

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado

Ingeniaritza Kimikoko Gradua / Grado en Ingeniería Química

Optimización del sistema nanoparticulado $\text{Fe}_{3-x}\text{Zn}_x\text{O}_4$ ($0 < x < 0.5$) para su aplicación en hipertermia magnética

Egilea/Autor/a:
Daniela Iglesias Rojas
Zuzendaria/Director/a:
Luis M^a Lezama
Idoia Castellanos

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	11
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	12
3.1. SÍNTESIS DE LOS OLEATOS PRECURSORES	12
3.2. SÍNTESIS DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	15
3.3. TRANSFERENCIA A FASE ACUOSA	17
3.4. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS OLEATOS PRECURSORES	20
4.1.1. Caracterización química	20
4.1.2. Análisis Termogravimétrico (TG)	20
4.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS.....	22
4.2.1. Caracterización química.....	23
4.2.2. Análisis termogravimétrico (TG).....	23
4.2.3. Difracción de rayos X (DRX)	24
4.2.4. Microscopia electrónica de transmisión (TEM).....	26
4.2.5. Magnetometría	28
4.2.6. Hipertermia magnética	31
5. CONCLUSIONES	32
6. NOMENCLATURA	33
7. BIBLIOGRAFÍA	34
8. ANEXO: Ficha PDF	37

1. INTRODUCCIÓN

El interés de la comunidad científica por el área de la nanotecnología ha crecido exponencialmente en los últimos años debido a las novedosas propiedades físicas que los materiales pueden presentar cuando sus dimensiones se reducen a escala nanométrica, con aplicaciones potencialmente extraordinarias si se consigue controlar su organización estructural interna (Alves y cols., 2012).

El origen de la nanociencia se podría situar en 1959, cuando el estadounidense Richard Feynman, premio Nobel de Física en 1965, impartió en la American Physical Society la conferencia “There’s plenty of room at the bottom”. En esta conferencia, Feynman planteó lo beneficioso que sería para la sociedad poder trabajar con átomos y moléculas y fabricar dispositivos con una precisión de unos pocos nanómetros, aunque la falta de microscopios electrónicos de alta resolución en esa época impedía realizar observaciones a dicha escala. Y efectivamente, a lo largo de los años 80, una vez desarrolladas las técnicas experimentales que permiten caracterizar y manipular la materia a escala nanométrica, se incrementó espectacularmente la investigación sobre estos materiales (Castellanos, 2013).

Las características estructurales y electrónicas del sólido gobiernan el comportamiento físico y químico del mismo, consecuentemente, las propiedades magnéticas, ópticas, mecánicas y catalíticas de los materiales se modificarán por la disminución del tamaño. Algunos de los fenómenos que se ven afectados son los siguientes (Ávalos y cols., 2013):

- Aumento de la fracción de átomos en la superficie. Las nanopartículas poseen mayor relación superficie-volumen y por tanto una mayor superficie de contacto con el entorno y una mayor reactividad química, lo que es de gran interés en múltiples sectores.
- Incremento de la energía superficial. Al aumentar el área superficial aumenta el número de átomos insaturados y por tanto inestables, o al menos metaestables, por lo que aumentan las fuerzas de atracción.
- Confinamiento cuántico. Cuando se reducen las partículas a tamaños muy pequeños, se modifica su estructura electrónica, pasando los electrones confinados a ocupar diferentes niveles de energía y produciéndose una cuantización de éstos, de los estados de densidad electrónica y de la carga.
- Se produce una reducción de las imperfecciones cristalinas debido al menor tamaño.

El control sobre estas propiedades permite el desarrollo de nuevos materiales y dispositivos con características novedosas. En este sentido, entre todas las propiedades que se pueden modificar e interesa estudiar, el comportamiento magnético de las nanopartículas es una de las más relevantes. En estado masivo, algunos materiales presentan un momento magnético permanente determinado por la suma del momento angular y espín de sus electrones. Si se produce una interacción de dichos momentos y se alinean en una misma dirección se habla de materiales ferromagnéticos (Figura 1). Cuando el sólido posee momentos magnéticos alineados, pero orientados en sentidos opuestos y desbalanceados en magnitud o número, dando lugar a un momento magnético macroscópico no nulo, se define como ferrimagnético. Si el material tiene momentos magnéticos orientados en sentidos opuestos y balanceados se denomina antiferromagnético. Existe una temperatura por encima de la cual los momentos

dejan de estar alineados y los sistemas presentan un comportamiento paramagnético, son las denominadas temperaturas de Curie y de Neel para sistemas ferro y antiferromagnéticos, respectivamente (Barco y cols., 2012).

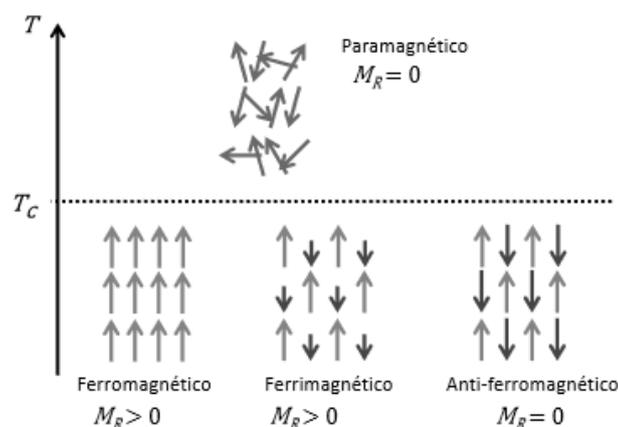


Figura 1. Orientación de los dipolos magnéticos en materiales ferro-, ferri- y anti ferromagnéticos respecto a la temperatura crítica. (Barco y cols., 2012)

Este tipo de comportamientos magnéticos son los que se observan a escala macroscópica, pero cuando se trabaja en un rango nanométrico se puede observar un nuevo comportamiento, el superparamagnetismo. Es un tipo de respuesta magnética que ocurre en materiales ferro- o ferrimagnéticos cuando están formados por partículas a escala nanométrica (Montofré, 2014).

Cuando a un material ferromagnético se le aplica un campo magnético creciente su imanación aumenta hasta alcanzar su máximo valor (imanación o magnetización de saturación, M_S). Si posteriormente el campo se reduce gradualmente hasta anularlo, la imanación decrece del mismo modo, pero mantiene un valor residual (imanación remanente, M_R). Si se invierte la polaridad el campo aplicado se consigue anular la imanación para determinado valor de campo de signo contrario (campo coercitivo, H_c). Este efecto de no reversibilidad se denomina ciclo de histéresis (Gómez y cols., 2009). Dependiendo del tipo de material magnético analizado se obtendrán diferentes tipos de curvas de histéresis, como se observa en la Figura 2.

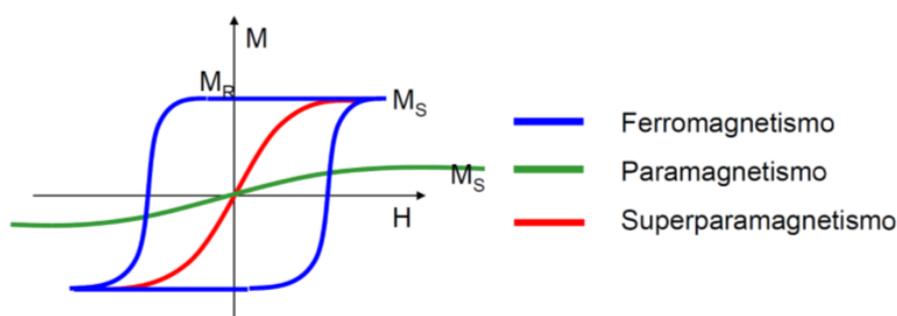


Figura 2. Variación de la curva imanación frente a campo para los diferentes materiales magnéticos. (Montofré, 2014)

Los materiales ferromagnéticos en general están divididos en pequeñas regiones dentro de las cuales todos los momentos magnéticos están alineados paralelamente unos a otros, a estas regiones se les llama dominios magnéticos. Dependiendo del material existe un tamaño de partícula por debajo del cual desaparecen los diferentes dominios y la nanopartícula presenta un único dominio, es el denominado diámetro crítico (D_c). Justo en el momento en que las partículas se convierten en monodominio el campo coercitivo (H_c) alcanza su valor máximo y cambia la rotación de espín. Por debajo del denominado diámetro superparamagnético (D_{SP}) la coercitividad se anula completamente como se observa en la Figura 3 (Romero, 2011).

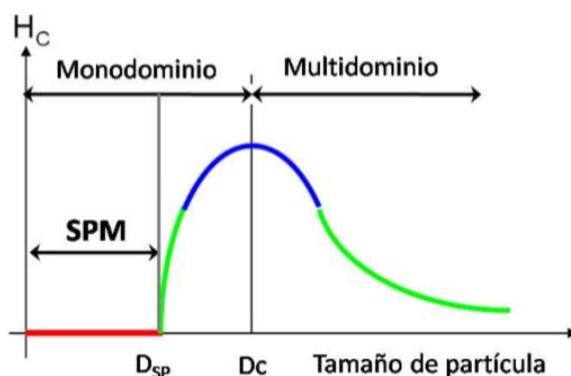


Figura 3. Variación del campo coercitivo (H_c) con el tamaño de la partícula. (Romero, 2011)

Otra técnica habitualmente empleada para analizar las propiedades magnéticas de un material consiste en estudiar su curva de imanación en función de la temperatura, manteniendo constante el campo magnético aplicado. Para ello se emplean habitualmente magnetómetros SQUID (Superconducting Quantum Interference Device) o VSM (Vibrating Sample Magnetometer). Partiendo de temperatura ambiente se enfría la muestra hasta la temperatura más baja posible (habitualmente 2 K), después se aplica un campo de pequeña magnitud y se registran los valores de imanación mientras se va calentando. Cuando llega a la temperatura máxima se enfría nuevamente la muestra, ahora con campo, y se vuelven a registrar los valores de imanación. Las curvas obtenidas se denominan Zero-field-cooled (ZFC) y Field-cooled (FC) y representan la respuesta del material a un campo magnético dependiendo de su historia termomagnética.

Las curvas ZFC presentan un ancho máximo por debajo de una cierta temperatura, llamada temperatura de bloqueo (T_B), para la que el momento magnético se bloquea en la dirección de fácil imanación del sistema. Esa temperatura depende del volumen del grano y de su anisotropía. La posición de la temperatura de bloqueo es en general proporcional al tamaño de partícula. Si las curvas ZFC/FC se solapan por encima de la temperatura de bloqueo se puede deducir que el sistema se encuentra en un estado superparamagnético (García del Muro, 1991).

Las nanopartículas magnéticas presentan interesantes aplicaciones en biomedicina, tanto en diagnóstico como en terapia (Figura 4). En diagnóstico las nanopartículas magnéticas son utilizadas como agentes de contraste en resonancia magnética de imagen (RMI) debido a su capacidad para reducir los tiempos de relajación de los protones presentes en el organismo, de los cuales procede la señal que se usa para generar la imagen (Arriortua, 2015). Otra potencial aplicación de gran importancia es la liberación controlada de fármacos. Si las moléculas con actividad farmacológica son inyectadas en el cuerpo enlazadas a nanopartículas magnéticas pueden ser guiadas con un campo externo hasta la región u órgano específico deseado y

mantenidas en la zona hasta que la terapia se haya completado (Ye y cols., 2014). Por último, también se pueden utilizar en técnicas terapéuticas como la hipertermia magnética, que es la aplicación a la que van dirigidas las partículas objeto del presente trabajo.

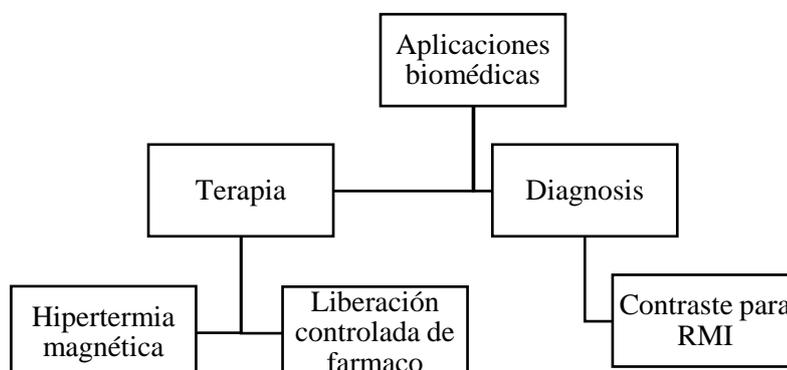


Figura 4. Esquema de las diferentes alternativas de aplicación de las nanopartículas magnéticas.

Las terapias por hipertermia se basan en el hecho de que las células tumorales son más termosensibles que las células sanas, por su peor irrigación sanguínea, de manera que aumentando la temperatura hasta un valor determinado se podrían dañar selectivamente las células tumorales sin afectar a las sanas (Castellanos, 2013). Se pueden usar diferentes fuentes de energía para generar el calor: microondas, radiofrecuencias, ultrasonidos, ... y también campos magnéticos en presencia de los agentes adecuados (Instituto Nacional del Cáncer, 2011).

La primera vez que se planteó la posibilidad de utilizar nanopartículas magnéticas como agentes terapéuticos contra el cáncer fue en 1957. En este año, Gilchrist, propuso emplear óxidos de hierro como agentes reductores de células tumorales mediante hipertermia magnética (Coral y cols., 2017). La hipertermia moderada consiste en aumentar la temperatura (entre 41 °C y 46 °C) de una zona concreta induciendo cambios fisiológicos en las células tumorales (como desnaturalización de proteínas y aglutinación de ADN) logrando su muerte por apoptosis.

