesis distinta a la propuesta en este trabajo). Sin embargo, a la fecha, no existen reportes en la literatura de la síntesis de nanopartículas de magnetita con recubrimientos de nonilamina y tetradecilamina. Es así, que la síntesis de nanopartículas de magnetita con los estas aminas propuestas permitirá evaluar la robustez de nuestro método y generará por primera vez información sobre la síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita sintetizadas en este trabajo.

---

La toxicidad de estas nanoestructuras hacia las células y tejidos, es un factor que limita su uso como agente terapéutico y/o teranóstico en la clínica. Por lo que, por primera vez, se evaluará el comportamiento de nanopartículas magnéticas con recubrimientos de nonilamina, dodecilamina, tetradecilamina y oleilamina en hepatocitos sanos, estableciendo una correlación entre los distintos recubrimientos, el tamaño, la forma y las propiedades magnéticas y su interacción con el entorno biológico de las nanopartículas de magnetita.

---

# 1. Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nanopartículas magnéticas de óxido de hierro (Magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con lípidos con distinto peso molecular: nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA); y explorar su comportamiento biológico *in vitro* en hepatocitos.

## 2. Objetivos particulares

- I) Sintetizar nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA) por el método de coprecipitación desarrollado e implementado en el laboratorio. Se buscará la optimización y reproducibilidad del método para todos los recubrimientos.
- II) Caracterizar por Espectroscopia Infrarroja (IR) nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA). Esta técnica nos permitirá identificar los recubrimientos orgánicos de las nanopartículas de magnetita.
- III) Caracterizar vía Rayos X de polvos nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA). Para verificar la fase estructural de magnetita.
- IV) Caracterizar por Microscópica Electrónica de Transmisión (TEM) cada producto obtenido para determinar la morfología (forma y tamaño) de las nanopartículas.
- V) Caracterizar las propiedades magnéticas de nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA). por medio de magnetometría de muestra vibrante (VMS) para estimar la magnetización de saturación ( $M_s$ ) y campo coercitivo ( $H_c$ ), cuya magnitud determinará el carácter superparamagnético de las nanopartículas

---

obtenidas, estrechamente relacionada con la potencial aplicación biomédica de estas nanoestructuras.

- VI) Evaluar las nanopartículas sintetizadas en células epiteliales sanas. Identificar su toxicidad como estudio preliminar para una futura aplicación biomédica.

### 3. Hipótesis

Si el método implementado en el laboratorio para la síntesis de nanopartículas de magnetita recubiertas con DDA es robusto y reproducible, entonces su capacidad para producir nanopartículas de magnetita recubiertas con NLA, TDA, OLA permitirá la selección de aquellas que cumplan con tamaño, propiedades magnéticas y un buen perfil de toxicidad, para una aplicación terapéutica.

---

## 4. Metodología

### 4.1 Reactivos

- 1 Cloruro de Hierro (II) tetrahidratado. (198.81 g/mol; 99%; Lot. BCBT2111; Sigma-Aldrich)
- 2 Agua -MilliQ (Membrana de poro 22  $\mu\text{m}$ )
- 3 Nonilamina (98%; Lot. 02621HQ; Sigma-Aldrich)
- 4 Dodecilamina (98%; Lot. D222208; Sigma-Aldrich)
- 5 Tetradecilamina (96%; Lot. 05615LT; Sigma-Aldrich)
- 6 Oleilamina (70%; Lot. BCBC8962V; Sigma-Aldrich)
- 7 Acetona GR. (99.5%; Lot. 179124; Sigma-Aldrich)
- 8 Hidróxido de potasio Pellets (87%; E13C68; J.T. Baker)

### 4.2 Equipos / Instrumentos

- 1 Evaporador rotatorio BUCHI-210 con baño térmico BUCHI B-491 [a 90°C y 120 rpm]
- 2 Infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) ThermoScientific Nicolet 6700. [32 escaneos, de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ]
- 3 Difractómetro de rayos X, SIEMENS D-5000 [con arreglo de Bragg-Brentano;  $K_{\alpha} \text{Co} = 1.7903 \text{ Angstrom}$ ].
- 4 Analizador Termogavimétrico, TA 2000, Q600 V8 [Nitrógeno 10 mL/min; rampa 10°C/min a 600 °C]
- 5 Calorímetro diferencial de barrido DSC Q2000 V24 [rampa 10 °C/min to 400°C; Rango de temperatura 87.62 to 498.08 °C]
- 6 Microscopio Electrónico de Transmisión [JEOL-2100 f de Alta Resolución]
- 7 Magnetómetro de muestra vibrante [rango de temperatura de 2 a 350 Kelvin; campo máximo 7 Teslas]

## 4.3 Síntesis

En la presente tesis se reporta la síntesis de nanopartículas de magnetita recubiertas de: nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA), de acuerdo al protocolo establecido por Bajaj, Malhotra and Choi (2010) y Cruz (2016).

En la figura 7 se muestra la síntesis de manera general de nanopartículas de magnetita recubiertas, en donde **A)** es la solución de  $\text{FeCl}_2$ , **B)** solución de NLA, DDA, TDA y OLA a  $90^\circ\text{C}$  en agitación magnética, creando micelas al entrar en contacto con el agua y **C)** es la mezcla de las dos soluciones a  $90^\circ\text{C}$  en agitación durante 5 minutos. Como resultado de esta reacción se obtienen nanopartículas de magnetita recubiertas.

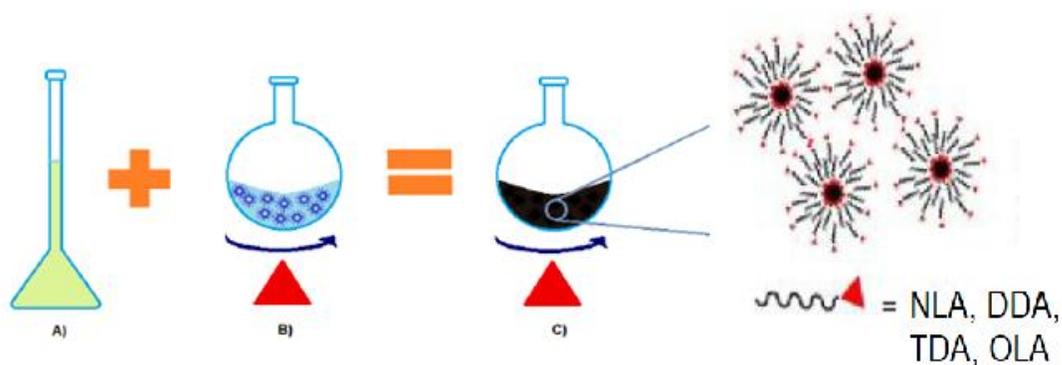


Figura 7. Síntesis general de nanopartículas recubiertas. Modificada de (Cruz, 2016).

---

### 4.3.1. Síntesis de nanopartículas sin recubrir

**Solución de cloruro de hierro II.** Se pesó 121 mg de Cloruro de hierro II, se coló en un matraz volumétrico de 50 mL y agregó 20 mL de Agua-MilliQ, se disolvió y aforó con Agua-MilliQ.

**Procedimiento.** En un matraz de fondo redondo de 250 mL, se agregó 50 mL de Agua-MilliQ y 1.8 mmol de KOH aproximadamente. En un baño de aceite a 90° C, se coló el matraz de fondo redondo con agitación mecánica hasta obtener una solución homogénea.

Posteriormente, a este matraz se agregó la solución de cloruro de hierro II, y se coló en un evaporador rotatorio durante 5 min, a 90°C a 120 rpm. Al finalizar el tiempo, se retiró el matraz de fondo redondo y se coló en un baño de hielo. Una vez atemperado, se realizó la purificación del precipitado con tres lavados con acetona y la decantación magnética respectivamente. Posteriormente se lavó con Agua-MilliQ por triplicado y se realizó la decantación magnética correspondiente. Se liofilizó la suspensión obtenida.

### 4.3.2. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con Nonilamina

**Procedimiento.** En un matraz de fondo redondo de 250 mL, depositó 0.5 mL de nonilamina, se agregó 50 mL de Agua-MilliQ y 1.8 mmol de KOH aproximadamente. En un baño de aceite a 90° C, se coló el matraz de fondo redondo con agitación mecánica hasta obtener una solución homogénea.

Posteriormente, a este matraz se agregó la solución de cloruro de hierro II, y se coló en un evaporador rotatorio durante 5 min, a 90°C a 120 rpm. Al finalizar el tiempo, se retiró el matraz de fondo redondo y se coló en un baño de hielo. Una vez atemperado, se realizó la purificación del precipitado con tres lavados con acetona y la decantación magnética respectivamente. Posteriormente se lavó con Agua-MilliQ por triplicado y se realizó la

---

decantación magnética correspondiente y se liofilizó la suspensión obtenida, para su posterior uso.

### 4.3.3. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con dodecilamina

**Procedimiento.** Se pesó 250 mg de dodecilamina GR, y transfirió a un matraz de fondo redondo de 250 mL, se agregó 50 mL de Agua-MilliQ y 1.8 mmol de KOH aproximadamente. En un baño de aceite a 90° C, se coló el matraz de fondo redondo con agitación mecánica hasta obtener una solución homogénea.

Posteriormente, a este matraz se agregó la solución de cloruro de hierro II, y se coló en un evaporador rotatorio durante 5 min, a 90°C a 120 rpm.

Al finalizar el tiempo, se retiró el matraz de fondo redondo y se coló en un baño de hielo. Una vez atemperado, se realizó la purificación del precipitado con tres lavados con acetona y la decantación magnética respectivamente. Posteriormente se lavó con Agua-MilliQ por triplicado y se realizó la decantación magnética correspondiente y se liofilizó la suspensión obtenida, para su posterior uso.

### 4.3.3. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con tetradecilamina

**Procedimiento.** Se pesó 250 mg de tetradecilamina GR, y transfirió a un matraz de fondo redondo de 250 mL, se agregó 50 mL de Agua-MilliQ y 1.8 mmol de KOH aproximadamente. En un baño de aceite a 90° C, se coló el matraz de fondo redondo con agitación mecánica hasta obtener una solución homogénea.

Posteriormente, a éste matraz agregar la solución de cloruro de hierro II, y colocarlo en un evaporador rotatorio durante 5 min, a 90°C a 120 rpm.

---

Al finalizar el tiempo, se retiró el matraz de fondo redondo y se coló en un baño de hielo. Una vez atemperado, se realizó la purificación del precipitado con tres lavados con acetona y la decantación magnética respectivamente. Posteriormente se lavó con Agua-MilliQ por triplicado y se realizó la decantación magnética correspondiente y se liofilizó la suspensión obtenida, para su posterior uso.

### 4.3.2. Síntesis de nanopartículas funcionalizadas con Oleilamina

**Procedimiento.** En un matraz de fondo redondo de 250 mL, se depositó 1.0 mL de Oleilamina, se agregó 50 mL de Agua-MilliQ y 1.8 mmol de KOH aproximadamente. En un baño de aceite a 90° C, se coló el matraz de fondo redondo con agitación mecánica hasta obtener una solución homogénea.

Posteriormente, a este matraz se agregó la solución de cloruro de hierro II, y se coló en un evaporador rotatorio durante 5 min, a 90°C a 120 rpm.

Posteriormente, a este matraz se agregó la solución de cloruro de hierro II, y se coló en un evaporador rotatorio durante 5 min, a 90°C a 120 rpm.

Al finalizar el tiempo, se retiró el matraz de fondo redondo y se coló en un baño de hielo. Una vez atemperado, se realizó la purificación del precipitado con tres lavados con acetona y la decantación magnética respectivamente. Posteriormente se lavó con Agua-MilliQ por triplicado y se realizó la decantación magnética correspondiente y se liofilizó la suspensión obtenida, para su posterior uso.

## 5. Resultados y Discusión

### 5.1 Materias primas

Las diferentes aminas se inspeccionaron visualmente y se analizaron por espectroscopia infrarroja antes de su uso en la síntesis de las nanopartículas de magnetita. Todas cumplieron con los criterios de aceptación conforme a las especificaciones proporcionadas por el fabricante. En la tabla 4 se muestran los criterios de aceptación, las especificaciones conforme al fabricante y propiedades fisicoquímicas relativas para este estudio.

<b>Propiedad/Determinación</b>	<b>NLA</b>	<b>DDA</b>	<b>TDA</b>	<b>OLA</b>
<i>Fórmula molecular</i>	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> N	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> N	C <sub>14</sub> H <sub>31</sub> N	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> N
<i>Peso molecular (g/mol)</i>	143.2	185.3	213.4	267.5
<i>Aspecto</i>	Líquido	Polvo cristalino	Polvo cristalino	Líquido
<i>Color</i>	Incoloro	Blanco	Blanco	Ligeramente amarillo
<i>Punto de fusión</i>	SD	27-29 °C	38-40 °C	18-26 °C
<i>Punto de Ebullición</i>	201 °C	247-249 °C	162 °C	348-350 °C

Tabla 4. Especificaciones de las aminas utilizadas como materia prima, para la síntesis de nanopartículas de magnetita. (Nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA)).

En cuanto a la caracterización por espectroscopia de infrarrojo, los espectros de cada materia prima (Figura 8) presentaron una alta similitud a los espectros reportados en la literatura (S. Kim *et al.*, Nucleic Acids Res. 2016)

Así, se observaron bandas de absorción en 2918 cm<sup>-1</sup> y 2845 cm<sup>-1</sup> asociadas a los modos vibracionales  $\nu_{as}(-CH_2-)$  y  $\nu_{sy}(-CH_2-)$  que corresponden a las interacciones entre los esqueletos de carbono de las cadena alifática. Respectivamente se visualizan las bandas

---

complementarias en  $1459\text{ cm}^{-1}$  atribuida al modo  $\delta(-\text{CH}_2-)$  y otra banda de baja intensidad en  $718\text{ cm}^{-1}$  que manifiesta la vibración de la cadena alifática  $\gamma(-\text{CH}_2-)_n$ , cuando  $n > 4$  (Figura 7).

Se observa una banda débil a  $3332\text{ cm}^{-1}$  asignada al modo vibracional  $\nu(\text{N-H})$  de los grupos amina. Las bandas encontradas en  $1643\text{ cm}^{-1}$  y  $816\text{ cm}^{-1}$  se asignaron a  $\delta(-\text{NH}_2-)$ , mientras que la banda de  $1319\text{ cm}^{-1}$  corresponde a  $\nu(\text{C-N})$ , provenientes de los grupos amino terminales en las cadenas alifáticas.

Para el espectro infrarrojo de OLA, se observa una banda en  $964\text{ cm}^{-1}$  que correspondería a la flexión fuera del plano  $\delta_{\text{oop}}(-\text{HC}=\text{C})$  debido a la insaturación en el carbono 9, banda que no se observa en las muestra NLA, DDA y TDA.

