



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES METALÚRGICAS

“SÍNTESIS DE ESFERAS BIOCERÁMICAS DE HEXAFERRITAS
DE BARIO ($BaO \cdot 6Fe_2O_3$) COMO NANOPORTADORES PARA
APLICACIÓN EN LA LIBERACIÓN DE MEDICAMENTOS”

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES

Presenta:

IBQ. SAMUEL TORRES CADENAS

Asesor. Dra. MARÍA EUGENIA CONTRERAS GARGÍA

coAsesor. MARÍA ILYA ESPÍTIA CABRERA

MORELIA, MICHOACAN, FEBRERO 2012



RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	4
JUSTIFICACIÓN.....	5
I GENERALIDADES.....	7
I.1 NANOTECNOLOGÍA	7
I.2 BIOMATERIALES.....	7
I.2.1 Definición.....	7
I.2.2 Interacción con el sistema biológico	8
I.2.3 Requisitos que debe cumplir un biomaterial.....	8
I.2.3.1 Biocompatibilidad.....	8
I.2.3.2 No tóxico.....	9
I.2.3.3 Estabilidad química	9
I.2.3.4 Resistencia mecánica.....	10
I.2.3.5 Resistencia a la fatiga.....	11
I.2.3.6 Densidad y peso adecuado	12
I.2.3.7 Diseño ingenieril.....	12
I.2.3.8 Económico	12
I.2.4 Tipo de Biomateriales	12
I.2.4.1 Biomateriales metálicos.....	14
I.2.4.2 Biomateriales poliméricos	14
I.2.4.3 Biomateriales cerámicos.....	14
I.3 HEXAFERRITA DE BARIO (BaFe₁₂O₁₉).....	15
I.3.1 Fenómenos Magnéticos.....	16
I.3.2 Clasificación de los materiales magnéticos según su ordenamiento magnético	18
I.3.2.1 Diamagnetismo.....	18
I.3.2.2 Paramagnetismo	18
I.3.2.3 Ferromagnetismo.....	19
I.3.2.4 Antiferromagnetismo	21
I.3.2.5 Ferrimagnetismo	21
I.3.2.6 Superparamagnetismo.....	22
I.4 MÉTODOS DE SÍNTESIS.....	25
I.4.1 Métodos físicos.....	25
I.4.2 Métodos químicos.....	26
I.4.2.1 Sol-Gel.....	26
I.4.2.1.1 Ventajas del proceso sol-gel.....	27
I.4.2.2 Secado por aspersion.....	28
I.4.2.3 Estudios realizados.....	28
II DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	36
II.1 Diseño Experimental	38
II.2 Síntesis de nanopartículas	39
II.3 Tratamiento térmico	40
II.4 Caracterización.....	41
II.4.1 Difracción de Rayos X.....	41
II.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido.....	41
II.4.3 Microscopía Electrónica de Transmisión.....	42

II.4.4	Pruebas Magnéticas.....	42
II.4.5	Potencial zeta	43
II.5	Pruebas de adsorción y liberación de medicamento.	45
II.5.1	Pruebas de adsorción	45
II.5.2	Pruebas de liberación	46
II.5.2.1	Preparación de pre-inóculo.....	46
II.5.2.2	Ensayos de liberación de Tetraciclina	47
II.5.2.3	Determinación de Unidades Formadoras de Colonias	47
III	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
III.1	Diseño Experimental	49
III.2	Síntesis de nanopartículas.....	54
III.3	Determinación de área superficial	54
III.4	Caracterización	56
III.4.1	Tratamiento Térmico y Estudio de Difracción de Rayos X.....	56
III.4.2	Pruebas Magnéticas	58
III.4.3	Microscopía Electrónica de Barrido	62
III.4.4	Microscopía Electrónica de Transmisión, MET	64
III.4.5	Potencial zeta.....	72
III.5	Pruebas de adsorción y liberación de medicamento.....	73
IV	CONCLUSIONES.....	77
V	REFERENCIAS	79

RESUMEN

En el presente estudio fueron sintetizados polvos de hexaferrita de bario, siendo su fórmula química la siguiente $\text{BaO} \cdot 6\text{Fe}_2\text{O}_3$ o $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ (por comodidad esta última fórmula se aplicará de aquí en adelante) a través del método sol-gel vía secado por aspersión. Por medio de un diseño experimental 2^k se evaluaron tres parámetros del proceso: pH, temperatura de secado y presión del aire, permitiendo medir así el efecto de estos parámetros sobre las variables de interés: la morfología y el tamaño de partícula promedio. Los agregados de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ obtenidos mediante el secado por aspersión fueron sometidos a un tratamiento térmico y de cristalización para determinar la temperatura más adecuada para obtener la fase hexagonal. El tamaño y morfología de los aglomerados esféricos fue determinado mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) mientras que la formación de estructuras porosas de empaquetamiento hexagonal regular de poros cilíndricos causada por el uso del surfactante Tween-20 fue analizada mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (MET). Para investigar la capacidad de adsorción de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ para ser usados como portadores en la liberación de medicamentos, estos polvos fueron cargados con tetraciclina, la cual pertenece a un grupo de antibióticos de amplio espectro. En primera instancia, se llevó a cabo un estudio de potencial zeta para establecer las condiciones bajo las cuales las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ pueden adsorber la tetraciclina tomando en cuenta sus propiedades superficiales y de esta manera promover la adsorción de un compuesto sobre otro. Una vez determinado el pH para el cual se observó una carga opuesta de la superficie de las nanopartículas con respecto a la tetraciclina, se preparó una solución estándar de este antibiótico, a la cual se agregó 0.001 g de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, estos fueron mezclados y a diferentes tiempos se tomó una alícuota para medir su densidad óptica. La disminución en la absorbancia indicó que la tetraciclina fue adsorbida en las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$. Para determinar la liberación de medicamento, los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ cargados con tetraciclina, fueron colocados en medio Luria-Bertani (LB) inoculado con *Escherichia coli*. La inhibición en el crecimiento y muerte celular de la bacteria probó que la tetraciclina es liberada de forma gradual, así como la efectividad de los aglomerados de hexaferrita de bario sintetizados en este trabajo como portadores de medicamento.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas las nanopartículas magnéticas han mostrado un interés potencial en aplicaciones biomédicas. Su uso ha tenido un incremento relevante como herramientas terapéuticas y de diagnóstico. Por ejemplo, como agentes de contraste en imagen de resonancia magnética nuclear (IRM) y como sistemas en liberación de medicamentos.

Las nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas deben cumplir con los siguientes requerimientos: (I) comportamiento superparamagnético, el cual es aprovechado para dirigir el medicamento a un sitio específico de acción, así como para poder dar seguimiento a éste, evitar la agregación de partículas e igualmente importante, evitar que el material quede como un imán permanente en el cuerpo una vez retirado el campo magnético aplicado; (II) magnetización de saturación grande; (III) biocompatibilidad; (IV) así como un tamaño límite de partícula suficientemente pequeño para permanecer en la circulación después de la inyección en el paso a través del sistema capilar de órganos y tejidos.

El método de preparación de los nanomateriales determina el tamaño y forma de la partícula, su distribución de tamaño, su química superficial y, consecuentemente, sus propiedades magnéticas.

Mediante el secado por aspersión, la producción de partículas nanoestructuradas exhibe propiedades únicas como flujo libre, forma esférica, mantiene su estructura sin colapsamiento, alta área superficial. Este método es ampliamente usado por sus ventajas, incluyendo el hecho de que es un sistema simple y rápido.

Los parámetros que controlan el tamaño y morfología de las partículas obtenidas mediante el secado por aspersión son el pH, la presión del aire, la velocidad de flujo y la temperatura de secado. El secado por aspersión produce aglomerados esféricos de alta área superficial, siendo esta forma de las partículas la que incrementa las propiedades superparamagnéticas ideales para la liberación de medicamento.

OBJETIVOS

➤ General

Desarrollar una ruta de síntesis de esferas porosas nanoestructuradas biocerámicas de hexaferritas de bario puras, con propiedades morfológicas, estructurales y composicionales, óptimas y específicas para aplicaciones en la liberación de medicamento.

➤ Específicos

Determinar los parámetros de síntesis de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ porosas mediante la ruta Sol-Gel utilizando surfactantes neutros.

Encontrar las condiciones óptimas de formación de esferas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ durante el secado por aspersión mediante el diseño experimental.

Caracterizar estructural y morfológicamente las esferas producidas mediante técnicas de Microscopía Electrónica y Difracción de rayos X.

Determinar las propiedades magnéticas de las $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

Determinar la cinética de liberación de medicamento mediante técnicas espectrofotométricas

HIPOTESIS

Esferas porosas nanoestructuradas de nanopartículas magnéticas de hexaferrita de bario, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, sintetizadas por el método sol-gel con el uso del surfactante Tween-20 y formadas vía secado por aspersión presentarán comportamiento superparamagnético y podrán ser efectivas como portadoras y liberadoras de medicamentos.

JUSTIFICACIÓN

Con el desarrollo de la nanotecnología, las nanopartículas magnéticas han mostrado aplicaciones prominentes. Recientemente han sido usadas mas frecuentemente en estudios biomédicos y biotecnológicos, que incluye el uso de agentes de contraste de imagen de resonancia magnética nuclear, sistemas de liberación de medicamento y tratamientos para enfermedades como el cáncer.

Con respecto al tratamiento de cáncer, los tratamientos convencionales incluyen cirugía, radiación, quimioterapia e inmunoterapia, los cuales están limitados por la accesibilidad al tumor, el riesgo de operación sobre un órgano vital, la expansión de células cancerígenas a través del cuerpo y la falta de selectividad hacia células cancerígenas.

El potencial de los sistemas de liberación de medicamentos basados en el uso de micro y nanopartículas se deriva de importantes ventajas tales como: (i) la capacidad de dirigirse a ubicaciones específicas en el cuerpo y (ii) la reducción de la concentración del medicamento en sitios no específicos, minimizando los efectos secundarios graves. Todos estos beneficios justifican el crecimiento exponencial en el número de publicaciones relacionadas con nanopartículas magnéticas para aplicaciones en la liberación de medicamentos (Figura 1)

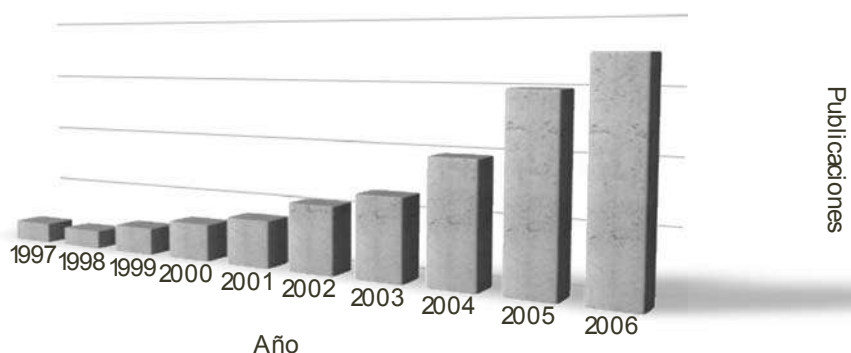


Figura 1. Evolución exponencial en el número de artículos publicados relacionados con nanopartículas magnéticas para aplicaciones en la liberación de medicamentos (Source: ISI Web of Knowledge © The Thomson Corporation. Search terms: ‘drug delivery’ and ‘nanoparticles’. Date of search)

CAPITULO I. GENERALIDADES

I GENERALIDADES

I.1 NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología es un campo de las ciencias aplicadas dedicado al control y manipulación de la materia para ser usada en aplicaciones particulares a través de procesos físicos y/o químicos para crear materiales con propiedades específicas. Estos materiales, con una escala menor a un micrómetro, constituyen las nanopartículas [1].

Las nanopartículas se definen comúnmente como partículas sólidas coloidales, las cuales se encuentran en un rango de tamaño de entre 10 y 100 nm [2]. Estas pueden ser clasificadas dentro de dos grupos principales basados en su morfología: (I) nanoesferas, con una estructura matricial homogénea, y (II) nanocápsulas, mostrando una estructura típica núcleo-coraza [3].

En las últimas décadas, con el desarrollo de la nanotecnología las nanopartículas magnéticas han mostrado un interés relevante en campos de la biociencia y la medicina. Por lo tanto, dentro del área biomédica, ha sido posible utilizar nanopartículas magnéticas como biomateriales, con aplicaciones principalmente como agente de contraste en imagen de resonancia magnética nuclear (IRM) [4,5] y como sistemas de liberación de medicamentos [6-8].

El siguiente tema proporciona un enfoque general de los biomateriales y la interacción que estos presentan con el sistema biológico. De igual manera, se considerara los requisitos que deben cumplir los biomateriales para ser aplicados en humanos. Dentro de las características principales que debe cumplir un biomaterial, se encuentran la biocompatibilidad, ser no tóxico y estabilidad química.

I.2 BIOMATERIALES

I.2.1 Definición

Los Institutos Nacionales de la Conferencia de Consenso de Desarrollo de la Salud definen un biomaterial como “cualquier sustancia” (diferente a un medicamento) o la combinación de sustancias, sintéticas o naturales, las cuales pueden ser usadas por un

periodo de tiempo como un todo o parte de un sistema, el cual trata, aumenta o reemplaza cualquier tejido, órgano o función del cuerpo [9-12].

El común denominador en todas las definiciones que han sido propuestas para un biomaterial es el reconocimiento indiscutible de que los biomateriales se distinguen de otras clases de materiales debido a su criterio de biocompatibilidad especial.

1.2.2 Interacción con el sistema biológico

La interacción entre los biomateriales y los tejidos naturales es un importante tema científico y la comprensión de esta cuestión es fundamental para el diseño de nuevos materiales biocompatibles. Para comprender la interacción e integración de los biomateriales en el cuerpo humano, es importante tener en cuenta las condiciones fisicoquímicas del medio ambiente del cuerpo humano. Por ejemplo, los valores nominales del pH varían en un amplio rango de 1.0 (contenido gástrico) a 7,4 (la sangre) [13]. Adicionalmente, los valores de pH pueden cambiar dependiendo de las condiciones de salud.

Idealmente, los biomateriales no deben inducir cambios o provocar una reacción no deseada en los tejidos vecinos o distantes. Un aspecto importante de la respuesta del huésped implica la formación de una unión estructural y biológica entre el material y los tejidos del huésped.

Cuando se carece de la biocompatibilidad, los materiales pueden provocar reacciones en el tejido, que puede ser sistémica o local [14-16]. Las respuestas sistémicas pueden ser tóxicas o alérgicas, provocadas por los productos de la corrosión metálica, degradación de polímeros, liberación de micropartículas de los materiales y la presencia de contaminantes.

1.2.3 Requisitos que debe cumplir un biomaterial

1.2.3.1 Biocompatibilidad

El requisito fundamental de cualquier biomaterial se refiere a la capacidad del material para realizar con eficacia una respuesta apropiada del huésped para la aplicación

deseada, es decir, el material y el entorno de los tejidos del cuerpo deben coexistir sin tener ningún efecto no deseado o inapropiado entre sí [17-19].

Existen tres aspectos importantes de la biocompatibilidad de biomateriales a tratar. En primer lugar, los biomateriales deben ser compatibles bioquímicamente, no tóxicos, no irritables, no alergénicos y no carcinogénicos. En segundo lugar, biomecánicamente compatibles con los tejidos circundantes, y tercero, un bioadhesivo de contacto se debe establecer entre los materiales y los tejidos vivos [20].

1.2.3.2 No tóxico

La toxicidad es una medida usada para medir el grado tóxico o venenoso de algunos elementos. Hay generalmente tres tipos de sustancias tóxicas: químicas, físicas y biológicas [21,22].

- Las sustancias químicas incluyen tanto sustancias orgánicas como inorgánicas.
- La toxicidad biológica se debe a toxinas que se producen a causa de microorganismos patógenos.
- Las entidades físicamente tóxicas incluyen, por ejemplo: golpes, conmoción cerebral, sonidos, vibraciones, calor, frío, radiación electromagnética no ionizada como la luz infrarroja y la luz visible, radiación ionizante como los rayos X y los rayos gamma.

Para asegurar no toxicidad bajo condiciones fisiológicas, los biomateriales requieren recubrimientos sofisticados [23]. Estos materiales han sido recubiertos con polímeros como el polietilenglico (PEG), quitosano o algunos metales como plata u oro, con la finalidad de obtener una mayor biocompatibilidad con el organismo o funcionalizarlo para incrementar la especificidad.

1.2.3.3 Estabilidad química

La estabilidad química ocurre cuando un sistema está en su estado de menor energía o equilibrio químico con su entorno. Este puede ser un equilibrio dinámico, en donde moléculas o átomos individuales cambian de forma, pero su número total en una forma o estado particular se conserva. Este tipo de equilibrio químico se mantendrá

indefinidamente a menos que el sistema sea modificado. Los biomateriales deben ser químicamente estable, es decir, no presentar degradación con el tiempo, e inerte, salvo en el caso de que el objetivo sea alcanzar la biodegradabilidad [24,25].

1.2.3.4 Resistencia mecánica

Los biomateriales deben presentar una resistencia mecánica adecuada. La Figura 1.1 muestra la comparación en el modulo de elasticidad para algunos biomateriales, en la cual es notable los valores altos para cerámicos y metales.

La Figura 1.2 muestra la comparación de elongación en la falla de algunos biomateriales, en la cual se observa que los polímeros presentan una elongación excepcional comparada con otros materiales. Esta es una medida de su alta ductilidad.

La Figura 1.3 muestra la comparación en la fuerza de tensión para algunos biomateriales, en la cual se observan valores excepcionalmente altos para metales.

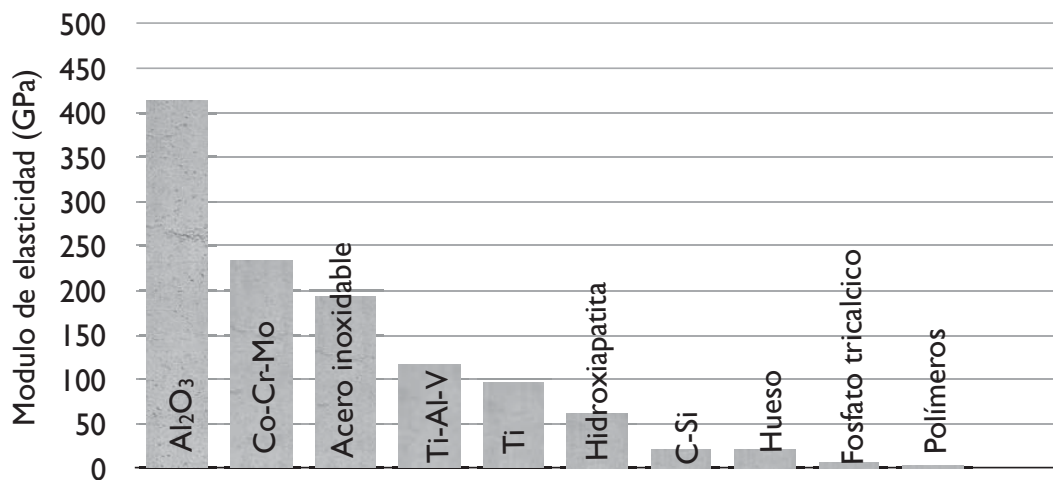


Figura 1.1 Comparación en el modulo de elasticidad de biomateriales. (S.H. Teoh, 2003)

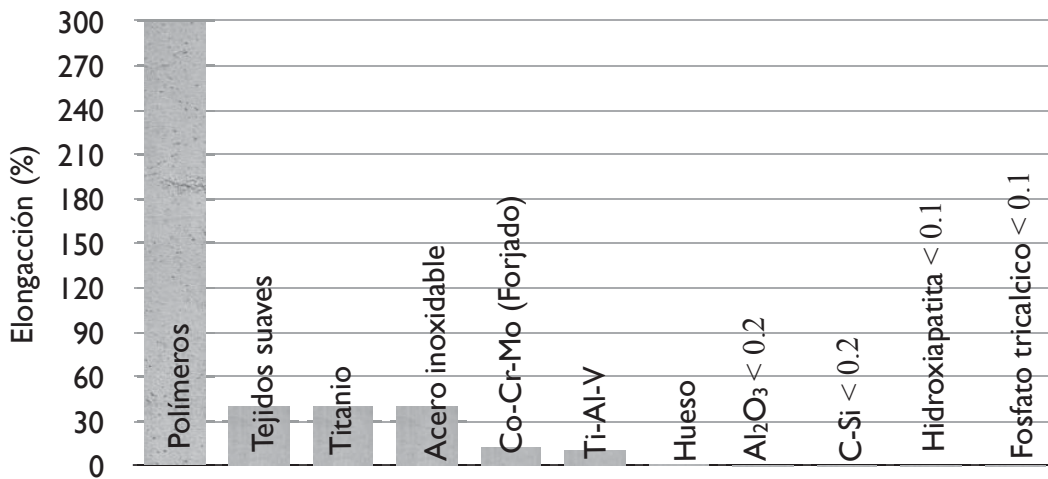


Figura 1.2 Comparación de elongación en la falla de biomateriales. (S.H. Teoh, 2003)

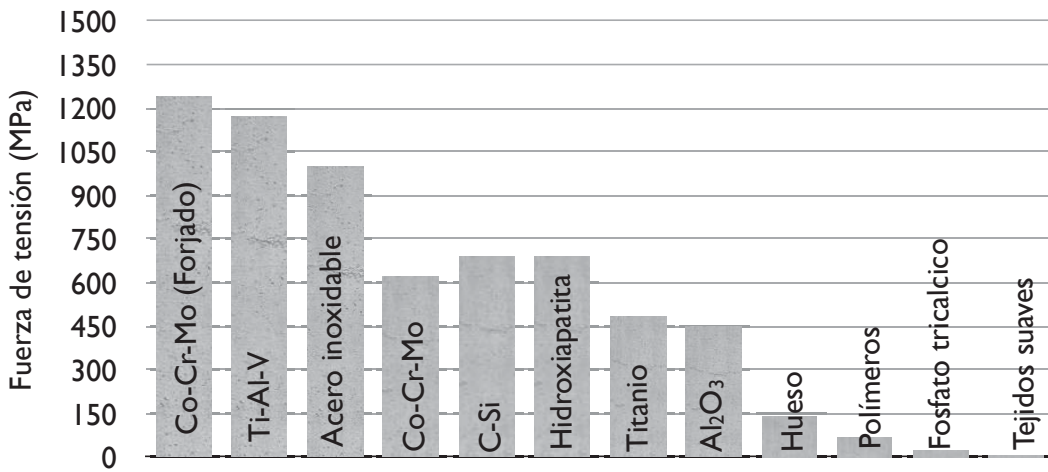


Figura 1.3 Comparación en la fuerza de tensión de los biomateriales. (S.H. Teoh, 2003)

1.2.3.5 Resistencia a la fatiga

Los biomateriales deben presentar una resistencia a la fatiga adecuada. La Figura 1.4 muestra valores de resistencia a la fatiga (en aire) de aleaciones comunes usadas en implantes.

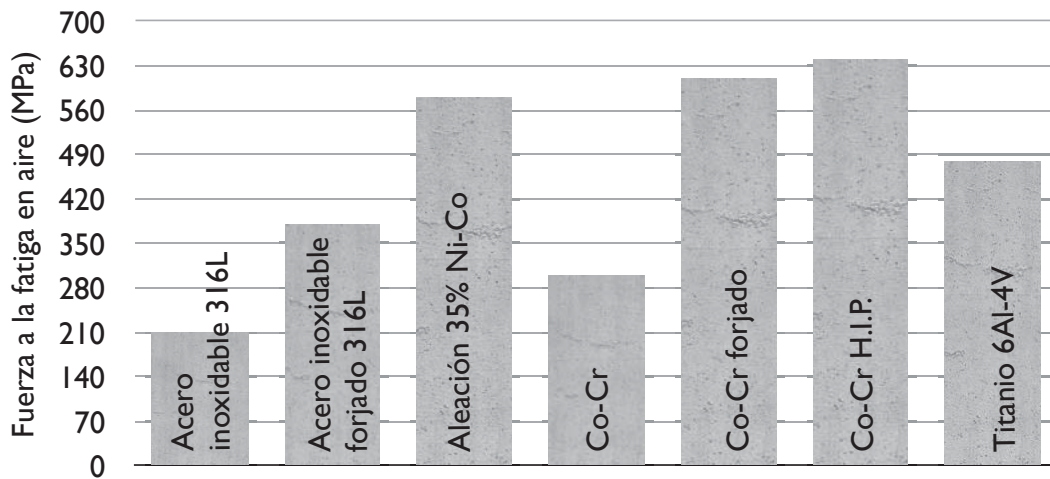


Figura 1.4 Resistencia a la fatiga (en aire) de aleaciones comunes usadas en implantes. (S.H. Teoh, 2003)

1.2.3.6 Densidad y peso adecuado

Los biomateriales deben presentar densidad y peso adecuado para ser usados en el cuerpo humano.