Para que se produzca la hipertermia las nanopartículas deben ser capaces de elevar su temperatura por medio de un campo magnético. En realidad, cualquier material magnético que es sometido a la acción de un campo magnético alterno de frecuencia suficientemente alta absorbe parte de la energía de ese campo y la transforma en calor. El parámetro que se emplea para comparar eficacias en hipertermia magnética de partículas se conoce como SAR (Specific Absorption Rate). El SAR mide el calentamiento del medio o la cantidad de energía transformada en calor por unidad de tiempo y masa. Se puede calcular a partir del área de la curva de histéresis de acuerdo con esta ecuación:

$$SAR(W/g) = \frac{f}{c} A = \frac{f}{c} \oint \mu_0 M_t dH_t \quad (1)$$

donde M_t es la magnetización a tiempo t , H_t es el campo magnético sinusoidal a frecuencia f y tiempo t y la c es la concentración en peso del material magnético.

Una de las grandes ventajas de esta técnica es que el campo magnético no es absorbido por los tejidos vivos y puede ser aplicado en una región profunda del cuerpo (Jasso y cols., 2016), pero a cambio es preciso que las nanopartículas magnéticas empleadas cumplan una serie de requisitos. En primer lugar, es de suma importancia una buena biocompatibilidad de los materiales y baja toxicidad. Además, para que las nanopartículas permanezcan en el torrente sanguíneo el mayor tiempo posible, es de crucial importancia una funcionalización específica de la superficie que establezca al sistema en el medio fisiológico. Igualmente, es necesario que las nanopartículas puedan ser transportadas hasta la cercanía de los tejidos cancerosos para realizar un tratamiento de hipertermia más localizado. Y también es conveniente que el sistema nanométrico no supere los 100 nm de diámetro para que se puedan adaptar para tiempos de circulación prolongados (Alves y cols., 2012). Por lo tanto, la elección de las nanopartículas adecuadas es un factor muy importante a considerar.

Existe una amplia gama de nanopartículas magnéticas que pueden ser utilizadas como materiales inductores de hipertermia, pero los que más se han estudiado son los óxidos simples y complejos, como la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), la magnetita (Fe_3O_4) y la wustita (FeO). La magnetita es un compuesto de color negro, ferrimagnético y con una elevada conductividad eléctrica. La maghemita es de color marrón de carácter semiconductor a aislante y ferrimagnético. La wustita es de color negro-gris y puede ser paramagnético o anti ferromagnético según su composición (Castaño y Arroyave, 1998). Entre éstos la magnetita es uno de los materiales más investigados (Jasso y cols., 2016), siendo una de las mejores opciones para el tratamiento de hipertermia magnética debido a sus altos valores de imanación de saturación y a su adecuada biocompatibilidad. La FDA (Food and Drug Administration) la aprobó como material magnético para el uso en humanos y esto impulsó su estudio en la utilización de estas terapias médicas (Revia y Zhang, 2016).

La magnetita posee una estructura tipo espinela inversa en la que los iones Fe^{+3} se distribuyen entre huecos octaédricos y tetraédricos, y los iones Fe^{+2} ocupan huecos octaédricos, pudiéndose representar como $(\text{Fe}^{+3})_{\text{T}}(\text{Fe}^{+3} \text{Fe}^{+2})_{\text{O}}\text{O}_4$ como se observa en la Figura 5 (Arriortua, 2015). Esta disposición de los iones de hierro en los huecos tetraédricos y octaédricos origina que el material en estado masivo se comporte como ferrimagnético a temperaturas por debajo de su temperatura de Curie, 858 K, y posea un valor de imanación de saturación en estado masivo a 5 K de 98 emu/g (Hilger y Kaiser, 2012). Además, la magnetita presenta varias transiciones de fase, algunas puramente magnéticas como la transición de reorientación de spin (típicamente a 130-140K), o la transición de Verwey, una transición metal-aislante debida al cambio de la estructura cristalina, de cúbica a monoclinica (Martín-García, 2016).

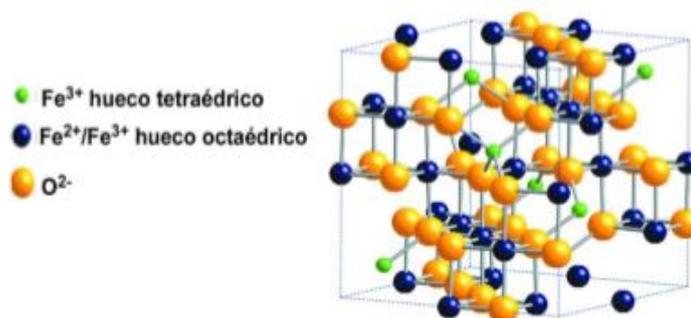


Figura 5. Representación de la estructura de la magnetita. (Arriortua, 2015)

Además de la magnetita, en la actualidad se estudian también otros óxidos mixtos como posibles agentes inductores de hipertermia magnética. Es el caso de las ferritas de cobalto (CoFe_2O_4), de manganeso (MnFe_2O_4), de níquel (NiFe_2O_4), de gadolinio ($\text{Gd}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$) (Jasso y cols., 2016), y de las ferritas de Zn ($\text{Zn}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$), que son el objeto del presente trabajo.

Las ferritas de zinc han despertado un gran interés debido a sus propiedades magnéticas y electromagnéticas. La ferrita de zinc estequiométrica (ZnFe_2O_4) es un material paramagnético por lo que en principio no es útil como agente de hipertermia magnética. En el proceso de formación de estas ferritas, el ion Zn^{+2} ocupa preferentemente la posición tetraédrica forzando al ion Fe^{+3} ocupar la octaédrica. Sin embargo, esa tendencia puede ser modificada por la presencia de otros cationes o por la diferente disponibilidad temporal de los metales. Hasta cierto dopaje de Zn, la sustitución de Fe^{+2} por Zn^{+2} y el desplazamiento de los Fe^{+3} desde las posiciones tetraédricas a las octaédricas produce un aumento de la imanación con respecto a la magnetita estequiométrica. (Yan y cols., 2008).

Por sus características químicas, el ion Zn^{+2} es un buen candidato para sustituir el ion Fe^{+2} en las magnetitas y teniendo en cuenta que el momento magnético de Zn^{+2} es cero, dopando a la magnetita con concentraciones bajas de Zn se puede aumentar su magnetización de manera notable y mejorar su eficacia en la terapia de hipertermia. Recientemente se ha observado que la imanación crece a medida que va aumentando la concentración de Zn^{+2} , pero solo hasta concentraciones de $x=0.3-0.4$, después, si se sigue aumentando la concentración por encima de $x = 0.5$ la imanación comienza a decrecer (Modaresi y cols., 2019). También se ha observado que el SAR aumenta cuando se sustituye el ion Fe^{+2} por Zn^{+2} pero al igual que ocurre con la imanación si se supera la concentración de $x=0.4$ comienzan a obtenerse valores más bajos (Figura 6). Esto demuestra la relación que existe entre la capacidad de generar calor de las nanopartículas con sus propiedades magnéticas (Ognjanović y cols., 2019). En la Figura 6. se observa como a concentraciones cercanas a $x=0.4$ el valor del SAR es más del doble que si la concentración fuese $x=0$, es decir, si tuviéramos la magnetita sin dopar (Fe_3O_4).

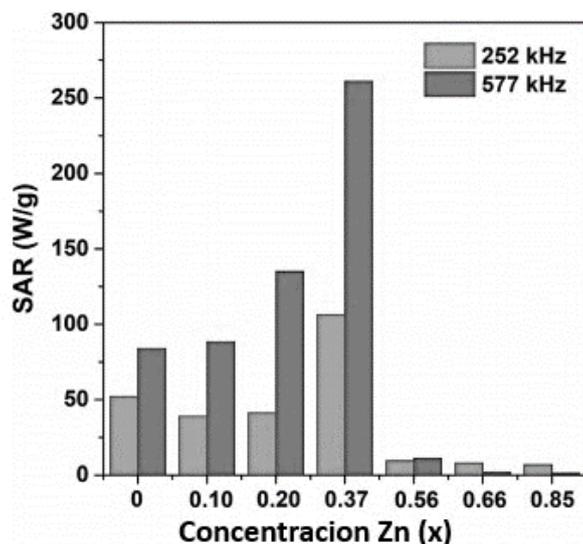


Figura 6. Valor de SAR para diferentes concentraciones de Zn en la fase $Zn_xFe_{3-x}O_4$ medido a dos frecuencias diferentes. (Ognjanović y cols., 2019)

Uno de los factores que más ha limitado hasta la fecha el desarrollo de las aplicaciones con nanopartículas magnéticas está en la dificultad de prepararlas de forma escalable y reproducible. En este sentido, se han ido desarrollando numerosas vías de síntesis, siendo en la actualidad las más empleadas en disolución las técnicas de coprecipitación de sales metálicas mediante el control de parámetros físicos o químicos y la descomposición térmica de precursores en disolventes orgánicos (Arriortua, 2015). Un parámetro importante en la síntesis de las nanopartículas es el control de su tamaño, fundamental en el caso de los materiales magnéticos por su incidencia en la imanación de saturación. El problema se aborda habitualmente en base a la teoría desarrollada por LaMer para explicar el crecimiento de las partículas y su distribución de tamaños. Como se puede observar en la Figura 7 el proceso de formación de nanopartículas se divide en tres etapas (LaMer y Dinegar, 1950). Durante la primera etapa la concentración del soluto aumenta hasta llegar a la concentración de nucleación donde se forman los núcleos por colisiones de iones y moléculas. En la segunda etapa la velocidad de nucleación disminuye, y controlando la concentración inicial de los precursores se puede lograr que el periodo de nucleación sea lo más corto posible para obtener sistemas monodispersos y de un tamaño grande. Es evidente que cuantos más núcleos se formen más pequeñas serán las nanopartículas debido que la misma cantidad de masa se distribuye entre más número de centros. En la tercera etapa se produce el crecimiento de los núcleos, idealmente todos en la misma medida generando un sistema con pequeña dispersión de tamaños (Pereira, 2014). Este mecanismo se basa en un control termodinámico de la reacción, de forma que cuanto más diferenciadas se encuentran las etapas de nucleación y de crecimiento más homogeneidad se obtiene en las NPs obtenidas.

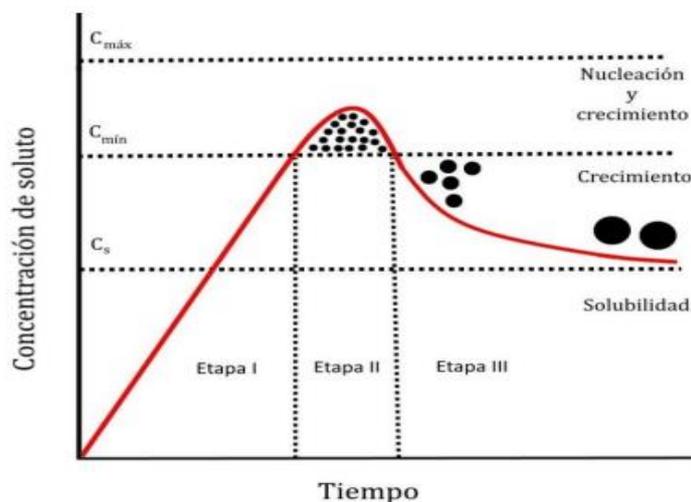


Figura 7. Evolución de una reacción de síntesis de nanopartículas con el tiempo. (Pereira, 2014)

La síntesis por coprecipitación se realiza a temperaturas moderadas por lo que es difícil la diferenciación de las etapas de nucleación y crecimiento, lo que conlleva la formación de nanopartículas de diverso tamaño. Por eso, para conseguir una mayor homogeneidad en el tamaño de las nanopartículas, se suele recurrir a la descomposición térmica de precursores metal-orgánicos en disolventes orgánicos de alto punto de ebullición, en presencia de surfactantes (Salinas, 2014). Una variante de esta técnica, basada en el método de crecimiento a partir de semillas permite alcanzar materiales casi monodispersos. No obstante, es preciso tener en cuenta que en algunos casos proporcionan valores de SAR inferiores (Castellanos, 2013) lo cual no resulta de interés para la aplicación de la hipertermia.

Para la técnica de descomposición térmica, es preciso seleccionar precursores metalorgánicos que contengan las proporciones deseadas de los iones metálicos. Además, hay otros factores a controlar: el disolvente de la reacción, la relación metal:surfactante, la concentración inicial de los reactivos y la temperatura han demostrado ser variables fundamentales a la hora de determinar la naturaleza de las partículas, su distribución, su forma y su tamaño (Coral, 2017). Los surfactantes son moléculas que ayudan a controlar la aglomeración y el crecimiento de las nanopartículas. Son moléculas de cadena larga que luego son eliminadas mediante lavados. Entre los surfactantes referenciados en la bibliografía se incluyen ácidos carboxílicos, alcoholes, tioles, fosfinas y aminas (Arriortua, 2015).