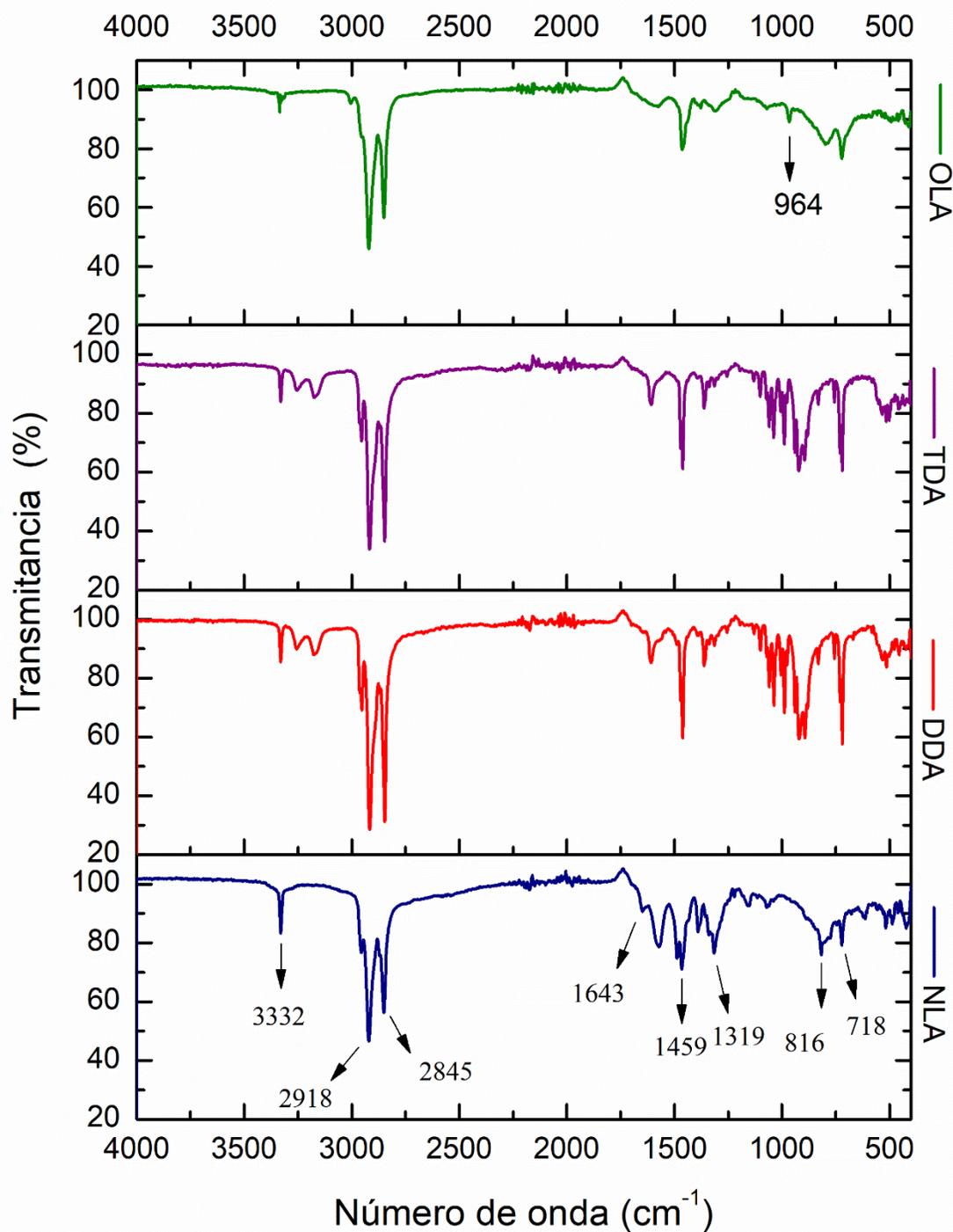


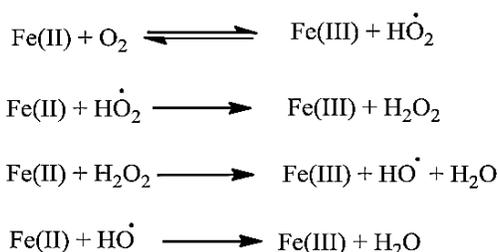
Figura 8. Espectros infrarrojos de las aminas: nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA) utilizadas como materias primas en la síntesis de nanopartículas de magnetita.

## 5.2 Síntesis general de nanopartículas recubiertas

Una nanopartícula híbrida de magnetita (NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) está conformada de un núcleo magnético, rodeada por una capa conocida de un recubrimiento determinado. Si una nanopartícula de esta índole consistiera sólo en un núcleo magnético, esta se oxidaría al interactuar con un medio acuoso, lo cual la haría inutilizable para aplicaciones biológicas. No obstante se dice poco del mecanismo de formación de este tipo de nanoestructuras con superficie modificada.

En este trabajo todas las nanopartículas de magnetita (NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) se sintetizaron con lípidos: nonilamina (NPM-NLA), dodecilamina (NPM-DDA), tetradecilamina (NPM-TDA) y oleilmaina (NPM-OLA) los cuales, pueden actuar como surfactantes en solución acuosa, y dar lugar a nanopartículas de magnetita recubiertas, de tal manera que al final del proceso, la cabeza hidrofílica del surfactante queda expuesta hacia el medio acuoso formando una bicapa lipídica.

De acuerdo con G.Fredd, (1961) analizando las condiciones del medio de reacción la oxidación de Fe (II) a Fe (III) debe tener lugar en primera instancia por la presencia de oxígeno disuelto en agua. Las reacciones vía radicales con un biradical como el O<sub>2</sub>, pueden ocurrir con facilidad.

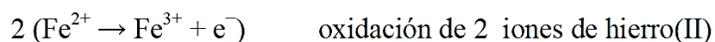


Estas reacciones no están balanceadas con respecto a los iones de hidrógeno y no se pretende especificar la dependencia de la velocidad de reacción en esta variable.

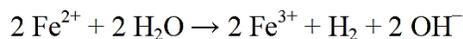
La reversibilidad de primer proceso en ausencia de reacciones, dependerá de las condiciones del medio. De manera general para expresar el estado de oxidación mixto de hierro (II y III) presente en la magnetita, se ha propuestos por (G.Fredd, 1961; Aslam *et al.*, 2007; Aschauer

---

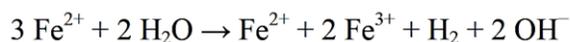
and Selloni, 2015) la formación de magnetita mediante el proceso de balanceo y carga de masa.



que dan:



Agregando a esta reacción un ion intacto de hierro (II) por cada dos iones oxidados de hierro (III), conduce:



La formación de nanopartículas de magnetita recubiertas con los lípidos utilizados en este trabajo no se ha esclarecido completamente. Sin embargo, partiendo del mecanismo de formación de NPM explicado anteriormente, junto con algunas aproximaciones realizadas (Aslam *et al.*, 2007; Modelo *et al.*, 2013), proponemos lo siguiente:

Se sugiere que estos lípidos interfieren en la estabilización de la espinela inversa de la ferrita debido a las condiciones de síntesis, y también generan efecto sobre el tamaño de las nanopartículas a pH básico (11-13) durante el proceso de coprecipitación.

Por otro lado, el  $\text{Fe}^{3+}$  de la superficie de las nanopartículas de magnetita es un ácido de Lewis, el cual interactúa con los iones  $\text{OH}^-$  del medio. Los grupos OH, que ahora rodean la superficie de las nanopartículas de magnetita, forman enlaces de hidrógeno con los grupos  $-\text{NH}_2$  de los lípidos. Así, el grupo  $-\text{NH}_2$  de la primera capa, se orienta hacia la superficie de las nanopartículas y la cola hidrocarbonada de NLA, DDA, TDA y OLA se orienta hacia el exterior de la superficie de las nanopartículas. Las cadenas hidrocarbonadas tendrán interacciones de Van der Waals, a su vez con otras cadenas alifática. El grupo amino de la segunda capa estará orientada hacia el exterior (medio acuoso). La estructura de cada bicapa limita la difusión de las especies hidrolizadas, necesarias para el crecimiento de las nanopartículas de magnetita. En consecuencia, esto conducirá a una reducción de la energía libre de la superficie, debido a la adsorción y al impedimento estérico generado por NLA,

---

DDA, TDA Y OLA que es la razón que limita el crecimiento de las nanopartículas de magnetita.

## 5.2 Caracterización de Nanopartículas de magnetita funcionalizadas con lípidos

### 5.2.1 Espectroscopia infrarroja (IR)

Los productos de oxidación de magnetita son maghemita o hematita, presentan bandas activas en el espectro infrarrojo. Tanto la magnetita como la maghemita tienen la misma estructura de espinela, por lo que la espectroscopia infrarroja se usa como técnica complementaria con difracción de rayos X para identificar la fase de magnetita. G.Fredd, (1961); Nasrazadani and Raman, (1993) documentan las características observadas en los espectros IR de las muestras de maghemita por medio del espectroscopio infrarrojo.

La magnetita, exhibe generalmente una vibración característica en el espectro infrarrojo en el rango de 540 a 570  $\text{cm}^{-1}$ , de acuerdo con Nasrazadani and Raman, (1993) este modo se asigna  $\nu_{\text{sy}}(\text{Fe-O})$ , mientras que la presencia de dos bandas de absorción alrededor de 430 y 630  $\text{cm}^{-1}$  serían características de maghemita.

En el espectro IR de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) sin recubrir se observa en la figura 9. La absorción en 550  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a  $\nu_{\text{sy}}(\text{Fe-O})$  que describe Nasrazadani and Raman, (1993) para la formación magnetita. Para los espectros **a**, **b**, **c** y **d**, esta banda de absorción correspondiente a  $\nu_{\text{sy}}(\text{Fe-O})$  se presentan en 555  $\text{cm}^{-1}$ , 569  $\text{cm}^{-1}$ , 562  $\text{cm}^{-1}$  y 541  $\text{cm}^{-1}$  correspondientemente. Es importante descartar la fase de maghemita en las muestras sintetizadas en esta serie, ya que las bandas de infrarrojo para la superficie del grupo  $\nu(\text{O-H})$  para maghemita se encontrarían en 3400  $\text{cm}^{-1}$  y para el enlace  $\nu_{\text{sy}}(\text{Fe-O})$  se esperarían bandas intensas alrededor de 430 y 630  $\text{cm}^{-1}$ .

En la figura 9, los espectros **b**, **c** y **d** muestra bandas de absorción características en 2915  $\text{cm}^{-1}$  y 2846  $\text{cm}^{-1}$  que se atribuyen a los modos  $\nu_{\text{as}}(-\text{CH}_2-)$  y  $\nu_{\text{sy}}(-\text{CH}_2-)$  que corresponden a las interacciones de la cadena alifática. Adicionalmente se visualizan bandas en 1448  $\text{cm}^{-1}$

---

atribuida al modo  $\delta(-\text{CH}_2-)$  y otra banda de baja intensidad en la región cercana en  $793\text{ cm}^{-1}$  que manifiesta la vibración de la cadena alifática  $\gamma(-\text{CH}_2-)_n$ , cuando  $n > 4$ .

Para los espectros **b**, **c** y **d** se observa una banda débil, característica alrededor de  $3299\text{ cm}^{-1}$  que se atribuye a  $\nu(\text{N-H})$  de cada estructura lipídica, dicha disminución de la intensidad, el respectivo desplazamiento del modo  $\nu_{\text{sy}}(\text{Fe-O})$  y el ancho de las demás bandas características podría deberse a la adsorción a la superficie de las nanopartículas de magnetita y a un posible efecto estabilizante estérico, debido a las cadenas alquílicas largas de los lípidos empleados en la síntesis.

Las bandas encontradas en  $1516\text{ cm}^{-1}$  y  $908\text{ cm}^{-1}$  corresponde a  $\delta(-\text{NH}_2-)$ . Mientras que la banda encontrada en  $1281\text{ cm}^{-1}$  corresponde a  $\nu(\text{C-N})$ . Para el espectro **a** se observa una banda en  $962\text{ cm}^{-1}$  que correspondería a  $\delta_{\text{oop}}(-\text{HC}=\text{C})$  que no se encuentra en las demás muestras.

En conclusión, NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-DTA NPM-OLA muestran la vibración característica para el material de óxido de hierro para la fase de magnetita al rededor  $553\text{ cm}^{-1}$  descartando la formación de maghemita. Dicha banda ha sido previamente reportada por (Nasrazadani and Raman, 1993; Lara-Rodríguez *et al.*, 2005; Keyhanian and Shariati, 2011; Arora *et al.*, 2017). El desplazamiento de ésta banda de absorción correspondiente a  $\nu_{\text{sy}}(\text{Fe-O})$  y la disminución de la intensidad, el ancho y la presencia de cambios en las bandas presentes en la región de  $1500\text{ cm}^{-1}$  y  $850\text{ cm}^{-1}$  con respecto a NPM y a las señales presentadas en materia prima, sugiere una modificación en la composición química de la superficie de las nanopartículas de magnética sintetizadas con los diferentes lípidos.

Savi *et al.*, (2016) prepararon nanopartículas de magnetita por coprecipitación en presencia de PEG, sin embargo no encontraron diferencias en los espectros de IR con respecto a magnetita pura, atribuyendo este resultado a que los lavados empleados eliminaban por completo al polímero.