1.2.3.7 Diseño ingenieril

Los biomateriales deben tener un diseño de ingeniería perfecto; esto es, el tamaño y la forma del implante deben ser los adecuados [26].

1.2.3.8 Económico

Ser relativamente económico, reproducible y fácil de fabricar y procesar para su producción en gran escala.

1.2.4 Tipo de Biomateriales

Recientemente los materiales sintéticos que han sido empleados para aplicaciones biomédicas incluyen, metales y aleaciones, polímeros y cerámicos. Debido a que las estructuras de estos materiales son diferentes, tienen diferentes propiedades y, por tanto, diferente utilización en el cuerpo humano.

Tabla I. Ejemplos y aplicaciones de los biomateriales biológicos y sintéticos.

Tipo de biomaterial		Ejemplos	Aplicaciones
Biológico	Tejido suave	Piel, tendones, pericardio, cornea	Reparación de tejidos
	Tejido duro	Hueso, dentina, cutícula	
Sintéticos	Polímeros	Polímeros de peso molecular ultra-alto (UHMWPE), polimetilmetacrilato (PMMA), polietil-eter-quetona (PEEK), silicón, poliuretano (PU), poli-tetrafluorotileno (PTFE).	Cemento para huesos, corazones artificiales, lentes intraoculares, prótesis de bazos sanguíneos, catéter, riñones artificiales.
	Metálicos	Acero inoxidable, aleaciones de cobalto (Co-Cr-Mo), aleaciones de titanio (Ti-Al-V), oro, platino.	Reemplazos de uniones (cadera, rodilla), implantes dentales,
	Cerámicos	Alúmina (Al_2O_3), zirconio (ZrO_2), carbón, hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, fosfato-tricalcico $[Ca_3(PO_4)_2]$, Bioglass $[Na_2O(CaO)(P_2O_3)(SiO_2)]$, aluminato de calcio $[Ca(Al_2O_4)]$, ferritas de bario ($BaFe_{12}O_{19}$)	Válvulas de corazón, reparación de defectos de hueso, agentes de IRM, sistemas de liberación de medicamento.
	Compositos	Fibras de carbono (CF)/PEEK, CF/UHMWPE, CF/PMMA, zirconia/silica/BIS-GMA.	

1.2.4.1 Biomateriales metálicos

Los metales se han utilizado casi exclusivamente para los implantes de carga, tales como prótesis de cadera y rodilla, así también como para fractura de los alambres de fijación, pernos, tornillos y placas. Los metales también se han utilizado como piezas de las válvulas cardiacas artificiales, como las cánulas vasculares, cables de marcapasos, etc. [27].

Además de los metales puros, también se utilizan las aleaciones, que con frecuencia proporcionan una mejora en las propiedades del material, como la fuerza y la resistencia a la corrosión.

Tres grupos de materiales dominan los biomateriales metálicos, el acero inoxidable 316L, las aleación de cobalto-cromo-molibdeno y el titanio puro y sus aleaciones. Las principales consideraciones en la selección de los metales y aleaciones para aplicaciones biomédicas son la biocompatibilidad, propiedades mecánicas apropiadas, resistencia a la corrosión, y un costo razonable.

1.2.4.2 Biomateriales poliméricos

Los polímeros son los materiales más utilizados en aplicaciones biomédicas. Son los materiales de elección para los dispositivos cardiovasculares, así como para la sustitución y ampliación de diversos tejidos blandos.

Los polímeros también se utilizan en los sistemas de administración de fármacos, diagnóstico, y como material para las aplicaciones de la ingeniería de tejidos. Ejemplos de las aplicaciones actuales incluyen los injertos vasculares, válvulas cardiacas, corazones artificiales, implantes mamarios, lentes de contacto, lentes intraoculares, componentes de oxigenadores extracorpóreos, dializadores y las unidades de plasmaféresis [28].

1.2.4.3 Biomateriales cerámicos

Los cerámicos y vidrios, se utilizan como componentes de los implantes de cadera, implantes dentales, implantes del oído medio, y las válvulas del corazón.

Los cerámicos son materiales compuestos de elementos metálicos y no metálicos unidos por enlaces iónicos y/o covalentes [29].

Aplicaciones para varios materiales orgánicos e inorgánicos se han estudiado para ser utilizados como sistemas de liberación de medicamento, los cuales incluyen, dendrímeros, micelas, emulsiones, sistemas nanoparticulados (nanopartículas magnéticas) y liposomas, tal como se muestra en la Figura 1.5

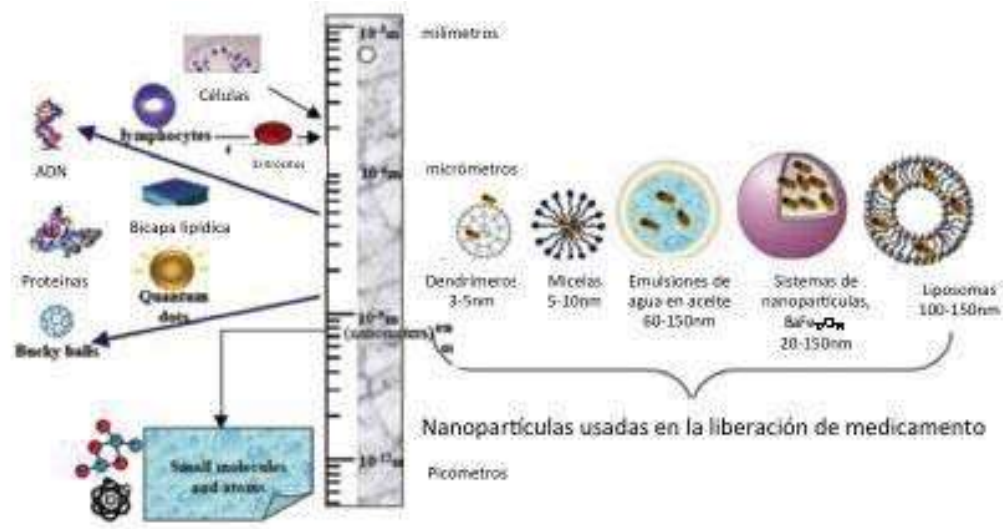


Figura 1.5 Sistemas de nanopartículas para aplicaciones en la liberación de medicamento. (Adapted with permission from 119 © 2005 Elsevier; and from 120 © 2005 PharmaVentures Ltd.)

Las nanopartículas de óxido de hierro son los únicos materiales magnéticos aprobados para usos clínicos por la Administración de Medicamentos y Alimentos de US (FDA, por sus siglas en inglés) [30], y el método de preparación es relativamente simple.

1.3 HEXAFERRITA DE BARIO ($BaFe_{12}O_{19}$)

El grupo de ferritas que posee estructura cristalina hexagonal se denominan ferritas hexagonales. Existen cuatro tipos de ferritas hexagonales distinguidas e indicadas como M, W, Y y Z. Éstas corresponden a relaciones de $(BaO + MeO)/Fe_2O_3$ de 1:6, 3:8, 4:6 y 5:12, respectivamente [31]. En la cual Me puede ser un catión de transición o una combinación de cationes como podría ocurrir en la espinela. Las estructuras cristalinas y magnéticas de los diferentes tipos de ferritas hexagonales son notablemente complejas como se muestra en la Figura 1.6 para la ferrita tipo-M [32]. La celda unitaria elemental

contiene 10 capas de oxígeno, construida secuencialmente a partir de 4 bloques, S (espinela), R (hexagonal), S* y R*. Tanto S* como R* tienen arreglos atómicos equivalentes como S y R, pero son girados 180° hacia el eje c con respecto a S y R. Un bloque de S o S* consiste de dos capas de O²⁻, mientras un bloque de R o R* contiene tres capas de O²⁻, con un oxígeno en la capa media sustituida por un ión Ba²⁺ [33,34]. Las ferritas hexagonales de mayor importancia comercial son las tipo M, dentro de las cuales se encuentran las ferritas de bario BaO.6Fe₂O₃ y ferritas de estroncio con Sr reemplazando al Ba en la misma fórmula, debido a su bajo costo, magnetización de saturación conveniente, buena estabilidad química, alta resistividad, alta coercitividad magnética [35], etc.

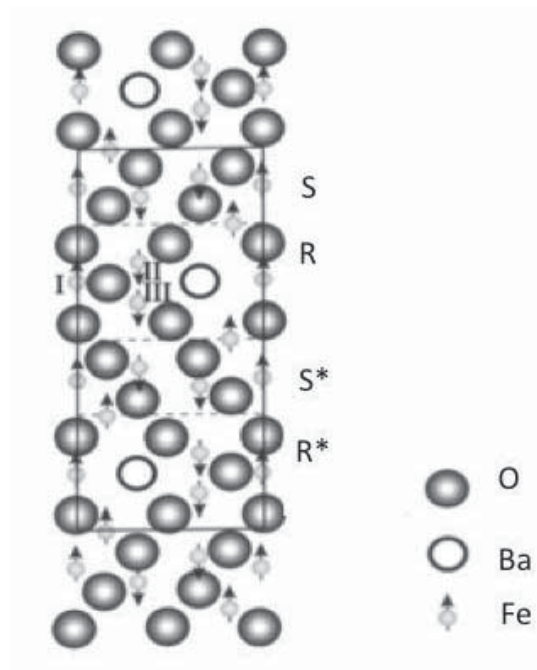


Figura 1.6 Estructura cristalina de la ferrita hexagonal tipo BaM.

Las ferritas de bario tienen la misma estructura cristalina que la magnetoplumbita [36], el cual es un mineral con una composición aproximada de PbFe_{7.5}Mn_{3.5}Al_{0.5}Ti_{0.5}O₁₉. los iones Fe en las ferritas de Bario ocupan la misma posición como los iones de la mezcla de Fe, Mn, Al y Ti en la magnetoplumbita.

1.3.1 Fenómenos Magnéticos

El campo magnético se origina por el movimiento de las cargas eléctricas. El fenómeno del magnetismo es una propiedad que se manifiesta en forma natural en ciertas

sustancias como el hierro, cobalto y níquel [37,38] principalmente, y que se caracteriza por la aparición de fuerzas de atracción o de repulsión entre imanes. Esto sugiere que existen dos zonas magnéticas llamadas polo norte y sur; concepto que introdujo en 1600, el físico William Gilbert.

El primer imán utilizado fue un mineral de hierro de color negro que recibió el nombre de magnetita, pues provenía de la región de Magnesia, en Asia, y ya era conocida hace más de 2.500 años por las culturas china y griega.

Las corrientes eléctricas crean un campo magnético. Los campos creados por los materiales magnéticos surgen de dos fuentes atómicas: los momentos angulares orbitales y de espín de los electrones, que al estar en movimiento continuo en el material experimenta fuerzas ante un campo magnético aplicado [39, 40]. Por lo tanto, las características magnéticas de un material pueden cambiar por aleación con otros elementos, modificándose por las interacciones atómicas. También puede adquirir estas propiedades mediante trabajo mecánico u otra fuente de tensiones que modifique la geometría de la red cristalina.

Todo material está compuesto por átomos que contienen electrones móviles. Un campo magnético aplicado actúa siempre sobre los electrones considerados individualmente. Esto da origen al efecto universal llamado diamagnetismo. Este es un efecto clásico y depende solamente del movimiento de los electrones.

A nivel atómico, la superposición de los momentos magnéticos (orbital, debido al movimiento del electrón alrededor del núcleo, e intrínseco o de espín) aportados por los electrones al átomo o molécula del cual forman parte da un momento magnético resultante o neto al átomo o molécula. Cuando hay un momento neto atómico o molecular los momentos magnéticos tienden a alinearse con el campo aplicado, dando lugar al efecto del paramagnetismo. Simultáneamente, la energía térmica omnipresente tiende a orientar al azar a los momentos magnéticos, de manera que la intensidad relativa de todos estos efectos determinará en definitiva el comportamiento del material.

I.3.2 Clasificación de los materiales magnéticos según su ordenamiento magnético

Desde el punto de vista del comportamiento magnético podemos clasificar los materiales en diamagnéticos, paramagnéticos, ferromagnéticos antiferromagnéticos, ferrimagnéticos y superparamagnéticos. Todos los materiales excepto los ferromagnéticos muestran efectos magnéticos muy pequeños.

I.3.2.1 Diamagnetismo

El diamagnetismo es un efecto universal porque se basa en la interacción entre el campo aplicado y los electrones móviles del material [41]. El diamagnetismo queda habitualmente enmascarado por el paramagnetismo, salvo en elementos formados por átomos o iones que se disponen en “capas” electrónicas cerradas, ya que en estos casos la contribución paramagnética se anula. Las características esenciales del diamagnetismo son:

- Los materiales diamagnéticos se magnetizan débilmente en el sentido opuesto al campo magnético aplicado [42]. Resulta así que aparece una fuerza de repulsión sobre el cuerpo respecto del campo aplicado.
- La susceptibilidad magnética es negativa y pequeña y la permeabilidad relativa es entonces ligeramente menor que 1.
- La intensidad de la respuesta es muy pequeña.

I.3.2.2 Paramagnetismo

Un material paramagnético, presenta un desordenamiento de los momentos magnéticos, por lo que no mantiene un momento magnético neto. Estos materiales requieren de un gran campo magnético para poder adquirir una alta magnetización.

Entre estos materiales se encuentra el Cr, Mn y los gases diatómicos. En la figura 1.7 se muestra esquemáticamente el ordenamiento magnético de estos materiales en presencia y ausencia de un campo magnético. Las características esenciales del paramagnetismo son:

- Los materiales paramagnéticos se magnetizan débilmente en el mismo sentido que el campo magnético aplicado. Resulta así que aparece una fuerza de atracción sobre el cuerpo respecto del campo aplicado.
- La susceptibilidad magnética es positiva y pequeña y la permeabilidad relativa es entonces ligeramente mayor que 1.
- La intensidad de respuesta es muy pequeña, y los efectos son prácticamente imposibles de detectar excepto a temperaturas extremadamente bajas o campos aplicados muy intensos.

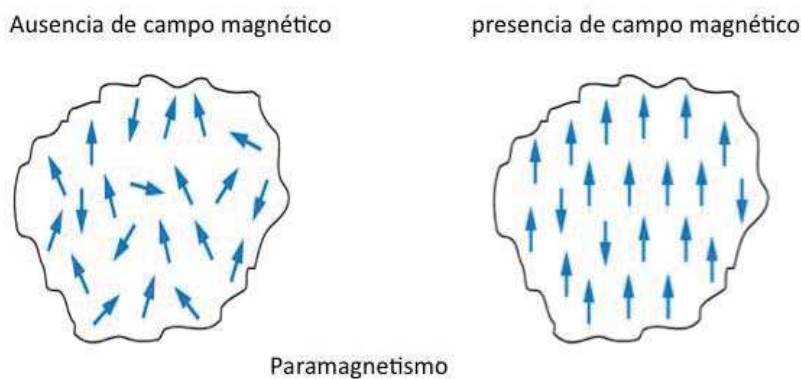


Figura 1.7 Representación esquemática del ordenamiento magnético de los materiales paramagnéticos en presencia y ausencia de un campo magnético.

1.3.2.3 Ferromagnetismo

En los materiales ferromagnéticos los momentos magnéticos individuales de grandes grupos de átomos o moléculas se mantienen alineados entre sí debido a un fuerte acoplamiento, aún en ausencia de campo exterior [42, 43]. Estos grupos se denominan dominios, y actúan como un pequeño imán permanente. Los dominios tienen tamaños entre 10^{-12} y $10^{-8} m^3$ y contienen entre 10^{21} y 10^{27} átomos.

Los dominios se forman para minimizar la energía magnética entre ellos. En ausencia de campo aplicado, los dominios tienen sus momentos magnéticos netos distribuidos al azar.

Cuando se aplica un campo exterior, los dominios tienden a alinearse con el campo. Este alineamiento puede permanecer en algunos casos con un muy fuerte acoplamiento

cuando se retira el campo, creando un imán permanente [44]. La figura 1.8 muestra el alineamiento de los materiales ferromagnéticos. Las características esenciales del ferromagnetismo son:

- Los materiales ferromagnéticos se magnetizan fuertemente en el mismo sentido que el campo magnético aplicado. Resulta así que aparece una fuerza de atracción sobre el cuerpo respecto del campo aplicado.
- La susceptibilidad magnética es positiva y grande, la permeabilidad relativa es entonces mucho mayor que 1.

La agitación térmica tiende a desalinear los dominios. A temperatura normal, la energía térmica no es en general suficiente para desmagnetizar un material magnetizado. Sin embargo, por encima de una cierta temperatura, llamada temperatura de Curie [45], el material se vuelve paramagnético, debido a que los efectos térmicos de desorden son mayores que los efectos de alineamiento de la interacción magnética entre dominios. Una forma de desmagnetizar un material ferromagnético es entonces calentarlo por encima de esta temperatura.

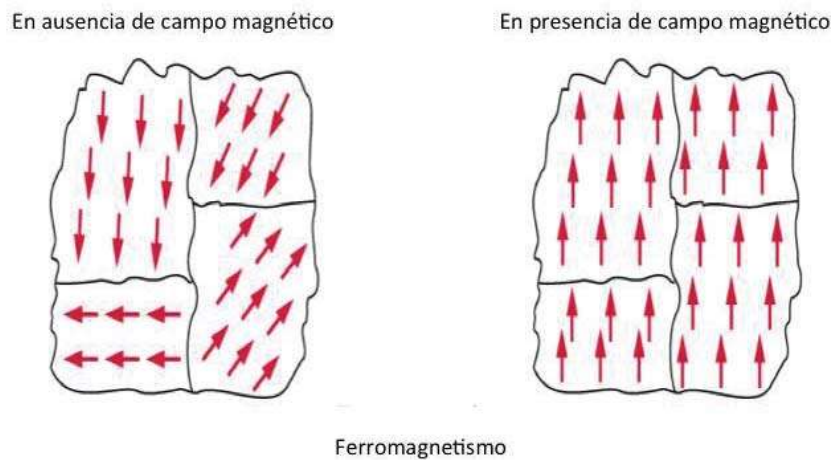


Figura 1.8 Representación esquemática del ordenamiento magnético de los materiales ferromagnéticos en presencia y ausencia de un campo magnético.

1.3.2.4 Antiferromagnetismo

Los materiales antiferromagnéticos tienen un estado natural en el cual los espines atómicos de átomos adyacentes son opuestos, de manera que el momento magnético neto es nulo [46]. Este estado natural hace difícil que el material se magnetice, aunque de todas formas adopta una permeabilidad relativa ligeramente mayor que 1.

Por encima de una temperatura crítica, llamada temperatura de Neel, un material antiferromagnético se vuelve paramagnético. La Figura 1.9 esquematiza el ordenamiento magnético de los materiales antiferromagnéticos.

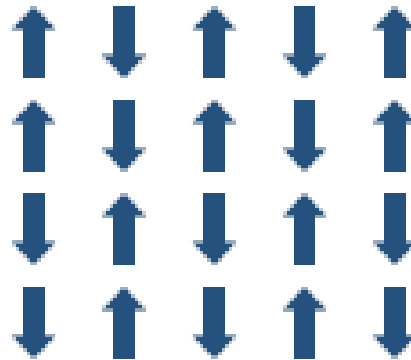


Figura 1.9 Representación esquemática del ordenamiento magnético de los materiales antiferromagnéticos.

1.3.2.5 Ferrimagnetismo

Los materiales ferrimagnéticos son similares a los antiferromagnéticos, salvo que las especies de átomos alternados son diferentes (por ejemplo, por la existencia de dos subredes cristalinas entrelazadas) y tienen momentos magnéticos diferentes [47, 48]. Existe entonces una magnetización neta, que puede ser en algunos casos muy intensa.

La magnetita se conoce como imán desde la antigüedad. Es uno de los óxidos de hierro más comunes (Fe_3O_4); es una mezcla de Fe_2O_3 y FeO , en el cual el Fe trabaja con dos valencias, Fe^{+3} y Fe^{+2} , respectivamente. Los momentos magnéticos en los sitios octaédricos son antiferromagnéticos y se cancelan, mientras que en los sitios tetraédricos están ferromagnéticamente alineados. Otro ejemplo de materiales ferrimagnéticos son las ferritas.

1.3.2.6 Superparamagnetismo

El superparamagnetismo es una forma de magnetismo observado en los nanomateriales ferro- y ferrimagnéticos que se componen de un sólo dominio magnético. Debido a su tamaño tan pequeño, no hay orden de largo alcance en estos materiales presentando propiedades magnéticas novedosas, (Figura 1.10).

Una de estas propiedades es que a bajos campos magnéticos aplicados los materiales se saturan con una magnetización relativamente alta. Cuando se mantiene por debajo de la temperatura Curie del material, los momentos magnéticos dentro de un dominio magnético se alinean paralelamente a un campo aplicado para producir la alta magnetización.

Otra característica novedosa es que después de que un campo aplicado se ha eliminado, no queda magnetización remanente neta. La falta de magnetización remanente se debe al hecho de que la magnetización de cada dominio superparamagnético fácilmente salta entre dos orientaciones estables, que están separados por una pequeña diferencia de energía.

De hecho, la diferencia de energía es tan pequeña que la energía térmica cancela la magnetización total de la partícula. Por lo tanto, los materiales superparamagnéticos actúan como paramagnetos, sin embargo, la susceptibilidad magnética y magnetización de campos externos de baja a moderada son mucho más grandes. Esta es una propiedad importante que permite que las partículas superparamagnéticas funcionen de tal manera que dominan la relajación T_2 de las muestras en las que se suspenden, lo que elimina los efectos de fondo de una gran cantidad de materiales paramagnéticos.

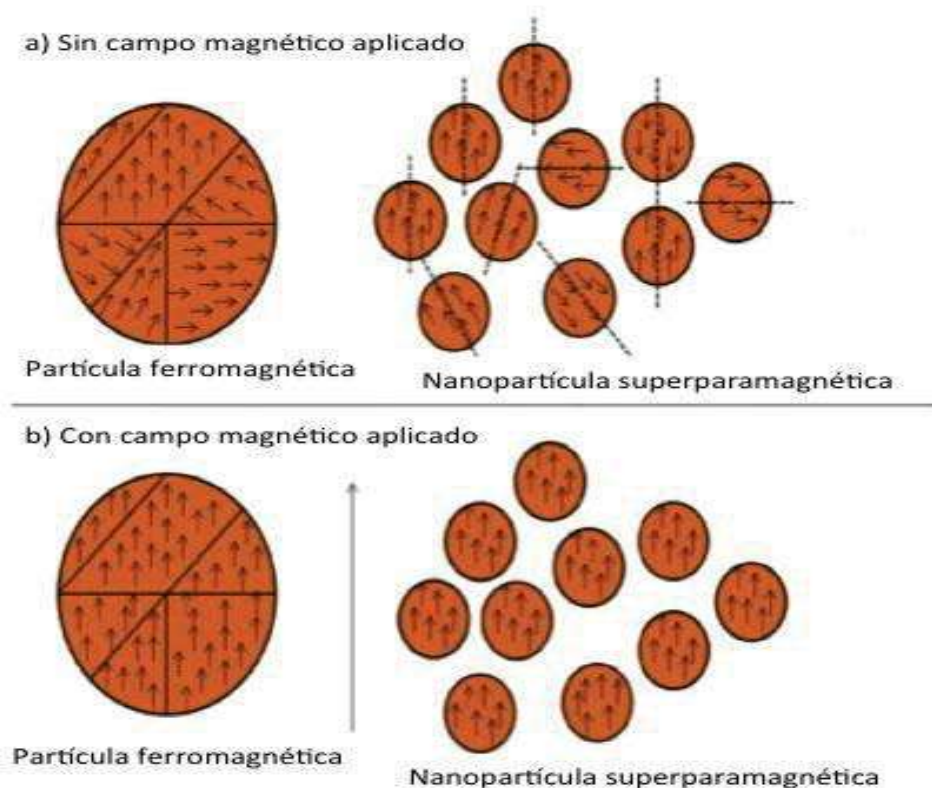


Figura 1.10 Comparación entre partículas superparamagnéticas y partículas ferromagnéticas en (a) la ausencia o (b) la presencia de un campo magnético externo.

Compuestos de hierro, cobalto y níquel y sus aleaciones, elementos de tierras raras, intermetálicos de gadolinio, oro y vanadio son ferromagnéticos que pueden ser utilizados para producir partículas superparamagnéticas, cuando el tamaño del dominio magnético se encuentra a escala nanométrica. Otros materiales pueden ser utilizados, incluyendo ferritas, compuesto por óxidos de hierro o con otros elementos como el aluminio, cobre, cobalto, níquel, manganeso, magnesio, hierro y zinc. Además, también se pueden utilizar las ferritas hexagonales.