Dentro de los parámetros anteriormente mencionados, la síntesis del precursor tiene una gran importancia en la formación de las nanopartículas. Como las nanopartículas más estudiadas hasta ahora han sido las de magnetita (Fe_3O_4), también el estudio de los precursores se ha centrado fundamentalmente en los sistemas de hierro. Entre los precursores más estudiados se encuentran el oleato de hierro(III) ($Fe(C_{18}H_{33}O_2)_3$), pentacarbonilo de hierro ($Fe(CO)_5$) y el oxihidróxido de hierro ($Fe(OOH)$). La elección del precursor tiene gran influencia sobre el tamaño de las nanopartículas obtenidas. Así, se ha observado que con el pentacarbonilo de hierro se obtienen partículas más pequeñas (<10 nm), mientras que con el oleato de hierro y el oxihidróxido de hierro el tamaño aumenta habitualmente hasta los 20-30 nm (Hufschmid y cols., 2015).

Realizando la síntesis mediante el proceso de descomposición térmica y con la utilización de oleatos como precursores se ha logrado conseguir materiales con altas eficiencias en hipertermia. Mediante técnicas de caracterización como la espectroscopia de transmisión infrarroja (FTIR), el análisis elemental y la calorimetría diferencial de barrido (DSC) se ha descubierto que la estructura del oleato de hierro influye en las condiciones en las que se produce la descomposición térmica, nucleación y crecimiento, es decir, en la formación de las nanopartículas (Brostein y cols., 2007). Por consiguiente, es muy importante conseguir optimizar y controlar el proceso de síntesis del oleato.

También se ha comprobado que la elección del disolvente es un parámetro muy importante. El oleato de hierro se puede descomponer en presencia de diferentes disolventes como el 1-octadeceno (ODE), dioctil eter y dibenzil eter (DBE). Debido a que el oleato se comienza a descomponer a unas temperaturas próximas a 300°C para la elección del disolvente hay que fijarse principalmente en su punto de ebullición. Para este trabajo se van a utilizar como disolventes el DBE y ODE. El DBE se utiliza debido a su potencial oxidativo que previene la formación de la wüstita y el ODE contribuye a reducir el Fe^{+3} .

Sin embargo, y a pesar de que existen muchos protocolos detallando diferentes rutas de síntesis para la producción de nanopartículas magnéticas, sigue resultando difícil controlar la fase de oxidación. Así, es habitual obtener materiales en los que llegan a coexistir hasta tres tipos de fases magnéticas: una completamente oxidada de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), magnetita de valencia mixta $\text{Fe}^{+2/+3}$ (Fe_3O_4) y wüstita metaestable (FeO).

Como ya se ha dicho anteriormente se pretende emplear las nanopartículas preparadas en aplicaciones biomédicas por lo que estabilizarlas en un medio acuoso es un requisito esencial (Quarta y cols., 2012). Para conseguir este objetivo se pueden emplear diferentes estrategias que incluyen moléculas pequeñas de ligandos, lípidos, superficies salinizadas y polímeros anfifílicos, de manera que se logran dispersar las nanopartículas hidrofóbicas en soluciones acuosas (Lin y cols., 2008). Uno de los métodos que mejores resultados proporciona, y de los más empleados por ello en la actualidad, es el encapsulamiento de las nanopartículas recubiertas con surfactante en un polímero. En este sentido, el poli(anhídrido maleico-alt-1-octadeceno) (PMAO) es un polímero comercial de no muy alto coste económico que puede ser empleado para encapsular nanopartículas con diversas composiciones, morfologías y tamaños.

Las nanopartículas se envuelven con una carcasa polimérica debido a las interacciones entre las cadenas alquilo del surfactante y las regiones hidrofóbicas del polímero (Di Corato y cols., 2008). Para dificultar la desorción del polímero resulta conveniente que la longitud de la cadena que se incorpora al polímero sea de longitud similar a la del ácido oleico.

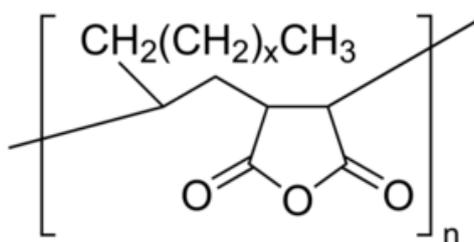


Figura 8. Estructura química de la molécula de PMAO. (Merck, 2019)

El recubrimiento se hace normalmente añadiendo 100 unidades de monómero por cada nm^2 de superficie, por lo tanto, para determinar la cantidad de PMAO necesaria hay que tener en cuenta el diámetro de las nanopartículas. Una vez incorporado el polímero para que se produzca la apertura de los grupos anhidros hay que añadir un buffer SBBS (Sodium Borate Buffer) de $\text{pH}=9.5$. Esta reacción se puede observar en la Figura 9.

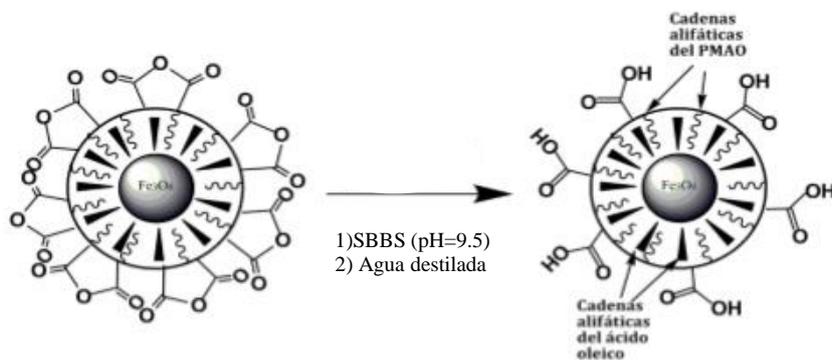


Figura 9. Esquema de la reacción de hidrólisis básica sobre las NPs recubiertas con PMAO. (Arriortua, 2015, modificado)

2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo es la puesta a punto de un método de preparación de nanopartículas magnéticas con propiedades adecuadas para su empleo como agentes generadores de hipertermia en terapias antitumorales. Los materiales escogidos para tal fin son las ferritas de fórmula general $Zn_xFe_{3-x}O_4$ debido a que recientes investigaciones indican que la adición del ion Zn^{+2} en sustitución del ion Fe^{+2} , en un intervalo reducido de concentraciones ($x < 0.5$), da lugar en estas fases a mayores valores de imanación y SAR que los que presenta la magnetita pura. En cuanto al método de preparación se ha optado por la vía de la descomposición térmica de precursores metalorgánicos, que ha demostrado ser más fácil de optimizar para obtener sistemas homogéneos de forma reproducible. Como precursores metalorgánicos se han escogido los oleatos y se prepararán tanto oleatos mixtos con diferentes relaciones Zn:Fe como los oleatos de hierro y zinc de forma separada.

En conclusión, se pretende optimizar la síntesis, tanto de los precursores como de las nanopartículas magnéticas, para obtener materiales con tamaño controlado y baja polidispersidad de forma reproducible. Se buscará especialmente la obtención de partículas grandes, con un comportamiento ferromagnético a temperatura ambiente, dado que proporcionan mayores valores de SAR que los materiales superparamagnéticos.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En este apartado describiremos la preparación de los oleatos, así como el procedimiento llevado a cabo para la obtención de las NPs de hierro y Zn, a partir de los oleatos sintetizados previamente. También se describirán brevemente las técnicas de caracterización empleadas.

3.1.SÍNTESIS DE LOS OLEATOS PRECURSORES

Se han preparado cuatro tipos de oleatos: un oleato de hierro(III) ($\text{Fe}(\text{ol})_3$), un oleato de zinc(II) ($\text{Zn}(\text{ol})_2$) y dos oleatos mixtos de hierro y zinc con dos concentraciones diferentes.

La síntesis de estos precursores se ha realizado en un sistema cerrado, utilizando un balón de tres bocas de 500 ml sobre una manta calefactora como se observa en la Figura 10. Por una de las bocas se introduce el termopar del controlador de temperatura y la fuente de nitrógeno gaseoso, en la boca central se encuentra una varilla conectada al motor de agitación y en la boca restante se introduce el refrigerante al que va conectado un burbujeador.



Figura 10. Montaje experimental para la síntesis de oleatos.

Tabla 1. Lista de los reactivos utilizado en la síntesis de oleato y sus características.

Reactivo	Fórmula química	Pureza (%)	Peso Molecular (g/mol)	Marca
Oleato de sodio	$\text{C}_{10}\text{H}_{33}\text{NaO}_2$	97	304.45	TCI
Cloruro de hierro	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	99	270.3	Sigma Aldrich
Cloruro de zinc	$\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	97	136.3	Sigma Aldrich
Hexano	C_6H_{14}	99	86.18	Sigma Aldrich
Etanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	96	46.07	PanReac S. A

Para el cálculo de la cantidad de reactivos que hay introducir en el balón se debe tener en cuenta que la relación molar metal:oleato es 1:3 para el hierro y 1:2 para el zinc.

De esta forma, para la obtención de $\text{Fe}(\text{ol})_3$ se han empleado 120 mmol (38.29 g) de oleato de sodio y 40 mmol (10.92 g) del cloruro metálico, aunque se ha observado experimentalmente que conviene que el oleato de sodio esté en aproximadamente un 3% de exceso. Para el $\text{Zn}(\text{ol})_2$ se han pesado 80 mmol (26.36 g) de oleato de sodio y 40 mmol (5.62g) del cloruro de zinc. En el caso del oleato $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_3$ con una relación de Fe:Zn (2:1), partiendo de 40 mmol de metal, se necesitan 13.3 mmol (1.86 g) de ZnCl_3 , 26.7 mmol (7.28 g) de FeCl_3 y 110 mmol (33.80 g) de oleato de sodio. Finalmente, para la obtención de $\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{ol})_3$ con una relación de Fe:Zn (2.5:0.5), partiendo de 40 mmol de metal, se necesitan 6.67 mmol (0.94 g) de ZnCl_3 , 33.33 mmol (9.09 g) de FeCl_3 y 133.33 mmol (42.22 g) de oleato de sodio.

Las cantidades de reactivos adecuadas para cada caso se introducen en el balón junto con los disolventes en el siguiente orden: 140 ml de hexano, 80 ml de etanol y 60 ml de agua destilada. Se enciende el motor rotatorio que homogeniza la mezcla y se conecta la fuente de nitrógeno gaseoso. Se comprueba que el sistema está bien cerrado y se deja pasar nitrógeno durante 20 minutos para conseguir una atmósfera inerte. Una vez transcurrido los veinte minutos se conecta el controlador de temperatura a la manta calefactora programándolo para que la temperatura siga una rampa ascendente de 5 °C/min hasta llegar a 60 °C. Una vez que la disolución alcanza los 60 °C se deja que reaccione durante 1 hora. Las condiciones de reacción se resumen en la Tabla 2.

Después de 1 hora se apaga el sistema y se deja enfriar la disolución para posteriormente realizar el lavado. Para ello se utiliza un embudo decantador donde se observa cómo se separan la fase orgánica e inorgánica y se desecha la fase inorgánica (Figura 11). Este proceso se repite en dos ocasiones más añadiendo 100 ml de agua destilada. El objetivo del lavado es eliminar los iones Cl^- y el NaOH que se haya podido formar.

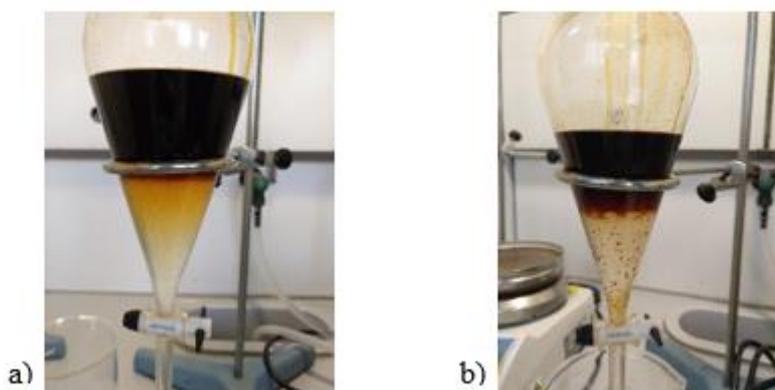


Figura 11. Etapa de lavado del oleato donde se separa la fase orgánica de la inorgánica. a) La separación entre las fases se observa de manera clara y limpia. b) La separación entre fases no se ve de forma clara debido a la formación de hidróxidos.

Una vez realizadas las tres limpiezas en el caso del oleato de hierro y haber separado la fase inorgánica en el caso del Zn, se traspasa el oleato obtenido a un vaso de precipitados y se deja calentando durante 21 h sobre una placa y con un controlador de temperatura (IKA, ETS-D5)

conectado para que no sobrepase los 110 °C. Este paso se realiza para que se evaporen los restos de hexano y agua que puedan quedar en la mezcla. Finalmente se recoge el oleato, que tiene un aspecto oleoso y de color marrón-rojizo (Figura 12), para más adelante utilizarse como precursor en la síntesis de las nanopartículas. El oleato de hierro y los oleatos mixtos de hierro y zinc tiene una textura aceitosa mientras que el oleato de zinc tiene un color más claro y su textura es más sólida.



Figura 12. Oleatos sintetizados: $\text{Fe}(\text{ol})_3$ (1), $\text{Zn}_1\text{Fe}_2(\text{ol})_3$ (2) y $\text{Zn}(\text{ol})_2$ (3).

Tabla 2. Oleatos sintetizados y condiciones de operación con un tratamiento térmico a 110°C.