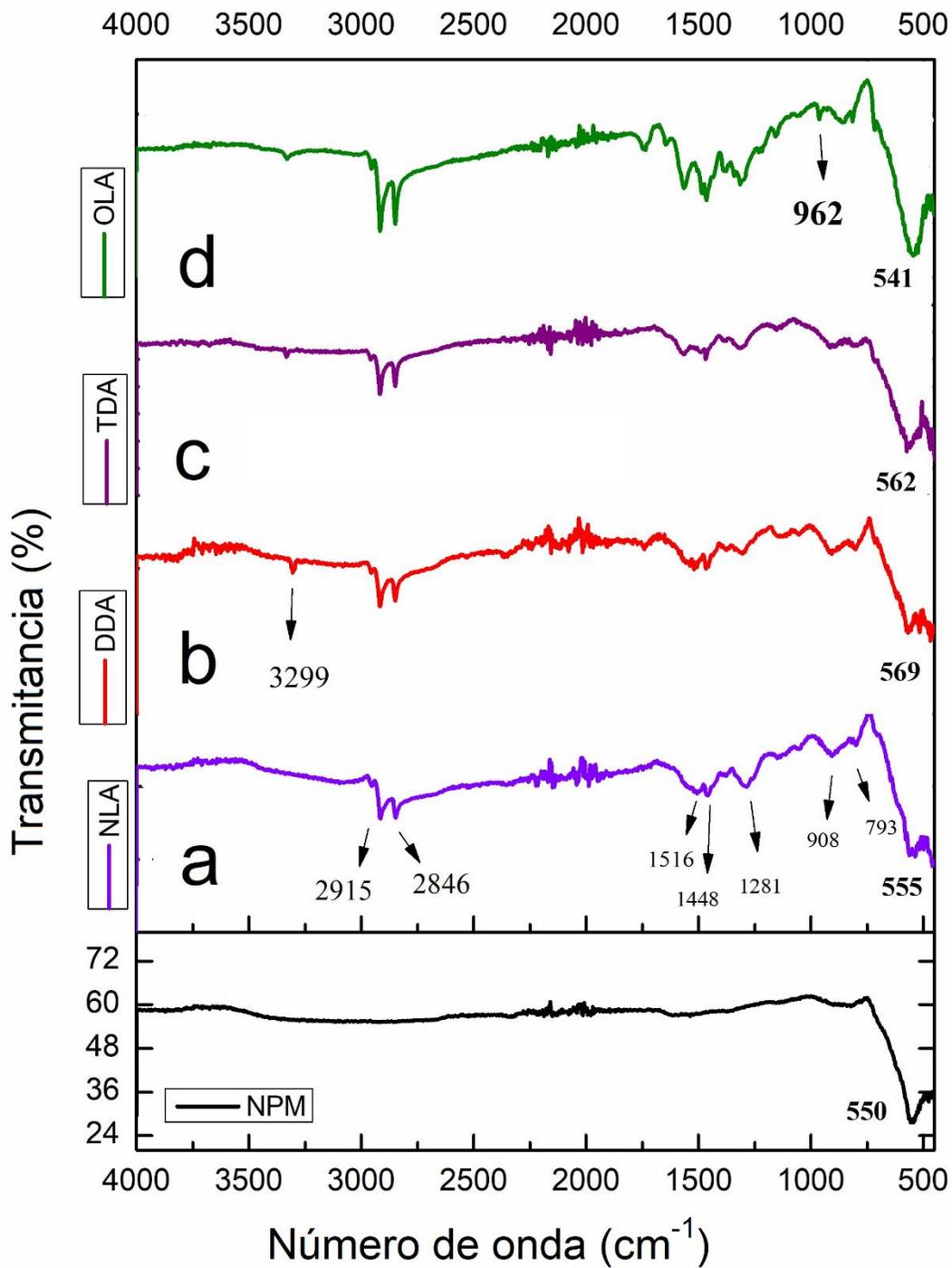


Figura 9. Espectros infrarrojos de nanopartículas de magnetita recubiertas con nolilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA) en comparación de nanopartícula de magnetita sin recubrir. ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

---

## 5.2.2 Análisis termogravimétrico (TGA, DSC)

La presencia de los recubrimientos en la superficie de las nanopartículas de magnetita, se estudió mediante el análisis de TGA/DTG y DSC. Esta técnica proporciona datos sobre la estabilidad térmica de las nanopartículas de magnetita preparadas, la fracción de componentes volátiles y la prueba cuantitativa de la estructura de los agentes de recubrimiento mediante la medición de los cambios en la masa de la muestra en función de la temperatura (Ennas *et al.*, 1999; Aghazadeh, Karimzadeh and Ganjali, 2017).

Los datos termoanalíticos (TGA/DTG y DSC) de las nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y con recubrimiento (NMP-NNA, NMP-TDA, NMP-DDA y NMP-OLA) se resumen en la tabla 5.

En NPM y NMP-NNA, NMP-TDA, NMP-DDA y NMP-OLA, la curva de TGA sugiere una pérdida de masa a una temperatura alrededor de 114.52 °C, 129.7 °C, 125,87°C, 130.98°C y 122.03°C respectivamente, cambio relacionado a la eliminación de agua de hidratación, asociada a las moléculas de nuestros componentes (Pompeu, 2010). El proceso ocurre en dos etapas, atribuido a diferentes fuerzas de unión de las moléculas de agua a la superficie de las nanopartículas de magnetita (Figura 10): **I**) pérdida (*Transformación de materia*) de masa en el rango de 22 °C a 75.6 °C asociada a la liberación agua intermolecular, la desorción de esta etapa sólo quiere 41 kJ para vaporizar 1 mol de agua; **II**) pérdida de masa a temperatura de 100.8°C a 175.9 °C, correspondiente a las fuerzas intramoleculares generadas por una posible coordinación de las moléculas de agua con la superficie de las nanopartículas de magnetita, esta desorción de las moléculas de agua requeriría 930 kJ para romper los enlaces O-H en 1 mol de agua.

*Tabla 5. Resultados termo analíticos de nanopartículas de magnetita sin recubrir y nanopartículas de magnetita recubiertas con diferentes lípidos*

<i>Muestra</i>	<b>Temperatura de TGA (°C)</b>	<b>dTGA</b>	<b>Pérdida de masa TGA (%)</b>	<b>Pérdida de masa global (%)</b>	<b>Asignación</b>	<b>Temperatura de DSC (°C) picos exotérmicos</b>	<b>Capacidad calorífica (J/ g °C)</b>
<i>NPM</i>	(I) 22- 55.3 (II) 80.9-172	(I) 37.9 (II)114.52	(I) 1.7 (II) 1.4	4.311	(I) Desorción de agua intermolecular (II) Desorción de agua intramolecular (III) Transición de fase de magnetita (maghemita)	(I) 33.29 (II) 129.7 (III) 284.5	(I)-1.047 (II)-0.5082 (III)-0.9879
<i>NPM-NLA</i>	(I) 35.85-59.5 (II)86.9- 175.9 (III) 185.5-230.2 (IV) 241.5-394.6	(I) 40.42 (II)129.7 (III) 194.23 (IV) 304.76	(I) 1.2 (II) 8.2 (III) 1.3 (IV) 7.3	20.66	(I) Desorción de agua intermolecular (II)Desorción de agua intramolecular (III) Punto de ebullición (IV)Desorción, descomposición de lípido	(I) 42.51 (II) 126.69 (III) 201.32 (IV) 278.12	(I) -3.689 (II) -3.193 (III) -3.404 (IV) -3.527
<i>NPM-DDA</i>	(I) 49.7-75.6 (II) 85.96-98.79 (III) 181.59-210 (IV) 240.4-391.5	(I) 40.42 (II) 125.87 (III) 188.4 (IV) 306.6	(I) 0.3 (II) 7.8 (III) 2 (IV) 8.9	17.95	(I) Desorción de agua intermolecular (II)Desorción de agua intramolecular (III)Punto de ebullición (IV)Desorción, descomposición de lípido	(I) 40.05 (II) 125.32 (III) 241.39 (IV) 366.84	(I) -5.979 (II) -5.770 (III) -5.453 (IV) -2.479
<i>NPM-TDA</i>	(I) 32.9-54.5 (II) 87.2-163.4 (III) 177-218 (IV) 241.8-392.2	(I) 40.42 (II) 130.98 (III) 192.98 (IV) 309.87	(I) 1.8 (II) 6.5 (III) 1.2 (IV) 7.6	22.43	(I) Desorción de agua intermolecular (II) Desorción de agua intramolecular (III)Punto de ebullición (IV y V) Desorción, descomposición de lípido, transición de fase de magnetita (maghemita)	(I) 63.34 (II) 135.37 (III) 198.72 (IV) 269.45 (V) 338.87	(I) -4.625 (II) -4.444 (III) -3.544 (IV) -3.484 (V) -2.966
<i>NPM-OLA</i>	(I) 39.3-55.2 (II) 100.8-162.8 (III) 237-441.29	(I) 40.42 (II) 122.03 (III) 338.63	(I) 0.8 (II) 9.9 (III)15.34	30.47	(I) Desorción de agua intermolecular (II) Desorción de agua intramolecular (III)Punto de ebullición (IV)Desorción, descomposición de lípido, transición de fase de magnetita (maghemita)	(I) 45.98 (II) 139.71 (III) 212.6 (IV) 372.28	(I) -3.982 (II) -3.693 (III) -3.006 (IV) -1.499

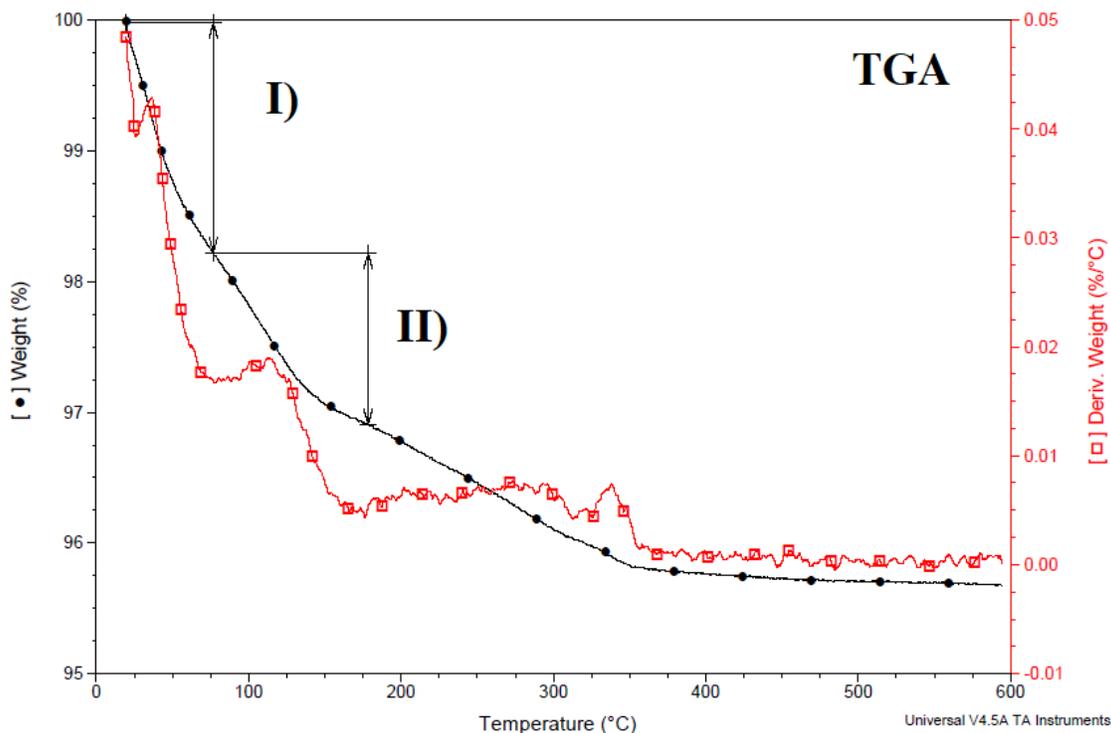


Figura 10. Diagrama de un TGA referente al agua de hidratación en la superficie de partículas de magnetita.

Los cambios termogravimétricos de las moléculas de NLA, DDA, TDA y OLA adsorbidas a la superficie de las nanopartículas de magnetita, se produce generalmente en dos etapas, que sugieren que los arreglos conformacionales de los lípidos en la superficie de las nanopartículas, forman una bicapa, correspondiendo la primera etapa, que ocurre en el rango de temperatura de 177°C a 210 °C a la desorción de la capa exterior de lípidos adsorbidos a las nanopartículas de magnetita, se sugiere que la pérdida de las atracciones electrostáticas débiles (fuerzas de van der Waals) entre las cadenas alifáticas de los lípidos empleados durante la preparaciones.

Estas atracciones de van der Waals, actuarían como un componente importante en la estructura de las nanopartículas de magnetita recubiertas, al proveerles estabilidad en un medio acuoso, o bien, con base en los resultados obtenidos en DSC, se estarían alcanzando el punto de ebullición, con la consecuente pérdida de masa por la volatilización de los lípidos (ver tabla 5).

---

La segunda etapa corresponde a la variación de la temperatura entre 237 - 441.2 °C sugiriendo primeramente, la desorción de la capa lipídica más próxima a la superficie de las nanopartículas de magnetita, y que se relaciona con la ruptura de los enlaces de hidrógeno formados entre el grupo  $-NH_2$  con la superficie de magnetita. Aunado a este fenómeno, se puede encontrar la completa oxidación de las moléculas de NLA, DDA, TDA y OLA, producida a mayores temperaturas completando así la pérdida estructural total del lípido y la transición de la fase magnetita a la maghemita a partir de 284.5 °C para NPM (Figura 19), 278.12°C para NPM-NLA (Figura 20), 366.84°C para NPM-DDA (Figura 21), 338.87°C para NPM-TDA (Figura 22), 372,28 °C para NPM-OLA (Figura 23)

Finalmente, podemos observar que las NPM sin recubrir, mostraron una pérdida de masa global de 4.3 %, mientras que para NPM-NLA (Figura 11), NPM-DDA (Figura 13), NPM-TDA (Figura 15) y NPM-OLA (Figura 17) se observó una pérdida de masa de 20.7 %, 18.0 %, 22.4 % y 30.47 % respectivamente (Ver tabla 5).