La mayoría de los trabajos publicados se han centrado históricamente en nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas (SPIO, por sus siglas en inglés). Las nanopartículas de SPIO contienen de uno a varios núcleos de óxido de hierro superparamagnético suspendidos en una matriz no magnética. Los núcleos de partículas superparamagnéticas consisten de un único o un conjunto de granos superparamagnéticos, en presencia de un campo magnético aplicado éstos se

magnetizan en la dirección del campo magnético externo. Una vez que el campo magnético externo se retira, la magnetización neta del conjunto vuelve a cero. Esta pérdida de orden magnético se denomina relajación de Néel, y puede ser descrito por la ecuación

$$\tau_{\text{Néel}} = \tau_0 e^{KV/k_b T}, \quad (1)$$

Donde K es la constante anisotrópica del material, V el volumen de las partículas, $k_b T$ la energía térmica (k_b es la constante de Boltzmann y T es la temperatura en grados Kelvin) y τ_0 el tiempo, lo cual es característico de un material.

Las nanopartículas de SPIO suelen clasificarse en función de su diámetro total, que van de 2 nm a micrómetros [49]. Su diámetro total abarca su núcleo de metal (s) o polimérico y el revestimiento de la superficie orgánica [50]. Las partículas de SPIO entre 300 nm y 3.5 micras han sido llamados SPIO-vía oral porque se utilizó por primera vez en imágenes *in vivo* a través de la administración oral.

Las nanopartículas de SPIO estándar (SSPIO) tienen un diámetro de 60-150 nm hidratado. Éstas pueden ser utilizadas para la separación magnética, y la mejora en la sensibilidad de los biosensores. Sin embargo, la utilización de estas partículas de biosensores debe ir acompañada de controles adecuados para asegurar que el cambio observado en la señal se debe a la inducida por el campo específico de unión y no de agrupación.

Las partículas de núcleo simple o diámetro hidrodinámico menor de ~50 nm se conocen como ultra SPIO (USSPIO). A pesar que su densidad es mayor que la densidad del agua, su tamaño es tan pequeño que el movimiento browniano las mantiene suspendidas en una solución. Estas partículas no se separan de la solución en presencia de un gradiente de campo magnético, sino más bien la solución de partículas en suspensión se comporta como un ferrofluido.

Varios métodos han sido utilizados para la síntesis de nanopartículas superparamagnéticas [51-55]. Debido a su amplio uso como agentes de contraste para imagen de resonancia magnética, la teoría subyacente a los mecanismos de relajación

transversal y longitudinal han sido bien desarrollado para partículas superparamagnéticas. Se ha demostrado que los mecanismos de relajación dependen de las características de las partículas, incluso si son ferro-, ferri- o antiferromagnéticas. El fundamento teórico de cómo las nanopartículas de SPIO afectan las velocidades medias de relajación T_2 comenzó hace dos décadas. Este trabajo teórico se basó en las primeras observaciones experimentales en las cuales las relajatividades longitudinales y transversales, que se define como $R_1 = R_2 = 1/T_1$ y $1/T_2$, respectivamente, están en función del tamaño de las partículas.

Otra de las características de las soluciones de nanopartículas superparamagnéticas que se utiliza para diferenciar el comportamiento físico es el tiempo de difusión, o el tiempo de viaje en agua (τ_D) en relación con el tiempo entre el eco de la secuencia de pulsos, τ_{CP} . Las soluciones de nanopartículas están en el límite de tiempo cuando el eco τ_D es significativamente menor que τ_{CP} . τ_D puede determinarse a partir de la relación

$$\tau_D = \frac{R^2}{D}, \quad (2)$$

donde τ_D es el tiempo que tarda una molécula de agua para difundir la distancia del radio de una nanopartícula, R y D es la constante de difusión de agua, $9.10 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

1.4 MÉTODOS DE SÍNTESIS

El método de preparación de las nanopartículas determina el tamaño y forma de la partícula, su distribución de tamaño, su química superficial y, consecuentemente, sus propiedades magnéticas [56]. La síntesis de estos materiales puede ser llevada a cabo por varias técnicas. Los métodos usados para producir nanopartículas pueden ser divididos en: (I) métodos físicos y (II) métodos de síntesis química.

1.4.1 Métodos físicos

Los métodos físicos están basados en la subdivisión de metales a granel, incluidos la molienda mecánica o pulverización del metal en volumen, descarga de arco entre electrodos metálicos, etc. Las nanopartículas metálicas así producidas son generalmente

grandes en tamaño y tienen una distribución de tamaño amplia [57]. Muchos métodos físicos han sido reportados para la síntesis de partículas nanométricas, estos incluyen métodos de condensación, pirólisis por aspersión, deformación mecánica, descomposición termoquímica de precursores metal orgánicos en reactor de flama, entre otros.

1.4.2 Métodos químicos

Los métodos químicos están basados en la reducción de metales iónicos o la descomposición de precursores, seguida por la agregación de átomos. Las nanopartículas preparadas por métodos químicos usualmente tienen una distribución de tamaño estrecha [58]. El interés creciente en síntesis química esta indicado claramente por el número de artículos y revisiones en este tema.

1.4.2.1 Sol-Gel

El proceso sol-gel ha atraído gran interés, sobre todo en las últimas décadas porque éste permite el desarrollo de nuevos materiales y nuevas rutas de formado con buena homogeneidad y buena pureza. Éste ha sido conocido a lo largo del tiempo, sin embargo esta técnica de procesamiento ha tenido un desarrollo muy importante durante las últimas dos décadas.

El procesamiento sol-gel es una ruta química húmeda para síntesis de óxidos inorgánicos a través de una ruta coloidal. Este método parte de una suspensión coloidal de partículas sólidas en un líquido (sol) y la subsecuente formación de un material de fase dual de un una red sólida porosa interconectada tridimensionalmente que se expande en un área estable a través de un medio líquido (gel) mediante la transición sol-gel [59, 60]. En la Figura 1.11 se muestra el diagrama de las rutas posibles que se pueden seguir durante el método sol-gel.

En la preparación del sol, los precursores, tanto orgánicos como inorgánicos, experimentan dos reacciones químicas, la hidrólisis y condensación (o polimerización) para formar pequeñas partículas sólidas en un líquido (ya sea un solvente orgánico o acuoso). Las partículas sólidas son tan pequeñas (1~1000 nm) que las fuerzas

gravitacionales son despreciables y las interacciones están dominadas por fuerzas estéricas, de van der Waals y Coulómbicas.

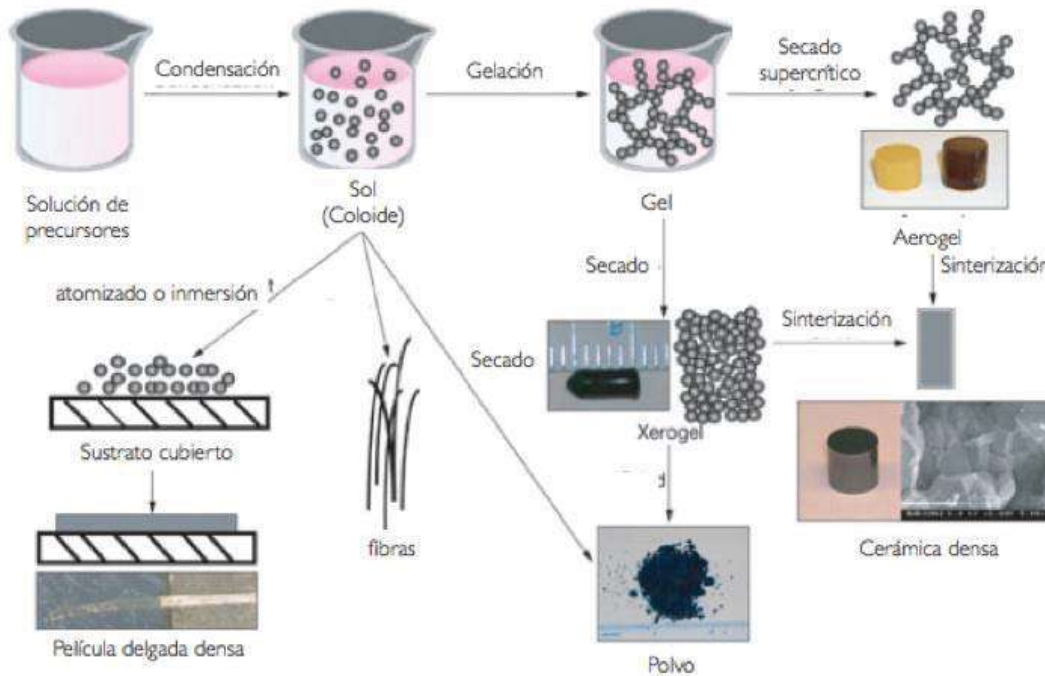


Figura 1.11 En el diagrama se muestran las diferentes rutas de procesamiento sol-gel tomando en cuenta las aplicaciones del producto final.

1.4.2.1.1 Ventajas del proceso sol-gel

Hay muchas ventajas del procesamiento sol-gel, no únicamente permite la síntesis de materiales con una composición de óxidos, sino además permite la producción de nuevos materiales híbridos orgánicos-inorgánicos los cuales no existen naturalmente [60].

El proceso sol-gel tiene además muchas otras ventajas significativas. Muchos productos puros son obtenidos por simple purificación de los precursores ya sea por destilación, cristalización o electrólisis. Además, los procesos químicos en los primeros pasos son siempre llevados a cabo a bajas temperaturas. Otra ventaja es la asociación del estado coloidal sólido con el medio líquido, evitando así cualquier contaminación por la eventual dispersión del polvo. Hay otras ventajas del procesamiento sol-gel, por ejemplo, la cinética de varias reacciones químicas puede ser fácilmente controlada mediante las bajas temperaturas de procesamiento. La nucleación y crecimiento de las

partículas coloidales primarias puede ser además controlada para dar partículas con forma, tamaño y distribución de partícula dado.

Por las ventajas mencionadas previamente, es por ello que, para el presente trabajo de investigación se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ a través del método sol-gel, sin embargo, la ruta ha seguir no involucró la formación de geles sino que, una vez obtenidos los soles, los agregados de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fueron obtenidos mediante la vía de secado por aspersión.

1.4.2.2 Secado por aspersión

La tecnología de secado por aspersión es ampliamente conocida y usada para transformar líquidos (soluciones, emulsiones, suspensiones, mezclas, pastas) en polvos sólidos. Sus principales aplicaciones son en industrias químicas, de materiales y de alimentos para incrementar la conservación de los ingredientes, propiedades particulares, manejo de polvos y almacenamiento, etc.

La producción de partículas nanoestructuradas vía secado por aspersión es de interés debido a que las partículas preparadas por este método muestran propiedades únicas que permiten su uso en varios campos, tales como catálisis, cromatografía, filtros, pigmentos, cosméticos y materiales fotoluminiscentes. Sin embargo, el secado por aspersión puede además ser usado para aplicaciones específicas en la formulación de farmacéuticos para la liberación de medicamento [61].

El secado por aspersión es un método establecido que es iniciado mediante el atomizado de suspensiones en gotitas seguidas por un proceso de secado, resultando en partículas sólidas. Este método es ampliamente usado por sus ventajas, incluyendo el hecho que es un sistema simple y rápido, su eficiencia en costo y que puede ser escalado a cantidades de toneladas.

Entre los parámetros que controlan el tamaño y morfología de las partículas mediante el secado por aspersión pueden considerarse el pH, la presión del aire, la velocidad de flujo y la temperatura de secado.

1.4.2.3 Estudios realizados

Mangui Han et al. [62] sintetizaron ferrita hexagonal de bario tipo M preparada por la ruta sol-gel. Estudiando el efecto sobre las propiedades magnéticas y morfología al agregar diferentes cantidades de polietilen glicol (PEG 2000) en las soluciones del sol. Encontrando que al incrementar la cantidad de PEG agregado, la magnetización de saturación y la coercitividad disminuyen.

Ali Ghasemi et al. [63] sintetizaron películas delgadas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ usando un proceso sol-gel por recubrimiento. El recubrimiento del sol fue formado a partir de ferrita hexagonal tipo M (BaM) en polvo. Empleando XRD, SEM, EDX y magnetómetro de muestra vibrante (VSM), evaluaron la estructura, composición y propiedades magnéticas de películas gruesas de BaM. Los resultados indicaron que la alta coercitividad obtenida se atribuye a la anisotropía magnetocristalina y tamaño de grano de la capa de sinterizado de BaM.

Yunchen Du et al. [64] prepararon partículas de ferrita de bario tipo M ($\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$) a partir de una mezcla de nitrato de bario, nitrato férrico, cetil-trimetil amonio (CTAB) y carbonato de amonio mediante molienda y tratamiento térmico sencill. Caracterizando los productos por difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido, y el magnetómetro de muestra vibrante. Sus resultados indicaron que la fase cristalina de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ obtenida presentó magnetización de saturación grande, tamaño de partícula submicrométrico bajo condiciones óptimas. Además investigaron los efectos de la relación Fe/Ba, CTAB, y carbonato de amonio. Encontraron que la relación adecuada Fe/Ba podría suprimir una fase intermedia como $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y BaFe_2O_4 .

Tetsuya Osaka et al. [65] sintetizaron nanopartículas de óxido de hierro magnético a través de un sistema de micelas inversas y la modificación de su superficie por un agente organosilano. Además, como un sistema de ensayo biológico, la detección magnética de interacciones biomoleculares se demostraron mediante el uso de la combinación de un sustrato patrón modificado con una monocapa de auto-ensamblado.

Jun Wang et al. [66] estudiaron los parámetros farmacocinéticos y distribución tisular de nanopartículas de óxido de hierro magnético (Fe_3O_4) en una región de control en ratones. Las nanopartículas de Fe_3O_4 fueron sintetizadas por coprecipitación química y su morfología y apariencia fue observada por microscopía electrónica de transmisión.

Sus resultados mostraron una morfología esférica de nanopartículas de Fe_3O_4 con buena distribución de diámetro de partícula. Éstas nanopartículas fueron ampliamente distribuidas en varios órganos y tejidos localizados que incluyeron corazón, hígado, bazo, pulmones, riñones, cerebro, estómago intestino delgado y medula ósea, siendo mayormente distribuido en el hígado y el bazo. Concluyendo que las nanopartículas de Fe_3O_4 pueden ser usadas como sistemas portadores de liberación de medicamentos.

Bao-An Chen et al. [67] investigaron el efecto de nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 sobre el sistema inmunológico de ratones. Para ello asignaron aleatoriamente una región de control en ratones en cuatro grupos. Estos fueron tratados con nanopartículas de Fe_3O_4 en soluciones salinas normal, baja, media y alta, respectivamente. Después de la administración intravenosa de las nanopartículas de Fe_3O_4 , las células T periféricas y la inducción a la respuesta inmune primaria en el ratón fue investigada por citometría de flujo y determinada usando ensayos de inmuno-adsorción ligado a enzimas.

Q. Mohsen [68] sintetizó hexaferritas de bario monofásica a través de una técnica del precursor de oxalato. En el cual investigó el efecto de las diferentes relaciones molares de $\text{Fe}^{3+}/\text{Ba}^{2+}$ y la temperatura de tratamiento térmico en el tamaño de las partículas. La microestructura y propiedades magnéticas de los polvos de hexaferrita de bario obtenida fue investigada. La temperatura fue controlada entre 900-1200 °C, mientras que la relación molar de $\text{Fe}^{3+}/\text{Ba}^{2+}$ fue controlada entre 12 y 8.57. Los polvos resultantes fueron investigados por Análisis Térmico Diferencial (DTA), Difracción de rayos X (DRX), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y el magnetómetro de muestra vibrante (VSM). La fase cristalina de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ se obtuvo con proporciones molares de 9.23 y 8.57 de $\text{Fe}^{3+} / \text{Ba}^{2+}$ a la temperatura de 1100 °C. Por otra parte, a temperatura de 1200 °C se presentó una sola fase de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ en las diferentes relaciones molares $\text{Fe}^{3+}/\text{Ba}^{2+}$. Los resultados de SEM mostraron que los granos eran hexagonales. Además, la magnetización de saturación máxima de 70.25 emu/g se observó en la relación molar de 10 y la temperatura de 1200 °C.

M Vimal Kumar Varma et al. [69] sintetizaron nanopartículas magnéticas de óxido de hierro por el método de coprecipitación química a partir de sales de Fe(II) y Fe(III) y estabilizadas con hidróxido de amonio. La caracterización en términos de morfología, tamaño, distribución de tamaño, propiedades magnéticas y liberación de medicamento

fueron evaluadas. Las microesferas fueron uniformes en forma y por lo general también en el tamaño, su distribución de tamaño fue estrecho. Todos los parámetros magnéticos confirmaron la naturaleza de las microesferas superparamagnéticas con magnetización de hasta 20-30 emu/g de microesferas. El perfil de liberación *in vitro* se estudió en un pH de 7,4 en solución tampón fosfato. La liberación del medicamento alcanzó un máximo de aproximadamente 60-85% del contenido total de los medicamentos a partir de las microesferas. A partir de este estudio, sugirieron que los campos magnéticos de las microesferas pueden mantenerse en su sitio de destino *in vivo* y como microesferas pueden ser utilizados en aplicaciones biomédicas en áreas de investigación tales como la liberación de medicamento localizado, desintoxicación de la sangre selectiva, la ingeniería de tejidos y la imagen de resonancia magnética (MRI) nuclear de agentes de contraste.

Arun Kumar et al. [70] toman en cuenta que uno de los problemas importantes asociados con el tratamiento farmacológico es la imposibilidad de entregar productos farmacéuticos a un sitio específico del cuerpo sin causar toxicidad no específica. Por ello, han trabajado en el desarrollo de nanopartículas magnéticas y las técnicas para su transporte seguro y la concentración en los sitios específicos en el cuerpo como una herramienta para la terapia de liberación de medicamentos *in vivo*. Los autores mencionan que, la administración de fármacos *in vitro* podría mejorar aún más si los medicamentos fueron modificados con anticuerpos, proteínas o ligandos. Para experimentos *in vivo*, utilizaron nanopartículas magnéticas conjugadas con ADN de plásmido que expresa aumento de proteína verde fluorescente (EGFP), recubriéndolas posteriormente con quitosano. Estas partículas fueron inyectadas en ratones a través de la vena de la cola y se dirige al corazón y los riñones por medio de imanes externos de 25 gauss. La concentración de las partículas en los pulmones, el corazón y los riñones de los ratones, así como la expresión de la proteína EGFP en estos sitios fueron observadas. La expresión de la proteína EGFP en lugares específicos fue visualizada por todo el cuerpo por imagen fluorescente, y la concentración de estas partículas en el cuerpo fue confirmada por microscopía electrónica de transmisión. Con este trabajo los autores demuestran que un simple campo magnético externo es todo lo que es necesario para llegar a un medicamento a un sitio específico dentro del cuerpo sin la necesidad de funcionalizar las nanopartículas. Sin embargo, la opción de usar orientación magnética

con imanes externos en nanopartículas funcionalizadas podría resultar como un medio más eficiente de la administración de fármacos.

Yogesh B. Patil et al. [71] mencionan que la entrega selectiva de fármacos con nanotransportadores se logra mediante la funcionalización de la superficie del portador mediante un ligando de tejido de reconocimiento. Puesto que los métodos actuales de modificación de la superficie requieren de métodos de síntesis tediosos e ineficientes, los cuales no son fáciles de incorporar, los autores han propuesto una solución versátil de un solo paso de funcionalización de superficie de nanopartículas poliméricas. La técnica utiliza el hecho de que un copolímero como el polietilenglicol (PLA-PEG) se introduce en una emulsión aceite/agua, la cual puede ser utilizada en la formulación de nanopartículas poliméricas. La incorporación de ligandos en las nanopartículas fue confirmada mediante el uso de RMN, MET y estudios de captación del tumor de células. Con lo cual concluyen que la funcionalización permitirá el desarrollo de estrategias de focalización basada en el uso de ligandos múltiples en una sola superficie para llegar a un tejido de interés.

P. Guardia et al. [72] sintetizaron nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 , teniendo un control de tamaño de diámetro de entre 6 y 20 nm. Las nanopartículas fueron sintetizadas por descomposición térmica de un precursor de hierro orgánico en un medio orgánico. Las partículas fueron recubiertas con ácido oleico. Sus resultados muestran que para todas las muestras estudiadas, la magnetización de saturación máxima, M_{max} , alcanzó un valor cercano al esperado. De igual manera, el valor de campo coercitivo estuvo de acuerdo con la rotación coherente. De lo anterior concluyen que las moléculas de ácido oleico covalentemente presentan una susceptibilidad diferencial a un alto campo magnético.

J. Dufour et al. [73] estudian los principales procesos de obtención de ferritas hexagonales tipo M, haciendo especial hincapié en el método cerámico, puesto que ellos mencionan que es el de mayor importancia industrial. Además, se discuten otra serie de procesos de obtención tales como el vitrocerámico, coprecipitación, síntesis hidrotérmica y la síntesis mediante precursores organometálicos. Por último, discuten las principales aplicaciones industriales de estos materiales.

Omid Veisheh et al. [74] mencionan que las nanopartículas magnéticas representan una clase de agentes de imagen no invasiva que se han desarrollado para la resonancia magnética (RM). Puesto que a medida que las nanopartículas magnéticas van siendo más elaboradas, los diseños de criterio se vuelven aun más esenciales. Es por ello que estudian los parámetros de diseño que afectan al rendimiento de las nanopartículas magnéticas *in vivo*, incluyendo las propiedades físico-químicas y modificaciones de superficie, tales como el revestimiento de las nanopartículas y la orientación del ligando para su funcionalización, con lo cual se podrá mejorar la gestión de las barreras biológicas.

A. Ataie et al. [75] sintetizaron partículas nanocristalinas de hexaferrita de bario por una ruta de combustión sol-gel usando geles de nitrato-citrato preparado a partir de los nitratos de metal y las soluciones de ácido cítrico en virtud de diversas relaciones molares de Fe/Ba de 10, 11 y 12. Los resultados revelaron que la temperatura de formación de hexaferrita de bario está influenciada por la relación molar de Fe/Ba, la relación Fe/Ba molar de 12 es más favorable. En éste caso, la hexaferrita de bario comenzó a formarse a los 800 °C y totalmente formados a 1000 °C.

ZHONG Min-jian et al. [76] sintetizaron polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ de tamaño nanocristalino, los cuales fueron producidos por el método sol-gel de autocombustión. Los precursores fueron preparados bajo las relaciones molares de ácido cítrico al nitrato de metal de 0,5, 1,0 y 1,5. Estas muestras fueron analizadas con un VSM. Los datos obtenidos indicaron que el polvo con alto contenido en ácido cítrico tomó buenas propiedades magnéticas. $M_{\text{max}} \approx 49,73 \text{ Am}^2/\text{kg}$, $M_{\text{rem.}} \approx 30,77 \text{ Am}^2/\text{kg}$ y la fuerza coercitiva $H_c \approx 467 \text{ kA/m}$ se produce cuando las relaciones molares de ácido cítrico al metal nitrato de 1,5.

Melania Babincova et al. [77] mencionan que los nanomateriales están en la vanguardia del campo de rápido desarrollo de la nanotecnología. En el caso de las nanopartículas magnéticas para el tratamiento y diagnóstico del cáncer se han desarrollado sobre las bases de sus singulares propiedades físico-químicas que no están presentes en otros materiales. En este trabajo, los autores se centran en los principios físicos de la orientación magnética del medicamento y las aplicaciones biomédicas de esta técnica.

F. Pierige et al. [78] mencionan que la administración de fármacos se ha mejorado mucho en los últimos años por medio de agentes químicos y físicos que presentan biodisponibilidad de aumentar, mejorar y reducir la toxicidad farmacocinética. Al mismo tiempo, los sistemas basados en células de liberación de medicamento también se han desarrollado. Los autores se centran en el estudio en la administración de fármacos basados en los eritrocitos. Estos sistemas son especialmente eficaces en la liberación de medicamentos en la circulación durante varias semanas, tienen una gran capacidad, se pueden procesar fácilmente y podría adaptarse a los medicamentos tradicionales y biológicos.

Ghaleb A. Husseini et al. [79] investigaron la administración de fármacos empleando micelas y nanopartículas. De particular interés es el uso de nano vehículos que ofrecen altas concentraciones de fármacos citotóxicos para los tejidos enfermos de forma selectiva, reduciendo así los efectos secundarios del agente en el resto del cuerpo. Su estudio se basa en la administración de fármacos por ultrasonidos de las micelas empleando copolímeros de poliéter y ha probado ser efectividad *in vivo* para el tratamiento de tumores.

CAPITULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL

II DESARROLLO EXPERIMENTAL

En el presente capítulo se describe el procedimiento experimental llevado a cabo durante del trabajo de investigación. La parte inicial corresponde a la síntesis de agregados de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ mediante el método de síntesis sol-gel vía secado por aspersión. El desarrollo de una ruta de síntesis haciendo uso de un diseño experimental 2^k permitió optimizar el número de muestras para evaluar las condiciones del secado por aspersión, con lo cual se determinó una serie de 8 muestras a evaluar.

Posteriormente, los polvos obtenidos a través del secado por aspersión fueron sometidos a un tratamiento térmico a temperaturas de 500-1200 °C, así, estos polvos fueron caracterizados mediante DRX para determinar la temperatura óptima a la cual se forma una mayor cantidad de fase hexagonal deseada, MEB para determinar el tamaño y morfología de los aglomerados esféricos, MET para determinar la formación de canales porosos causados por el uso del surfactante, pruebas magnéticas (PM) y Potencial Zeta, para determinar y establecer de las condiciones bajo las cuales se puede adsorber el medicamento en estudio, es decir la tetraciclina, sobre la superficie de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tomando en cuenta sus propiedades superficiales. Por lo tanto, teniendo en consideración las propiedades de superficie, se promoverá la adsorción de las partículas de tetraciclina sobre las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ debida a una polaridad diferente entre ambas superficies

Por último se realizaron las pruebas de adsorción y liberación de medicamento. Para lo cual, las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fueron cargadas con tetraciclina. Una vez cargadas las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, éstas fueron colocadas en un medio de cultivo de *Escherichia coli* para determinar la liberación de tetraciclina.

La Figura 2.1 muestra el diagrama general para el desarrollo experimental de la síntesis de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

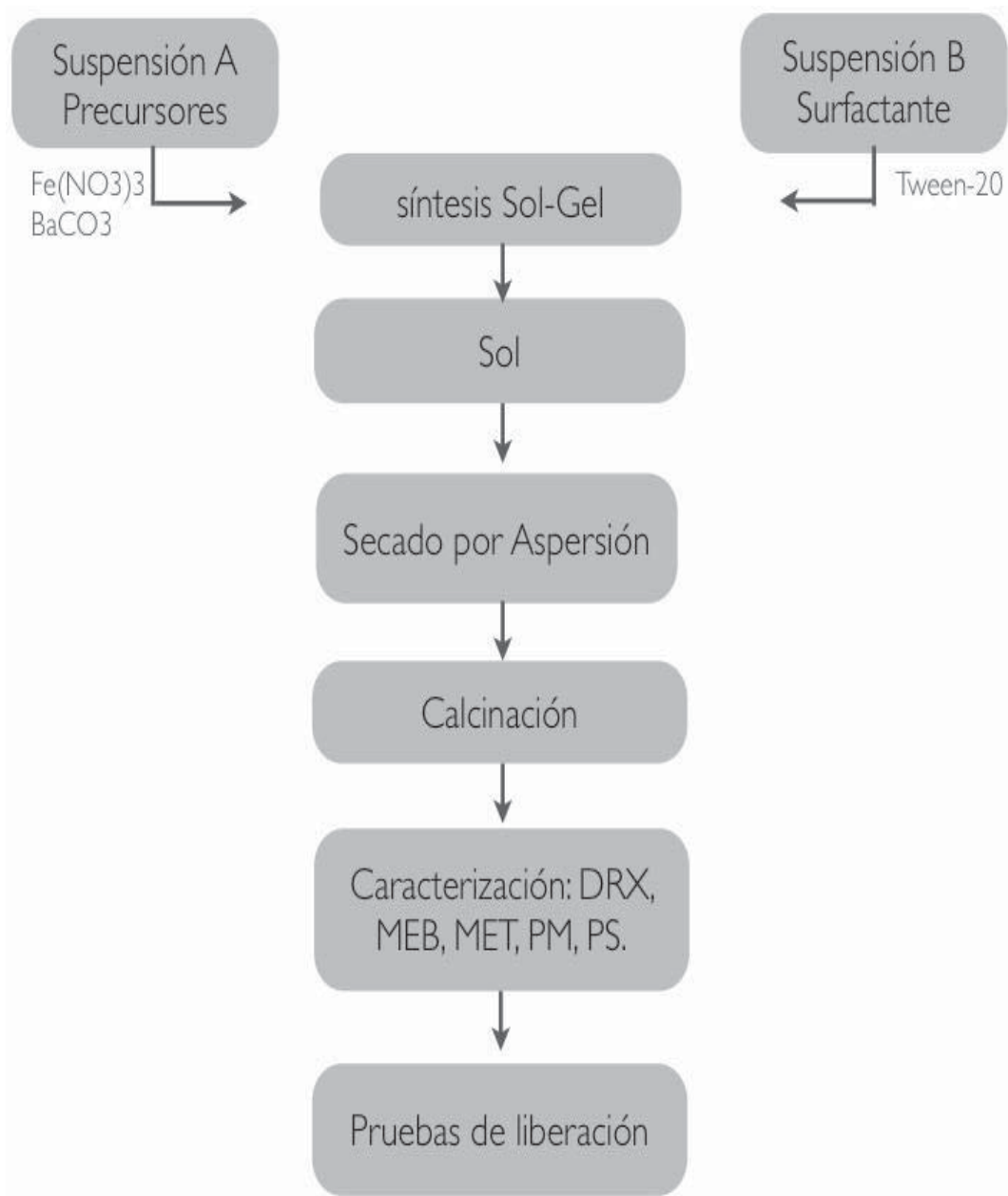


Figura 2.1 Diagrama general para el desarrollo experimental en la síntesis de nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉. En el cual se menciona el tipo de caracterización a realizar.

II.1 Diseño Experimental

En el presente estudio se trabajó con un diseño experimental 2^k de acuerdo al diagrama mostrado en la Figura 2.2 el cual permitió optimizar los parámetros de operación de secado por aspersión y por lo tanto el número de muestras totales a evaluar.

Al ser definidas las variables de operación, es decir, el pH de la suspensión coloidal, la presión de aire y la temperatura interna del equipo de secado por aspersión, para los cuales se manejan dos niveles, tal como se muestra en la Tabla II, fue determinada una serie de 8 experimentos, cuyas condiciones se especifican en la Tabla III. Permitiendo, de este modo, medir el efecto que estas variables tienen sobre las variables de interés, es decir, la morfología y el tamaño de partícula promedio.

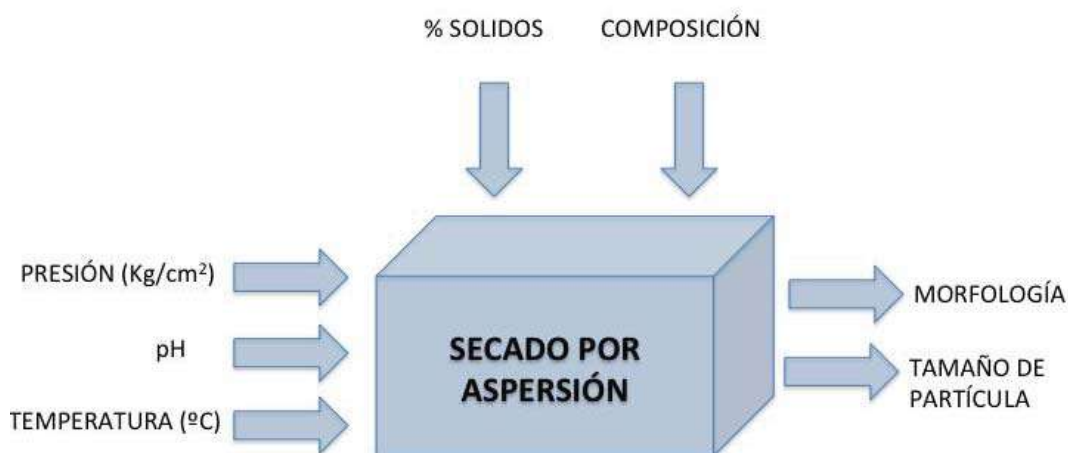


Figura 2.2 Diagrama de diseño experimental en el cual se muestran las variables de entrada y salida.

Tabla II. La tabla muestra las variables controlables manejadas en el diseño experimental, para las cuales se manejan dos niveles, nivel bajo (-) y nivel alto (+).

Variable Controlable	Nivel Bajo (-)	Nivel Alto (+)
A (Presión, Kg/cm ²)	1.5	2
B (pH)	8	9
C (Temperatura, °C)	160	170

Tabla III. En la tabla son mostradas las especificaciones respecto a los niveles altos y bajos sobre las variables controlables.

Muestra	Variable controlable		
	A	B	C
1	-	-	-
2	-	+	+
3	+	+	-
4	+	-	+
5	-	-	+
6	+	-	-
7	+	+	+
8	-	+	-

II.2 Síntesis de nanopartículas

Una variedad de métodos químicos han sido desarrollados para preparar nanopartículas magnéticas nanoestructuradas. Aquí se describe la síntesis de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, la cual fue llevada a cabo mediante el método de síntesis química denominado sol-gel vía secado por aspersión.

Los precursores usados fueron nitrato de hierro, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, carbonato de bario, BaCO_3 , y surfactante Tween-20, todos ellos de la marca Sigma-Aldrich y agua destilada. Se preparó una suspensión de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ y BaCO_3 con una relación molar estequiométrica, la cual fue disuelta en agua destilada y puesta en un agitador magnético; por otra parte, se preparó una suspensión acuosa de surfactante Tween-20 en agua destilada. Ambas suspensiones fueron mezcladas en agitación constante. Durante el proceso de reacción, el pH de la suspensión fue ajustado con una solución de hidróxido de amonio, NH_4OH , de acuerdo al diseño experimental. Esta suspensión fue sometida a un proceso de secado por aspersión en un “Mini-Spray Dryer ADL31 Yamato”, en el cual las condiciones de secado fueron variadas en relación al diseño experimental.

La Figura 2.3 muestra el esquema usado en la preparación de agregados esféricos de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ nanoestructurados usando la técnica de secado por aspersión. La suspensión de precursores es atomizada para formar gotas esféricas, las cuales contienen partículas solidas coloidales llamas soles. Las gotas son acarreadas por medio de una bomba peristáltica a través de una corriente de aire dentro de una cámara de secado tubular. El agua dispersada es evaporada dentro de la cámara de secado, resultando en la obtención de los polvos.



Figura 2.3 Esquema de la preparación de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ mediante la técnica de secado por aspersión.

II.3 Tratamiento térmico

Los polvos obtenidos mediante el secado por aspersión fueron sometidos a un tratamiento térmico y de cristalización para determinar mediante DRX la temperatura más adecuada para obtener la fase hexagonal de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

La Figura 2.4 muestra el tratamiento térmico de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, los cuales fueron sometidos a temperatura de 500-1200 °C, con incrementos de 100 °C. La velocidad de calentamiento fue de 10 °C/min hasta una temperatura de 500 °C la cual se mantuvo por un lapso de 2 horas para asegurar la total eliminación de los compuestos orgánicos presentes en la muestra debido al surfactante Tween-20. A continuación, utilizando la misma velocidad de calentamiento, las muestras fueron llevadas a la temperatura de estudio, y a esta temperatura permanecieron en el horno por dos horas más.

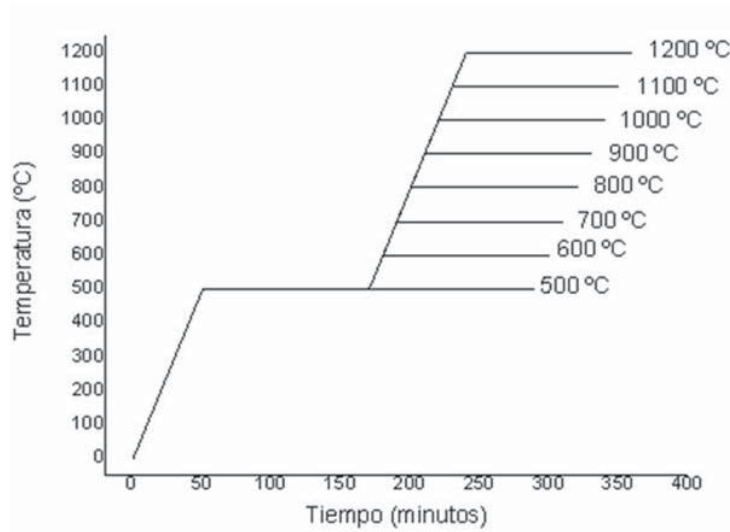


Figura 2.4 Tratamiento térmico para muestras de $BaFe_{12}O_{19}$ a temperaturas de 500-1200 °C.

II.4 Caracterización

La capacidad para medir y caracterizar los materiales, así como la determinación de su forma, tamaño y propiedades físicas a escala nanométrica es de suma importancia para los nanomateriales. A continuación se presentan las técnicas más comúnmente usadas para este propósito.

II.4.1 Difracción de Rayos X

Las muestras de los polvos de $BaFe_{12}O_{19}$ tratadas térmicamente, fueron analizadas mediante DRX en un Difractómetro SIEMENS D-500. Estas muestras fueron examinadas en una rango de 10° hasta 80° (2-theta), y los datos experimentales fueron recolectados con un paso de 0.02° y un tiempo de paso de 0.6 s. Empleando una radiación de $Cu K\alpha$ y un voltaje de 40 KV y 30 mA.

II.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido

La morfología esférica para cada una de las muestras de los polvos de $BaFe_{12}O_{19}$ obtenidos durante el proceso de secado por aspersion de acuerdo al diseño experimental llevado a cabo fueron analizadas utilizando MEB usando un Microscopio Electrónico de Barrido Jeol.

II.4.3 Microscopía Electrónica de Transmisión

Para obtener información en un MET las muestras tienen que ser delgadas. El término “delgado” es relativo, pero en este contexto significa “transparencia electrónica”. Para que la muestra sea transparente a los electrones tiene que ser suficientemente delgada para transmitir suficientes electrones tal que una intensidad suficiente caiga en la pantalla o película fotográfica para darnos una imagen interpretable en un tiempo razonable.

Los polvos a temperaturas de 1000, 1100 y 1200 °C fueron dispersados en propanol. A continuación la muestra fue agitada por un tiempo de 30 minutos mediante ultrasonido para separar los aglomerados de partículas y asegurar una suspensión homogénea. Con ayuda de un capilar, una gota de la suspensión fue depositada sobre una rejilla de carbono. Una vez evaporado completamente el solvente, la muestra estuvo lista para ser observada al microscopio. Las muestras fueron analizadas con un MET marca Tecnai FEG Phillips f20.

II.4.4 Pruebas Magnéticas

Para medir el comportamiento magnético, los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fueron analizados en un Magnetómetro de Muestra Vibrante (VSM, por sus siglas en inglés) Modelo VSM-P7-15.

Un VSM opera bajo la ley de inducción de Faraday, la cual nos dice que un cambio en el campo magnético producirá un campo eléctrico. El campo eléctrico es medido, lo cual dará información acerca del cambio en el campo magnético.

Una pequeña cantidad de muestra de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fue colocada en un portamuestras, la cual a su vez fue situada en un campo magnético constante de 5000 Oe. Puesto que la muestra es magnética, el campo magnético constante magnetizó la muestra mediante la alineación de los dominios magnéticos. El momento dipolar magnético de la muestra produjo un campo magnético alrededor de la misma, el cual es llamado “campo de dispersión magnética”. Como la muestra se movía de arriba hacia abajo, el campo de dispersión magnética cambió en función del tiempo, el cual fue

detectado por un conjunto de bobinas de captación. La corriente de inducción fue amplificada por un amplificador de impedancia. Usando un software de control y monitoreo, el sistema nos proporcionó información de que tanto fue magnetizada la muestra y como esta magnetización depende de la fuerza del campo magnético.

II.4.5 Potencial zeta

El potencial zeta es uno de los parámetros fundamentales que controla la interacción de las partículas en suspensión. Cuando partículas con carga se aproximan entre sí, el que se repelan o se atraigan depende del equilibrio entre las fuerzas de atracción experimentadas en todos los cuerpos, y de las fuerzas de repulsión determinadas por la magnitud del potencial en la capa de deslizamiento. La Figura 2.5 muestra la interacción entre partículas de acuerdo al potencial en la capa de deslizamiento.

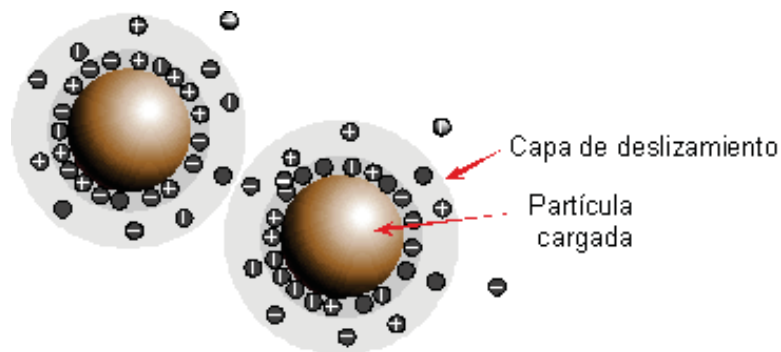


Figura 2.5 Interacción entre partículas de acuerdo a su potencial.

El potencial zeta es una carga superficial “aparente” medida en la proximidad de la partícula en una zona ocupada por los contra-iones llamada “capa difusa”. Dependiendo en la magnitud de la capa eléctrica de la partícula, la capa difusa se expande (partícula altamente cargada) o se contrae (partícula ligeramente cargada). Con relación a lo anterior los valores del potencial zeta pueden ser manipulados cambiando el pH del medio, puesto que los iones H^+ o iones $(OH)^-$ (llamados contra-iones) modifican el espesor de la capa difusa (Ver Figura 2.6).

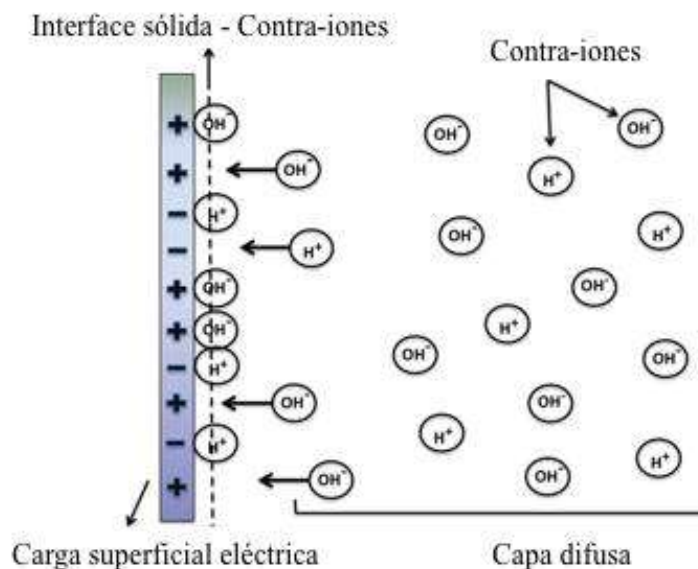


Figura 2.6 Modelo de la doble capa difusa que muestra la atmósfera iónica del coloide.

Para llevar a cabo el estudio del potencial zeta se prepararon diferentes suspensiones, para las cuales 0.011g de polvo de $BaFe_{12}O_{19}$ fueron colocadas en 20 mL de agua destilada, para cada una de estas suspensiones el valor de pH fue modificado a valores ácidos y básicos, desde pH 2 hasta pH 10, usando como modificadores de pH ácido nítrico, HNO_3 , e hidróxido de amonio, NH_4OH , respectivamente. De igual manera, fueron preparadas soluciones con el mismo porcentaje de sólidos de tetraciclina con respecto a los aglomerados de nanopartículas de polvo de $BaFe_{12}O_{19}$, sin embargo, el rango de pH al cual se trabajó con éstas fue de pH 6-10, lo anterior fue debido a lo reportado en la literatura, donde se menciona que la tetraciclina es inestable a valores de pH ácidos, mismo que se comprobó al trabajar con valores de pH menores a 6. Los valores de potencial zeta fueron obtenidos utilizando un ZetaMeter (Zetasizer, Modelo Malverin 300 HSA) el cual opera bajo el uso de la técnica de electroforesis, es decir, el efecto que produce un campo eléctrico sobre las partículas con una carga neta, migrando hacia el electrodo de carga opuesta. La suspensión de partículas sólidas es colocada dentro de una cámara o celda electroforética, una vez llena la celda, dos electrodos son conectados a una fuente de poder e insertados a los extremos de dicha cámara. Al aplicar energía a los electrodos se genera un campo eléctrico que cruza la cámara. Mediante el uso de un microscopio integrado al equipo es posible observar las partículas sólidas coloidales contenidas dentro de la cámara electroforética, de igual manera es observado el movimiento de estas partículas cargadas migrando en el campo,

en el cual su movimiento y dirección dependen del valor del potencial zeta. Sobre la pantalla del equipo es mostrado un cuadrante formado por líneas verticales, una vez rastreada una partícula sólida en movimiento y cuando ésta ha alcanzado una de las líneas verticales del cuadrante es presionado el botón “track (seguimiento)” el cual se mantiene así hasta que la partícula atraviesa otra línea vertical del cuadrante. Cada medida tarda aproximadamente de 3 a 15 segundos, una vez soltado el botón “track” el equipo muestra el valor del potencial zeta calculado. Con el objetivo de obtener resultados confiables fueron tomadas 15 mediciones de potencial zeta, lo cual se realizó en un tiempo no mayor a 10 minutos con el propósito de evitar que la muestra se energizara y por lo tanto evitar obtener resultados erróneos.

II.5 Pruebas de adsorción y liberación de medicamento.

II.5.1 Pruebas de adsorción

La capacidad de adsorción de las nanopartículas magnéticas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fue determinada colocando una cantidad de 0.001g de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ en contacto con una solución estándar de tetraciclina de 10 mg/mL en agitación constante. La cantidad de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fue tomada en relación a estudios por otros autores (Bao-An Chen *et. al*), quienes reportan el efecto inmunológico que las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro tienen sobre un ratón. Así, con esta cantidad de 0.001 g de nanopartículas el ratón no presenta problemas inmunológicos adversos. Una alícuota de la solución de tetraciclina conteniendo las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fue tomada cada 5 minutos, permitiendo primero la precipitación de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, a continuación, la alícuota fue llevada a un espectrofotómetro de luz ultravioleta visible (Espectro Cary 50 Probe, UV-vis srectro) para medir cambios en la densidad óptica de la solución de tetraciclina. La densidad óptica es la absorción de un elemento óptico por unidad de distancia, para una longitud de onda dada:

$$DO_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{l} = -\frac{1}{l} \log_{10} T = \frac{1}{l} \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

donde:

l = Distancia que la luz viaja a través de la muestra, medido en cm

A_{λ} = Absorbancia a longitud de onda λ

T = transmitancia por unidad

I_0 = intensidad de rayo de luz incidente

I = Intensidad de rayo de luz transmitida

Una disminución en los valores de densidad óptica indica que las moléculas de Tetraciclina están siendo adsorbidas por las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$. Las mediciones de densidad óptica son tomadas hasta que se estabiliza la lectura de absorción. Lo que nos indicará la carga máxima de Tetraciclina por las nanopartículas $BaFe_{12}O_{19}$.

II.5.2 Pruebas de liberación

II.5.2.1 Preparación de pre-inóculo

Se tomó una asada de la cepa XL1-Blue de *Escherichia coli* (Stratagene) [*recA1*, *endA1*, *gyrA96*, *thi-1*, *hsdR17*, *supE44*, *relA1*, *lac* [*F'proAB*, *lacI9ZDM15*, *Tn10* *leva(tcr)*], se distribuyó en medio LB agar sólido (ver Tabla 4), y se incubó toda la noche a 37 °C. Se seleccionó una colonia joven (que tuviera un diámetro menor que el resto) y se inoculó en 2 mL de medio LB líquido (ver Tabla 3) para incubarlo a 37°C toda la noche en agitación a 150 rpm.

Tabla IV. Constituyentes del medio de cultivo líquido LB (para un litro de solución).

Medio de cultivo líquido Luria-Bertani	
COMPUESTO	CANTIDAD (g)
Triptona	10
Extracto de levadura	5
NaCl	10

Tabla V. Constituyentes del medio de cultivo sólido LB (para un litro de solución).