Muestra	Zn:Fe (teórica)	t de reflujo (min)	Tratamiento térmico (h)	T descomposición (°C)
$\text{Fe}(\text{ol})_3$	--	15 min N_2 60 min 60 °C	~19	240-458
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-1}$	1:2	15 min N_2 60 min 60 °C	~17	--
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-2}$	1:2	30 min N_2 70 min 60 °C	~19	--
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-3}$	1:2	30 min N_2 60 min 60 °C	~18	--
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-4}$	1:2	20 min N_2 60 min 60 °C	21	--
$\text{Zn}(\text{ol})_2$	--	30 min N_2 60 min 60 °C	~18	300-450
$\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{ol})_{3-5}$	0.5:2.5	20 min N_2 60 min 60 °C	21	--

De los siete oleatos sintetizados se utilizaron cuatro de ellos para realizar la síntesis de nanopartículas. Los oleatos $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-1}$ y $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-2}$ se descartaron debido a que al realizar el lavado del oleato con agua destilada se producía la formación de hidróxido. Es por ello por lo que para el oleato $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-3}$ se decidió suprimir este paso y separar únicamente la fase orgánica de la inorgánica. Sin embargo, al separar las fases en los oleatos $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-3}$ y $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-4}$ el oleato tomaba un aspecto y textura de gel. Para solucionarlo se le añadió hexano caliente volviendo a disolverlo y este hexano se evapora en la fase en la que el oleato está calentando a 110 °C durante 21 h.

3.2. SÍNTESIS DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Se han sintetizado cuatro tipos de nanopartículas: Fe_3O_4 , $\text{Zn}_1\text{Fe}_2\text{O}_4$ y $\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}\text{O}_4$, esta última se ha preparado tanto a partir de un oleato mixto $\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}(\text{ol})_3$ como a partir de una mezcla de los oleatos de $\text{Fe}(\text{ol})_3$ y $\text{Zn}(\text{ol})_2$.

Para la síntesis de nanopartículas se utiliza el mismo montaje que para la síntesis de los oleatos, pero utilizando un balón de 250 ml de capacidad. En la Tabla 3 se enumeran las características de los reactivos y disolventes que se han utilizado.

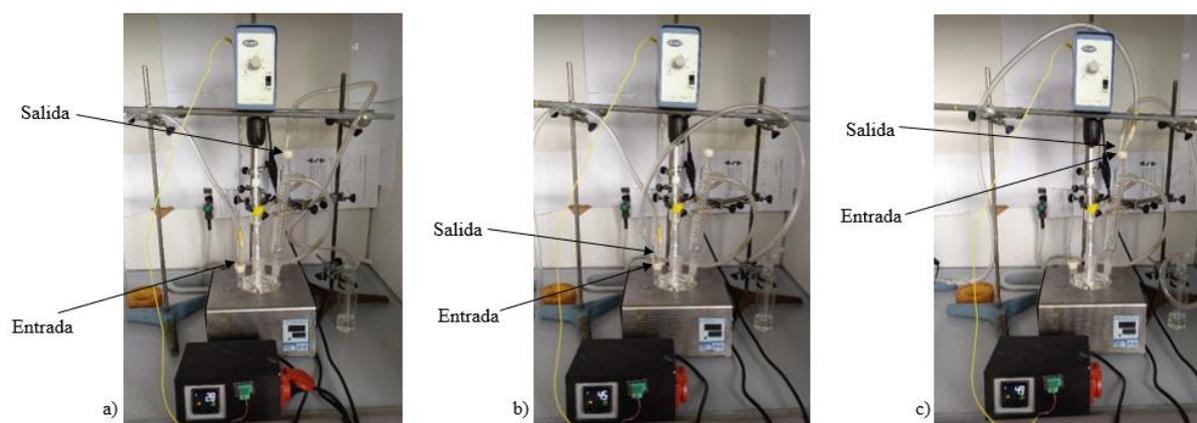


Figura 13. Secuencia de cambios en la entrada y salida de la fuente gaseosa de nitrógeno en la síntesis de nanopartículas.

Tabla 3. Lista de los reactivos utilizados en la síntesis de nanopartículas y sus características.

Reactivo	Fórmula química	Pureza (%)	Peso Molecular (g/mol)	Marca
Dibenzil eter	$(\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2)_2\text{O}$	98	198.26	Sigma Aldrich
1-Octadeceno	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}$	90	252.49	Sigma Aldrich
Ácido oleico	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	90	282.46	Sigma Aldrich
Etanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	96	46.07	PanReac S. A
Tetrahidrofurano	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$	99.9	72.11	Sigma Aldrich
Cloroformo	CHCl_3	99	119.38	Sigma Aldrich
Oleato de hierro	$\text{Fe}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3$	---	900.35	---
Oleato de zinc	$\text{Zn}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_2$	---	62829	---
Oleato de hierro zinc (2:1)	$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3$	---	903.35	---
Oleato de hierro zinc (2.5:0.5)	$\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3$	---	901.85	---

En primer lugar, se introducen en un vaso de precipitados pequeño (100 ml) 5 mmol del oleato correspondiente. Las cantidades de los reactivos (Tabla 4) se han calculado empleando los pesos moleculares que aparecen en la Tabla 3.

Tabla 4. Cantidades de los oleatos utilizados para la síntesis de las nanopartículas.

Muestra	Oleato utilizado	Masa (g)
Fe_3O_4	$\text{Fe}(\text{ol})_3$	4.50
$\text{Zn}_1\text{Fe}_2\text{O}_4$	$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_{3-4}$	4.52
$\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}\text{O}_4$	$\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{ol})_{3-5}$	4.51
$\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}\text{O}_4$	$\text{Fe}(\text{ol})_3 + \text{Zn}(\text{ol})_2$	3.74 + 0.52

Una vez pesada la cantidad correspondiente de oleato se le añaden 10 ml de 1-octadeceno (ODE) y se coloca sobre una placa calefactora para que se disuelva. Una vez disuelto se introduce en el balón de reacción. En el mismo vaso de precipitados para recoger los restos de oleato que hayan podido quedar se repite el proceso, pero con 5 ml de dibenzil éter (DBE) y posteriormente con 3.2 ml de ácido oleico. Se añaden dichos disolventes y se enciende el motor que permite mezclar la disolución, se conecta el nitrógeno gaseoso y se cierra bien el sistema, siendo este último paso crítico debido a que las temperaturas que se alcanzan en este proceso son muy altas pudiendo producirse fugas de los disolventes (Figura 13a).

La composición del disolvente empleado juega un papel crítico. Cuando los disolventes presentan una relación de volumen ODE/DBE de 1:1 se alcanza una temperatura máxima de 310 °C, mientras que con una relación 2:1 se pueden alcanzar 330 °C. Como a 310 °C no se logran tamaños de partícula mayores de 15 nm la relación de disolventes que se ha utilizado en el trabajo ha sido de 2:1. También se puede variar la relación molar entre el ácido oleico y el $\text{Fe}(\text{ol})_3$ para controlar las dimensiones de las nanopartículas y la relación que se utiliza en este trabajo es de 2:1 (Chen y cols., 2016).

Utilizando el controlador de temperatura primero se calienta la disolución desde temperatura ambiente hasta 110 °C con una velocidad de 10 °C/min. Una vez alcanzados los 110 °C se mantiene la temperatura constante durante 30 minutos para eliminar cualquier tipo de humedad y se cambia la posición de la entrada y salida del gas como se observa en la Figura 13b. A continuación, se aumenta la temperatura hasta 190 °C siguiendo la misma rampa y finalmente se sube hasta 315 °C con una velocidad de calentamiento de 3 °C/min manteniendo la mezcla en reflujo durante 1 h, colocando las salidas como indica la Figura 13c.

Se deja enfriar la disolución a temperatura ambiente y se pasa a un tubo de ultracentrífuga añadiendo 5 ml de THF y 10 ml de etanol. Con el fin de eliminar la materia orgánica que queda en la disolución se utiliza la ultracentrífuga (Beckman Coulter, rotor JA-25.50) realizando tres limpiezas a 22000 rpm a 6 °C durante 1 h. En la segunda y tercera limpieza se añaden 10 ml de THF y 20 ml de etanol. Cuando ya se ha limpiado la mezcla tres veces se redispersan las nanopartículas con 15 ml de cloroformo y se guardan en un vial en la nevera para su posterior caracterización.

De esta forma se han sintetizado las fases Fe_3O_4 , $\text{Zn}_1\text{Fe}_2\text{O}_4$ y $\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}\text{O}_4$ (oleato mixto) y $\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}\text{O}_4$

3.3. TRANSFERENCIA A FASE ACUOSA

Como se ha explicado anteriormente en la introducción para que las nanopartículas sean estables en un medio fisiológico es necesario transferirlas a fase acuosa y en este trabajo el método elegido ha sido el recubrimiento con un polímero de alto peso molecular, el poli(anhídrido maleico-alt-1-octadeceno) (PMAO, $(C_{22}H_{38}O_3)_n$). Los reactivos necesarios para realizar este proceso aparecen indicados en la Tabla 5.

Tabla 5. Lista de los reactivos utilizados en la transferencia a fase acuosa de las nanopartículas y sus características.

Reactivo	Fórmula química	Pureza (%)	Peso Molecular (g/mol)	Marca
PMAO	$(C_{22}H_{38}O_3)_n$	---	352	Sigma Aldrich
Cloroformo	$CHCl_3$	99	119.38	Sigma Aldrich

El procedimiento experimental es el siguiente. Primero hay que calcular la cantidad de PMAO necesaria para recubrir una cantidad concreta de nanopartículas. En este caso para el cálculo se ha tomado como base de cálculo 1 mg de NPs.

Para poder realizar el cálculo es necesario conocer el peso molecular del PMAO, la densidad de la magnetita (5.175 g/cm^3), el volumen y su área. Para el cálculo de las dimensiones se hace una aproximación de que las nanopartículas se aproximan a una forma esférica.

$$1 \text{ mg NPs} \cdot \frac{1 \text{ cm}^3}{5.175 \text{ g}} \cdot \frac{1 \text{ g}}{10^3 \text{ mg}} \cdot \frac{10^{21} \text{ nm}^3}{1 \text{ cm}^3} = 1.93 \cdot 10^{17} \text{ nm}^3 \text{ en } 1 \text{ mg de Nps}$$

$$V_{NPS} = \frac{4}{3}\pi r^3$$

$$N^{\circ} NPS = \frac{1.93 \cdot 10^{17} \text{ nm}^3}{V_{NPS}}$$

$$A_{NPS} = 4\pi r^2$$

$$A_{Total} = N^{\circ} NPS \cdot A_{NPS}$$

$$PMAO(\text{mg}) = A_{Total}(\text{nm}^2) \cdot \frac{100 \text{ monomeros}}{1 \text{ nm}^2} \cdot \frac{1 \text{ mol}}{6.022 \cdot 10^{23} \text{ monomeros}} \cdot \frac{352 \text{ g PMAO}}{1 \text{ mol}} \cdot \frac{10^3 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

Se ha decidido transferir a agua 10 mg de NPs de manera que conociendo la concentración de NPs que tiene la disolución stock (NPs+ $CHCl_3$) se sabe que cantidad en volumen hay que tomar para realizar el proceso. Primero se disuelve la cantidad de PMAO calculada en un tubo ependorf con 1ml de cloroformo con ayuda del ultrasonidos. En un balón de reacción de 150 ml se introduce la cantidad calculada de la disolución stock más 20 ml de cloroformo y se le añade el PMAO disuelto. Se agita la mezcla durante unos 20 minutos y, a continuación, se evapora el disolvente en el rotavapor. Una vez evaporado el disolvente se vuelven a añadir otros 20 ml de cloroformo y se repite el proceso. Seguidamente se añaden 4 ml de buffer SBBS (Sodium Borate Buffer) de pH=9.5 y se coloca en el ultrasonido para que hidrolice durante varias horas.

La muestra se traspasa a unos ependorf para limpiarla en la centrífuga (Hettich Mikro 220) a 13000 rpm. Para limpiarlas se le añade agua destilada a la muestra y se precipitan desechando el sobrenadante y se repite la acción unas tres o cuatro veces. Finalmente, se redispersan las NPs, ya estables en agua, con agua destilada y se almacena en una nevera.

Estas muestras se definen como $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PMAO}$ y las dos nanopartículas que se han transferido a agua han sido: $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PMAO}$, $\text{Zn}_1\text{Fe}_2\text{O}_4@\text{PMAO}$.

3.4. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

Una vez realizada la síntesis de las nanopartículas se procede a estudiar sus características y propiedades mediante diferentes técnicas de caracterización.

- Difracción de Rayos X (DRX)

Se ha utilizado la técnica de DRX para obtener información sobre la estructura y el tamaño de las nanopartículas. Los difractogramas se han registrado en un difractómetro de muestra policristalina Panalytical X'Pert, PRO de geometría theta-theta. El sistema dispone de rendija programable, un monocromador secundario de grafito ajustado a una radiación de cobre, detector rápido PixCel de estado sólido ajustado a una longitud activa en 2θ de 3.347° . Las condiciones de medida aplicadas en el generador de rayos X han sido 40 kV y 40 mA.

- Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

La microscopia TEM permite ver la morfología de las partículas y su distribución de tamaños. Se ha empleado un microscopio con filamento de hexaboruro de lantano y con pieza polar supertwin (Philips CM200) operando a 200 kV. Las muestras se han preparado depositando unos $100\mu\text{L}$ de nanopartículas dispersas en cloroformo sobre una rejilla de cobre con recubrimiento de carbono.