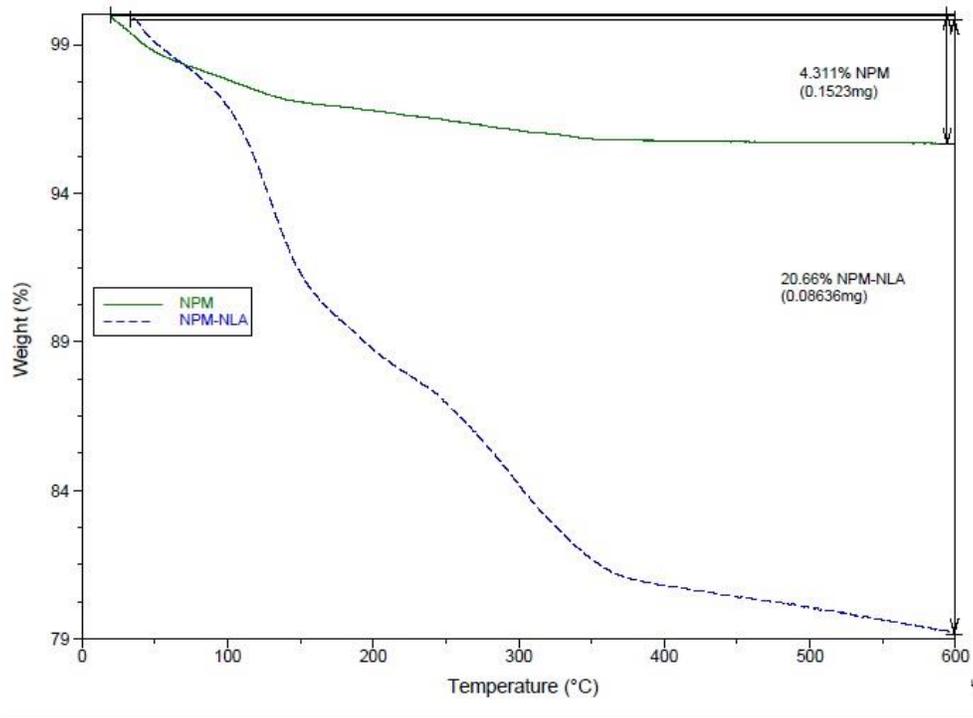


Figura 11. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-NLA)

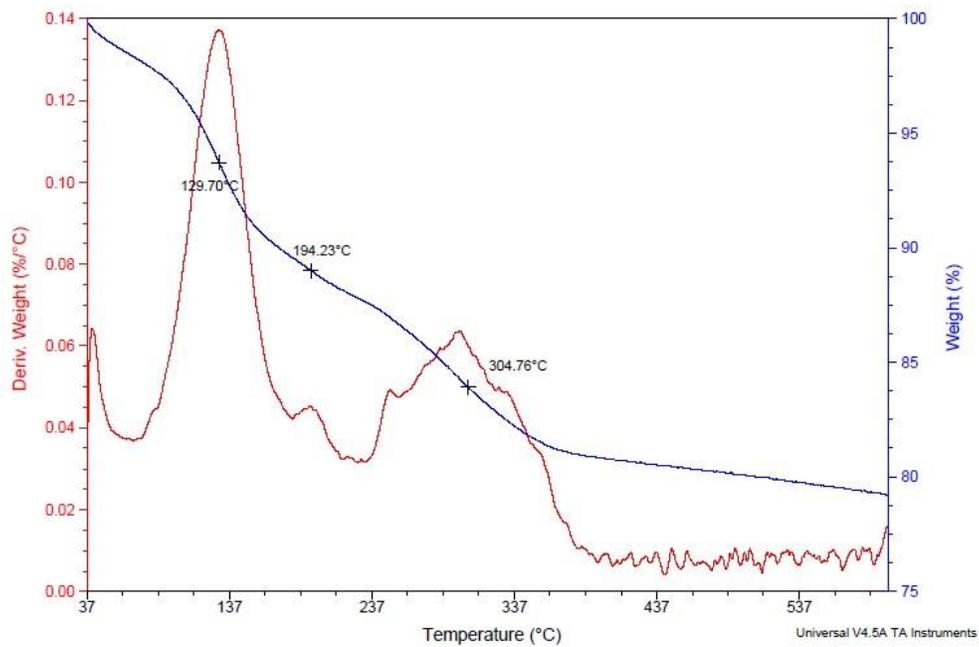


Figura 12. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-NLA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-NLA(roja).

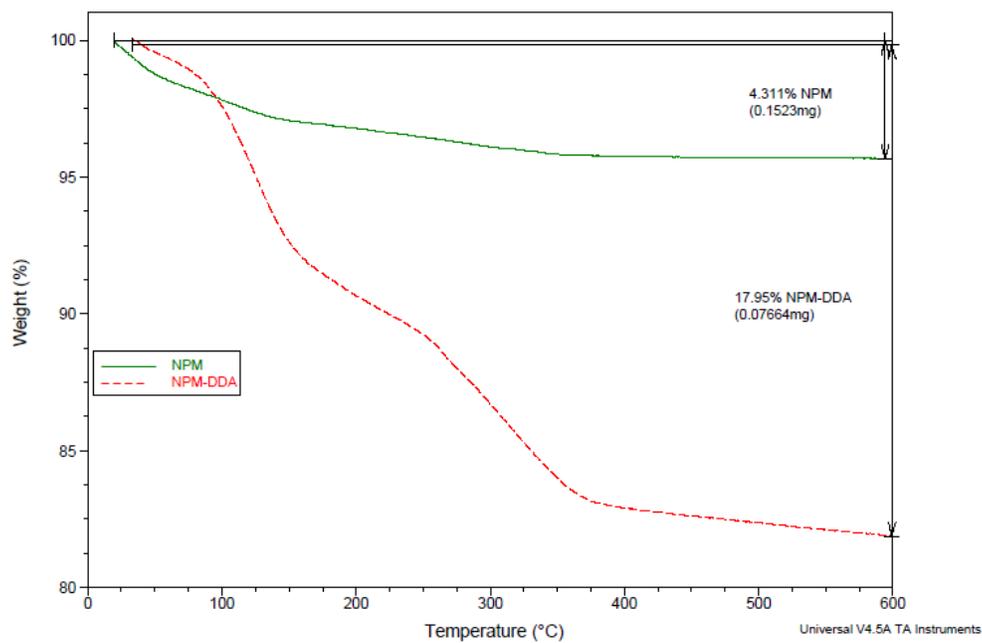


Figura 13. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-DDA)

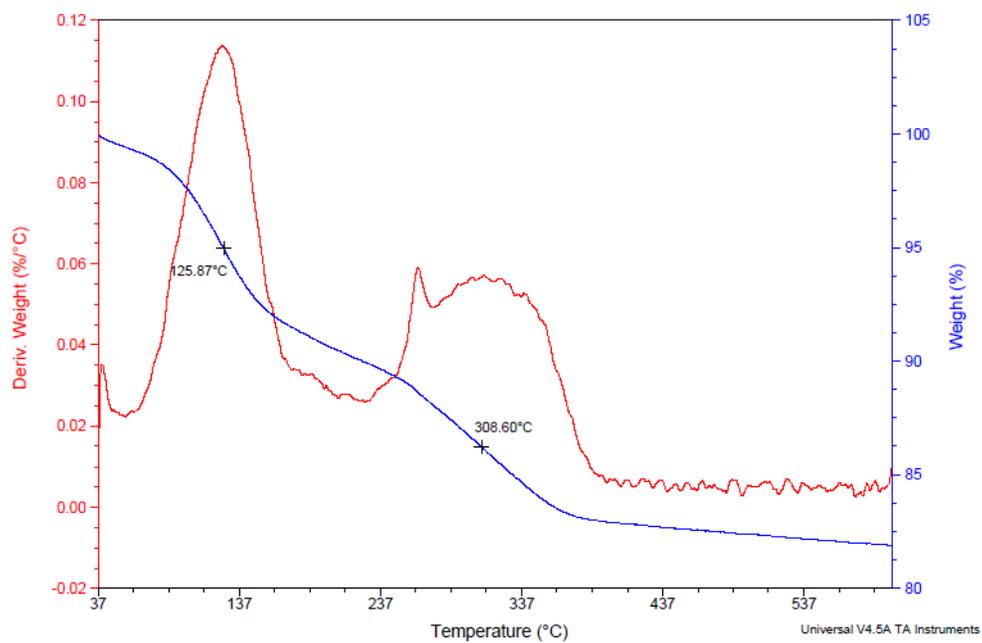


Figura 14. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-DDA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-DDA(roja).

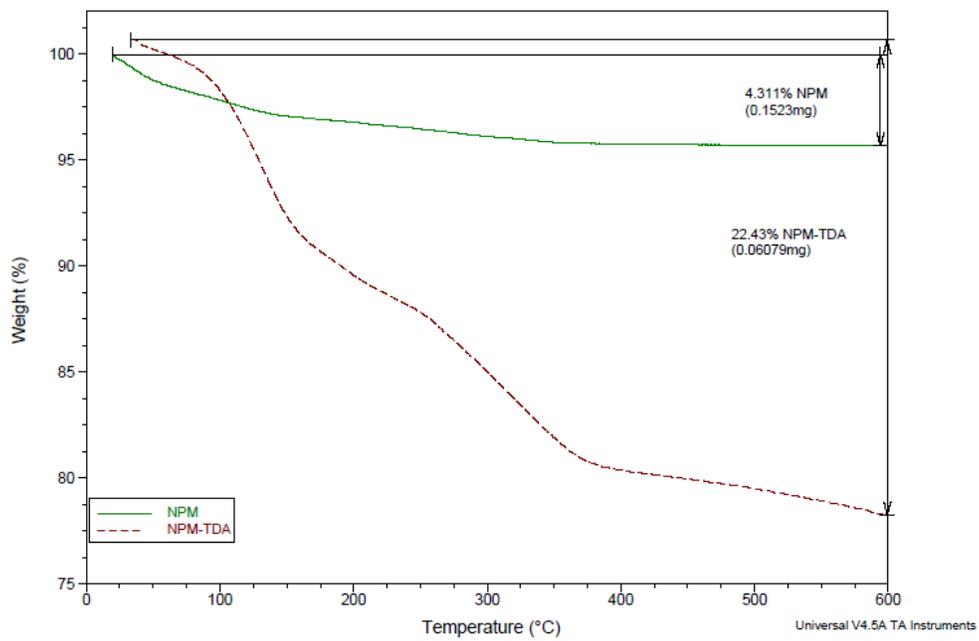
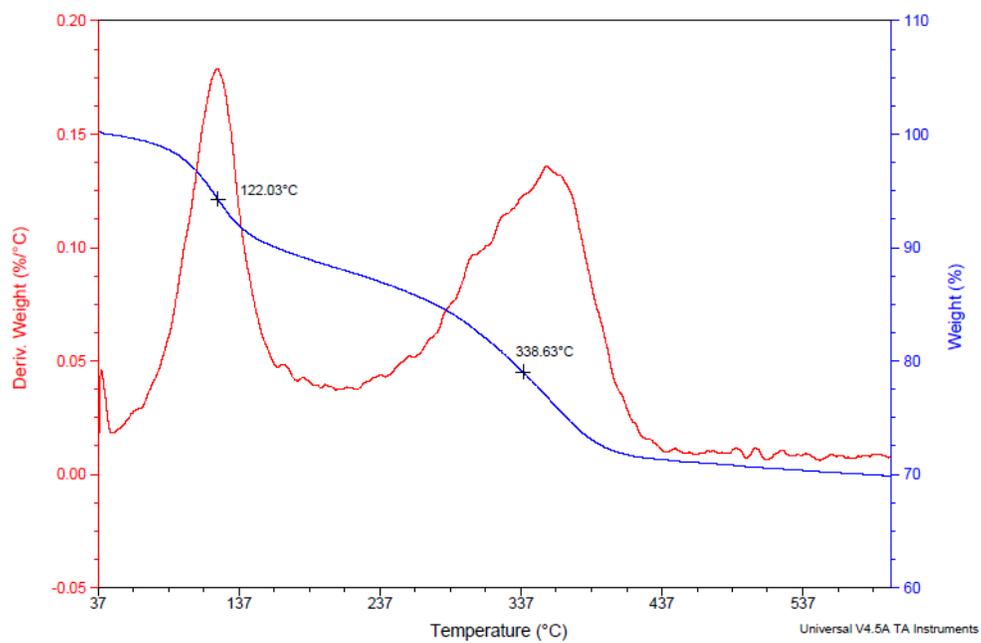
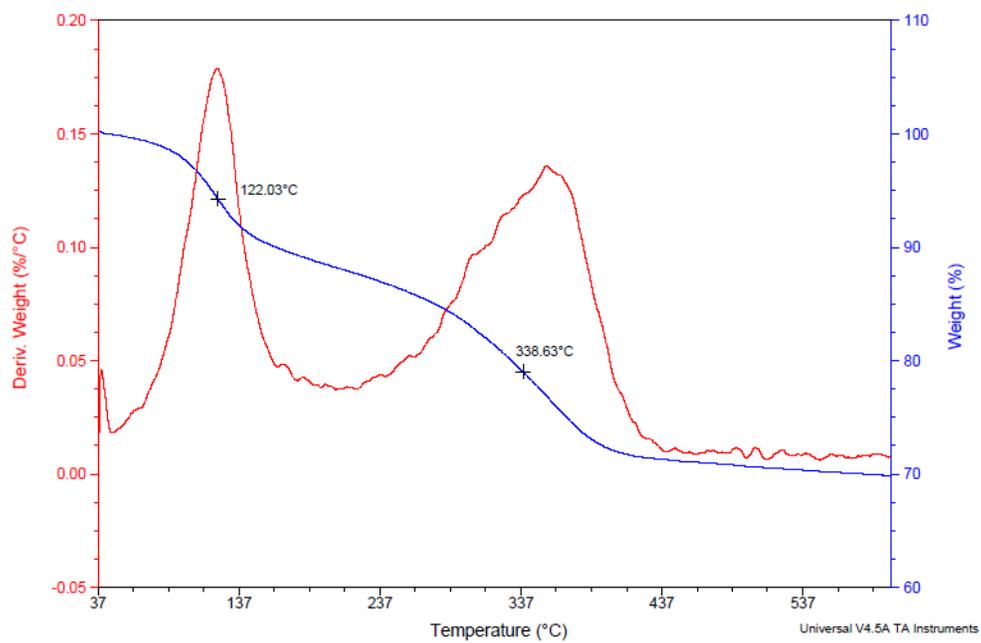


Figura 15. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-TDA)

Figura 16. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-TDA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-TDA(roja).