Medio de cultivo sólido Luria-Bertani	
COMPUESTO	CANTIDAD (g)
Triptona	10
Extracto de levadura	5
NaCl	10
Agar	5

II.5.2.2 Ensayos de liberación de Tetraciclina

Colocar 49 mL de LB líquido en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, adicionar los 1 mL de pre-inóculo y las nanopartículas cargadas con Tetraciclina. Mezclar muy bien. De una alícuota de 1 mL tomar la lectura de DO_{600} , la cual será la DO al tiempo cero. Incubar a 37°C a 150 rpm (LAB-LINE®, incubator-shaker) y cada 20 min tomar alícuotas de 1 mL para medir la DO_{600} hasta los 80 min de incubación. Al mismo tiempo se preparan dos controles que nos servirán de referencia en la interpretación de los resultados. El primero de ellos consistirá en Colocar 49 mL de LB líquido en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, adicionar 1 mL de pre-inóculo. Mezclar muy bien. De una alícuota de 1 mL tomar la lectura de DO_{600} , la cual será la DO al tiempo cero del Control 1. Posteriormente, tomar lecturas de DO_{600} cada 20 min a alícuotas de 1 mL, hasta los 80 min de incubación a 37°C y con agitación constante de 150 rpm. El segundo de los controles consistirá en Colocar 49 mL de LB líquido en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, adicionar 1 mL de pre-inóculo y adicionar 0.001 gr de nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ sin Tetraciclina. Mezclar muy bien. De una alícuota de 1 mL tomar la lectura de DO_{600} , la cual será la DO al tiempo cero del Control 2. Posteriormente, tomar lecturas de DO_{600} cada 20 min a alícuotas de 1 mL, hasta los 80 min de incubación a 37°C y con agitación constante de 150 rpm.

II.5.2.3 Determinación de Unidades Formadoras de Colonias

Para tener una idea más clara del efecto de la Tetraciclina sobre la *E. coli*, se decidió cuantificar las UFC lo que nos indicó el número de bacterias viables que permanezcan en el medio de cultivo. Para ello, se toma una alícuota de 20 μ l, al mismo tiempo que se toman las alícuotas para la lectura de DO_{600} , y se siembran en placas de LB sólido donde se distribuye homogéneamente el inóculo en su superficie. Una vez sembradas todas las alícuotas, las cajas sembradas se incubaron a 37°C durante 24 h. Concluido el tiempo de incubación, se hizo el conteo de UFC por placa, y con el número obtenido, se calculo el las UFC.

CAPITULO III.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 Diseño Experimental

En el experimento factorial 2^k llevado a cabo en este trabajo, se analizaron todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores en cada réplica del experimento, para estudiar el efecto conjunto de éstos sobre una respuesta.

El diseño experimental 2^k proporcionó el menor número de ensayos con los cuales se pudieron estudiar k factores ($K=3$, pH de la suspensión coloidal, temperatura interna del secado por aspersión y presión absoluta) en un diseño factorial completo, proporcionando además una serie de datos con los cuales fue posible hacer un análisis estadístico, y por lo tanto, mejorar la utilidad de los resultados.

Los datos generales del diseño experimental así como el análisis de las variables dependientes e independientes usadas, establecieron que el diseño experimental fue posible ser utilizado como un modelo que cumple con los objetivos del experimento y la satisfacción entre las limitaciones prácticas de tiempo y dinero.

Los datos obtenidos, así como su análisis proporcionaron la cantidad de información necesaria y relevante para en primer instancia, optimizar los parámetros de operación de secado por aspersión y por lo tanto el número de muestras totales a evaluar. En segundo lugar, resolver como los parámetros del proceso, es decir, el pH de la suspensión coloidal, la temperatura interna de secado por aspersión y presión absoluta del aire, afectaron las variables de interés, es decir, la morfología y el tamaño de partícula promedio

La Figura 3.1 muestra las imágenes de MEB para cada una de las muestras de polvos de $BaFe_{12}O_{19}$ obtenidas de acuerdo al diseño experimental. En todas las muestras puede observarse una morfología de aglomerados esféricos de partículas nanométricas. En estas imágenes puede compararse la esfericidad de los aglomerados obtenidos mediante el secado por aspersión, así como el tamaño promedio de las esferas calculado estadísticamente de las imágenes de MEB.

La Tabla VI. muestra la esfericidad y tamaño promedio de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, estos parámetros están en función de las variables de procesamiento en el secado por aspersión. Para evaluar el parámetro de esfericidad, fue asignada una calificación relativa arbitraria.

Como puede observarse en las micrografías de la Figura 3.1 B y H se presenta una sobre aglomeración de los aglomerados esféricos, a diferencia de las micrografías de la Figura 3.1 A, C, D, E, F y G que presentan aglomerados esféricos independientes. Las micrografías de la Figura 3.1 C, D, F y G presentan gran dispersión de tamaños de los aglomerados esféricos.

Tabla VI. Diámetro promedio y esfericidad relativa de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$

No. Muestra	Diámetro promedio μm	Esfericidad Calificación relativa
1 (A)	0.74	8
2 (B)	0.76	6
3 (C)	0.57	7
4 (D)	0.69	9
5 (E)	0.73	8
6 (F)	0.65	6
7 (G)	0.80	9
8 (H)	0.64	7

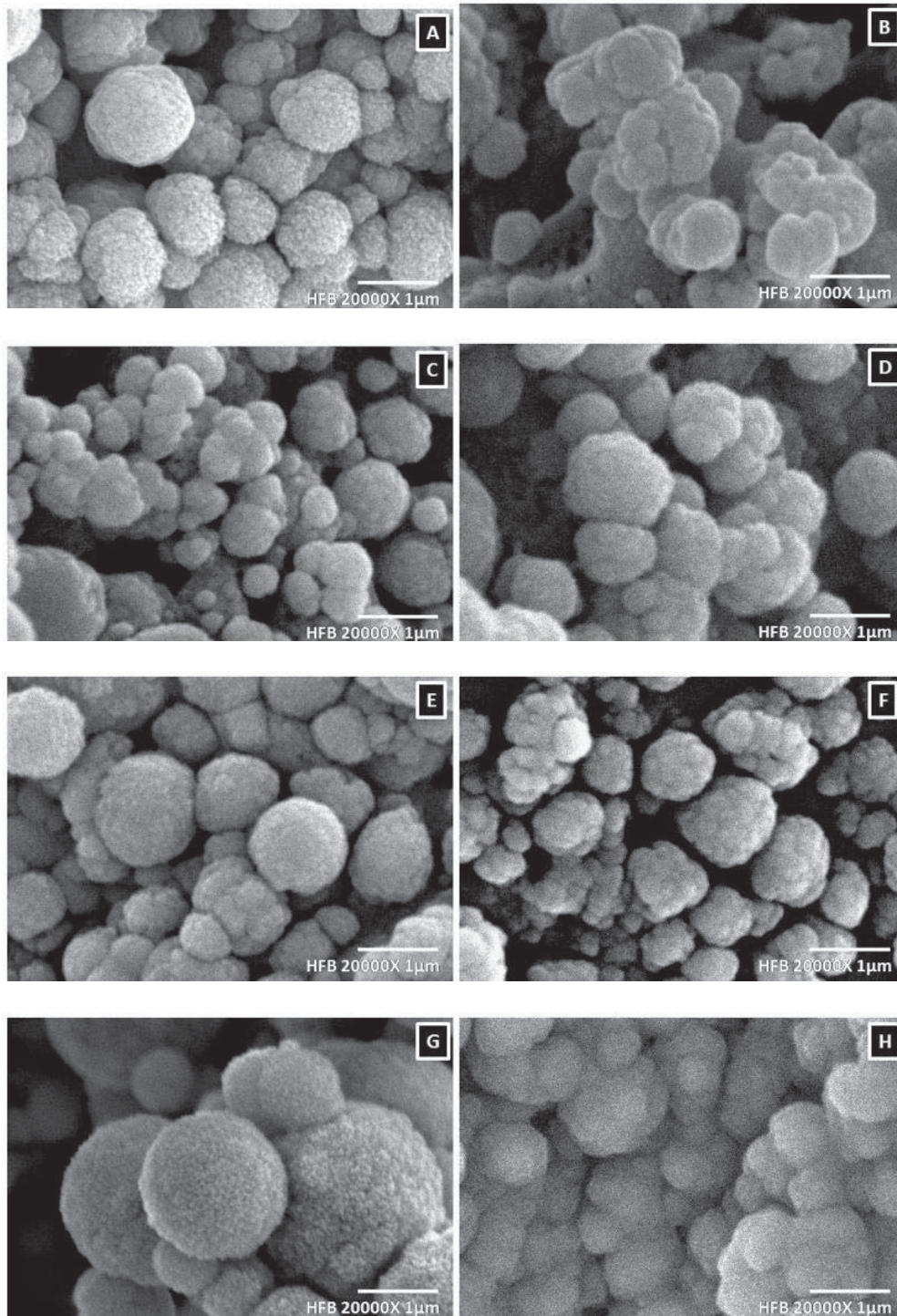


Figura 3.1 Las imágenes de MEB muestra la morfología para las diferentes muestras analizadas de acuerdo al diseño experimental (ver descripción de la Figura en el texto).

Para conocer el efecto de los factores fue suficiente con hacerlos variar entre dos valores. Los más adecuados fueron los extremos de su dominio experimental: entre el nivel -1 y el nivel $+1$.

Además esta variación se realizó para cada combinación posible de los valores de los factores. Esto permitió descubrir si el efecto depende de qué valor tomen los otros factores.

Todas las combinaciones están contempladas en el diseño factorial completo 2^3 de la Tabla III. En total ocho experimentos correspondientes a 2 niveles del pH de la suspensión coloidal, 2 niveles de la temperatura interna de secado por aspersión y 2 niveles de la presión absoluta. Esto permitió, estimar el efecto independientemente utilizando las fórmulas de la Tabla VII.

Tabla VII. Cálculo de los efectos. Presión (A), pH de la suspensión coloidal (B), temperatura (C).

Efecto			Valor (y)
Promedio	E_0	$(+y_1+y_2+y_3+y_4+y_5+y_6+y_7+y_8)/8$	7.5
A	E_P	$(-y_1+y_2-y_3+y_4-y_5+y_6-y_7+y_8)/4$	-1
B	E_{pH}	$(-y_1-y_2+y_3+y_4-y_5-y_6+y_7+y_8)/4$	1
C	E_T	$(-y_1-y_2-y_3-y_4+y_5+y_6+y_7+y_8)/4$	0
AB	$E_{P \times pH}$	$(+y_1-y_2-y_3+y_4+y_5-y_6-y_7+y_8)/4$	1
AC	$E_{P \times T}$	$(+y_1-y_2+y_3-y_4-y_5+y_6-y_7+y_8)/4$	-1
BC	$E_{pH \times T}$	$(+y_1+y_2-y_3-y_4-y_5-y_6+y_7+y_8)/4$	0
ABC	$E_{P \times pH \times T}$	$(-y_1+y_2+y_3-y_4+y_5-y_6-y_7+y_8)/4$	-1

Las ocho respuestas se pueden combinar para obtener ocho informaciones: el valor promedio, tres efectos principales, tres efectos de interacción de dos factores y un efecto de interacción de tres factores. La Tabla VII muestra estas ocho combinaciones.

El orden en el que se suman y restan las respuestas viene dado por la *matriz de los efectos* (también llamada *matriz del modelo*) de la Tabla VIII.

Esta matriz codificada tiene tantas filas como experimentos, y tantas columnas como efectos se estimarán. Cada efecto se calcula sumando o restando las respuestas de acuerdo con el orden de signos de su columna.

Tabla VIII. Matriz de los efectos. Presión absoluta (A), pH de la suspensión coloidal (B), temperatura interna de secado por aspersion (C). Se construye a partir de la matriz de experimentos, añadiendo columnas para los otros efectos.

	Promedio	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
1	+	-	-	-	+	+	+	-
2	+	+	-	-	-	-	+	+
3	+	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	+	-	+	-	-	-
5	+	-	-	+	+	-	-	+
6	+	+	-	+	-	+	-	-
7	+	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+	+

El valor promedio $E_0 = 7.5$ mostrado en la tabla VII. indica alrededor de qué valor han variado las respuestas. Generalmente también corresponde al valor predicho en el centro del dominio

Los efectos E_p , E_{pH} y E_T miden cómo afecta cada factor a la respuesta. El factor que provoca un mayor cambio de rendimiento es el pH de la suspensión coloidal de 8 a 9. El valor $E_{pH} = 1$ indica que el rendimiento aumenta en esa cantidad. Al variar la temperatura interna de secado por aspersion de 160-170 °C el efecto es menor que el del cambio de pH. Finalmente, la presión absoluta del equipo de secado por aspersion es el que tiene menor influencia. El signo negativo de su efecto ($E_p = -1$) indica que el rendimiento disminuye conforme el cambio de presión.

Los efectos $E_{p \times PH}$, $E_{p \times T}$ y $E_{pH \times T}$ miden la influencia que tiene una combinación de factores en la respuesta. Existe interacción cuando el efecto de un factor es diferente a distintos niveles de otro(s) factor(es).

Dado que a un número mayor de repeticiones del experimento hay mayor punto de comparación para encontrar la relación entre las variables de entrada y salida, además de que disminuye los errores de medición. Se llevó a cabo una réplica del experimento, con lo cual se obtuvo una mejor estimación del diseño experimental, así como respuestas más precisas del efecto que tuvieron las variables de entrada sobre las variables de salida.

III.2 Síntesis de nanopartículas

De los muchos métodos de síntesis usados para la preparación de nanopartículas magnéticas, el método de síntesis química sol-gel vía secado por aspersión, asistido por el uso del surfactante neutro Tween-20, utilizado en este proyecto, permitió la síntesis de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, resultado en la obtención de agregados esféricos porosos nanoestructurados de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

Uno de los principales problemas del método sol-gel en la formación homogénea de componentes múltiples es la desigualdad de velocidades de hidrólisis y condensación, lo cual puede resultar en la falta de homogeneidad química que conduciría a mayores temperaturas de cristalización o fases cristalinas no deseadas. E. W. McFarland [80] menciona que este inconveniente puede ser superado mediante una pre-hidrólisis parcial de los precursores menos reactivos, igualando así las tasas de hidrólisis por la modificación química de ligandos quelantes, y la síntesis de alcóxidos heterometálicos.

Aún cuando en la síntesis de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ se observó la presencia de la fase no deseada, BaFe_2O_4 , la temperatura de cristalización comenzó a observarse a partir de los 700 °C, así mismo, la fase BaFe_2O_4 estuvo presente en una cantidad menor.

III.3 Determinación de área superficial

La tabla IX muestra el área superficial específica para los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratados térmicamente a temperaturas de 500-1200 °C.

De acuerdo a la literatura [81] las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ con diámetros de 20-80 nm presentan un área superficial específica en el rango de 10-50 m^2/g , mientras que

aquellas con un tamaño de partícula promedio superior a 100 nm presentan un área superficial específica con un rango de 7-10 m²/g.

Las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ de los polvos tratados térmicamente a temperaturas 500-700 °C presentan un diámetro menor a 100 nm, lo cual esta de acuerdo a los resultados observados en MEB. Conforme a estos resultados, el área superficial específica de estas muestras cae dentro del rango mencionado en la literatura, aun cuando estos valores se presentan muy cercanos al extremo de los valores inferiores.

Para las muestras tratadas térmicamente a temperaturas a partir de 800-1200 °C el tamaño de partícula de los polvos de BaFe₁₂O₁₉ presenta diámetros superiores a 100 nm, con lo cual el rango de área superficial esperado debería estar en el rango de 7-10m²/g, sin embargo, los valores de área superficial que caen dentro de este rango es para aquellas muestras tratadas térmicamente a temperaturas de 800 y 900 °C con valores muy próximos al extremo del valor mínimo. Mientras que para las muestras tratadas térmicamente a temperaturas de 1000-1200 °C, los valores de área superficial obtenidos son inferiores a los reportados en la literatura.

Los valores bajos de área superficial obtenidos puede ser debidos a lo mencionado por A. P. Pereira Fulco et al. [82], quienes mencionan que la presencia de aglomerados de nanopartículas puede ser un tanto indeseable, resultando en valores de área superficial bajos.

Tabla IX. Área superficial específica

Muestra	Temperatura del tratamiento térmico (°C)	Área superficial específica (m ² /g)
1	500	12.6
2	600	15.2
3	700	12.2
4	800	8.7
5	900	7.1
6	1000	5.8
7	1100	4.3
8	1200	4.6

III.4 Caracterización

III.4.1 Tratamiento Térmico y Estudio de Difracción de Rayos X

Los polvos obtenidos después del proceso de secado por aspersión fueron sometidos a un tratamiento térmico. En el cual las temperaturas de quemado fueron de 500-1200 °C con intervalos de 100 °C.

Los patrones de difracción DRX que se pueden ver en la Figura 3.2 muestran la presencia de dos fases resultantes de hexaferrita de bario; una fase hexagonal (H), $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ y una fase ortorrómbica (O), BaFe_2O_4 . Las cuales fueron identificadas por las tarjetas DRX: Tarjeta: 00-039-1433, Barium Oxide, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, Wong-Ng, W., McMundie (USA), CDD Grant-in-aid (1988); y Tarjeta: 00-022-0132, Barium Oxide, BaFe_2O_4 , Mitsuda, Mori, Okazaki, Mats Ushita, Bectric Industrial Company, Ltd., Osaka. Japan (1967); [83] respectivamente.

Los patrones de difracción DRX permitieron evaluar la temperatura óptima a la cual se presenta una mayor cantidad de fase hexagonal (H) deseada y una menor cantidad de fase ortorrómbica (O) en las muestras analizadas. La razón por la cual se prefiere la fase $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ con respecto a la fase BaFe_2O_4 es debido a que ésta promueve el superparamagnetismo, característica que es importante, puesto que, en sistemas de liberación de medicamento estas pueden ser dirigidas a un sitio localizado donde liberar el medicamento. Por otra parte, el material se magnetizará y desmagnetizará fácilmente evitando la presencia de un imán permanente en el cuerpo humano. Además, el superparamagnetismo evitará la aglomeración de las partículas sólidas coloidales, lo cual llevaría a causar problemas tal como la obstrucción de capilares. Como puede ser observado en los patrones de difracción DRX de la Figura 3.2, a medida que la temperatura incrementa, la cristalinidad de la muestra también va en aumento, incrementando el contenido de la fase hexagonal (H) mientras la fase ortorrómbica va en decremento. El difractograma correspondiente a la muestra tratada térmicamente a 1100 °C presenta los picos de la fase ortorrómbica (O) mas disminuidos, mientras que los picos de la fase hexagonal (H) se presentan más agudos desde la temperatura de 1000 °C, indicando una mayor cristalinidad de esta fase. Sin embargo al incrementar la

temperatura hasta 1200 °C, los picos de la fase ortorrómbica (O) vuelven a incrementarse en intensidad. De este estudio se deduce que la temperatura del tratamiento térmico más adecuada es la de 1100 °C.

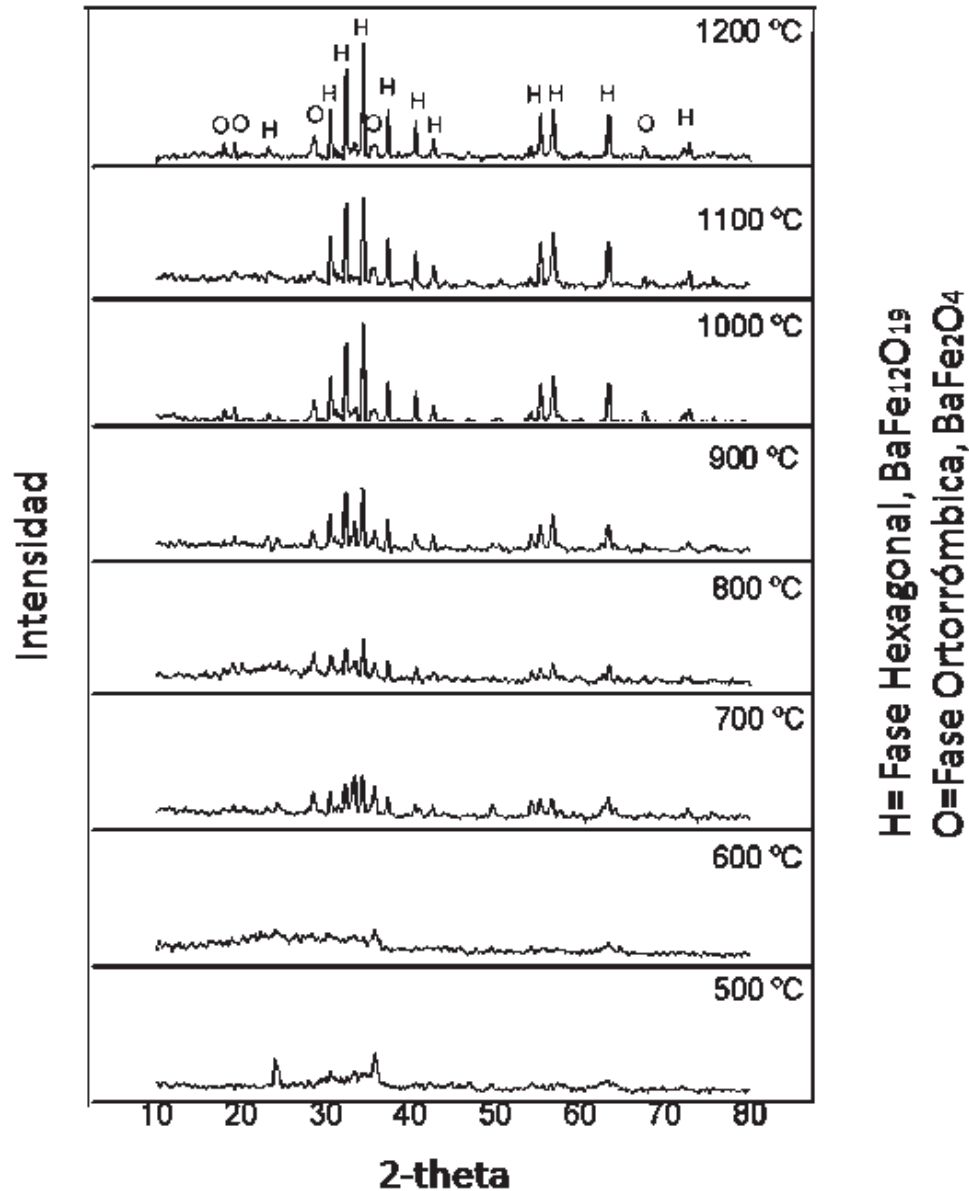


Figura 3.2 Patrones de difracción DRX de muestras de BaFe₁₂O₁₉ quemadas a varias temperaturas.

Las reflexiones a los diferentes ángulos 2θ de los planos (104), (110), (107), (114), (203), (205), (1010), (217), (1112), (220) y (317) corresponden a la fase hexagonal, BaFe₁₂O₁₉. Las reflexiones correspondientes a los planos (400), (210), (212), (121) y (1220) corresponden a la fase ortorrómbica, BaFe₂O₄.

III.4.2 Pruebas Magnéticas

Las propiedades magnéticas de un material son consideradas como *propiedades intrínsecas*, las cuales se caracterizan por depender de la composición química del material, el método de preparación y la estructura cristalina, dentro de las cuales se encuentra la anisotropía magnetocristalina y la magnetización de saturación, M_{\max} ; por otra parte se encuentran las propiedades extrínsecas, las cuales están íntimamente relacionadas con la microestructura, tamaño, forma, orientación de los granos y la distribución de las fases secundarias. Otro parámetro importante, es el tratamiento térmico empleado, para la obtención de las fases presentes. Entre las propiedades extrínsecas se encuentran la coercitividad, H_c , y la magnetización remanente, M_{rem} .

Para evaluar las propiedades magnéticas, como la coercitividad, H_c , y la magnetización de saturación máxima, M_{\max} , así como la magnetización de remanencia, M_{rem} , de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, fue utilizado un magnetómetro de muestra vibrante (VSM), siendo éstos analizados a temperatura ambiente y sometidos a un campo magnético externo de 5000 Oe.

La Figura 3.3 muestra las curvas de histéresis de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a temperaturas en el rango de 500-1200 °C. Los parámetros magnéticos de coercitividad, H_c , la magnetización de saturación máxima, M_{\max} , y la magnetización de remanencia, M_{rem} , de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ fueron medidos y éstos son mostrados en la Tabla X.

De los datos obtenidos a partir de la curva de histéresis así como de la forma que ésta presenta, se tiene que las muestras de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a temperaturas de 500-800 °C, caen dentro del rango de materiales magnéticos blandos, ya que poseen una curva de histéresis estrecha y el valor de coercitividad, H_c , es bajo, este comportamiento es referido como superparamagnético y determina que el material es capaz de magnetizarse y desmagnetizarse rápidamente, sin tener magnetización remanente

Para la muestra quemadas a temperatura de 900 °C, de acuerdo a los valores obtenidos de coercitividad, el material cae dentro de los materiales con un rango intermedio entre

blandos y duros. Además, puesto que la curva de histéresis mostrada en la Figura 3.3 para esta temperatura no está bien definida, se determina que no existe un acoplamiento magnético, esto debido a que las fases presentes, la fase hexagonal (H) y la fase ortorrómbica (O) no están acopladas.