- Fluorescencia de Rayos X (FRX)

La FRX permite conocer la cantidad (% masa) de cada metal presente tanto en los oleatos como en las nanopartículas. Las medidas se han realizado en los servicios generales de la UPV/EHU con el equipo Panalytical Axios mAX advanced. Se trata de un espectrómetro secuencial de fluorescencia de rayos X por dispersión de longitudes de onda (WDXRF), dotado con cambiador automático de muestras, sistema de medida en vacío, tubo de Rh y tres detectores (flujo gaseoso, centelleo y sellado de Xe).

- Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP)

Mediante la técnica de ICP se ha complementado la información obtenida en FRX mejorando la precisión en el cálculo de las concentraciones de las muestras. Las medidas se han realizado con el espectrómetro Horiba Yobin Yvon Activa de los servicios generales (SGIker) de la UPV/EHU. Este espectrómetro de emisión atómica (ICP-AES) dispone de un sistema de nebulización de vidrio y de teflón, lo cual permite la determinación de muestras procedentes de la digestión ácida empleando HF. Para poder realizar las medidas de ICP primero hay que descomponer la muestra, eliminando la materia orgánica, se puede realizar en un horno o empleando los

residuos obtenidos de la TG. A continuación, se digiere con una mezcla de HCl, HNO₃ y H₂SO₄ y se diluye con agua destilada introduciéndolo en un matraz aforado.

- Análisis Termogravimétrico (TG)

El objetivo de realizar el análisis termogravimétrico es conocer la cantidad de materia orgánica que contienen las nanopartículas y los oleatos. Las medidas se han realizado en el equipo NETZSCH STA 449C, utilizando unos 5-10 mg de muestra sometida a un calentamiento de 10 °C/min, en atmosfera de argón, en el intervalo de 20 a 900 °C.

- Magnetometría de muestra vibrante (VSM)

Esta técnica permite realizar medidas de imanación en función del campo magnético aplicado. El equipo empleado ha sido un magnetómetro VSM comercial de Cryogenic Ltd equipado con un imán superconductor que puede proporcionar un campo máximo de 14 T, con un intervalo de temperatura accesible entre 2 y 300 K. Las muestras de nanopartículas se han medido en polvo después de haber sido precipitadas tres veces en la centrífuga.

- Magnetometría SQUID (Superconducting Quantum Interference Device)

Mediante esta técnica se han realizado las medidas de imanación a campo constante en función de la temperatura (ZFC/FC). El equipo utilizado ha sido el magnetómetro PPMS (Physical Property Measurement System) - Quantum Design Model 6000 que trabaja a un campo máximo de 7 T y temperaturas hasta 1000 K. Debido a la alta sensibilidad de este equipo pueden realizarse las medidas con unas pocas gotas de las muestras de nanopartículas en disolución con cloroformo depositadas sobre un papel de filtro.

- Hipertermia Magnética

Esta técnica ha permitido determinar los valores de SAR de las nanopartículas una vez que han sido transferidas a fase acuosa. Las medidas de hipertermia se han realizado mediante un campo magnético alterno (AMF) en un equipo diseñado en el departamento de Electricidad y Electrónica de la Facultad de Ciencia y Tecnología de UPV/EHU.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS OLEATOS PRECURSORES

Como se ha explicado anteriormente la síntesis de las nanopartículas magnéticas se realiza a partir de precursores metalorgánicos. El primer objetivo por tanto era sintetizar cuatro tipos de oleatos: un oleato de hierro, un oleato de zinc y dos oleatos mixtos para dos concentraciones diferentes, concretamente $\text{Fe}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3$, $\text{Zn}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_2$, $\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_{3-4}$ y $\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_{3-5}$. Según lo descrito en la bibliografía (Feld y cols., 2019) los precursores tienen una gran influencia en las características de las nanopartículas que se van a obtener por lo que es necesario caracterizarlos exhaustivamente.

4.1.1. Caracterización química de las muestras

La caracterización química de las muestras se realizó mediante fluorescencia de rayos X (FRX) y espectrometría de masas (ICP). La técnica de FRX permite conocer las relaciones Zn:Fe reales de los oleatos sintetizados. Al realizar las medidas los datos obtenidos son de (% masa) de manera que realizando los cálculos a partir de los pesos moleculares se obtienen las relaciones indicadas en la Tabla 6. Los análisis de ICP de las muestras también se han representado en la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de las relaciones molares de Zn:Fe para los diferentes oleatos.

Muestra	Zn:Fe (teórica)	Zn:Fe (experimental) FRX	Zn:Fe (experimental) ICP
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_3-1$	1:2	0.99:2.01	0.75:2.25
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_3-2$	1:2	0.94:2.06	0.7:2.3
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_3-3$	1:2	1.13:1.87	0.89:2.11
$\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_3-4$	1:2	1.15:1.85	0.89:2.11
$\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{ol})_3-5$	0.5:2.5	0.76:2.24	0.49:2.51

Se observa como la relación real de metales es muy próxima a la esperada, incluso en los oleatos de composición 1:2 a pesar de la solidificación parcial de éstos durante la síntesis. Como se ha explicado anteriormente, la relación que se ha logrado es en principio la óptima para obtener valores elevados de imanación. Se observa que la diferencia que existe entre los resultados obtenidos por FRX e ICP no son muy grandes pero los resultados de ICP se ajustan más a las relaciones teóricas y especialmente en los dos oleatos que se han utilizado para realizar la síntesis. ($\text{Fe}_2\text{Zn}_1(\text{ol})_3-4$ y $\text{Fe}_{2.5}\text{Zn}_{0.5}(\text{ol})_3-5$)

4.1.2. Análisis Termogravimétrico (TG)

El análisis termogravimétrico permite conocer la cantidad de materia orgánica que contienen los oleatos sintetizados, además, de dar información acerca de la temperatura de descomposición de los mismos. La temperatura de descomposición es un parámetro muy

importante ya que condiciona la elección de disolventes para la síntesis de las nanopartículas y la temperatura a la que puede llegar el sistema.

En la Figura 14 se observa como la temperatura de descomposición para el oleato de hierro se encuentra en un intervalo entre 240-460 °C, mientras que el oleato de zinc presenta una temperatura de descomposición de 300-450 °C.

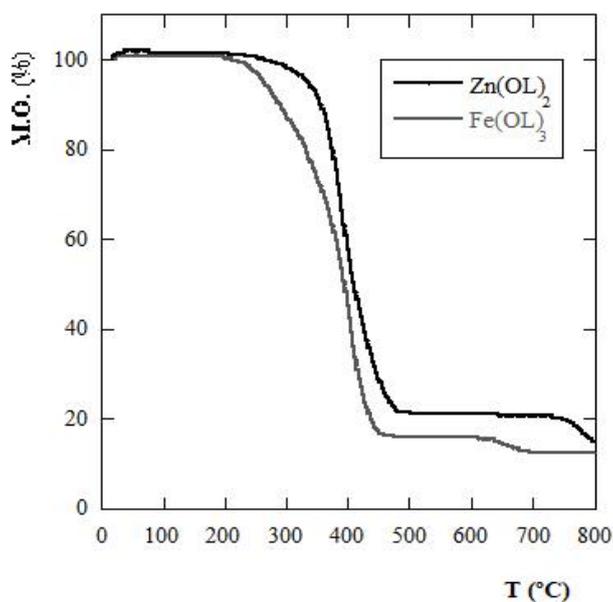


Figura 14. Análisis termogravimétrico hasta 800 °C de los oleatos de hierro y zinc.

Por otra parte, analizando los termogramas se puede calcular la cantidad de ligandos oleato que tienen las muestras y establecer una fórmula empírica para cada uno de los casos. Así, el oleato de zinc(II) presenta un 80.76% de materia orgánica y el oleato de hierro(III) un 88.38%. Estos datos permiten calcular la relación de oleatos por átomo metálico que son para el hierro 2.1 (Fe(ol)_{2.1}) y para el Zn 1.1 (Zn(ol)_{1.1}). Se esperaba que la relación fuese de tres oleatos por átomo metálico en el caso del hierro. La diferencia puede ser debida bien a que la distribución de iones Fe⁺² y Fe⁺³ no es la esperada o bien a la presencia de otras especies iónicas que contrarresten la carga.

Para comprobar que los datos obtenidos en el estudio termogravimétrico eran correctos, para el oleato de hierro se hizo un Análisis Elemental en los servicios generales (SGIker) de la UPV/EHU obteniendo unos resultados de un 70.58% de C y un 10.54% de H.

En el caso de los oleatos mixtos la cantidad de materia orgánica no se ha calculado por medio de la TG, sino que se calcinaron las muestras en un horno a 900 °C y el cálculo se ha realizado por diferencia de masa obteniéndose los valores reflejados en la Tabla 7 donde se observa que todos los valores son similares, alrededor de un 90% de materia orgánica.

Tabla 7. Características principales de los oleatos sintetizados.

Muestra	Zn:Fe (experimental) FRX	Zn:Fe (experimental) ICP	M.O. (%)	T descomposición (°C)
Fe(ol) ₃	--	--	88.38	240-460
Fe ₂ Zn ₁ (ol) ₃ -1	0.99:2.01	0.75:2.25	90.13	--
Fe ₂ Zn ₁ (ol) ₃ -2	0.94:2.06	0.7:2.3	90.15	--
Fe ₂ Zn ₁ (ol) ₃ -3	1.13:1.87	0.89:2.11	89.34	--
Fe ₂ Zn ₁ (ol) ₃ -4	1.15:1.85	0.89:2.11	90.23	--
Zn(ol) ₂	--	--	80.76	300-450
Fe _{2.5} Zn _{0.5} (ol) ₃ -5	0.76:2.24	0.49:2.51	89.66	--

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Como se ha indicado en el proceso experimental se han sintetizado cuatro tipos de nanopartículas, una magnetita y tres dopadas con zinc en diferentes concentraciones. En la Tabla 8 se pueden observar las principales características de las nanopartículas obtenidas, cuyas propiedades se describirán en los siguientes apartados.

Tabla 8. Nanopartículas sintetizadas, sus principales características y condiciones de síntesis.

Muestra	Oleato	ICP FRX	t reflujo (min)	D ±σ (nm) TEM DRX	M.O. (%)	Ms a RT (emu/g _{inor})
Fe ₃ O ₄ MD-1	Fe(ol) ₃	---	30	27±2 32±1	22.69	95.4
Zn _{0.25} Fe _{2.75} O ₄ ZnFe-1	Fe ₂ Zn ₁ (ol) ₃ -4	2.75:0.25 2.56:0.44	60	39±3 43±2	11.60	90.3
Zn _{0.15} Fe _{2.85} O ₄ ZnFe-3	Fe(ol) ₃ +Zn(ol) ₂ (2.5:0.5)	2.85:0.15 2.68:0.32	30	10±1 9±1	46.72	91.8
Zn _{0.54} Fe _{2.46} O ₄ ZnFe-4	Fe _{2.5} Zn _{0.5} (ol) ₃ -5 (2.5:0.5)	-- 2.46:0.54	60	12±2 y 26±2 21±1	37.84	68.8

En la primera síntesis la temperatura final de reflujo fue aproximadamente de 330°C y para el resto de las síntesis de 315°C. Esto es debido a que en la primera síntesis el sistema no estaba totalmente cerrado y la temperatura subía hasta los 330 °C al perder parte del disolvente con menor temperatura de ebullición. Con la muestra ZnFe-3 debido a que de nuevo el sistema no estaba completamente cerrado la temperatura comenzó a ascender y para que la síntesis fuese en las mismas condiciones se decidió dejar un reflujo de 30 minutos.

4.2.1. Caracterización química

La técnica de FRX permite conocer las relaciones Zn:Fe reales de las nanopartículas sintetizadas permitiendo observar que las proporciones metálicas que tenían los oleatos no se mantienen en las partículas. Al hacer las medidas los datos obtenidos son de (% masa) de manera que realizando los cálculos a partir de los pesos moleculares se obtienen las relaciones indicadas en la Tabla 9.

Tabla 9. Comparación de las relaciones molares de Zn:Fe para las diferentes nanopartículas.

Muestra	Zn:Fe (teórica)	Zn:Fe (experimental) FRX	Zn:Fe (experimental) ICP
ZnFe-1	1:2	0.44:2.56	0.25:2.75
ZnFe-3	0.5:2.5	0.32:2.68	0.15:2.85
ZnFe-4	0.5:2.5	0.54:2.46	-----

En ninguna de las tres muestras ha entrado al sistema la cantidad de zinc esperada. En las dos primeras muestras (ZnFe-1 y ZnFe-3) se ve, no sólo que la concentración de zinc es inferior a la esperada, sino que el hecho de sintetizar un oleato con mayor cantidad de zinc no asegura que la concentración aumente en las nanopartículas.

Se ha seguido el mismo procedimiento que con los oleatos y se han medido las muestras con la técnica de ICP para contrastar los resultados y obtener unos resultados más precisos (Tabla 9). La tendencia que se observa es que la cantidad de zinc detectada es menor en las medidas de ICP que en las de FRX. La última muestra no pudo ser medida por ICP, pero considerando las propiedades que se mostrarán posteriormente se puede proponer una relación Zn:Fe de 0.3:2.7.

Como se ha indicado anteriormente la muestra ZnFe-3 se ha sintetizado a partir de dos oleatos ($\text{Fe}(\text{ol})_3 + \text{Zn}(\text{ol})_2$), en cambio para la muestra ZnFe-4 se utilizó un oleato mixto ($\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_{2.5}(\text{ol})_3$). Considerando los resultados obtenidos se puede concluir que el empleo de un oleato mixto favorece la entrada del ion Zn^{+2} al sistema.