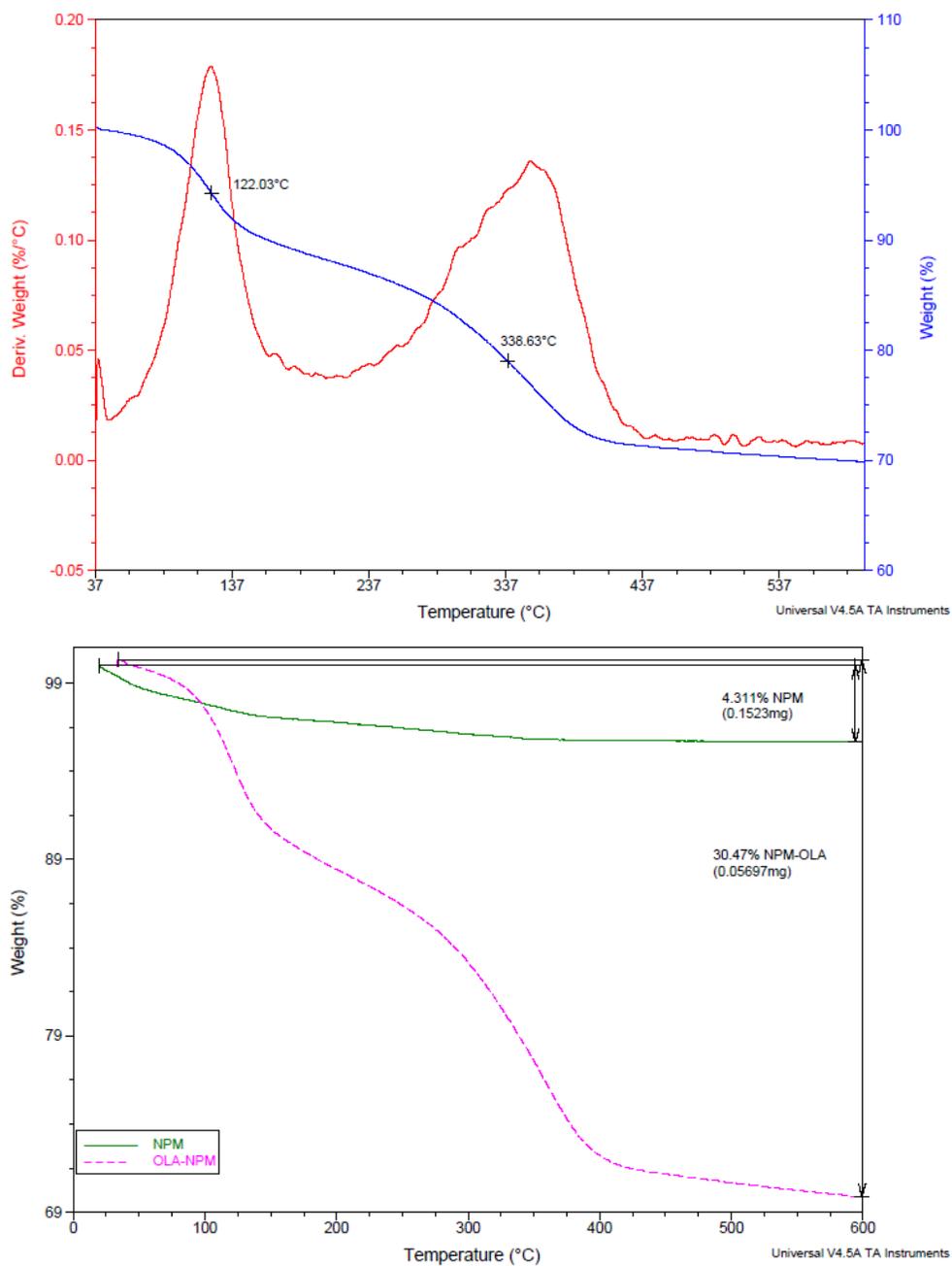


Figura 17. Curvas de TGA de nanopartículas de magnetita sin recubrir (NPM) y nanopartículas de magnetita recubiertas con Nonilamina (NPM-OLA).

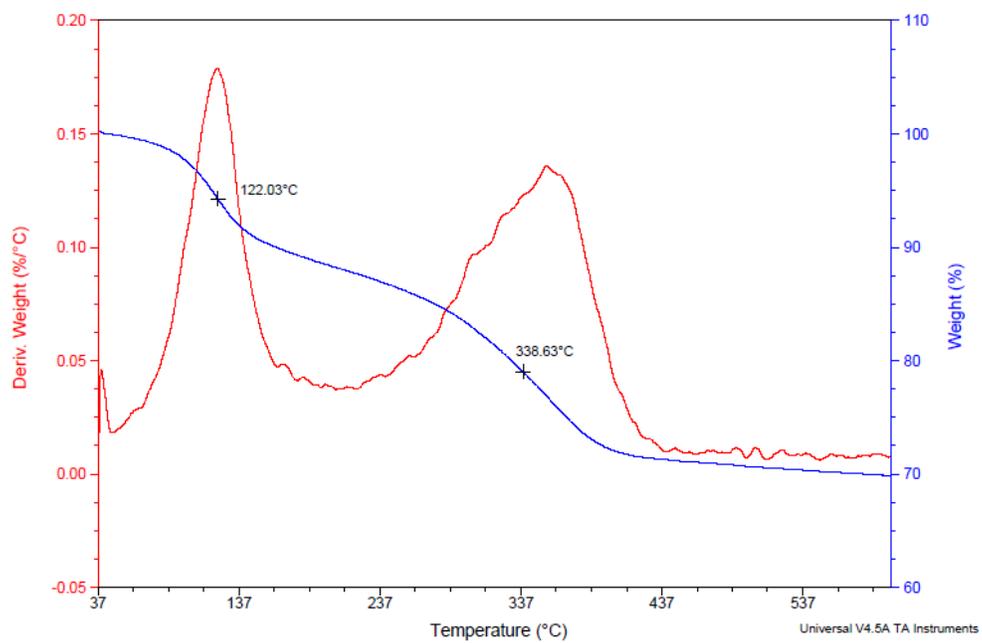


Figura 18. Curvas de TGA de nanopartículas NPM-OLA (azul) y DTG de nanopartículas de NPM-OLA(roja).

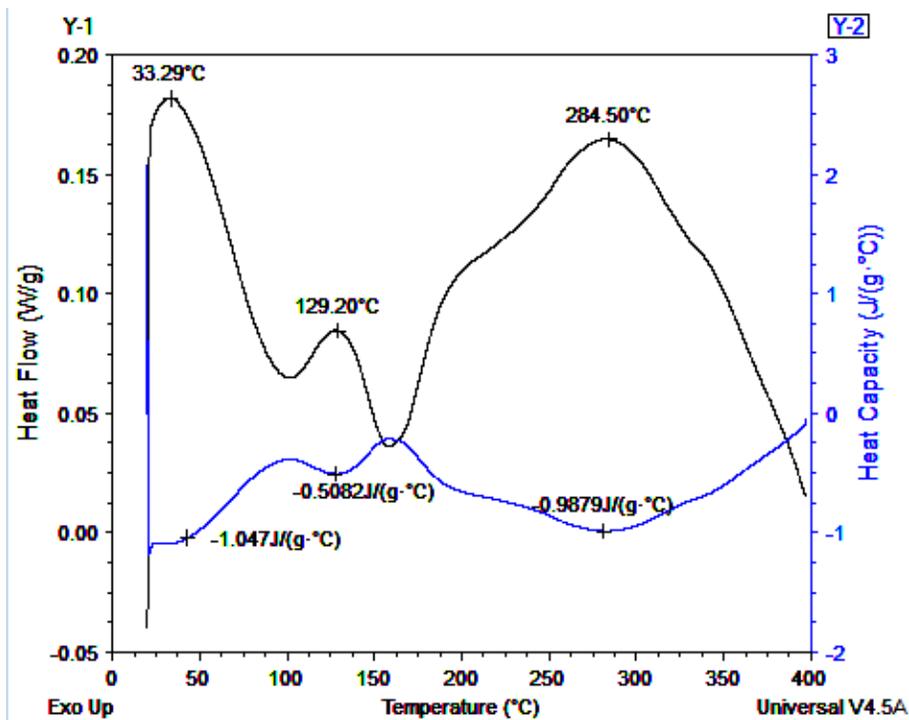


Figura 19. DSC de NPM (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul)

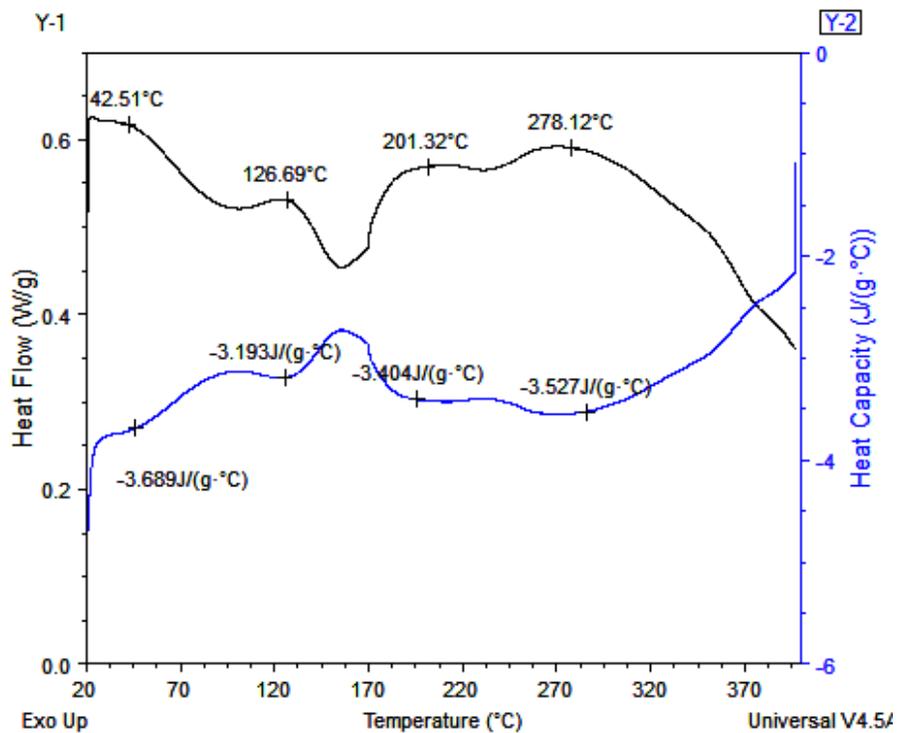


Figura 20. DSC de NPM- NLA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul)

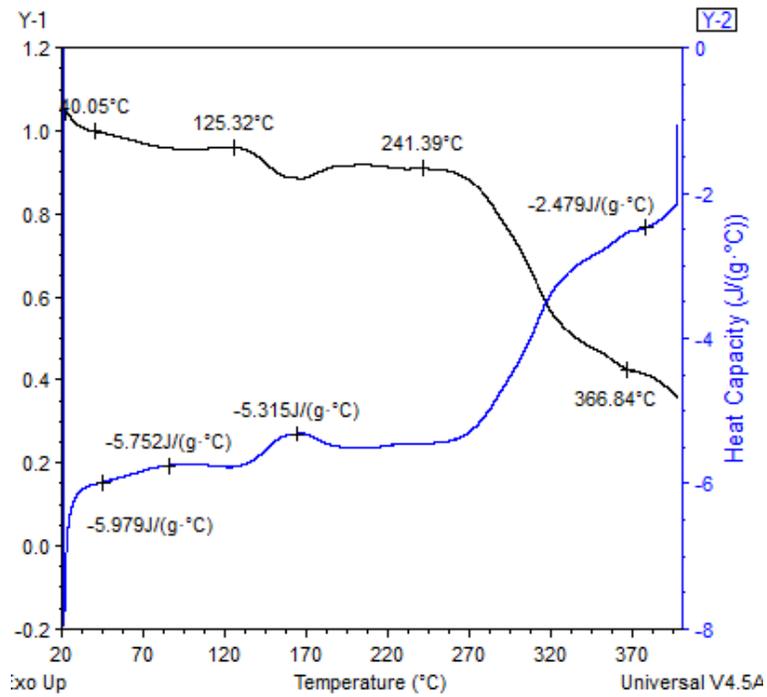


Figura 21. DSC de NPM- DDA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul)

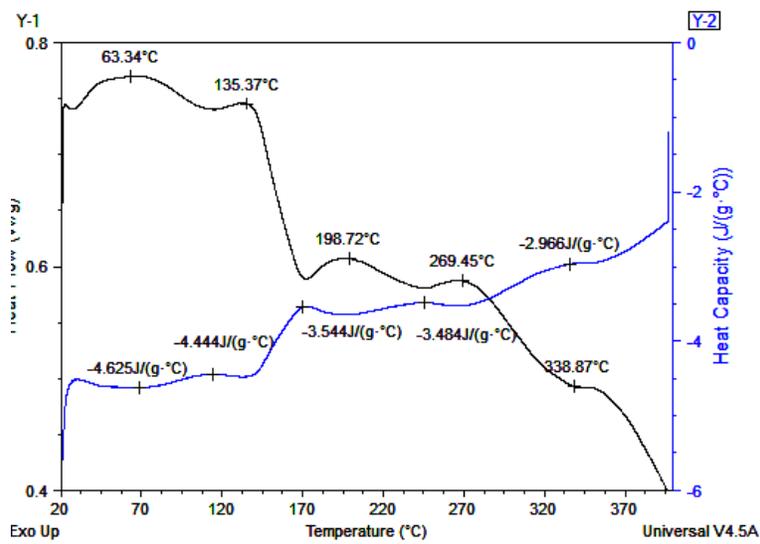


Figura 22. DSC de NPM- TDA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul)

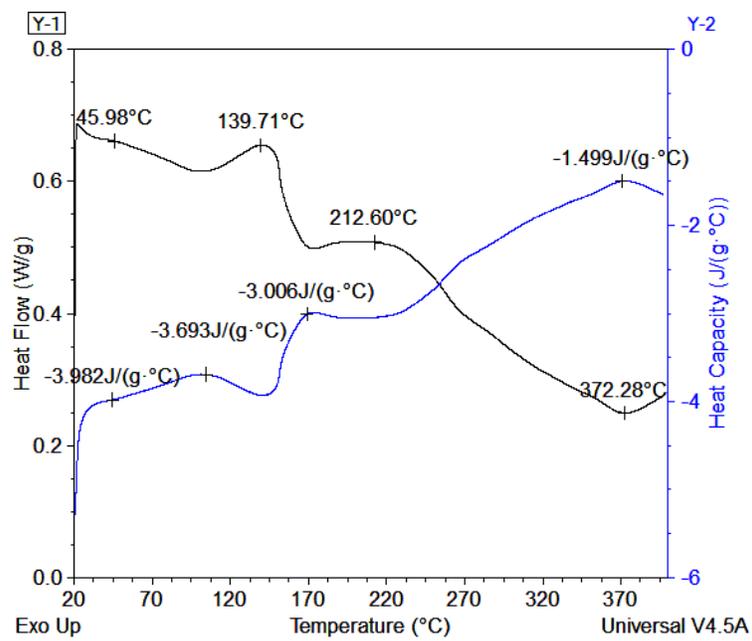


Figura 23. DSC de NPM-OLA (línea negra) y capacidad calorífica (línea azul)

### 5.2.3 Difracción de rayos X (XRD)

En la figura 24 se presenta el difractograma de la muestra en polvo de NPM sin recubrir; sintetizada con la metodología propuesta. Se observan que los picos característicos de difracción concuerdan con la fase cristalográfica de la magnetita, cuya tarjeta de identificación es JCP 01-082-1533. Este material consiste en una estructura de espinela inversa conteniendo con iones  $Fe^{3+}$  distribuidos aleatoriamente en sitios octaédricos y tetraédricos con iones  $Fe^{2+}$  en sitios octaédricos. Presenta un arreglo cúbico FCC, con grupo espacial  $Pd-3m$  (227). En esa figura, se observan picos anchos de difracción, debido al tamaño pequeño de los cristales, consecuencia de las condiciones de preparación de la muestra, tales como método de síntesis y procesos posteriores de tratamiento.

El análisis de difracción de rayos X de todas las muestras con recubrimiento (Figura 25): NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA mostraron los principales picos de magnetita (NPM). Esto demuestra que se encuentra solo una fase, siendo magnetita, con una estructura cúbica.