De acuerdo a los valores obtenidos para las muestras de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ quemados a temperaturas de 1000, 1100 y 1200 °C, los materiales y a la forma de la curva de histéresis obtenida, estos materiales caen dentro de los materiales magnéticos duros.

Por lo tanto, aun cuando el estudio del tratamiento térmico, mediante los patrones de DRX muestran que la mejor temperatura es la de 1100 °C, por el hecho de que a esta temperatura se presenta una mayor cantidad de fase hexagonal, el estudio de las pruebas magnéticas revela que para no perder las propiedades de superparamagnetismo, la temperatura más adecuada para la síntesis de las nanopartículas debe ser de 800 °C.

Tabla X. Propiedades magnéticas de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

Muestra (temperatura °C)	M_{max}	M_{rem}	H_c
500	23.92	5.24	239.87
600	21.14	4.03	238.14
700	24.61	5.93	242.20
800	17.28	2.73	234.51
900	23.71	9.10	667.40
1000	44.67	24.12	4790.12
1100	41.81	22.01	4086.66
1200	56.91	31.88	4236.64

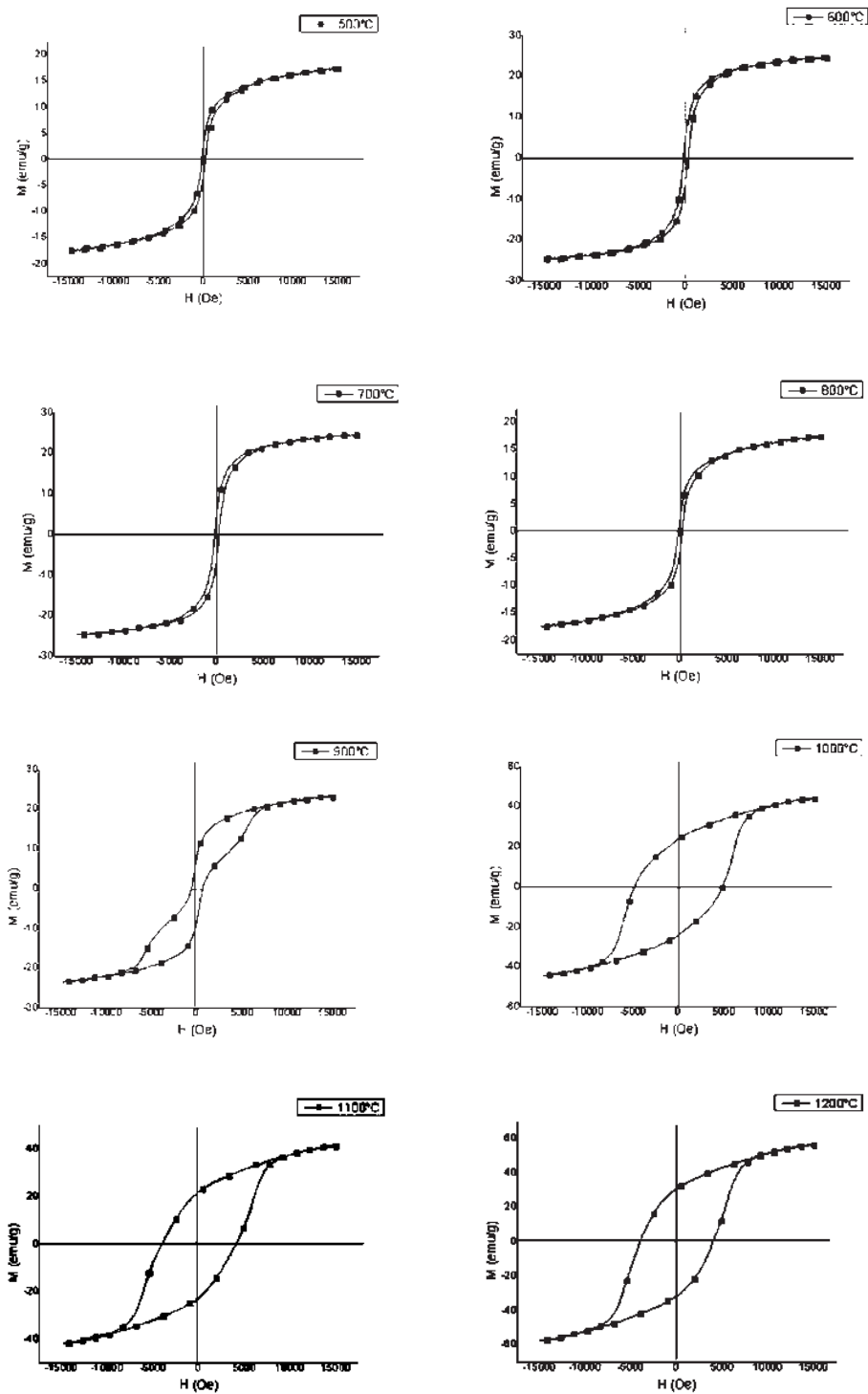


Figura 3.3 Curvas de histéresis de nanopartículas magnéticas tratadas térmicamente a diferentes temperaturas.

Es bien sabido que a escala nanométrica las propiedades magnéticas de los materiales dependen de su tamaño y forma [84, 85]. Es difícil predecir bajo que tamaño de partícula un material en particular muestra este tipo de dependencia, debido a que este principio es diferente para cada material. En el caso de las nanopartículas magnéticas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ sintetizadas por el método sol-gel vía secado por aspersión, el tamaño promedio de partícula aumenta a medida que aumenta la temperatura del tratamiento térmico, lo cual está de acuerdo con los resultados de MEB presentados en la Figura 3.4. Puesto que la transición en el comportamiento magnético, de material blando a duro, observado en las curvas de histéresis comenzó a observarse en el cambio de temperaturas de 800 a 900 °C, las imágenes de MEB que se muestran en la Figura 3.4 son las sometidas a estas mismas temperaturas, respectivamente. En la Figura 3.4 A, se observa la muestra a temperatura de 800 °C, donde el tamaño promedio de partícula está por debajo de los 100 nm, mientras que en la Figura 3.4 B se observa la muestra a temperatura de 900 °C, donde el tamaño promedio de partícula es aproximadamente 100 nm.

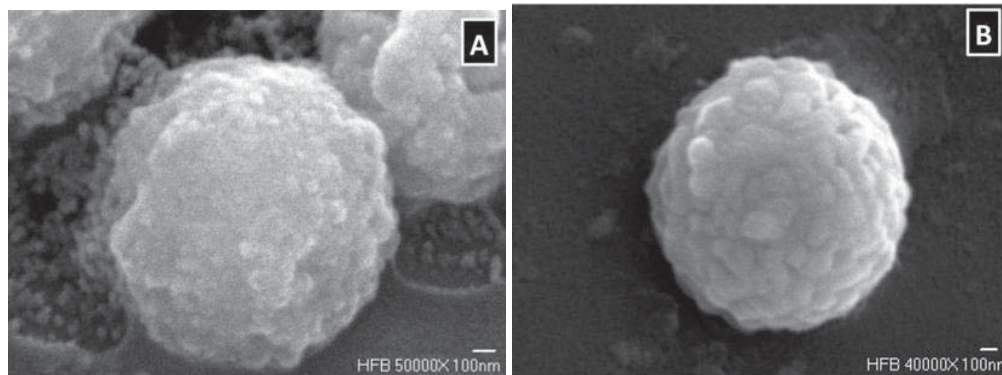


Figura 3.4 Imágenes MEB tratadas térmicamente a, A) 800 ° C y B) 900 °C; con el aumento de la temperatura, el tamaño de partícula crece.

Al relacionar, por lo tanto, el tamaño de partícula con las curvas de histéresis obtenidas, se observó que M_{max} aumenta a medida que el tamaño de partícula aumenta. Lo cual está acorde con los resultados obtenidos de Klaus Dieter Becker [86]. Los valores M_{max} determinados abarcan un rango entre 17.28 emu/g ($D < 100$ nm) y 56.91 emu/g ($D > 100$ nm) de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ nanoestructurados. También se encontró que los valores de H_c aumentan con la temperatura, y por lo tanto, con el aumento del diámetro promedio de partícula. Además, de acuerdo con M. Drofenik [87] y Q. Song [88], los valores de H_c

de las nanopartículas está determinada por la constante de anisotropía magneto cristalina, K , y la magnetización de saturación M_{\max} : de acuerdo a la ecuación $H_C = 2K/\mu_0 M_s$, donde μ_0 es la permeabilidad de espacio libre, $4\pi \times 10^{-7}$ H/m.

III.4.3 Microscopía Electrónica de Barrido

Las imágenes de MEB revelan una morfología esférica para los agregados de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ obtenidos mediante secado por aspersión, tal y como puede observarse en la Figura 3.5.

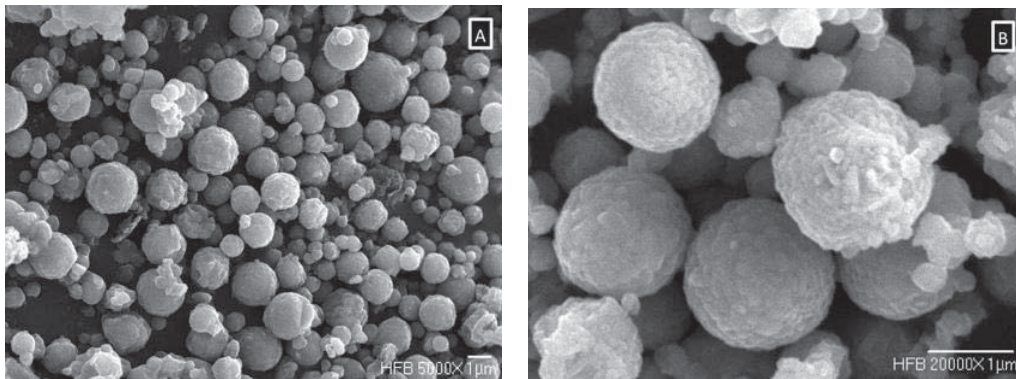


Figura 3.5 Imágenes MEB que revelan la morfología esférica de los polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$. A) Imagen MEB tomada a 5000x y B) imagen MEB tomada a 20000x

La composición química obtenida mediante EDS de estas nanopartículas (Figura 3.6) muestra que la nanopartículas de hexaferrita de Bario son efectivamente puras ya que no contienen elementos extraños en su composición.

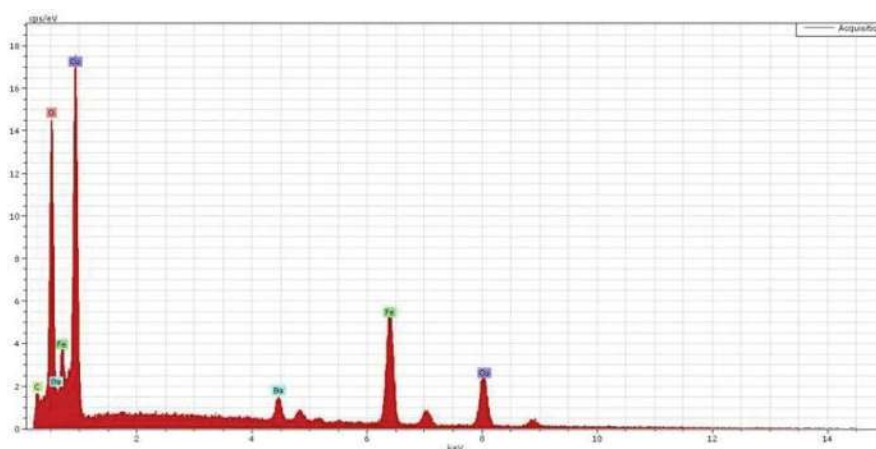


Figura 3.6 EDS que muestra la composición química de las nanopartículas

La distribución química de los elementos pertenecientes a las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ es observada en la Figura 3.7. El color rojo corresponde al elemento Ba, el color verde corresponde al elemento Fe y el color azul corresponde al elemento O.

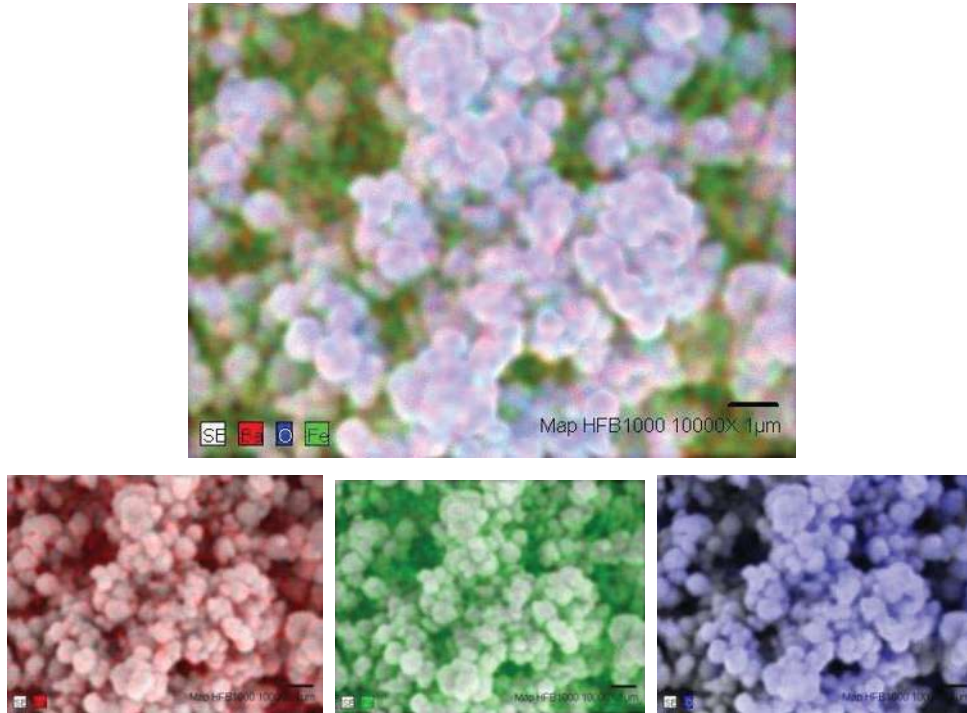


Figura 3.7 Distribución química de los elementos constituyentes a las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

Un análisis minucioso en estos agregados revela que, efectivamente, estos agregados están compuestos por partículas nanométricas, tal y como puede observarse en la Figura 3.8.

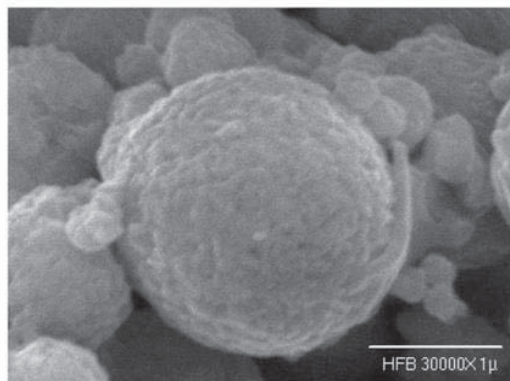


Figura 3.8 Imagen MEB en la cual puede observarse que los agregados esféricos de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ están compuestos por partículas nanométricas.

Edwards *et al.* [88] mencionan que para poder conservar los beneficios de las nanopartículas magnéticas, es importante aglomerarlas hasta tamaños del orden de 1 μm para que puedan ser introducidas en el organismo. De acuerdo a los resultados obtenidos, en la Tabla VI. la muestra que cumple con el mayor tamaño promedio de aglomerados esféricos (0.8 μm) es la muestra 7, la cual presenta también una buena calificación (9) en cuanto a la esfericidad de aglomerados, por ello podemos considerar que esta muestra cumple mas objetivamente las expectativas del procesamiento.

III.4.4 Microscopía Electrónica de Transmisión, MET

Mediante MET se llevó a cabo un análisis estructural y cristalográfico de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$. Además, fue analizada la formación de canales porosos debido al uso del surfactante Tween-20.

La Figura 3.9 A con una cuota de 0.5 μ y la Figura 3.8 B con una cuota de 0.2 μ , muestra imágenes de MET convencionales de campo claro, en la cual se aprecia la morfología esférica de los agregados de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$. En la imagen de campo claro los cristales aparecen con un contraste oscuro, ya que se orientan (en su totalidad o casi por completo) en paralelo a un eje de zona. Además, se produce el contraste por espesor, en el cual las zonas cercanas a la orilla son más delgadas y por lo tanto aparecerá más brillante.

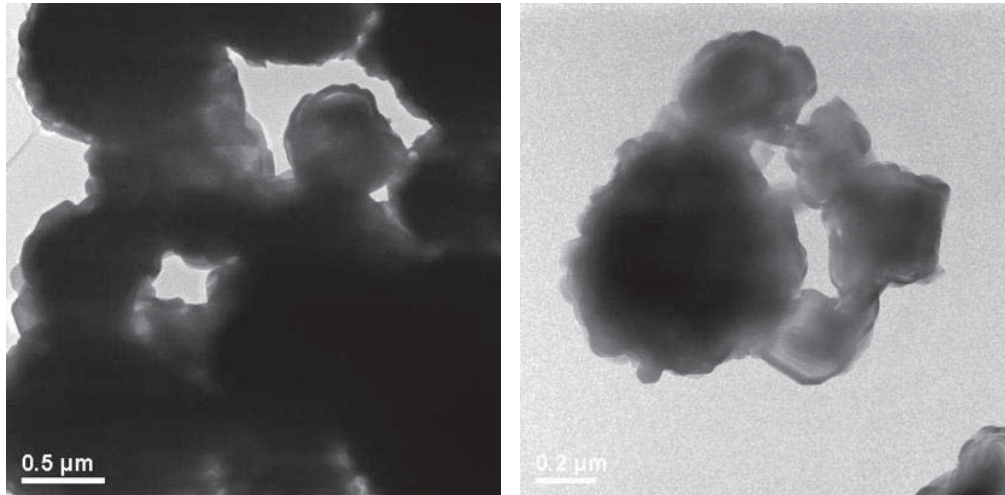


Figura 3.9 Las imágenes de MET con cuotas de 0.5μm y 0.2μm respectivamente, muestran la morfología esférica de las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉.

Para determinar la composición elemental de la muestra, fue realizado un EDS, técnica analítica que utiliza rayos X que se emiten desde la muestra al ser bombardeada por el haz de electrones. La combinación del espectro continuo y el espectro característico nos da como resultado el espectro EDS mostrado en la Figura 3.10, en el cual se muestran los picos característicos de la fase BaFe₁₂O₁₉.

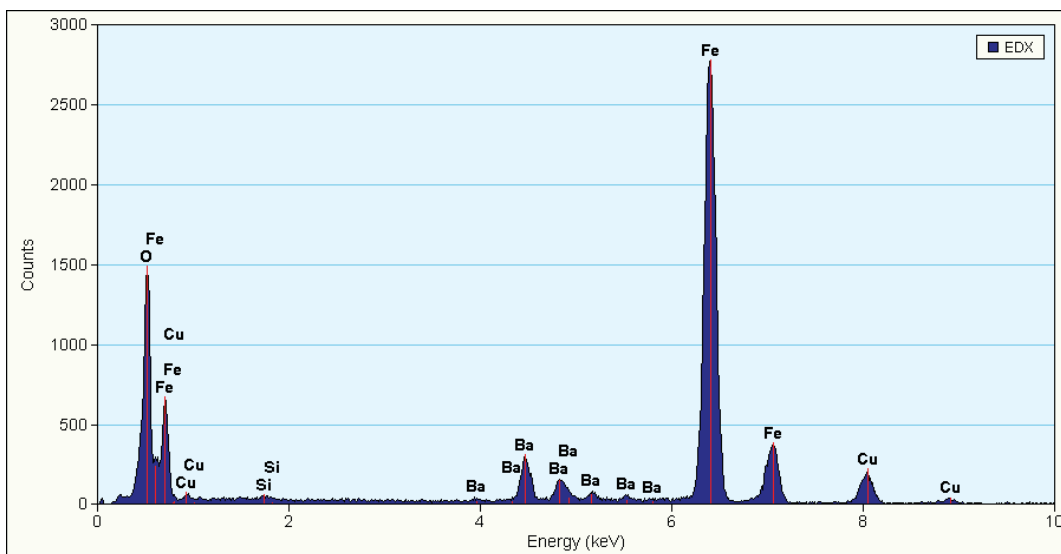


Figura 3.10 Espectro EDS mostrando los picos característicos de la fase BaFe₁₂O₁₉.

El modo de imagen de alto contraste (HRTEM) nos permite la proyección de imagen de la estructura cristalográfica de una muestra a escala atómica. Debido a su alta resolución, es una valiosa herramienta para estudiar las propiedades a escala nanométrica en los materiales cristalinos.

La Figura 3.11 muestra imágenes HRTEM de muestras de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a 1000°C . En la Figura 3.11 A con una cuota de 5 nm se muestra una imagen HRTEM en la cual se observa la presencia de canales porosos. Cuando se procesan imágenes de alta resolución en un MET, es necesario presentar su transformada, con el fin de que si se requiere procesar digitalmente la imagen, éste sea posible. La Figura 3.10 B muestra la transformada de Fourier (FFT) de los canales porosos. Al analizar la transformada inversa (IFFT) con una cuota de 2 nm de la Figura 3.11 C se determina una distancia de 1.29 nm para los canales porosos. Por otra parte, la Figura 3.11 D muestra una imagen FFT mostrando los planos (-2110), (0006) y (-2206) respectivamente. Al realizar la indización de la zona mostrada en la Figura 3.11 A, tomando como referencia la tarjeta: SCPDS No. 00-039-1433, Barium Oxide, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ [83], se encontró la presencia de la fase hexagonal, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$. Con una distancia interplanar: $d_{(-2110)} = 0.29\text{nm}$, $d_{(0006)} = 0.42\text{ nm}$ y $d_{(-2206)} = 0.23\text{ nm}$ tal y como se puede observar en la imagen IFFT de la Figura 3.10 E.

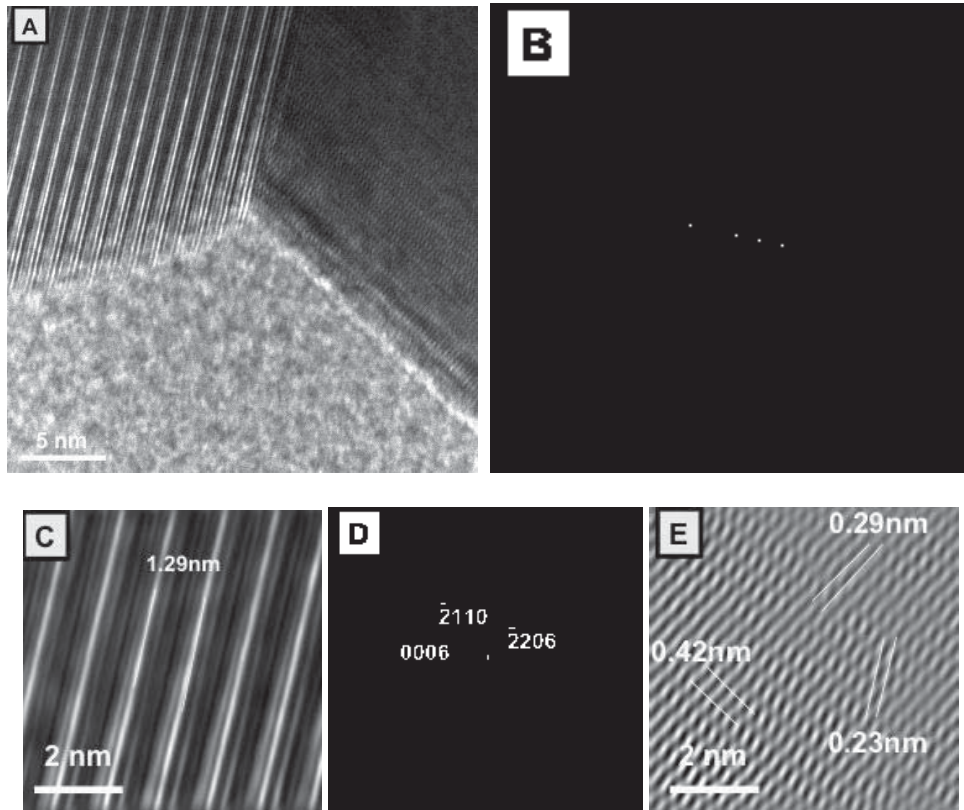


Figura 3.11 Imágenes HRTEM de una muestra de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a temperatura de $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ver descripción en el texto).