4.2.2. Análisis termogravimétrico (TG)

El análisis termogravimétrico da información acerca de la cantidad de materia orgánica que está presente en la superficie de las nanopartículas inorgánicas. En la Figura 15 se observa la pérdida de masa y las temperaturas de descomposición de cada muestra.

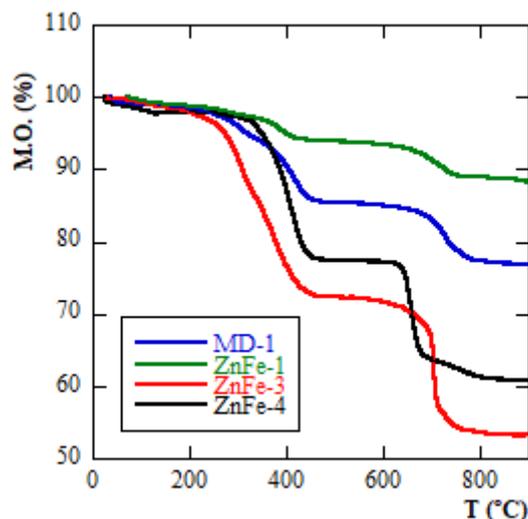


Figura 15. Representación de las curvas termogravimétricas correspondientes a las cuatro muestras de nanopartículas.

Todas las muestras siguen un perfil de descomposición similar. Alrededor de 100 °C se produce la pérdida de humedad o disolventes que hayan podido permanecer después de realizar las limpiezas. Entre 200 y 400 °C se produce la pérdida de masa correspondiente a los ligandos orgánicos y finalmente entorno a los 650-700 °C se produce la descomposición de los carbonatos que se forman como intermedios. Como la relación área/volumen aumenta al disminuir el tamaño de las NPs, es de esperar que las partículas más pequeñas tengan más materia orgánica. En la Tabla 10 se observa claramente el aumento de materia orgánica con la disminución del tamaño de partícula.

Tabla 10. Propiedades fisicoquímicas de las muestras.

Muestra	Zn:Fe (exp FRX)	D _{TEM} (nm)	D _{DRX} (nm)	M.O. (%)
MD-1	---	27±2	32±1	22.69
ZnFe-1	0.44:2.56	39±3	43±2	11.60
ZnFe-3	0.32:2.68	10±1	9±1	46.72
ZnFe-4	0.54:2.46	26±1 12±2	21±1	37.84

4.2.3. Difracción de rayos X (DRX)

La determinación de la estructura cristalina de las muestras se ha realizado mediante difracción de rayos X. Las medidas se han llevado a cabo sobre muestras sólidas (en polvo). En la Figura 16 se han representado los cuatro difractogramas correspondientes a las nanopartículas sintetizadas. Los máximos de difracción pertenecen a la fase magnetita Fe₃O₄ (PDF #890687, Anexo) y se observa que la anchura de los picos de difracción varía de una muestra a otra. Los picos de mayor intensidad de la fase FeO (PDF #880866, Anexo), fase que se quiere evitar debido a que reduce la imanación de saturación de los sistemas, se encuentran a valores 2θ igual a 35.9, 41.7 y 60.4, y aparentemente no están presentes en ninguna de las fases preparadas. Dado que el grado de dopaje de Zn en las muestras ZnFe-1,

ZnFe-3 y ZnFe-4 no es muy alto (Tabla 9), no se aprecian desplazamientos significativos en los máximos de difracción con respecto a la muestra de magnetita sin dopar. En las Figuras 16c y d se observan a ángulos bajos, alrededor de 20° , unos picos anchos que corresponden a la materia orgánica que sigue presente en las nanopartículas a pesar de haber realizado varias limpiezas para obtener las muestras en polvo. Como se observa en la Tabla 10 las muestras ZnFe-3 y ZnFe-4 son las que mayor porcentaje de materia orgánica tienen.

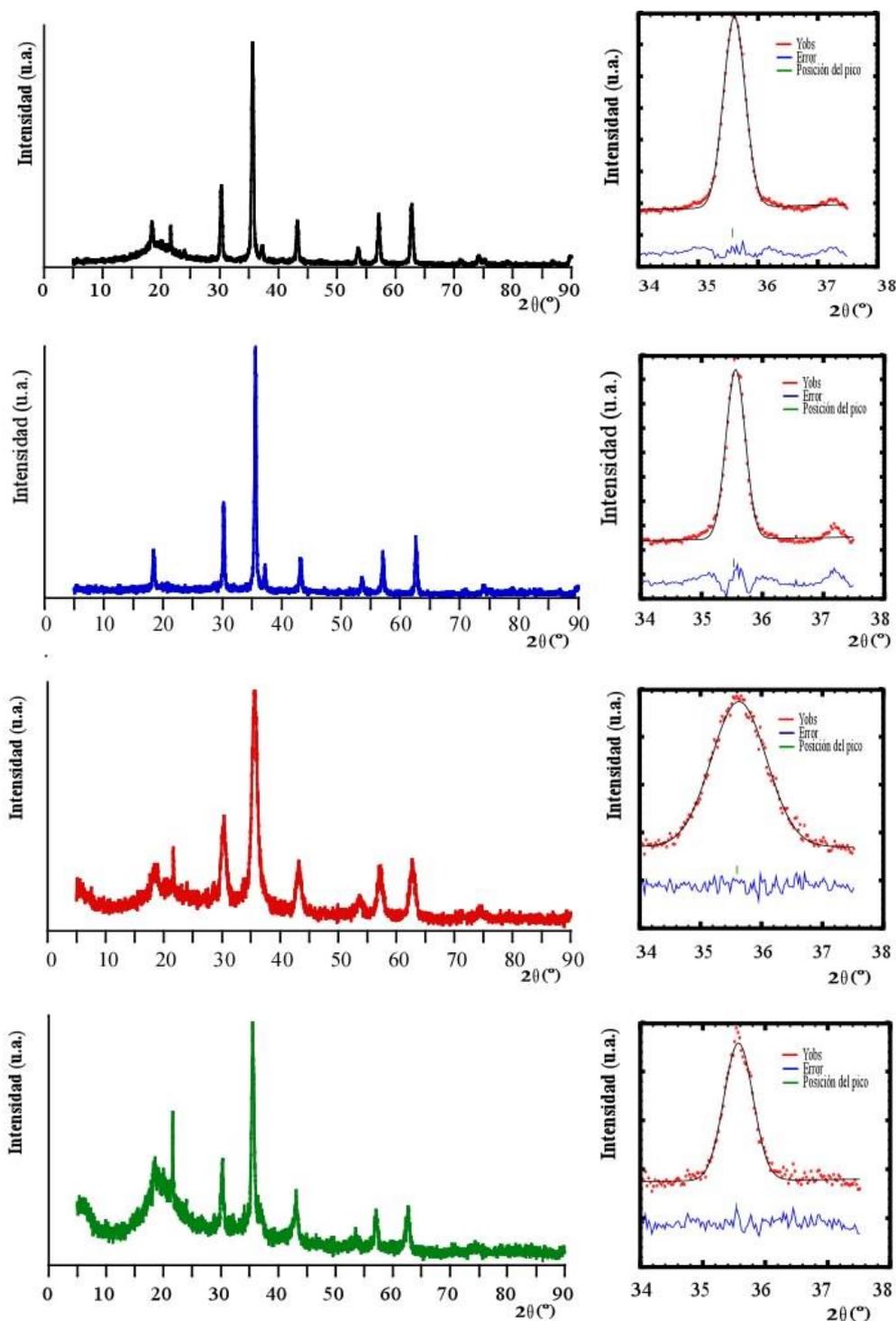


Figura 16. Difractogramas de las muestras MD-1(a), ZnFe-1(b), ZnFe-3(c) y ZnFe-4 (d) y la correspondiente deconvolución del pico de mayor intensidad.

El tamaño cristalino de las muestras se ha calculado empleando la ecuación de Scherrer (Ecuación 2) sobre el pico de difracción de mayor intensidad.

$$D = \frac{K\lambda}{B_{estruct} \cos\theta} \quad (2)$$

donde K es la constante de forma (K=1 para partículas esféricas), $B_{estruct}$ es la anchura a media altura del máximo de difracción principal resultante de restar la anchura observada y la contribución instrumental, λ es la longitud de onda de la radiación de Rayos X, en este caso $\lambda = (K\alpha_1 + K\alpha_2)/2 = 1.5418 \text{ \AA}$ y θ la posición del máximo de difracción.

La anchura a media altura observada (B_{obs}) y la posición del máximo (2θ) se obtienen a partir de la deconvolución de dicho máximo (Figura 15) calculados con el programa FullProf. Los parámetros obtenidos de la deconvolución y el valor del diámetro cristalino, calculado con el programa X'pert High Score, se han recogido en la Tabla 11.

Tabla 11. Parámetros obtenidos a partir de la deconvolución del máximo de difracción de mayor intensidad y diámetros calculados mediante la fórmula de Scherrer tomando una $K=0.95$.

Muestra	B_{obs} ($^{\circ}2\theta$)	B_{inst} ($^{\circ}2\theta$)	B_{struct} ($^{\circ}2\theta$)	Posición ($^{\circ}2\theta$)	Diámetro (nm)
MD-1	0.385	0.120	0.265	35.578	32 \pm 1
ZnFe-1	0.312	0.120	0.192	35.534	43 \pm 2
ZnFe-3	1.089	0.120	0.969	35.569	9 \pm 1
ZnFe-4	0.519	0.12	0.399	35.538	21 \pm 1

El tamaño obtenido mediante DRX corresponde a las dimensiones promedio de los cristales. Para saber si las nanopartículas sintetizadas son monocristales o policristalinas (partículas macladas) hay que comparar este diámetro cristalino con el diámetro físico observado en las imágenes de TEM.

4.2.4. Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

Por medio de la microscopia electrónica de transmisión (TEM) se puede conocer la morfología de las nanopartículas, su diámetro promedio y su distribución de tamaños que presenta la muestra.

Los histogramas de tamaños se han obtenido tras analizar un mínimo de 100 NPs en varias imágenes TEM. Estos histogramas se han ajustado a una distribución de tipo Gaussiana (Ecuación 3):

$$f(D) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(D - D_0)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (3)$$

siendo $D > 0$ y D_0 y σ el diámetro medio y la desviación estándar, respectivamente.

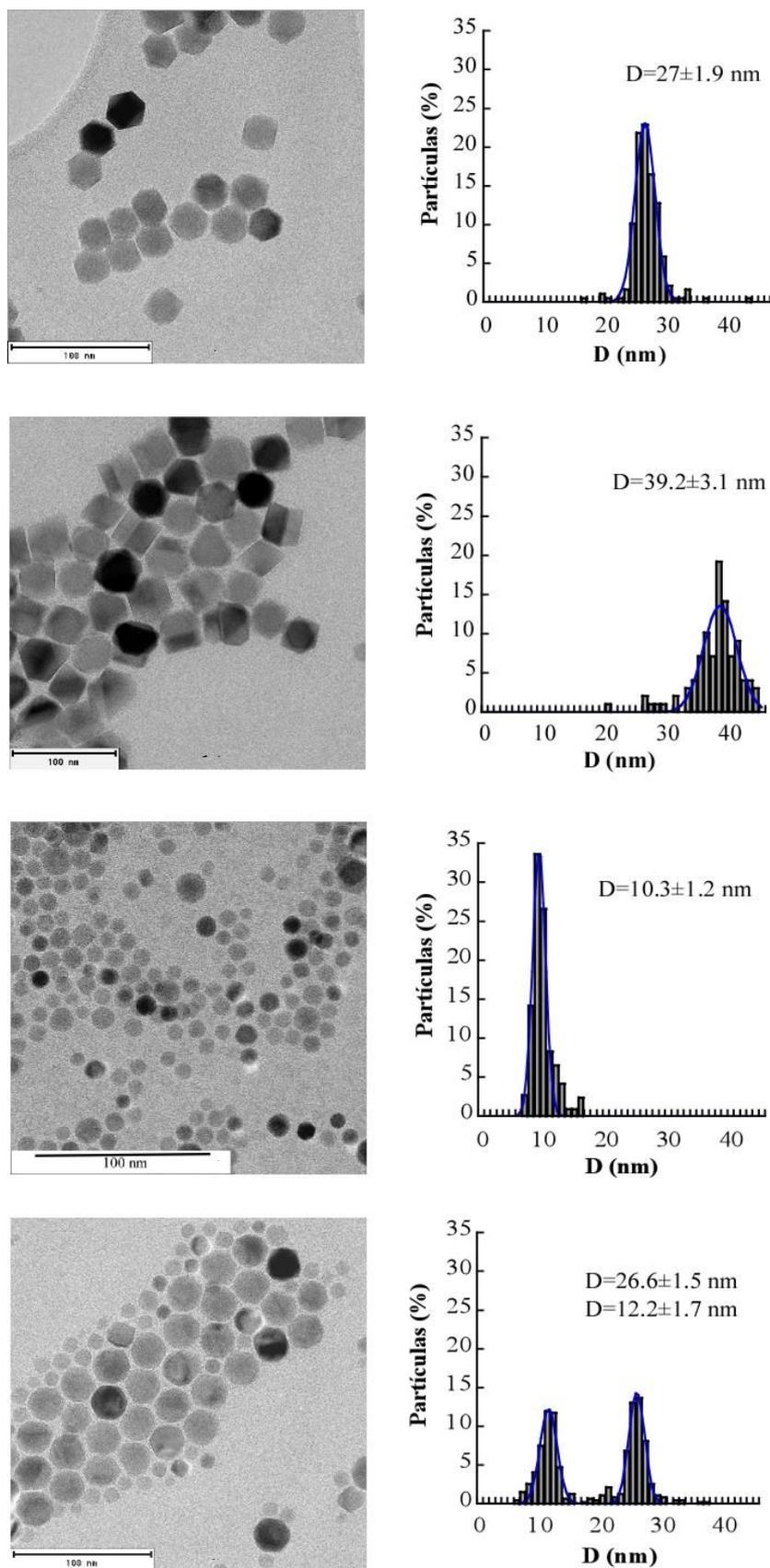


Figura 17. Micrografías de las muestras MD-1(a), ZnFe-1(b), ZnFe-3(c) y ZnFe-4(d) con sus correspondientes distribuciones de tamaño.