La principal orientación de crecimiento cristalino fue el plano de difracción (311). Sin embargo, señales en  $2\theta$  correspondientes a los planos: 111, 220, 222, 400, 422, 333, 440, 622 también se logran distinguir y corresponden a los reportados en la ficha cristalográfica de magnetita.

A partir de la información obtenida por XRD se calculó el promedio de tamaño de partícula utilizando el Software Powder Cell 2.0 (Tabla 6).

*Tabla 6. Tamaño de partícula*

<b>MUESTRA</b>	<b>XDR</b>	<b>Parámetro de Red (Å)</b>
<i>NPM-<math>Fe_3O_4</math></i>	14.56	8.3216
<i>NPM-NLA</i>	24.20	8.3362
<i>NPM-DDA</i>	26.58	8.3448
<i>NPM-TDA</i>	25.67	8.3147
<i>NPM-OLA</i>	14.78	8.3249

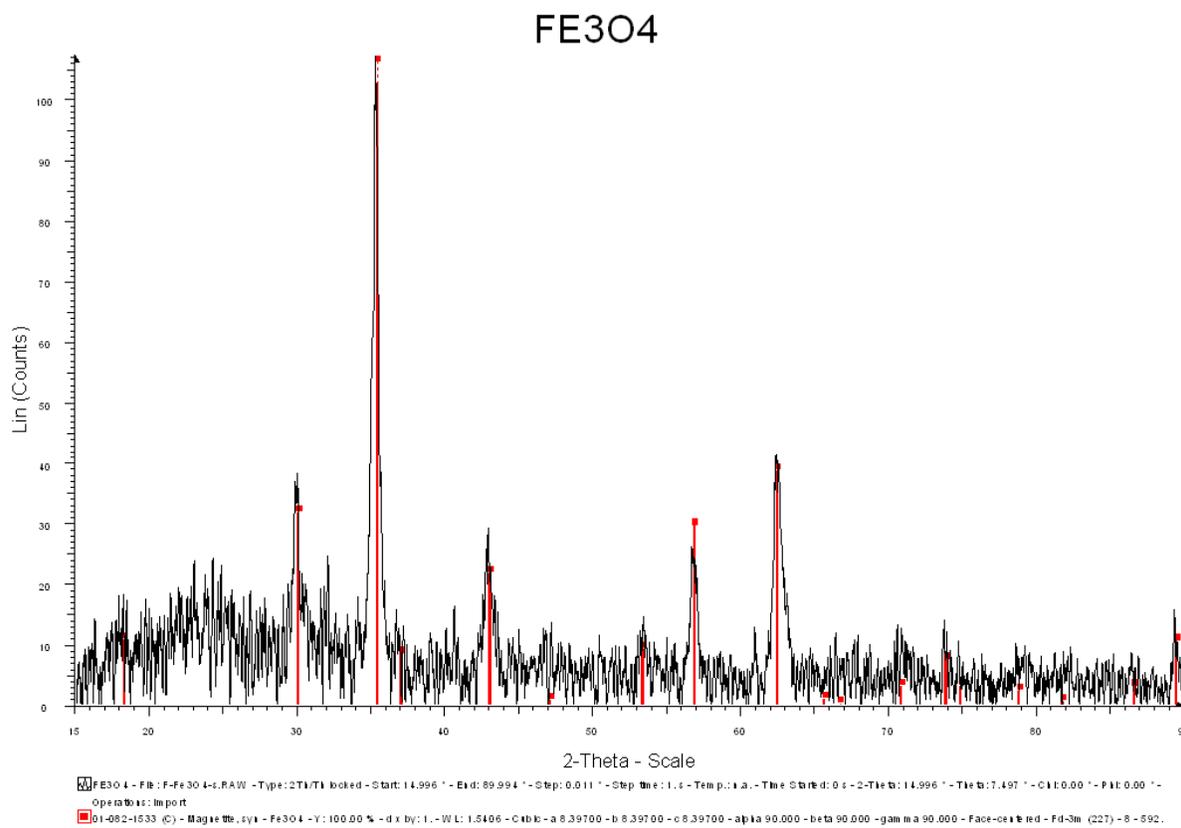


Figura 24. Patrón de difracción de rayos X, de la síntesis de magnetita. El patrón rojo se obtuvo de la base de datos del equipo y corresponde a la fase de magnetita.

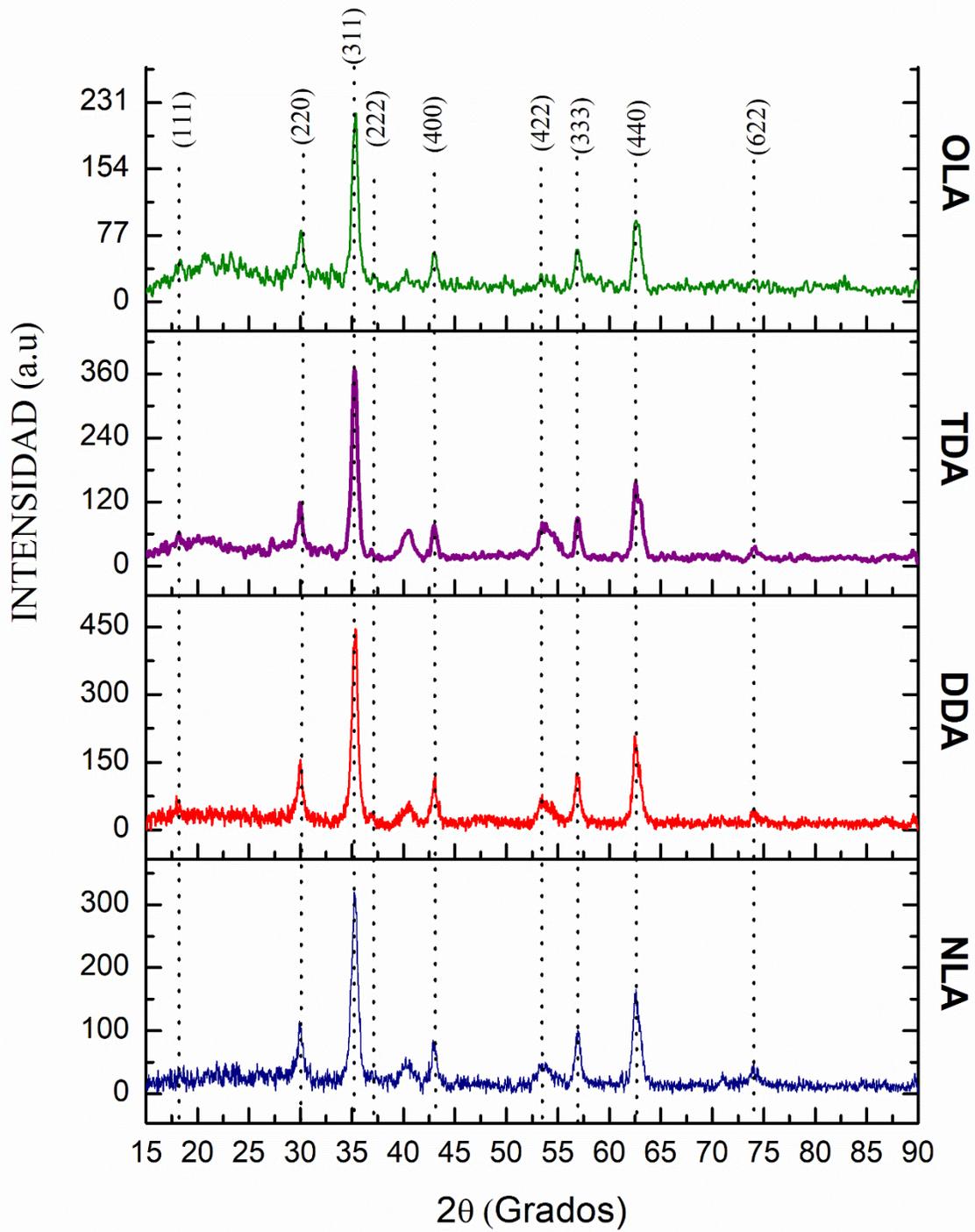


Figura 25. Patrón de difracción de rayos X, de las muestras NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA, NPM-OLA.

## 5.2.4 Magnetización

Las propiedades magnéticas de NPM, NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA, se realizaron en el Instituto de Física, UNAM.

Existen parámetros esenciales para describir la magnetización de un material, como: 1) coercitividad ( $H_c$ ) que representa la energía mínima para la inversión de la magnetización de un material y 2) la saturación de magnetización ( $M_s$ ) la cual indica el valor máximo de magnetización que el material puede alcanzar bajo el efecto de campos lo suficientemente altos.

Estos parámetros, se identifican en la curva de histéresis (Figura 26) generada en las mediciones de magnetización campo-dependiente. En este trabajo de investigación, se analizaron NPM, NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA, mediante el equipo de medición magnética MPMS3 obteniendo los resultados mostrados en la tabla 7.

**Tabla 7. Magnetización**

Muestra	Coercitividad ( $H_c$ )	Saturación de magnetización ( $M_s$ )
NPM- $Fe_3O_4$	7 Oe	43.3 emu/g
NPM-NLA	15 Oe	42 emu/g
NPM-DDA	18 Oe	45 emu/g
NPM-TDA	34 Oe	47 emu/g
NPM-OLA	6 Oe	30 emu/g

A partir de los análisis de los datos presentes en la tabla 7, los valores de saturación de magnetización, presentan una gran similitud entre muestras, a excepción de NPM-OLA, que es la que presenta un valor de  $M_s$  menor, con respecto a las demás. Lo que indica que las partículas con los recubrimientos NLA, DDA y TDA poseen la misma capacidad de saturación que sin recubrir (NPM- $Fe_3O_4$ ). De manera general, el rango observado para nuestras muestras, se encuentra entre 30-43.3 emu/g. Estos valores son más bajos que el valor típicamente reportado para magnetita (70-80 emu/g). Esta diferencia se debe al tamaño de nuestras partículas, ya que se ha observado que el valor de magnetización disminuye

---

conforme disminuye el tamaño de partícula y también a el método de síntesis empleado (Zhu and Wu, 1999; Salavati-Niasari, Mahmoudi and Amiri, 2012; Unsoy *et al.*, 2015).

En cuanto a la coercitividad, todas las muestras presentan valores que indican que presentan superparamagnetismo, resaltando el caso de magnetita sin recubrir y NPM-OLA, cuyos valores se acercan a 0. La diferencia entre estos valores y el resto de nanopartículas sintetizadas en este trabajo se puede deber al tipo de recubrimiento, tipo de cristalización y la presencia de posibles impurezas.

Los resultados de magnetización y de coercitividad indican que todas nuestras presentan propiedades magnéticas que permitan futuras aplicaciones en el diseño de agentes teranósticos o bien, como potenciales agentes causantes de hipertermia (Arora 2017; Lofti 2017).

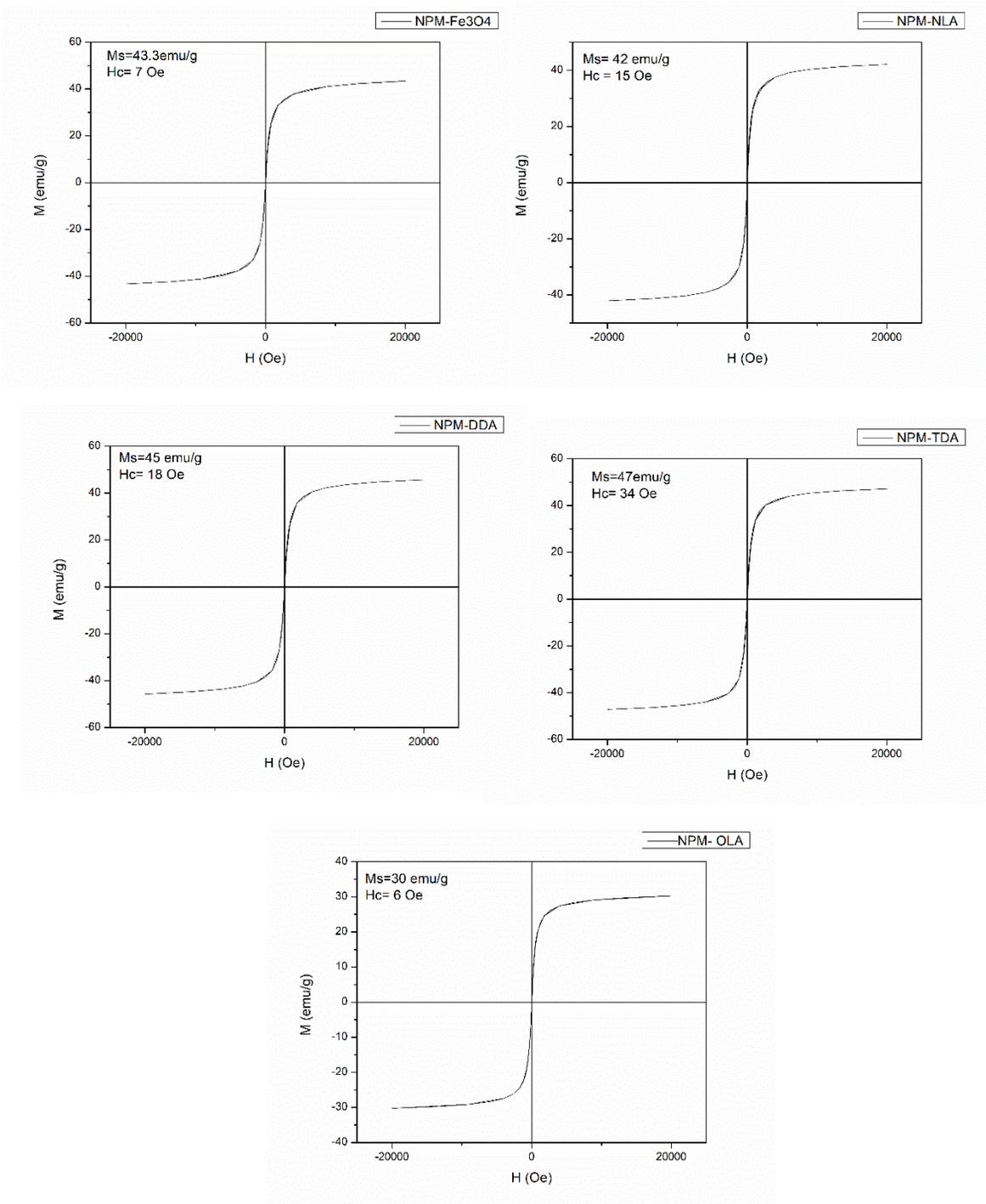


Figura 26. Curvas de histéresis de NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA.