La Figura 3.12 muestra imágenes HRTEM de una muestra de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$. La Figura 3.12 A con una cuota de 5 nm muestra la imagen HRTEM. La Figura 3.11 B muestra una imagen FFT mostrando los planos (006), (206) y (221), respectivamente. Al realizar la indexación de la zona mostrada en la Figura 3.12 A, tomando como referencia la tarjeta: JCPDS No. 00-022-0132, Barium Oxide, BaFe_2O_4 [83], se encontró la presencia de la fase ortorrómbica, BaFe_2O_4 . Con una distancia interplanar: $d_{(206)} = 0.41\text{ nm}$, $d_{(221)} = 0.23\text{ nm}$ y $d_{(006)} = 0.28\text{ nm}$ tal y como se puede observar en la imagen IFFT de la Figura 3.12 C.

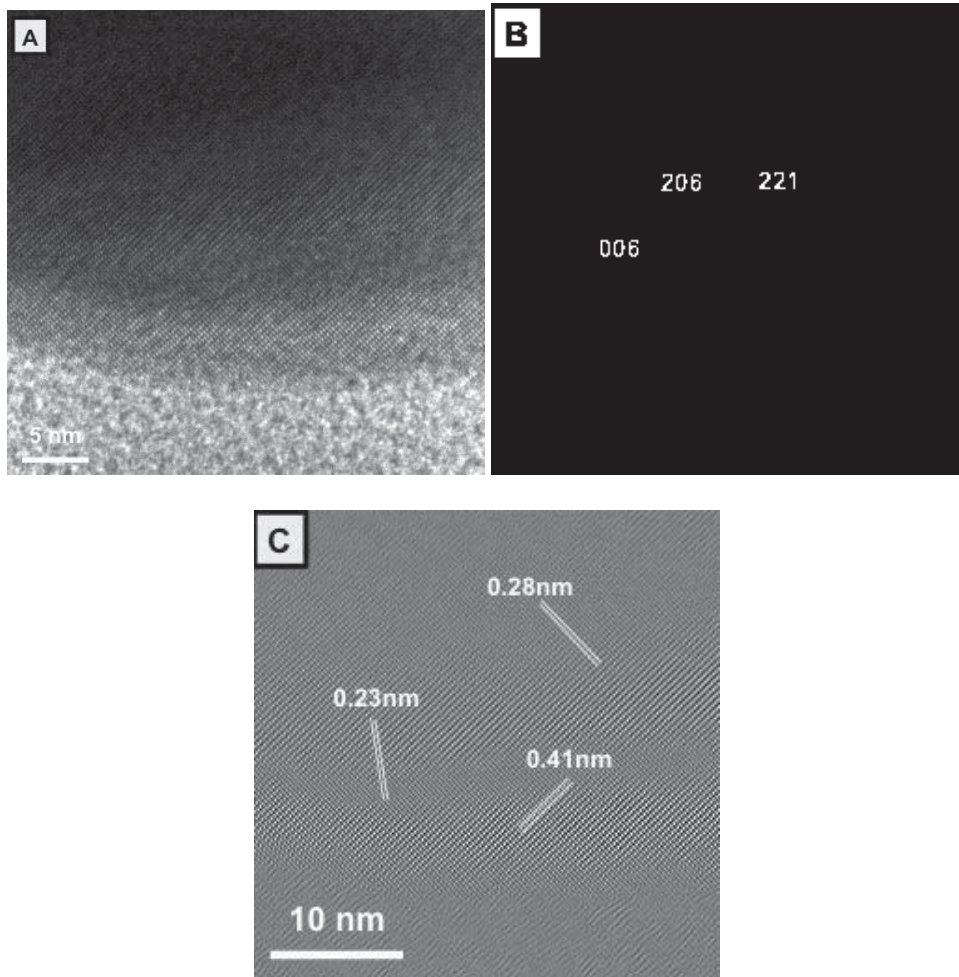


Figura 3.12 Imágenes HRTEM de una muestra de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a temperatura de $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ver descripción en el texto).

La Figura 3.13 muestra imágenes HRTEM de una muestra de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$. La Figura 3.13 A con una cuota de 5 nm muestra la imagen HRTEM en la cual se puede observar la presencia de canales porosos. La Figura 3.13 B muestra la imagen FFT. Al procesar la imagen IFFT con una cuota de 10 nm de la Figura 3.13 C se determina una distancia de 1.25 nm para los canales porosos.

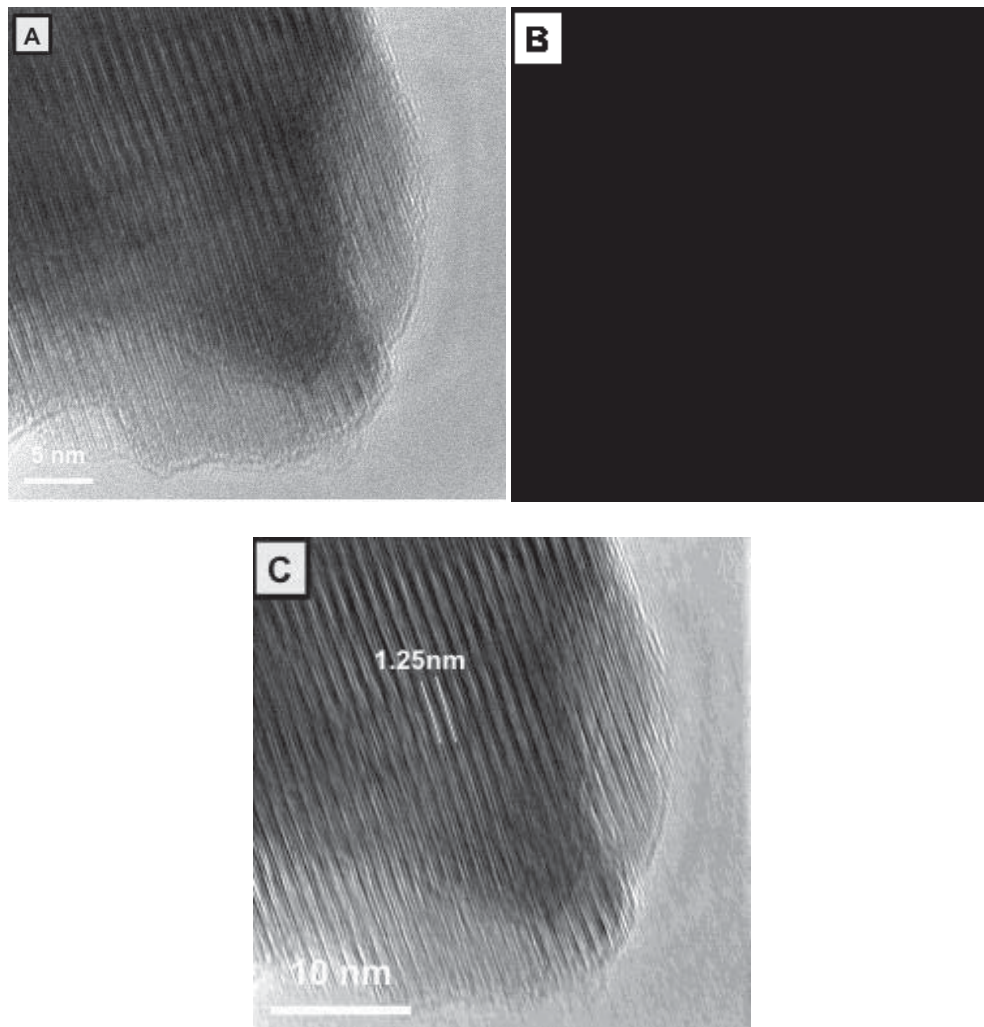


Figura 3.13 Imágenes HRTEM de una muestra de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a temperatura de $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ver descripción en el texto).

La Figura 3.14 muestra imágenes HRTEM de una muestra de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$. La Figura 3.14 A con una cuota de 5 nm muestra la imagen HRTEM. La Figura 3.14 B muestra una imagen FFT mostrando los planos (-2110) , (-1100) y (-2205) , respectivamente. Al realizar la indización de la zona mostrada en la Figura 3.14 A, tomando como referencia la tarjeta: JCPDS No. 00-039-1433, Barium Oxide, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ [83], se encontró la presencia de la fase hexagonal,

BaFe₁₂O₁₉. Con una distancia interplanar: $d_{(-1100)} = 0.28 \text{ nm}$, $d_{(-2205)} = 0.39 \text{ nm}$ y $d_{(-2110)} = 0.40 \text{ nm}$ tal y como se puede observar en la imagen IFFT de la Figura 34 C.

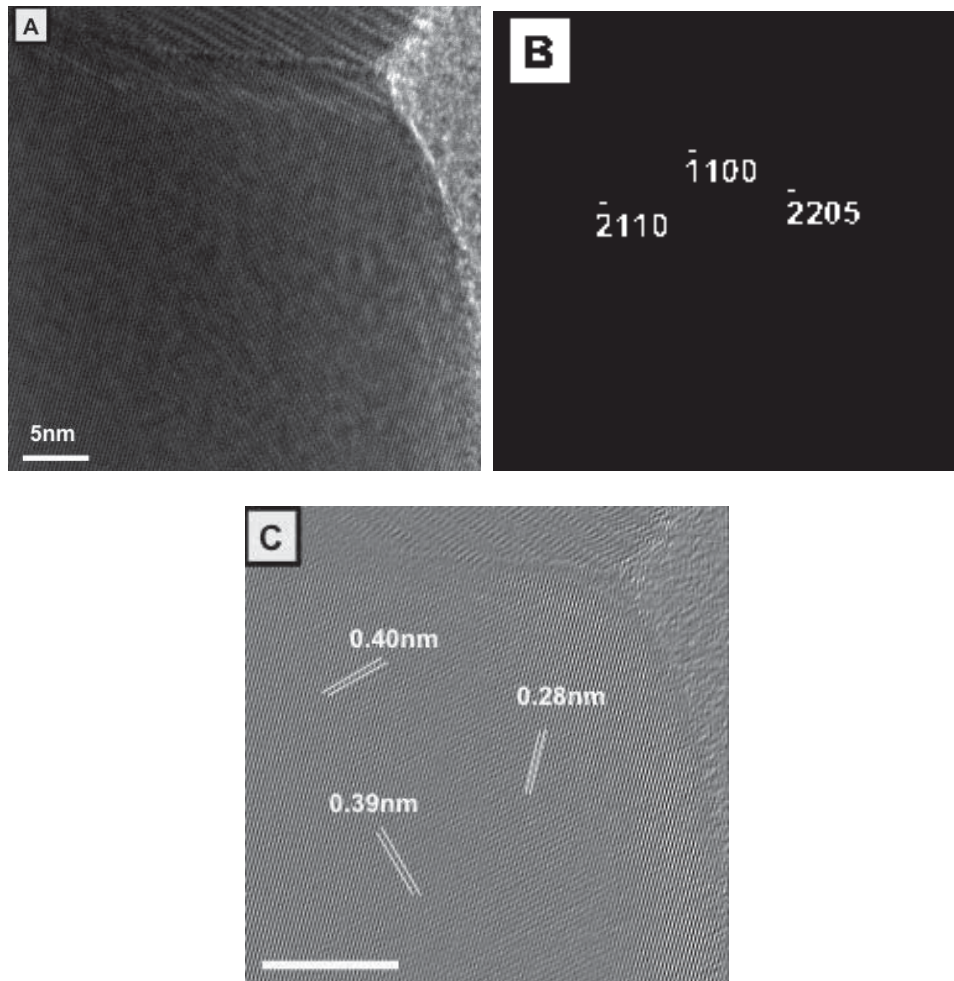


Figura 3.14 Imágenes HRTEM de una muestra de polvos de BaFe₁₂O₁₉ tratadas térmicamente a temperatura de 1100 °C (ver descripción en el texto).

La Figura 3.15 muestra imágenes HRTEM de una muestra de nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ tratadas térmicamente a 1200 °C. La Figura 3.15 A con una cuota de 5 nm muestra la imagen HRTEM en la cual se puede observar la presencia de canales porosos. La Figura 3.14 B muestra la imagen FFT. Al procesar la imagen IFFT con una cuota de 2 nm de la Figura 3.15 se determina una distancia de 1.23 nm para los canales porosos.

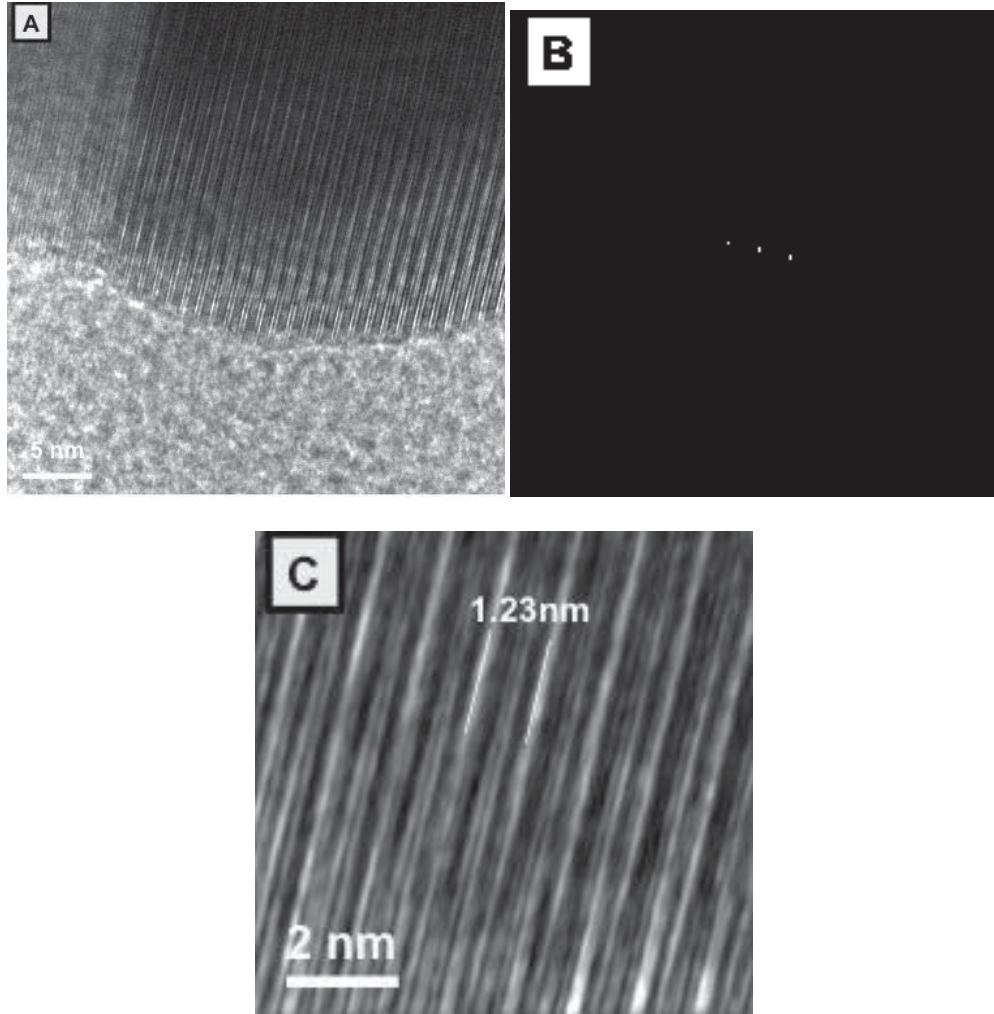


Figura 3.15 Imágenes HRTEM de una muestra de polvos de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a temperatura de $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ver descripción en el texto).

La Figura 3.16 muestra imágenes HRTEM de una muestra de nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tratadas térmicamente a $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$. La Figura 3.16 A con una cuota de 5 nm muestra la imagen HRTEM. La Figura 3.15 B muestra una imagen FFT mostrando los planos (-2110) y (0006) , respectivamente. Al realizar la indización de la zona mostrada en la Figura 3.16 A, tomando como referencia la tarjeta: JCPDS No. 00-039-1433, Barium Oxide, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ [83], se encontró la presencia de la fase hexagonal,

BaFe₁₂O₁₉. Imagen IFFT de la Figura 3.16 C muestra las distancias interplanares: $d_{(-110)} = 0.36 \text{ nm}$ y $d_{(0006)} = 0.29 \text{ nm}$.

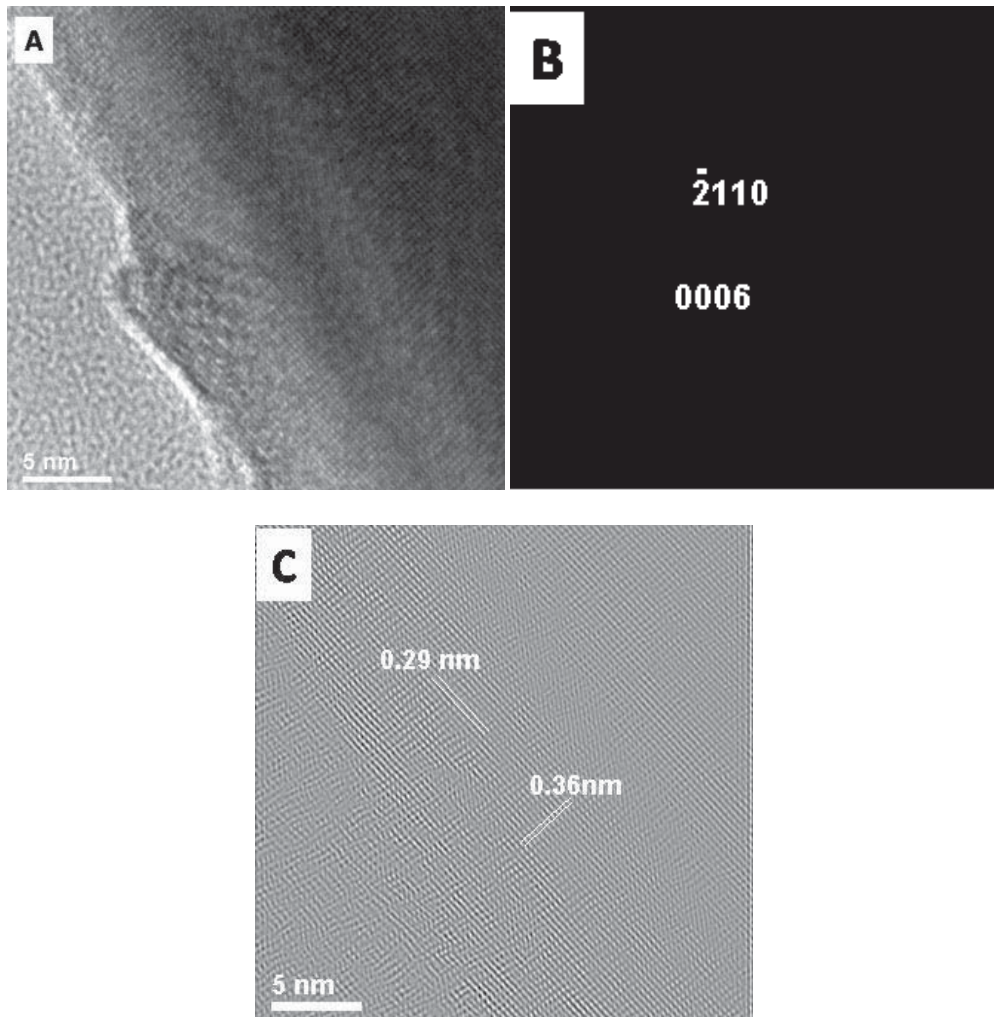


Figura 3.16 Imágenes HRTEM de una muestra de polvos de BaFe₁₂O₁₉ tratadas térmicamente a temperatura de 1200 °C (ver descripción en el texto).

III.4.5 Potencial zeta

La Figura 3.17 muestra las mediciones de potencial zeta para los sistemas BaFe₁₂O₁₉-Agua y Tetraciclina-Agua. Puede ser observado que las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ exhiben una carga superficial positiva para un pH superior a 3.6 donde el punto de carga cero o punto isoeléctrico (PI) aparece. En el rango de pH de 3.7 hasta 7 las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ adquieren una carga negativa, y a este pH un segundo PI es observado.

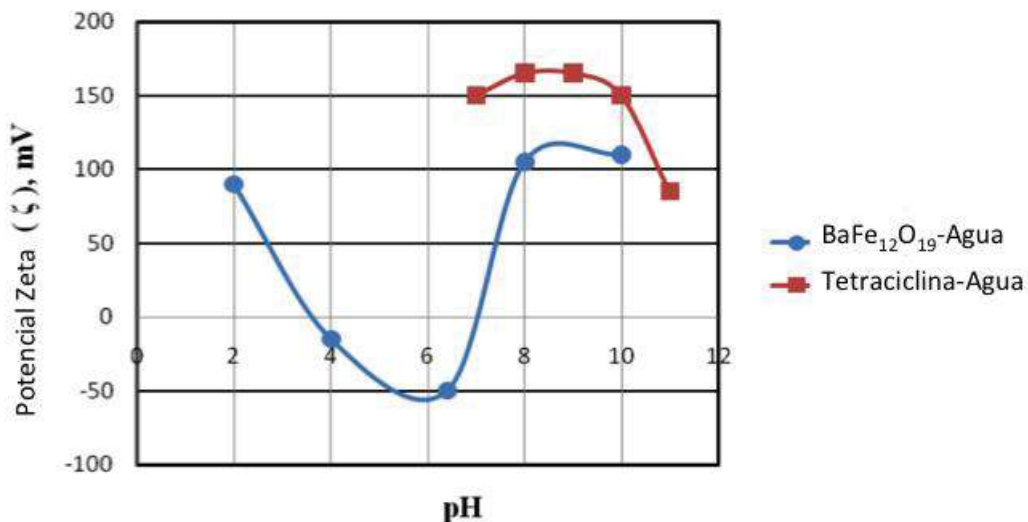


Figura 3.17 Mediciones de potencial zeta para los sistemas BaFe₁₂O₁₉-Agua y Tetraciclina-Agua.

En el caso del sistema Tetraciclina-Agua, las partículas muestran únicamente valores de potencial zeta positivo en el rango de pH probado en el presente estudio. Como es mostrado en la Figura 3.16 los valores de carga superficial máxima son alcanzados en el rango de pH a partir de 8 hasta 10.

Con respecto a lo anterior, es posible establecer que las moléculas de tetraciclina serán adsorbidas sobre las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ en el rango de pH de 6.5 a 7, donde las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ presentan una carga superficial negativa (-) y las moléculas de tetraciclina muestran una carga superficial positiva (+).

III.5 Pruebas de adsorción y liberación de medicamento.

La capacidad de adsorción de los polvos de BaFe₁₂O₁₉ fue observada al analizar la disminución en los valores de densidad óptica de una solución de tetraciclina en contacto con las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉. La concentración de Tetraciclina utilizada fue de 10 mg/mL, lo cual asegura la muerte de las bacterias al estar en contacto. La Figura 3.18 muestra la disminución en la D.O. cuando las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ y la Tetraciclina estuvieron en contacto. La disminución de D.O. indica que la Tetraciclina está siendo adsorbida por las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉. Además, puede observarse en la gráfica que a los 60 minutos las nanopartículas de BaFe₁₂O₁₉ ya han adsorbido toda la Tetraciclina posible, alcanzando su saturación.

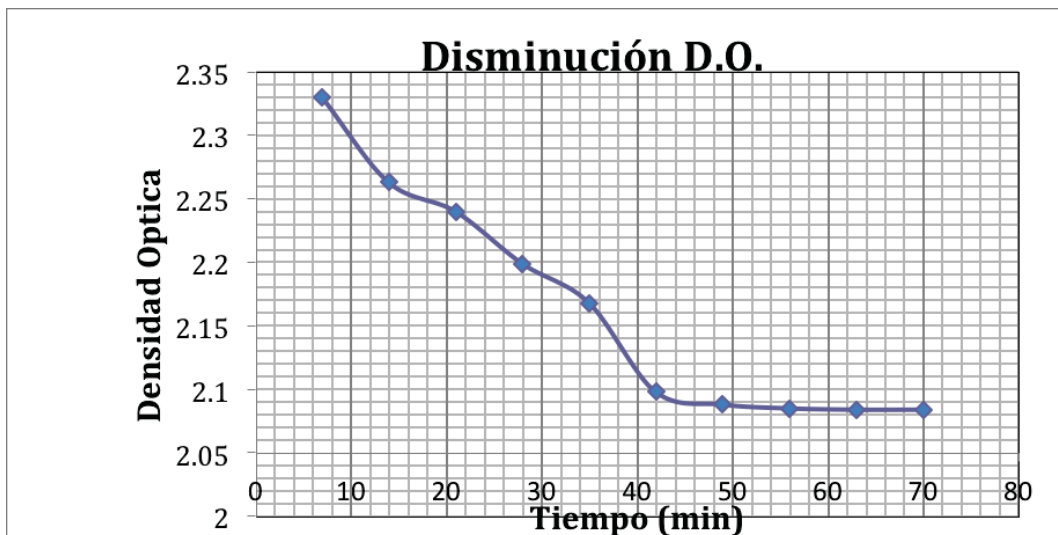


Figura 3.18 Gráfica que muestra la disminución de tetraciclina. Indicando que esta es adsorbida sobre las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$.