En la Figura 17 se presentan imágenes TEM representativas de las muestras MD-1, ZnFe-1, ZnFe-3 y ZnFe-4 junto con su correspondiente distribución de tamaños. Las muestras MD-1, ZnFe-1 y ZnFe-3 presentan una distribución monomodal con una dispersión de tamaños muy estrecha. Por el contrario, la muestra ZnFe-4 presenta una distribución bimodal compuesta por dos poblaciones de partículas con el diámetro medio centrado en 26 y 12 nm.

Los tamaños promedio y su desviación estándar para las diferentes nanopartículas se recogen en la Tabla 12. Se ha realizado una comparación entre los diámetros obtenidos a partir de TEM y DRX y en las tres primeras muestras (MD-1, ZnFe-1 y ZnFe-3) no se observa una gran diferencia, lo que sugiere que las nanopartículas son monocristales. Sin embargo, este razonamiento no es válido para la muestra ZnFe-4 debido a su naturaleza bimodal. El tamaño cristalino obtenido en DRX es un promedio de todos los tamaños cristalinos presentes en la muestra, de modo que la comparación de los diámetros obtenidos por DRX y TEM no nos permiten concluir en ese caso si las NPs que componen esta muestra son monocristalinas o policristalinas.

En cuanto a la forma de las NPs, se observa una morfología más esférica (menos facetada) en la muestra ZnFe-3, lo que es habitual en partículas de menor tamaño (Eguchi y cols., 2012). Las nanopartículas de las muestras MD-1 y ZnFe-4 presentan una forma más cuboctaédrica, morfología común en sistemas nanoparticulados de ferritas de hierro (Lak y cols., 2018). Por otro lado, la muestra ZnFe-1 parece presentar variedad de morfologías prismáticas. Un análisis detallado de las morfologías presentes en esta muestra requeriría de técnicas más complejas, lo que se encuentra fuera de los objetivos del actual trabajo.

Tabla 12. Tamaños medio determinados por TEM y tamaños medio calculados a partir de DRX.

Muestra	D_{TEM} (nm)	D_{DRX} (nm)
MD-1	27±2	32±1
ZnFe-1	39±3	43±2
ZnFe-3	10±1	9±1
ZnFe-4	26±1 12±2	21±1

4.2.5. Magnetometría

Las medidas de imanación en función de la temperatura se han llevado a cabo en un magnetómetro SQUID y los resultados obtenidos se representan en la Figura 18.

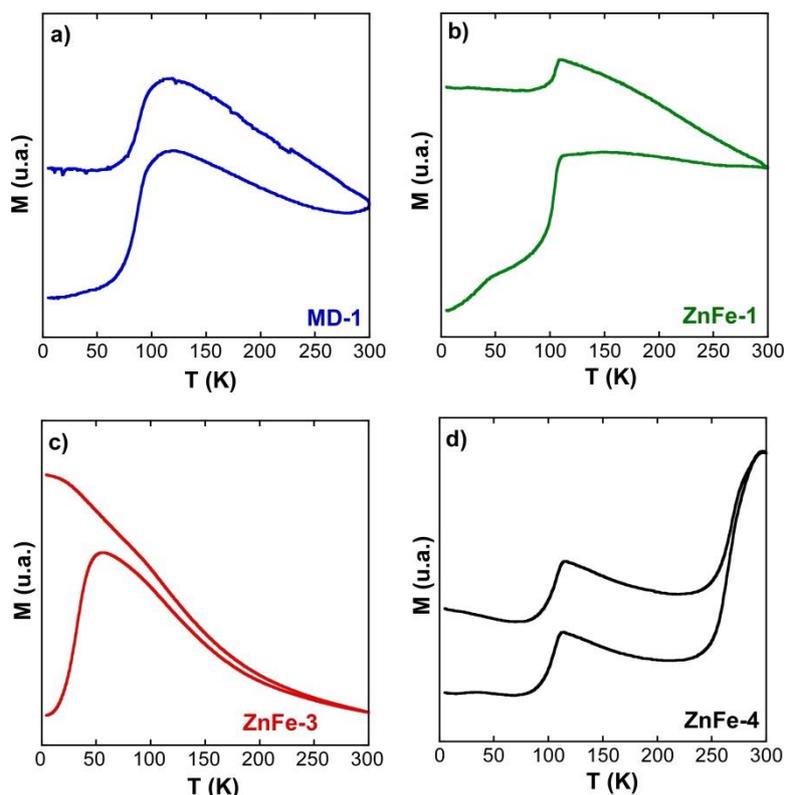


Figura 18. Representación de la imanación frente a la temperatura para las muestras (a) MD-1, (b) ZnFe-1, (c) ZnFe-3 y (d) ZnFe-4

La transición de Verwey propia de la magnetita se observa en mayor o menor medida en las cuatro muestras. En la muestra ZnFe-3 se corresponde con el pequeño bache que se ve a 100 K. Esta muestra presenta una temperatura de bloqueo de aproximadamente 50 K a partir de la cual se observa un comportamiento superparamagnético que se hace patente en la práctica superposición de las dos curvas. Para el resto de las muestras, las curvas ZFC/FC muestran que el tamaño de las partículas es lo suficientemente grande como para tener un comportamiento ferromagnético a temperatura ambiente.

En la muestra de magnetita pura (MD-1) la transición de Verwey se extiende a lo largo de un amplio rango de temperatura, de 60 a 125 K, esto suele ocurrir cuando la estequiometría no está bien definida u otros cationes 3d (como Zn, Mn o Co) están sustituyendo a Fe^{+2} . En las muestras ZnFe-1 y ZnFe-4 se observa una transición brusca a 120 K cerca de lo que correspondería a la magnetita pura, esto indica que los iones Zn^{+2} no están del todo incorporados a la estructura de espinela, de lo contrario la transición de Verwey se desplazaría a temperaturas más bajas o desaparecería. En la muestra ZnFe-4 la magnetización aumenta abruptamente a 250K lo que podría indicar la existencia de dos fases diferentes, la magnetita y la wustita.

Por otra parte, empleando un magnetómetro de muestra vibrante VSM también se han registrado los ciclos de imanación frente al campo a 300 y 5 K de las muestras preparadas. Los resultados se pueden observar en la Figura 19.

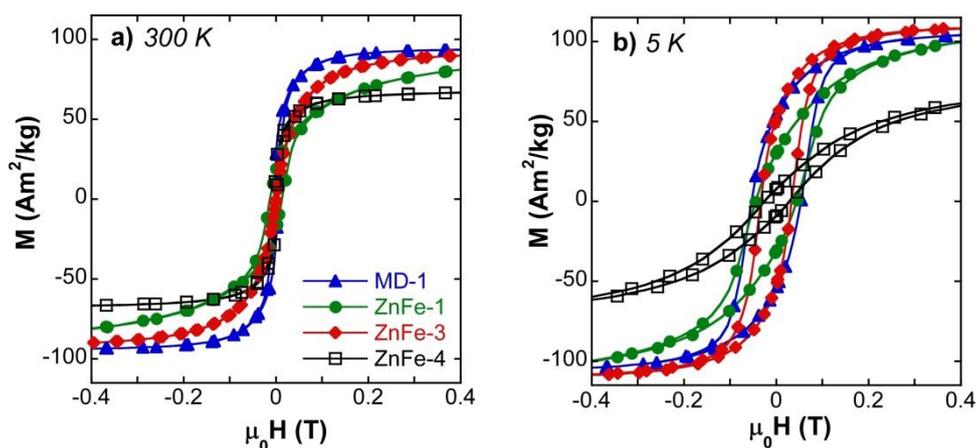


Figura 19. Ciclos de imanación frente campo a 300 y 5 K.

La muestra ZnFe-1 presenta el mayor campo coercitivo a temperatura ambiente lo cual está en buen acuerdo con el mayor tamaño de sus partículas. Por el contrario, la muestra ZnFe-3 no muestra histéresis, el campo coercitivo es prácticamente nulo, como cabía esperar considerando el comportamiento superparamagnético que se había detectado previamente en las medidas ZFC/FC.

Las imanaciones de saturación (M_s) de las muestras MD-1, ZnFe-1 y ZnFe-3 son altas como se puede observar en la Tabla 13. La magnetita (MD-1) presenta la mayor imanación de 95.4 $\text{Am}^2/\text{kg}_{\text{inorg}}$ superando imanación de saturación de la magnetita en estado masivo (92 $\text{Am}^2/\text{kg}_{\text{inorg}}$) a 300 K indicando la pureza y alta cristalinidad de las nanopartículas. Lo mismo ocurre a 5 K donde la magnetita en estado masivo presenta una imanación de 98 $\text{Am}^2/\text{kg}_{\text{inorg}}$. Aunque hay que tener en cuenta que la incertidumbre experimental es de alrededor del 5% debido a la determinación del momento magnético y la masa inorgánica.

Las curvas de histéresis a 5 K de las muestras MD-1 y ZnFe-3 son del tipo Stoner-Wohlfarth para sistemas ferromagnéticos, lo que puede deducirse tanto de la forma de la curva como de la relación M_r/M_s próxima a 0.5. La muestra ZnFe-3 presenta un valor de imanación remanente menor ($M_r/M_s=0.25$) que puede ser atribuido a la mayor dispersión de tamaños de partícula que se observa en las imágenes de TEM. La curva correspondiente a la muestra ZnFe-4 es diferente porque como ya se ha indicado anteriormente presenta dos fases magnéticas diferentes.

Tabla 13. Principales parámetros magnéticos de las muestras.

Muestra	M_s (RT) Am^2/kg	M_s (5K) Am^2/kg	H_c (300 K) mT	H_c (5K) mT	M_r/M_s (5K)
MD-1	95.4	106.8	4.5	53.4	0.508
ZnFe-1	90.3	121.5	13.1	44.8	0.251
ZnFe-3	91.8	111.3	0.6	33.5	0.471
ZnFe-4	68.8	81.3	2.5	27.2	0.13

4.2.6. Hipertermia magnética

Las medidas de absorción de energía magnética son fundamentales para determinar la potencial aplicación de un material como agente generador de hipertermia en terapias antitumorales. En la práctica, cualquier material magnético que es sometido a la acción de un campo alterno de frecuencia suficientemente alta absorbe parte de la energía de ese campo y la transforma en calor. La cuestión es qué cantidad de calor por unidad de masa, y aplicando un campo no excesivamente elevado, es capaz de generar un determinado material. El SAR es el parámetro que habitualmente se emplea para comparar las eficiencias en hipertermia magnética de partículas de distinta composición, morfología o tamaño. Hay que tener en cuenta además que tanto las nanopartículas que presentan ciclo de histéresis en campos DC (ferromagnéticas) como las que no (superparamagnéticas) pueden producir altos valores de SAR, dado que en campos AC todas ellas presentan ciclos de histéresis.

Para realizar el estudio de hipertermia magnética se han elegido las dos muestras con partículas más grandes y menor dispersión de tamaños. Como se observa en la Ecuación (1) el SAR es proporcional al área de las curvas de histéresis por lo que observando las Figuras 20a y b se puede determinar de manera cualitativa que la muestra ZnFe-1 presenta un mayor SAR. Lo que se corrobora con los datos numéricos de la Figura 20c, en la que pueden observarse valores máximos de SAR de aproximadamente 780 (W/g) para la muestra MD-1 y de 1000 (W/g) para la muestra de ZnFe-1.

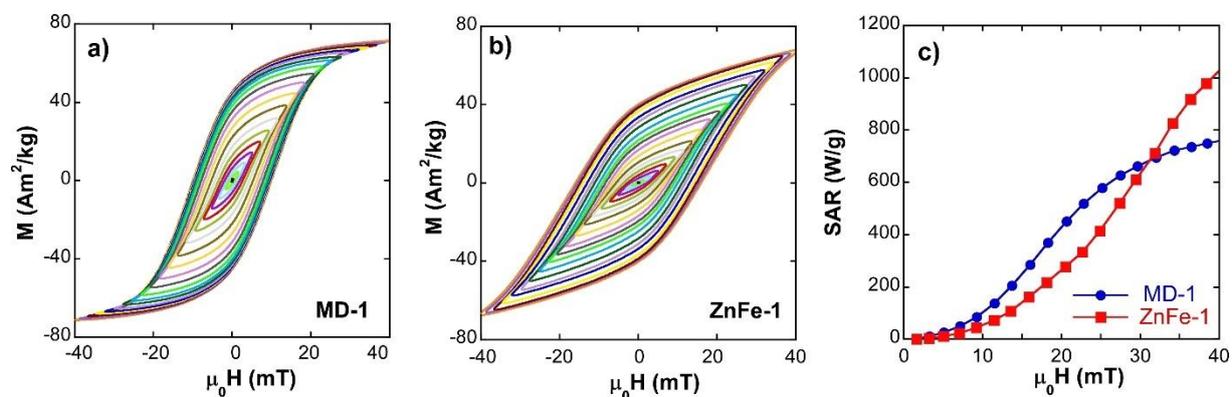


Figura 20. Curvas de histéresis de las muestras transferidas a fase acuosa a) MD1+PMAO b) ZnFe-1+PMAO c) SAR vs campo magnético alterno AC.