## 5.2.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

La caracterización estructural se llevó a cabo en un microscopio JEOL-2100 f, utilizando rejillas de cobre. La preparación de la muestra, consistió en una dispersión de NPM en agua, de la cual se tomó una gota que se colocó sobre la rejilla de cobre. La muestra se dejó secar por un período de 24 horas antes de su análisis.

La figura 27 corresponde a la micrografía de NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> obtenidas por el método de síntesis propuesto. Las NPM presentaron una forma semiesferoidal. Así mismo, se observan pequeños cristales, los cuales podrían ser parte de un subproducto de la reacción.

La figura 28 corresponde a la micrografía de NPM-DDA obtenidas por el método de síntesis propuesto. Las NPM-DDA presentaron una forma semiesférica y la presencia de diferentes poblaciones. Así mismo, se observan pequeños cristales, los cuales podrían ser parte de un subproducto de la reacción

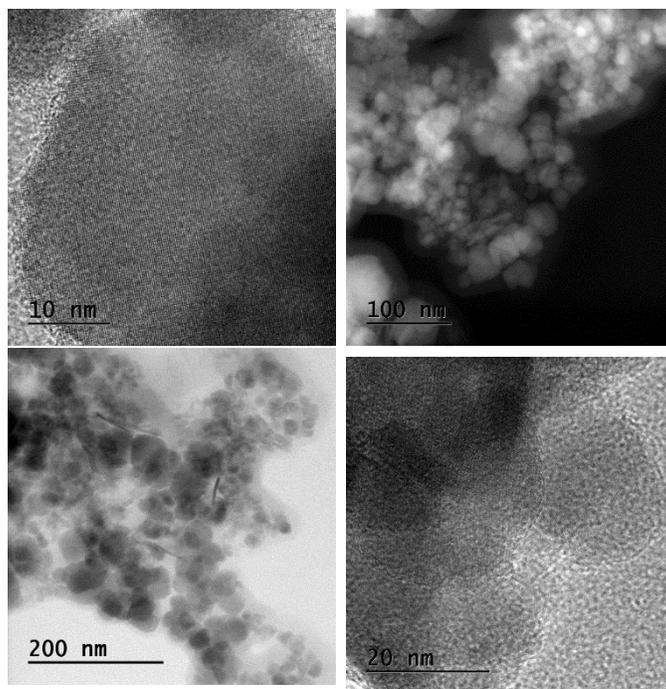
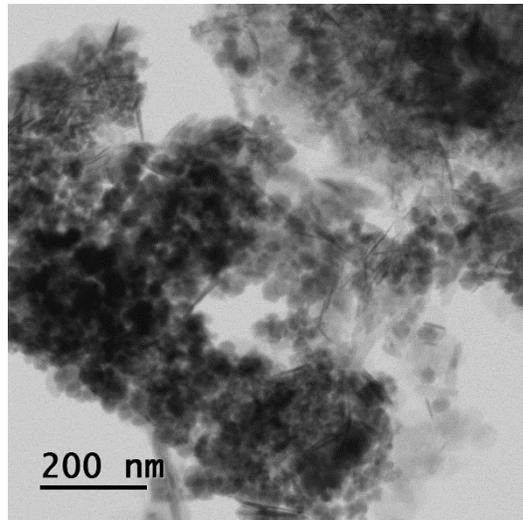
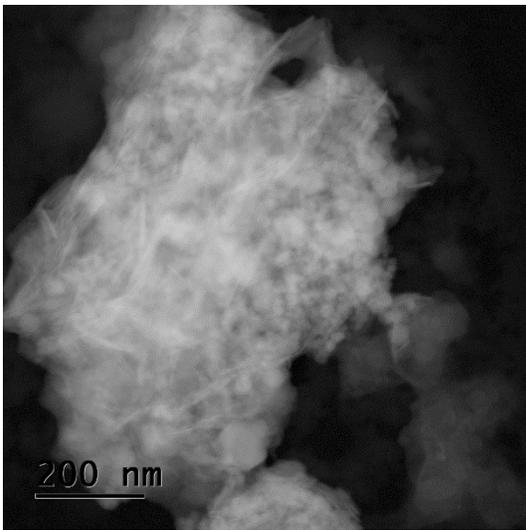
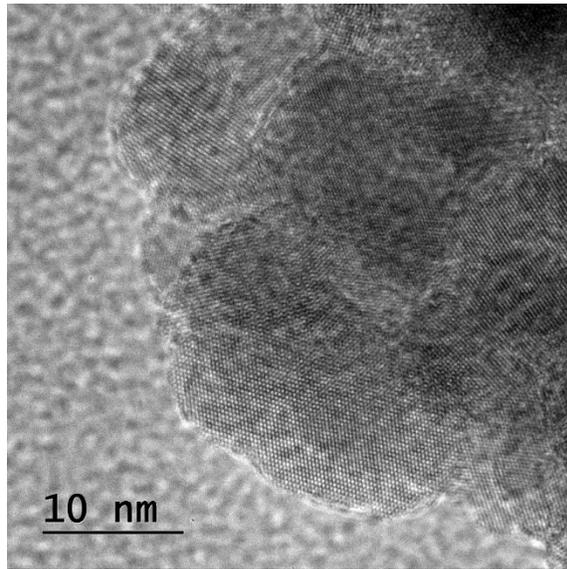


Figura 27. Micrografía de las Nanopartículas de magnetita sin recubrir (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)



*Figura 28. Micrografía de nanopartículas de magnetita recubiertas con DDA.*

---

## 7.2.6 Evaluación de la toxicidad

Las aplicaciones de las nanopartículas de magnética son diversas. Debido a esto, una prueba indispensable es la evaluación de su toxicidad.

En este trabajo de investigación, fue determinada mediante la viabilidad de células epiteliales hepáticas humanas sanas después de estar en contacto con estas nanoestructuras. Al existir pocos reportes sobre la toxicidad de estas nanopartículas, fue de nuestro interés realizar un estudio preliminar sobre la toxicidad de las nanopartículas funcionalizadas con diferentes recubrimientos. Por tal motivo, se decidió realizar ensayos basados en la medición de número de células vivas después de ser expuestas por NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA.

Este análisis se llevó a cabo en colaboración con el Laboratorio Nacional de Soluciones Biomiméticas para Diagnóstico y Terapia a cargo del Dr. Genaro Vázquez Victorio y el Dr. Mathieu Hautefeuille, en la Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México. Inicialmente, se propuso realizar la determinación de IC<sub>50</sub> de todas las nanopartículas bajo un rango de concentración de 10-250 µg/ mL. Sin embargo, se observó un efecto tóxico considerable y no se pudo determinar el valor preciso de IC<sub>50</sub>. Por lo cual, se eligió la concentración de 10 µg / mL para evaluar únicamente el efecto toxico de estas nanoestructuras sobre las células.

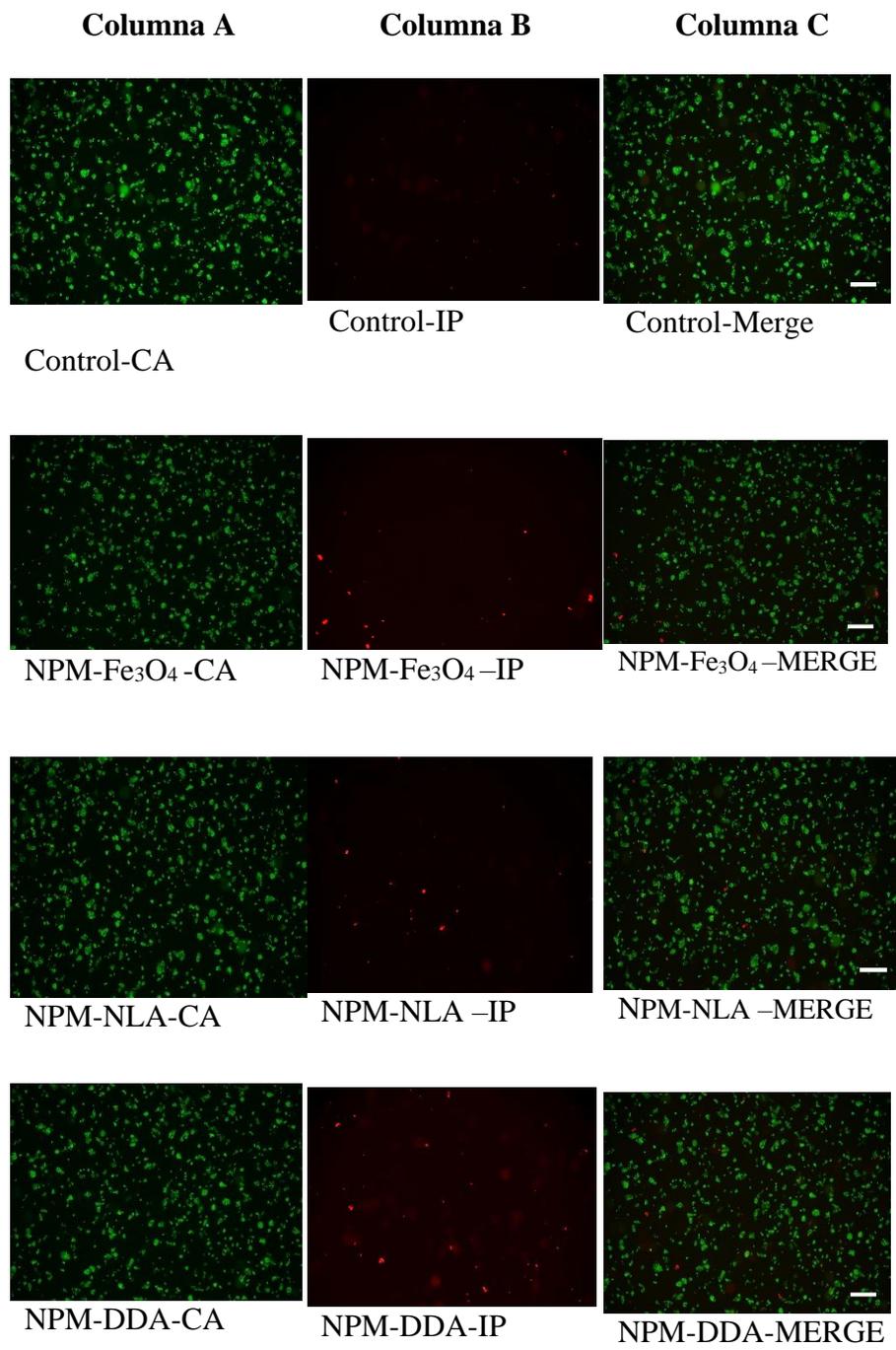
El método empleado fue: **Viabilidad celular-Calceína / Yoduro de propidio**. Este método se basa en la característica de impermeabilidad de la membrana plasmática presente únicamente en células vivas. El cambio del compuesto permeable no fluorescente (calceína) a su forma fluorescente, está dado por la actividad de las esterasas intracelulares (presentes únicamente en células vivas). En el caso del yoduro de propidio (PI), se hace uso de la característica impermeable de éste compuesto en células vivas, mientras que el PI permea las membranas dañadas de las células en proceso de muerte; el PI es intercalado en los ácidos nucleicos, y con esta unión adquiere una mayor capacidad de fluorescencia marcando así claramente las células dañadas.

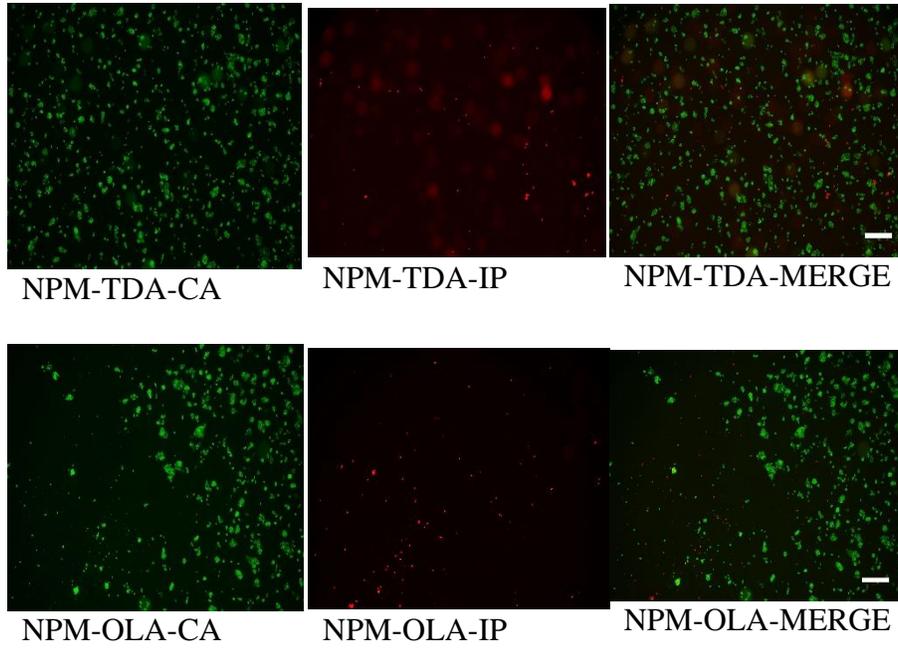
---

Para verificar la efectividad del método en la línea celular HepG2, las células fueron cultivadas en pozos en medio MEM con 10% de suero fetal bovino al 10% más penicilina/estreptomicina, más piruvato de sodio 1 mM. Al siguiente día las células fueron tratadas (24 horas).

Al tratar las células con los respectivos compuestos fueron observadas en un microscopio de epifluorescencia (Nikon Eclipse) con el objetivo de 4X.

La Figura 29, muestra los resultados obtenidos para NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA y NPM-OLA. En la columna A, se encuentran las imágenes referentes a las células vivas Mientras que en la columna B, se encuentran aquellas células muertas teñidas por PI, asimismo en la columna C, se identifica el traslape de células muertas vs vivas. De forma cualitativa, se observa que NPM-TDA presentó más células muertas, seguido de NPM-OLA, NPM-DDA, NPM-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, respectivamente. Mientras que en NPM-NLA, la viabilidad de las células no se vio afectada. Concluyendo que dicho comportamiento, se puede deber al tipo del recubrimiento de las nanopartículas de. Sin embargo los resultados para todos los recubrimientos se ven factibles para su uso biomédico, debido a que la viabilidad de la población de las células por más del 80% no se ve afectado al estar en contacto, con este tipo de nano estructuras a una concentración de 10 µg/mL.





*Figura 29. Viabilidad de la línea celular HepG2.*

---

## 6 Conclusiones generales

Se sintetizaron nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recubiertas con nonilamina (NLA), dodecilamina (DDA), tetradecilamina (TDA) y oleilamina (OLA) por el método de coprecipitación desarrollado e implementado en el laboratorio, resultó ser adecuado para la producción de nanopartículas de magnetita con estos recubrimientos determinados, sin embargo es difícil tener control en el tamaño y número de poblaciones. Lo cual da pauta para continuar con la investigación, y analizar las condiciones necesarias para mejorar los resultados.