La muestra MD1 presenta una curva de SAR frente a campo aplicado típica de sistemas con partículas de un solo dominio, para los que el SAR (H) tiende a saturar con campos relativamente pequeños (30 mT). Estas partículas son por tanto muy apropiadas para la aplicación en terapias de hipertermia magnética dado que campos moderados son suficientes para aprovechar todo el potencial de producción de calor de las nanopartículas. Para la muestra ZnFe-1 se obtienen valores máximos de SAR más grandes, pero es preciso aplicar campos mayores y aun así no se observa saturación por debajo de 40 mT. Aunque la generación de calor pueda ser más alta, esos campos no pueden ser empleados con seguridad sobre los pacientes a tratar.

5. CONCLUSIONES

Se han sintetizado cuatro muestras de nanopartículas, una magnetita y tres ferritas de zinc con diferentes concentraciones, por el método de descomposición térmica a altas temperaturas de precursores metalorgánicos. Los precursores elegidos han sido oleatos y se ha partido de cuatro materiales diferentes: un oleato de hierro, un oleato de zinc y dos oleatos mixtos con relaciones de metal diferentes.

En cuanto a la preparación de los oleatos, se ha logrado mejorar el método de síntesis habitualmente empleado gracias a un mejor control de la temperatura en la etapa de tratamiento térmico. Mediante análisis por fluorescencia de rayos X e ICP, se ha observado que las proporciones Zn:Fe en los oleatos preparados están en buen acuerdo con las estequiometrías buscadas. Se ha observado también que la formación de hidróxidos dificulta las necesarias etapas de purificación en los materiales que contienen zinc, y que altas concentraciones de este elemento hacen que el sistema sea más inestable y por tanto menos adecuado para el objetivo perseguido.

La preparación de las nanopartículas magnéticas ha puesto en evidencia la importancia de mantener el sistema de reflujo perfectamente cerrado para poder controlar con precisión la temperatura y que así el proceso sea reproducible. De los análisis composicionales de las nanopartículas preparadas se ha podido deducir que no todo el zinc presente en los oleatos se transfiere a las nanopartículas, y que un mayor contenido en zinc en la mezcla de precursores no asegura un mayor contenido en zinc en las nanopartículas preparadas. En todo caso, para incrementar el contenido en zinc en los productos finales la solución más eficaz es partir de un oleato mixto que contenga ambos cationes.

Se ha conseguido preparar nanopartículas monocristalinas con distribuciones estrechas de tamaños y diferentes morfologías según las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de transmisión. Para habilitarlas para su uso en medio fisiológico, las nanopartículas se han recubierto con el polímero PMAO de manera que son estables en medio acuoso.

Tres de las cuatro muestras sintetizadas son ferromagnéticas, con elevados valores de imanación. En la cuarta muestra, la presencia de la fase wustita reduce considerablemente la imanación y por tanto el interés del material para los objetivos propuestos. Las dos muestras con mayor tamaño de partícula presentan altos valores de SAR. Se ha demostrado que la adición de zinc aumenta la capacidad de absorber energía magnética de las nanopartículas de magnetita, aunque para aprovechar su máximo potencial de calentamiento es preciso aplicar campos alternos de mayor amplitud.

6. NOMENCLATURA

A	Área, nm ²
A _{NP}	Área nanopartículas, nm ²
A _{Total}	Área total, nm ²
B _{estruc}	Anchura media del pico máximo , °2θ
B _{inst}	Anchura instrumental, °2θ
B _{obs}	Anchura observada, °2θ
D	Diámetro, nm
D _c	Diámetro crítico, nm
D _{SP}	Diámetro superparamagnético, nm
f	Frecuencia, Hz
H	Campo magnético, mT
H _c	Campo coercitivo, mT
H _t	Campo en el tiempo, mT
K	Constante de forma, Adimensional
M	Magnetización o imanación, Am ² /kg o emu/g
M _R	Magnetización o imanación remanente, Am ² /kg o emu/g
M _S	Magnetización o imanación de saturación, Am ² /kg o emu/g
M _t	Magnetización en el tiempo, Am ² /kg o emu/g
SAR	Specific Absorption Rate, W/g
T	Temperatura, °C o K
t	Tiempo, h
T _B	Temperatura de bloqueo, °C o K
T _c	Temperatura crítica, °C o K
V _{NPs}	Volumen nanopartículas, nm ³
x	Relación molar, adimensional
λ	Longitud de onda, m
σ	Desviación estándar, adimensional

7. BIBLIOGRAFÍA

Alves Melo Jr, M., Samuel Soares Santos, L., do Carmo Gonçalves Ana Flávia Nogueira, M., 2012. Preparación de nanopartículas de plata y oro: un método simple para la introducción de la nanocencia en el laboratorio de Ensino, Quím. Nova.

Arriortua, O., 2015. Funcionalización y estudio de nanopartículas de magnetita para su aplicación en terapias de hipertermia magnética. Universidad del País Vasco.

Ávalos, A., Haza, A., Morales, P., 2013. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. Rev. Complut. Ciencias Vet. 7. https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408

Barco Rios, H., Rojas Caldern, E., Restrepo Parra, E., 2012. Principios de electricidad y magnetismo, 1st ed. Universidad Nacional de Colombia, Manizales.

Bronstein, L.M., Huang, X., Retrum, J., Schmucker, A., Pink, M., Stein, B.D., Dragnea, B., 2007. Influence of iron oleate complex structure on iron oxide nanoparticle formation. Chem. Mater. 19, 3624–3632. <https://doi.org/10.1021/cm062948j>

Castaño, J.G., Arroyave, C., 1998. La funcionalidad de los óxidos de hierro. Rev. Metal. 34, 274–280. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.1998.v34.i3.794>

Castellanos, I., 2013. Preparación y caracterización de nanopartículas de Pd, PdFe y Fe₃O₄; potenciales agentes inductores de hipertermia magnética. Universidad del País Vasco.

Chen, R., Christiansen, M.G., Sourakov, A., Mohr, A., Matsumoto, Y., Okada, S., Jasanoff, A., Anikeeva, P., 2016. High-performance ferrite nanoparticles through nonaqueous redox phase tuning. Nano Lett. 16, 1345–1351. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b04761>

Coral, D.F., Jenny A Mera, J.A.M., 2017a. Una Guía para el estudio de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro con aplicaciones biomédicas. Parte I. Ing. y Cienc. 13, 207–232. <https://doi.org/10.17230/ingciencia.13.26.8>

Coral, D.F., Jenny A Mera, J.A.M., 2017b. Una Guía para el estudio de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro con aplicaciones biomédicas. Parte II. Ing. y Cienc. 13, 207–232. <https://doi.org/10.17230/ingciencia.13.26.8>

Di Corato, R., Quarta, A., Piacenza, P., Ragusa, A., Figuerola, A., Buonsanti, R., Cingolani, R., Manna, L., Pellegrino, T., 2008. Water solubilization of hydrophobic nanocrystals by means of poly(maleic anhydride-alt-1-octadecene). J. Mater. Chem. 18, 1991–1996. <https://doi.org/10.1039/b717801h>

Eguchi, M., Mitsui, D., Wu, H.L., Sato, R., Teranishi, T., 2012. Simple reductant concentration-dependent shape control of polyhedral gold nanoparticles and their plasmonic properties. Langmuir 28, 9021–9026. <https://doi.org/10.1021/la3002114>

Feld, A., Weimer, A., Kornowski, A., Winckelmans, N., Merkl, J.P., Kloust, H., Zierold, R., Schmidtke, C., Schotten, T., Riedner, M., Bals, S., Weller, H., 2019. Chemistry of Shape-Controlled Iron Oxide Nanocrystal Formation. ACS Nano 13, 152–162. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b05032>

García del Muro, M., 1991. Propiedades magnéticas de los materiales nanoestructurados: vidrios metálicos y partículas pequeñas de hexaferrita recristalizados. Universidad de Barcelona.

Gómez Tejedor, J.A., Olmos Sanchis, J.J., Meseguer Dueñas, J.M., 2009. Cuestiones y problemas de electromagnetismo y semiconductores. Valencia.

Hilger, I., Kaiser, W.A., 2012. Iron oxide-based nanostructures for MRI and magnetic hyperthermia. *Nanomedicine*. <https://doi.org/10.2217/nnm.12.112>

Hufschmid, R., Arami, H., Ferguson, R.M., Gonzales, M., Teeman, E., Brush, L.N., Browning, N.D., Krishnan, K.M., 2015. Synthesis of phase-pure and monodisperse iron oxide nanoparticles by thermal decomposition. *Nanoscale* 7, 11142-11154.

Instituto Nacional del Cáncer, 2011. El uso de la hipertermia en el tratamiento del cáncer URL:<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/cirugia/hojainformativahipertermia>. (último acceso junio 2019)

Jasso-Terán, R.A., Cortés-Hernández, D.A., Sanchez-Fuentes, H.J., Reyes-Rodríguez, P.Y., León-Prado, L.E., 2016. Nanopartículas magnéticas de zinc y calcio para aplicaciones en hipertermia magnética. *Fac. Ing.* 25, 88–98.

Lak, A., Cassani, M., Mai, B.T., Winckelmans, N., Cabrera, D., Sadrollahi, E., Marras, S., Remmer, H., Fiorito, S., Cremades-Jimeno, L., Litterst, F.J., Ludwig, F., Manna, L., Teran, F.J., Bals, S., Pellegrino, T., 2018. Fe²⁺ Deficiencies, FeO Subdomains, and Structural Defects Favor Magnetic Hyperthermia Performance of Iron Oxide Nanocubes into Intracellular Environment. *Nano Lett.* 18, 6856–6866.

LaMer, V.K., Dinegar, R.H., 1950. Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols.

Lin, C.-A.J., Sperling, R.A., Li, J.K., Yang, T.-Y., Li, P.-Y., Zanella, M., Chang, W.H., Parak, W.J., 2008. Design of an Amphiphilic Polymer for Nanoparticle Coating and Functionalization (*Small* 3/2008). *Small* 4, 301–301. <https://doi.org/10.1002/sml.200890006>

Martín-García, L., Mascaraque, A., Pabón, B.M., Bliem, R., Parkinson, G.S., Chen, G., Schmid, A.K., De La Figuera, J., 2016. Spin reorientation transition of magnetite (001). *Phys. Rev. B* 93, 134419. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.93.134419>

Merck, 2019. Poly(maleic anhydride-alt-1-octadecene) URL: [https://www. sigmaaldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). (último acceso junio 2019)

Modaresi, N., Afzalzadeh, R., Aslibeiki, B., Kameli, P., Ghotbi Varzaneh, A., Orue, I., Chernenko, V.A., 2019. Magnetic properties of Zn_xFe_{3-x}O₄ nanoparticles: A competition between the effects of size and Zn doping level. *J. Magn. Magn. Mater.* 482, 206–218. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2019.03.060>

Montofré, D.A., 2014. Caracterización eléctrica y magnética en películas delgadas. Universidad de Santiago de Chile.

Ognjanović, M., Stanković, D.M., Ming, Y., Zhang, H., Jančar, B., Dojčinović, B., Prijović,

Ž., Antić, B., 2019. Bifunctional (Zn,Fe)3O4 nanoparticles: Tuning their efficiency for potential application in reagentless glucose biosensors and magnetic hyperthermia. *J. Alloys Compd.* 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.10.369>

Pereira, F.J., 2014. Síntesis y caracterización de nanopartículas cerámicas con propiedades fotoluminiscentes. Aplicación a la retención de Arsénico. Universidad de León.

Quarta, A., Curcio, A., Kakwere, H., Pellegrino, T., 2012. Polymer coated inorganic nanoparticles: Tailoring the nanocrystal surface for designing nanoprobe with biological implications. *Nanoscale* 4, 3319–3334. <https://doi.org/10.1039/c2nr30271c>

Revia, R.A., Zhang, M., 2016. Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: Recent advances. *Materials Today*.

Romero, S., 2011. Efecto de diversos recubrimientos sobre la propiedades magnéticas de partículas superparamagnéticas de Fe3O4. Instituto Politécnico Nacional, México D.F.

Salinas, B., 2014. Síntesis y funcionalización covalente de nanopartículas superparamagnéticas para imagen biomédica. Universidad Complutense de Madrid.

Yan, A., Liu, X., Yi, R., Shi, R., Zhang, N., Qiu, G., 2008. Selective synthesis and properties of monodisperse Zn ferrite hollow nanospheres and nanosheets. *J. Phys. Chem. C* 112, 8558–8563. <https://doi.org/10.1021/jp800997z>

Ye, F., Barrefelt, Å., Asem, H., Abedi-Valugerdi, M., El-Serafi, I., Saghafian, M., Abu-Salah, K., Alrokayan, S., Muhammed, M., Hassan, M., 2014. Biodegradable polymeric vesicles containing magnetic nanoparticles, quantum dots and anticancer drugs for drug delivery and imaging. *Biomaterials* 35, 3885–3894. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.041>

8. ANEXO: Ficha PDF