Con base a los datos obtenidos por medio de IR, TGA, DRX, TEM, VSM. Se tiene que:

El tamaño de las nanopartículas de magnetita sin recubrir, fue de 14.56 nm, las propiedades magnéticas mostraron que las nanopartículas presentan anisotropía magnetocristalina en dirección del campo aplicado, su respuesta fue de 7 Oe y magnetización de 43.3 emu/g, el modo vibracional simétrico para Fe-O fue de  $553 \text{ cm}^{-1}$  y se observaron los picos característicos de difracción correspondientes a la estructura  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Se obtuvieron nanopartículas de magnetita, empleando NLA, DDA, TDA y OLA. La técnica de espectroscopia infrarroja (IR) nos permitió identificar de forma cualitativa los recubrimientos orgánicos de las nanopartículas de magnetita, que sugirió la interacción con la superficie de magnetita, y de manera preliminar descartar la presencia de maghemita. Los resultados de TGA corroboraron y sugirieron la existencia de un enlace químico entre los recubrimientos empleados y la superficie de las nanopartículas, que a su vez se correlaciona con la conservación de la fase magnetita por medio de una bicapa lipídica.

---

Se concluye que IR es una técnica, preliminar y eficaz para la observación y el aseguramiento de la existencia de un recubrimiento orgánico sobre la superficie de las nanopartículas de magnetita y la observación de un posible cambio de fase de magnetita.

Por medio de XRD se confirmó la obtención de la fase pura de magnetita para las muestras sintetizadas y se sugiere que la presencia de NLA, DDA, TDA, y OLA, contribuyeron a la conservación de esta fase (magnetita). Los datos de XRD permitieron obtener el tamaño de las NP, por medio de una simulación realizada con el software Powder Cell 2.0. Todas las NP fueron menores a 50 nm.

Las propiedades magnéticas NPM-NLA, NPM-DDA, NPM-TDA, y NPM-OLA, obtenidas, mostraron magnetización entre 30 y 47 emu/g así como una coercitividad cerca a cero, resultados que concuerdan con lo establecido en la literatura para un material con comportamiento superparamagnético, sugiere que estas nanoestructuras tienen potencial para una futura aplicación biomédica. Mostrándonos que es posible dirigir y orientar magnéticamente estas nanopartículas para hacerlas vibrar con un campo externo.

Se evaluó el efecto de las nanopartículas sintetizadas en hepatocitos, se identificó de manera cualitativa que los recubrimientos NLA y DDA son inofensivos para las células, mientras que TDA y OLA presentaron cierta toxicidad. Sin embargo se propone profundizar en el tema para un trabajo futuro.

Así con estos resultados, se cumplen con los objetivos y se acepta la hipótesis de este trabajo. Sin embargo es importante mencionar que aunque se lograron obtener nanopartículas con NLA, DDA, TDA y OLA las condiciones no fueron las mejores, no se obtuvo poblaciones monodispersas (forma y tamaño), por lo que se propone analizar y buscar las condiciones

---

necesarias para mejorar la síntesis. En trabajos futuros además de optimizar la síntesis, se propone sin duda alguna mejorar la caracterización por TEM y el empleo de la técnica DLS para completar la caracterización, lo que ayudará a corroborar el posible uso de estas nanoestructuras en un sistema biológico.

---

## Referencias

Aghazadeh, M., Karimzadeh, I. and Ganjali, M. R. (2017) 'Ethylenediaminetetraacetic acid capped superparamagnetic iron oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles: A novel preparation method and characterization', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Elsevier B.V., 439, pp. 312–319. doi: 10.1016/j.jmmm.2017.05.042.

Arora, V. *et al.* (2017) 'Preparation and Characterization of Magnetite–Chitosan Nanoparticles and Evaluation of Their Cytotoxicity Effects on MCF7 and Fibroblast Cells', *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*. IOP Publishing, 30(12), pp. 3431–3438. doi: 10.1007/s10948-017-4094-5.

Aschauer, U. and Selloni, A. (2015) 'Adsorption of biomedical coating molecules, amino acids, and short peptides on magnetite (110)', *Journal of Chemical Physics*, 143(4). doi: 10.1063/1.4927327.

Aslam, M. *et al.* (2007) 'Synthesis of amine-stabilized aqueous colloidal iron oxide nanoparticles', *Crystal Growth and Design*, 7(3), pp. 471–475. doi: 10.1021/cg060656p.

ASTM (2006) 'Terminology for Nanotechnology', in *E 2456-06*, p. 4.

Bajaj, B., Malhotra, B. D. and Choi, S. (2010) 'Preparation and characterization of bio-functionalized iron oxide nanoparticles for biomedical application', *Thin Solid Films*, 519(3), pp. 1219–1223. doi: 10.1016/j.tsf.2010.08.072.

Boraschi, D., Swartzwelter, B. J. and Italiani, P. (2018) 'Interaction of engineered nanomaterials with the immune system: health-related safety and possible benefits', *Current Opinion in Toxicology*. Elsevier Ltd, 10, pp. 74–83. doi: 10.1016/j.cotox.2018.02.002.

Bragas, A. (2007) 'Sondas y actuadores ópticos basados en nanopartículas metálicas'.

Bregoli, L. *et al.* (2016) 'Nanomedicine applied to translational oncology: A future perspective on cancer treatment', *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. Elsevier Inc., 12(1), pp. 81–103. doi: 10.1016/j.nano.2015.08.006.

Cham, K. (2013) 'Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas'.

CIMAV (2011) 'Programa Estratégico de Mediano plazo', p. 12.

Cruz, J. (2016) *Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas para uso en terapia contra el cáncer*.

Ebrahimian Pirbazari, A., Saberikhah, E. and Habibzadeh Kozani, S. S. S. (2014) 'Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-wheat straw: Preparation, characterization and its application for methylene blue adsorption', *Water Resources and Industry*, 7–8, pp. 23–37. doi:

---

10.1016/j.wri.2014.09.001.

Elnashaie, S. S., Danafar, F. and Rafsanjani, H. H. (2015) *Nanotechnology for chemical engineers, Nanotechnology for Chemical Engineers*. doi: 10.1007/978-981-287-496-2.

Ennas, G. *et al.* (1999) 'Characterization of Nanocrystalline  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Prepared by Wet Chemical Method', *Journal of Materials Research*, 14(04), pp. 1570–1575. doi: 10.1557/JMR.1999.0210.

Fadeel, B. and Garcia-Bennett, A. E. (2010) 'Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications', *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V., 62(3), pp. 362–374. doi: 10.1016/j.addr.2009.11.008.

Freitas, R. A. (2005) 'What is nanomedicine?', *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 1(1), pp. 2–9. doi: 10.1016/j.nano.2004.11.003.

G.Fredd, W. S. y (1961) 'Oxygenation of Ferrous Iron', *Phi Delta Kappan*, pp. 143–146. doi: 10.1177/0964663912467814.

Goswami, M. M. *et al.* (2016) 'Micelles driven magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) hollow spheres and a study on AC magnetic properties for hyperthermia application', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Elsevier, 417, pp. 376–381. doi: 10.1016/j.jmmm.2016.05.069.

Gupta, A. K. and Gupta, M. (2005) 'Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications', *Biomaterials*, 26(18), pp. 3995–4021. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.10.012.

Gutman, G. E. (2017) 'Biosimilar corporate strategies in Argentina during the 2000s : technological and organizational learning for internationalization', pp. 1–25.

Jang, H. J. and Lee, H. Y. (2018) 'Size control of aggregations via self-assembly of amphiphilic gold nanoparticles', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Elsevier, 538(November 2017), pp. 574–582. doi: 10.1016/j.colsurfa.2017.11.057.

Keyhanian, F. and Shariati, S. (2011) 'Magnetite nanoparticles with surface modification for removal of methyl violet from aqueous solutions', *Arabian Journal of Chemistry*, pp. 348–354. doi: 10.1016/j.arabjc.2011.04.012.

Kudr, J. *et al.* (2017) 'Magnetic Nanoparticles: From Design and Synthesis to Real World Applications', *Nanomaterials*, 7(9), p. 243. doi: 10.3390/nano7090243.

Lara-Rodríguez, P. Y. *et al.* (2005) 'Síntesis y caracterización de nanocompuestos magnéticos', *Ingenierías*, 8(29), pp. 47–51.

Madrid, U. P. de (2010) 'MÉTODOS DE ANÁLISIS TÉRMICO 1. Introducción', pp. 1–32.

---

Mendoza, R. (2011) *Caracterización estructural de nanopartículas de FeOx sintetizadas por el método de biosíntesis*. UNAM.

Nacional, U. and Sur, D. E. L. (2017) 'Universidad nacional del sur'.

Nasrazadani, S. and Raman, a. (1993) 'THE APPLICATION OF INFRARED SPECTROSCOPY TO THE STUDY OF RUST SYSTEMS--II . STUDY OF CATION DEFICIENCY IN MAGNETITE ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ) PRODUCED D U R I N G I T S T R A N S F O R M A T I O N T O M A G H E M I T E ( ~ - F e<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ) AND HEMATITE MAGNETITE is a well known form of iron', *Corrosion Science*, 34(8), pp. 1355–1365.

Noval, V. E. and Puentes, C. O. (2017) 'Magnetita ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea Resumen Magnetite ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ): An inorganic structure with many applications for heterogeneous catalysis Abstract Magnetita ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ): Una estructura', *Rec. Colomb. Q.*, 46(1), pp. 42–59.

Nyiro-Kosa, I., Rečnik, A. and Pósfai, M. (2012) 'Novel methods for the synthesis of magnetite nanoparticles with special morphologies and textured assemblages', *Journal of Nanoparticle Research*, 14(10). doi: 10.1007/s11051-012-1150-8.

Patil, R. M. *et al.* (2018) 'Comprehensive cytotoxicity studies of superparamagnetic iron oxide nanoparticles', *Biochemistry and Biophysics Reports*. Elsevier B.V., 13(January), pp. 63–72. doi: 10.1016/j.bbrep.2017.12.002.

Perullini, M., Aldabe Bilmes, S. A. and Jobbágy, M. (2013) *Cerium oxide nanoparticles: Structure, applications, reactivity, and eco-toxicology, Nanomaterials: A Danger or a Promise?: A Chemical and Biological Perspective*. doi: 10.1007/978-1-4471-4213-3.

Pompeu, P. (2010) *Estudio Mediante Trazadores de la Disolución de Hidratos de Cemento Portland y sus Implicaciones en la Durabilidad e Impacto Ambiental de los Materiales de Construcción*. Escola tecnica Superior d'Enginyers de Camins, Canals i Ports de Barcelona.

Pugazhendhi, A. *et al.* (2018) 'Inorganic nanoparticles: a potential cancer therapy for human welfare.', *International journal of pharmaceutics*. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.034.

Purohit, R. *et al.* (2017) 'Social, Environmental and Ethical Impacts of Nanotechnology', *Materials Today: Proceedings*, 4(4), pp. 5461–5467. doi: 10.1016/j.matpr.2017.05.058.

Qi, M. *et al.* (2016) 'Superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles: synthesis by a solvothermal process and functionalization for a magnetic targeted curcumin delivery system', *New J. Chem.* Royal Society of Chemistry, 40(5), pp. 4480–4491. doi: 10.1039/C5NJ02441B.

Quirk, T. (2006) 'There's plenty of room at the bottom', *Australasian Biotechnology*, p. 36. doi: 10.1016/j.applthermaleng.2013.04.038.

Ríos, E. (2016) *Síntesis de nanopartículas la detección de campos magnéticos bajos*. UNAM.

---

Roco, M. C., Mirkin, C. A. and Hersam, M. C. (2011) 'Nanotechnology research directions for societal needs in 2020: Summary of international study', *Journal of Nanoparticle Research*, 13(3), pp. 897–919. doi: 10.1007/s11051-011-0275-5.

Rojas, Y., Aguado, K. and González, I. (2016) 'La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármaco: ¿La revolución de la terapia contra el cáncer?', *Química*, pp. 286–291.

Rösslein, M. *et al.* (2013) 'Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications', *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. Elsevier B.V., 3(1), pp. 362–374. doi: 10.1016/j.addr.2009.11.008.

Rösslein, M. *et al.* (2017) 'Sound understanding of environmental, health and safety, clinical, and market aspects is imperative to clinical translation of nanomedicines', *Nanotoxicology*. Taylor & Francis, 11(2), pp. 147–149. doi: 10.1080/17435390.2017.1279361.

Roy, U. *et al.* (2018) 'Characterization of Nanodiamond-based anti-HIV drug Delivery to the Brain', *Scientific Reports*. Springer US, 8(1), pp. 1–12. doi: 10.1038/s41598-017-16703-9.

Salado, J. *et al.* (2012) 'Functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Au superparamagnetic nanoparticles: In vitro bioactivity', *Nanotechnology*, 23(31). doi: 10.1088/0957-4484/23/31/315102.

Salavati-Niasari, M., Mahmoudi, T. and Amiri, O. (2012) 'Easy Synthesis of Magnetite Nanocrystals via Coprecipitation Method', *Journal of Cluster Science*, 23(2), pp. 597–602. doi: 10.1007/s10876-012-0451-5.

Santana, M. (2013) *Síntesis y Funcionalización de nanopartículas superparamagnéticas de Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) para la generación de hipertermia magnética*, Universidad Autónoma de México.

Savi, A. B. *et al.* (2016) 'Tailoring of magnetite powder properties for enhanced phosphate removal : Effect of PEG addition in the synthesis process', 301, pp. 511–519. doi: 10.1016/j.powtec.2016.06.028.

Singh, A. K. (2016) 'Introduction to Nanoparticles and Nanotoxicology', in *Engineered Nanoparticles*, pp. 1–18. doi: 10.1016/B978-0-12-801406-6.00001-7.

Taniguchi, N. (1974) 'On the basic concept of Nano-Technology', *Japan Society of Precision Engineering*, Par II.

Unsoy, G. *et al.* (2015) 'Magnetite: From Synthesis to Applications', *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 15(16), pp. 1622–1640. doi: 10.2174/1568026615666150414153928.

Zhang, Z. *et al.* (2007) 'Preparation of nanometer  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> by an electrochemical method in non-aqueous medium and reaction dynamics', *Synthesis and Reactivity in Inorganic*,

---

*Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 37(1), pp. 53–56. doi:  
10.1080/15533170601172468.

Zhu, Y. and Wu, Q. (1999) ‘Synthesis of magnetite nanoparticles by precipitation with forced mixing’, *Journal of Nanoparticle Research*, 1(3), pp. 393–396. doi:  
10.1007/s11051-005-5044-x.