Una vez cargadas las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ con Tetraciclina, éstos fueron colocados en el medio de cultivo de *Escherichia coli* para probar su liberación. Las Figuras 3.19 y 3.20 muestran el efecto que tienen las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ cargadas con tetraciclina sobre el crecimiento de la bacteria. En estas figuras, una disminución en la densidad óptica del medio de cultivo de *Escherichia coli* indica la inhibición y muerte de la bacteria. En la Figura 3.19, se observa una disminución en la D.O. cuando las bacterias estuvieron en contacto con las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ cargadas con tetraciclina al igual que cuando estuvieron en contacto con nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ sin tetraciclina. Sin embargo, la disminución en la D.O. fue mas notable cuando las bacterias estuvieron en contacto con las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ cargadas. La Figura 3.20, muestra la curva de crecimiento expresada en UFC, evaluada como una cinética del número UFC en función del tiempo, esta cinética corresponde a un comportamiento normal de crecimiento alcanzando un valor máximo a los 40 min y decreciendo después. Esta curva se ve modificada en los medios que contienen nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ con y sin tetraciclina. En presencia de las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$, las bacterias presentan un comportamiento totalmente diferente, disminuyendo inicialmente las unidades formadoras de colonias hasta presentar un mínimo a los 40 min para después incrementarse gradualmente. Cuando se incluyen en

el medio las nanopartículas de $BaFe_{12}O_{19}$ cargadas con tetraciclina, el comportamiento de la curva de crecimiento cambia por completo ya que desde los primeros minutos se presenta un efecto que sugiere la inhibición y muerte de la bacteria deduciéndose que la liberación de medicamento se da de una forma gradual.

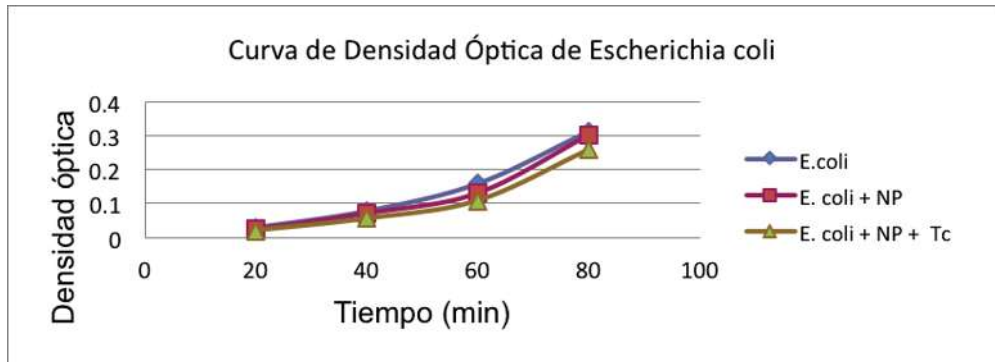


Figura 3.19 Curva de densidad óptica de la *Escherichia coli*.

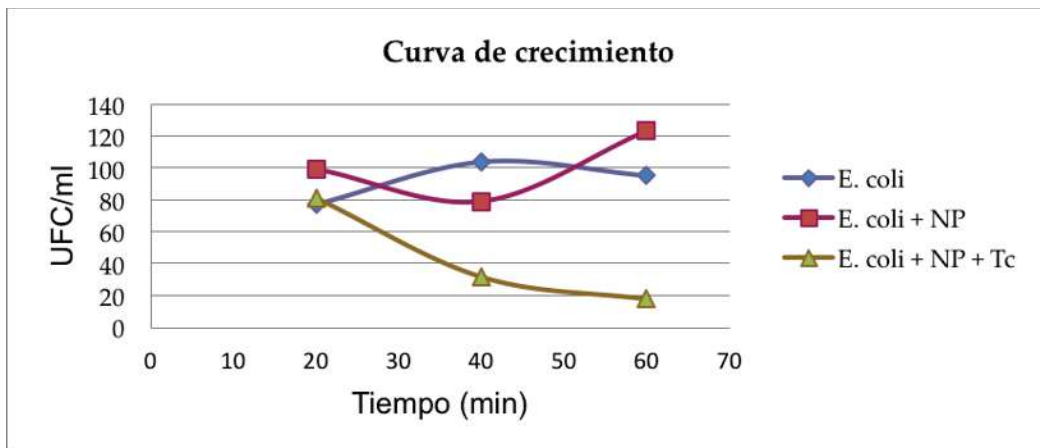


Figura 3.20 Curva de crecimiento de *Escherichia coli*.

CAPITULO IV. CONCLUSIONES

IV CONCLUSIONES

Al término del proyecto, se determinó que las condiciones de secado por aspersión evaluadas mediante el diseño experimental 2^k más adecuadas para sintetizar esferas biocerámicas de hexaferrita de bario, $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, son un pH de 9 de la suspensión coloidal, temperatura interna de secado por aspersión de 170 °C y una atmósfera absoluta de 2 Kg/cm². Lo anterior, debido a que bajo estos parámetros de operación se logra obtener una morfología de agregados esféricos nanoestructurados ideales para el transporte de medicamento. Se establece que el uso del surfactante tween-20 promueve la formación de canales porosos de estos agregados.

Se determinó mediante DRX que la temperatura de mas adecuada para lograr una mayor cantidad de fase hexagonal (H), $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, es la temperatura de 1100 °C, puesto que a las demás temperaturas prevalece en mayor cantidad la fase no deseada, la fase ortorrómbica, BaFe_2O_4 . Prefiriéndose la fase hexagonal (H) sobre la fase ortorrómbica (O), por la razón, de que la fase hexagonal promueve en mayor medida las propiedades superparamagnéticas en los materiales.

De los resultados obtenidos del comportamiento magnético de este material, las curvas de histéresis nos indicaron que a la temperatura de 1100 °C, se obtiene un material sin comportamiento superparamagnético, que de ser aplicado, podría presentar algunos problemas.

Por lo tanto, tomando en cuenta el estudio de determinación de propiedades magnéticas, observamos que la temperatura adecuada para no perder las propiedades de superparamagnetismo es la de 800 °C.

Por otra parte, el tamaño micrométrico de los aglomerados esféricos de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ obtenidas en fase hexagonal permitirá que estas sean capaces de ser liberadas a los pulmones o bien ser introducidas al torrente sanguíneo liberando las nanopartículas en el cuerpo.

A partir de los resultados obtenidos del estudio de potencial zeta, concluye que para que la tetraciclina sea posible ser adsorbida en las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ de manera eficiente se debe trabajar a un rango de pH de 6.5-7, puesto que a este valor de pH se tiene una carga superficial negativa (-) de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ y una carga superficial positiva (+) de las moléculas de Tetraciclina, se promueve la adsorción de partículas de Tetraciclina sobre las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, no así a otros valores de pH donde la carga es la misma o muy cercana provocando la repulsión de las partículas de tetraciclina sobre las partículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$. Por lo tanto, los resultados experimentales muestran que la carga superficial de las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ puede ser manipulado mediante la modificación del pH del medio para promover su asociación futura con las nanopartículas de tetraciclina sobre las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de adsorción y liberación de medicamento. Al presentarse un decremento en las mediciones de densidad óptica, nos indica que las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ son capaces de adsorber la tetraciclina y que cuando éstas son colocadas en un medio de cultivo de *Escherichia coli* y observarse inhibición en el crecimiento y muerte de la bacteria nos indica que la liberación de la tetraciclina se está llevando a cabo. Por esta parte, las nanopartículas de $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tienen la capacidad de ser usadas como sistemas de liberación de medicamento.

V REFERENCIAS

- [01] Jeff Morris, Jim Willis. U.S. Nanotechnology White Paper. EPA, *Environmental Protection Agency*. February 2007.
- [02] Hassan M.E. Azzazy, Mai M.H. Mansour. *In vitro diagnostic prospects of nanoparticles*. *Clinica Chimica. Acta* 403 (2009) 1–8
- [03] Xiang Li, Nicolas Anton, CordinArpagaus, FabriceBelleteix and Thierry F. *Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90*. Vandamme. *Journal of Controlled Release* 147 (2010) 304–310
- [04] Conroy Sun, Jerry S.H. Lee, Miqin Zhang. *Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery*. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1252–1265.
- [05] Ming Ma, Yu Zhang, Wei Yu, Hao-ying Shen, Hai-qian Zhang, Ning Gu. *Preparation and characterization of magnetite nanoparticles coated by amino silane*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 212 (2003) 219-226
- [06] Emily J. Anglin, Lingyun Cheng, William R. Freeman, Michael J. Sailor. *Porous silicon in drug delivery devices and materials*. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 60 (2008) 1266–1277.
- [07] Albert Figuerola, Riccardo Di Corato, Liberato Manna, Teresa Pellegrino, *From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications*. *Pharmacological Research* 62 (2010) 126–143
- [08] Maham Rahimi, PhD, Aniket Wadajkar, MS, Khaushik Subramanian, MS, Monet Yousef, BS, Weina Cui, PhD, Jer-Tsong Hsieh, PhD, Kytai Truong Nguyen, PhD. *In vitro evaluation of novel polymer-coated magnetic nanoparticles for controlled drug delivery*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 6 (2010) 672–680

- [09] Boretos, J.W., Eden, M. *Contemporary Biomaterials, Material and Host Response, Clinical Applications, New Technology and Legal Aspects*. Noyes Publications, Park Ridge, NJ (1984), 232–233.
- [10] Sujata V. Bhat. *Biomaterials, second edition*. Ed. Alpha Science International Ltd. U.S. 2005
- [11] Joon Park, R. S. Lakes., *Biomaterials: an introduction, third edition*. Ed. Springer. U.S. 2007
- [12] Buddy D. Rather., *Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine*. Ed. Academic Press. 2004
- [13] F. H. Silver, and D. L. Christiansen, *Biomaterials Science and Biocompatibility*, Springer publication, London, UK, 1999.
- [14] Joon Bu Park., Joseph D. Bronzino., *Biomaterials: principles and applications*. Ed. CRC Press, 2003
- [15] Bikramjit Basu., Dharendra S. Katti, Ashok Kumar., *Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing, and Applications*. Ed. John Wiley and Sons. 2009
- [16] Nesrin Hasirci, Vasif Hasirci., *Biomaterials: from molecules to engineered tissues*, Volumen 2003., Ed. Kluwer Academic/ Plenum Publishers. 2004
- [17] Cooke F.W., Lemons J.E., and Ratner B.D., *Properties of Materials in Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Ratner, B.D., Homan, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E., (eds.) Academic Press, New York, NY (1996), 11–35.
- [18] Jeffrey O. Hollinger., *An introduction to Biomaterials.*, Ed. CRC Press, U.S. 2011
- [19] J. S. Temenoff, Antonios G. Mikos., *Biomaterials: the intersection of biology and materials science.*, Ed. Pearson/ Prentice Hall. 2008

- [20] D. F. Williams, *Definitions in Biomaterials, Progress in Biomedical Engineering*, Elsevier Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 1987.
- [21] Cam E. Vellotis., *Drug Toxicity: new research.*, Ed. Nova Publishers. U.S. 2008.
- [22] Sheila O'Hare, Chris K. Atterwil., *In vitro toxicity testing protocols.*, Volume 43 of Methods in Molecular Biology. Ed. Humana Press. 1995
- [23] Jason R. McCarthy, Ralph Weissleder. *Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted imaging and therapy.* Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008) 1241–1251
- [24] Sujata K. Bhatia., *Biomaterials for clinical applications.*, Ed. Springer. 2010.
- [25] Gerhard Rakhorst, Rutger Ploeg., *Biomaterials in moder medicine, the groningen perspective.*, Ed. World scientific. 2008.
- [26] Ratner, B.D. ‘*New ideas in biomaterials science—a path to engineered biomaterials.*’ Journal of Biomedical Materials Research: 27 (1993), 837–850.
- [27] Peppas, N.A., Langer, R. ‘*New Challenges in Biomaterials*’, Science: 263 (1994), 1715–1720.
- [28] Alexander H., Brunski J.B., Cooper S.L., Hench L.L., Hergenrother R.W., Hoemann A.S., Kohn J., Langer R., Peppas N.A., Ratner B.D., Shalaby S.W., Visser S.A., and Yannas I.V., *Classes of materials used in medicine. In Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Ratner, B.D., Hoemann, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E., (eds.) Academic Press, New York, NY (1996), pp. 37–130.
- [29] Jun Wang, Yue Chen, Bao-An Chen, Jiahua Ding, Guohua Xia, Chong Gao, Jian Cheng, Nan Jin, Ying Zhou, Xiaomao Li, Meng Tang, Xue Mei Wang. *International Journal of Nanomedicine* 2010:5 861–866.
- [30] Lanlin Zhang, *Ferrites for UHF applications.* Inorganic Materials Science, 2006.

- [31] S. Hisano and K. Saito, *J. Magn. Magn. Mater.* 190 (1998) 371
- [32] N. Spaldin, *Magnetic material: fundamentals and device applications*. Cambridge University Press, 2003.
- [33] Ali Ghasemi, Reza Shams Alam and Akimitsu Morisako. *Physica B: Condensed Matter*, Volume 403, issue 18, 1 September 2008, Pages 2987-2990.
- [34] Mangui Han, Yu Ou, Wenbing Chen and Longjiang Deng. *Journal of Alloys and Compounds*. Volume 474, Issues 1-2, 17 April 2009, Pages 185-18.
- [35] J. Dufou, C. Negro, R. Latorre, F. López-Mateos y A. Formoso. *Procesos de obtención de ferritas hexagonales tipo M*. *Rev. Metal. Madrid*, 31 (2), 19
- [36] M. A. Plonus. *Applied Electromagnetics*, Tokio, Japan, McGraw-Hill (1978) 615.
- [37] Rolf E. Hummel. *Electronics Properties of Materials*. Springer-Verlag, 1985
- [38] É. du Trémolet de Lacheisserie, D. Gignoux –M. Schlenker., *Magnetism: Fundamentals, Volumen I*. Ed. Springer. 2007
- [39] É. du Trémolet de Lacheisserie, D. Gignoux –M. Schlenker., *Magnetism: Materials and applications*
- [40] R. C. Patnaik, R K Das, R. L. Hota and G. S. Tripathi. *Theory of anisotropic diamagnetism, local moment magnetization and carrier spin-polarization in $Pb_{1-x}Eu_xTe$* . *Mathematics and Statistics*. Volume 57, Number 4, 795-808.
- [41] I. N. Mulay. *Diamagnetism of some isoelectronic compounds*. *Mathematics and Statistics*. Volume 34, Number 4, 245-249.
- [42] Charles Kittel, *Introduction to Solid State Physics*. Wiley: New York, 1996.

- [43] Amikam Aharoni., *Introduction to the theory of ferromagnetism, second edition.*, Ed. Oxford University Press. 2000
- [44] John David Jackson, *Classical Electrodynamics*. Wiley: New York, 1999
- [45] E. P. Wohlfarth, ed., *Ferromagnetic Materials*. North-Holland, 1980
- [46] Chad. D. Graham, *Physics of ferromagnetis.*, Oxford University Press, 2009
- [47] Nicola A. Spaldin., *Magnetic Materials: Fundamentals and applications.*, Ed. Cambridge University Press, 2010.
- [48] B. D. Cullity, C.D. Graham., *Introduction to Magnetic Materials.*, Ed. John Wiley and Sons. 2011.
- [49] Perez J M, Simeone F J, Saeki Y, Josephson L and Weissleder R 2003 *J. Am. Chem. Soc.* 125 10192–3
- [50] Weissleder R, Lee A S, Fischman A J, Reimer P, Tueng S, Wilkinson R, Callahan R and Brady T J 1991 *Radiology* 181 245–9
- [51] Perez J M, Josephson L, O'Loughlin T, Hogemann D and Weissleder R 2002 *Nat. Biotechnol.* 20 816–20
- [52] Gossuin Y, Gillis P, Hocq A, Vuong Q. L. and Roch A 2009 *Nanomed. Nanobiotechnol.* 1 299–310
- [53] Tartaj P, Morales M D P, Veintemillas-Verdaguer S, Gonzalez-Carreño T and Serna C J 2003 *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36 R182–97
- [54] Park J, An K, Hwang Y, Park J G, Noh H J, Kim J Y, Park J H, Hwang N M and Hyeon T 2004 *Nat. Mater.* 3 891–5

[55] Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Vander , Elst L and Muller R N 2008 *Chem. Rev.* 108 2064–110

[56] Ferry Iskandar, *Control of the morphology of nanostructured particles prepared by the spray drying of a nanoparticle sol*, *Journal of Colloid and Interface Science.* 265 (2003) 296–303.

[57] Liz-Marzan, L. M. and Kamat, P. V. *Nanoscale Materials*. Kluwer Academic Publishers, Boston, 2003.

[58] Burtrand I. Lee, Edward J. A. Pope. *Chemical Processing of Ceramics*. Marcel Dekker, Inc. New York. Basel. Hong Kong, 1994.

[59] John D. Wright and Nico M. *Sol-Gel Materials Chemistry and applications*. USA, New York, 2005.

[60] Alain C. Pierre. *Introduction To Sol-Gel Processing*. Ed. Kluwer Academic Publishers. Boston/London. 2002

[61] Takuto Mizoe, Tetsuya Ozeki, Hiroaki Okada. *Preparation of drug nanoparticle-containing microparticles using a 4-fluid nozzle spray drier for oral, pulmonary, and injection dosage forms*. *Journal of Controlled Release.* 122 (2007) 10–15

[62] Mangui Han, Yu Ou, Wenbing Chen, Longjiang Deng. *Magnetic properties of Ba-M-type hexagonal ferrites prepared by the sol-gel method with and without polyethylene glycol added*. *Journal of Alloys and Compounds* 474 (2009) 185–189

[63] Ali Ghasemia, Reza Shams Alama, Akimitsu Morisakob. *Preparation and magnetic properties of hexagonal barium ferrite films using BaM nanoparticles*. *Physica B* 403 (2008) 2987–2990.

- [64] Yunchen Du, Haibin Gao, Xinrong Liu, Jingyu Wang, Ping Xu, Xijiang Han. *Solvent-free synthesis of hexagonal barium ferrite (BaFe₁₂O₁₉) particles*. J Mater Sci (2010) 45:2442–2448.
- [65] Tetsuya Osaka, Tadashi Matsunaga, Takuya Nakanishi, Atsushi Arakaki, Daisuke Niwa, Hironori Iida. *Synthesis of magnetic nanoparticles and their application to bioassays*. Anal. Bioanal Chem (2006) 384: 593–600.
- [66] Jun Wang, Yue Chen, Baoan Chen, Jiahua Ding, Guohua Xia, Chong Gao, Jian Cheng, Nan Jin, Ying Zhou, Xiaomao Li, Meng Tang, Xue Mei Wang. *Pharmacokinetic parameters and tissue distribution of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles in mice*. International Journal of Nanomedicine 2010:5 861–866
- [67] Bao-An Chen, Nan Jin, Jun Wang, Jiahua Ding, Chong Gao, Jian Cheng, Guohua Xia, Feng Gao, Yin Zhou, Yue Chen, Guina Zhou, Xiaomao Li, Yu Zhang, Men Tang, and Xuemei Wang. *The effect of magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ on immune function in normal ICR mice*. International Journal of Nanomedicine 2010:5 593–599.
- [68] Q. Mohsen. *Factors Affecting the Synthesis and Formation of Single-Phase Barium Hexaferrite by a Technique of Oxalate Precursor*. American Journal of Applied Sciences 7 (7): 914-921, 2010
- [69] M Vimal Kumar Varma, P Amareshwar and Raj Kumar Devara. *Synthesis and Characterization of Magnetic Methyl Methacrylate Microspheres Loaded with Indomethacin by Emulsion Solvent Evaporation Technique*. International Journal of Drug Delivery 3 (2011) 101-108
- [70] Arun Kumar, Prasanna K. Jena, Sumita Behera, Richard F. Lockey, MDa,d, Subhra Mohapatra and Shyam Mohapatra., *Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted delivery.*, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 6 (2010) 64–69
- [71] Yogesh B. Patil, Udaya S. Toti, Ayman Khdair, Linan Ma, Jayanth Panyam., *Single-step surface functionalization of polymeric nanoparticles for targeted drug delivery*. Biomaterials 30 (2009) 859–866

- [72] P. Guardiaa, B. Batlle-Brugala, A.G. Rocab, O. Iglesiasa,, M.P. Moralesb, C.J. Sernab, A. Labartaa, X. Batllea., *Surfactant effects in magnetite nanoparticles of controlled size*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials 316 (2007) e756–e759.
- [73] J. Dufour, C. Negro, R. Latorre, F. López-Mateos y A. Formoso., *Procesos de obtención de ferritas hexagonales tipo M*. *Rev. Metal. Madrid*, 31 (2), 1995.
- [74] Omid Veiseh, Jonathan W. Gunn, Miqin Zhang, *Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging.*, *Advanced Drug Delivery Reviews* 62 (2010) 284–304
- [75] A. Ataie & A. Mali., *Characteristics of barium hexaferrite nanocrystalline powders prepared by a sol-gel combustion method using inorganic agent.*, *J Electroceram* (2008) 21:357–360.
- [76] ZHONG Min-jian, XU Guo-qing, MA Hong-liang, ZHOU Jiong, YUE Zhong-yue and HE Zheng-ming., *Influence of citric acid content on magnetic properties of BaFe₁₂O₁₉ powder prepared by sol-gel auto-combustion method.*, *Journal of Shanghai University (English Edition)*, 2007, 11(3): 263–267.
- [77] Melania Babincova, Peter Babinec., *Magnetic drug delivery and targeting: principles and applications.*, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2009 Dec; 153(4):243–250.
- [78] F. Pierigè, S. Serafini, L. Rossi, M. Magnani., *Cell-based drug delivery.*, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 286–295
- [79] Ghaleb A. Husseini, William G. Pitt, *Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery.*, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1137–1152.
- [80] McFarland and C. Brandli, *Progress in sol-gel production*, Trans Tech Publications, U.S. 2009.

- [81] American Elements., *The world's manufacturer of engineered and advanced materials.*, Barium Iron Oxide Nanopowder
- [82] Ana Paula Pereira Fulco, José Daniel Diniz Melo, Carlos Alberto Paskocimas, Suzana Nóbrega de Medeiros, Fernando Luis de Araujo Machado and Alexandre Ricalde Rodrigues., *Addition of magnetic markers for non-destructive evaluation of polymer composites.*, Mat. Res. vol.14 no.4 São Carlos Oct./Dec. 2011 Epub Oct 28, 2011.
- [83] Patrones de Difracción de Rayos X, DRX, UMSNH, IIM
- [84] G. Salazar-Alvarez, J. Qin, V. Šepelák, I. Bergmann, M. Vasilakaki, K. N. Trohidou, J. D. Ardisson, W. A. A. Macedo, M. Mikhaylova, M. Muhammed, M. D. Baró, J. Nogués, *Cubic versus spherical magnetic nanoparticles: The role of surface anisotropy.* J. Am. Chem. Soc. 130 (2008).
- [85] G. A. Ozin, A. C. Arsenault, L. Cademartiri, *Nanochemistry, A Chemical Approach to Nanomaterials.* RSC Publishing, Cambridge, 2009.
- [86] Klaus Dieter Becker, *Nanocrystalline oxides prepared by mechanochemical reactions* Von der Fakultät für Lebenswissenschaften der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina, 2010.
- [87] M. Drogenik, M. Kristl, A. Žnidaršič, D. Hanžel, D. Lisjak, *Hydrothermal synthesis of Ba-hexaferrite nanoparticles.* J. Am. Ceram. Soc. 90 (2007) 2057.
- [88] Q. Song, Z. J. Zhang, *Shape control and associated magnetic properties of spinel cobalt ferrite nanocrystals.* J. Am. Chem. Soc. 126 (2004) 6164.
- [89] David A. Edwards, *et al.* *Science* 276, 1868 (1997); DOI: 10.1126/science.276.5320.1868 “*Porous nanoscale drug delivery platforms for the therapeutic treatment of and vaccination against infectious disease*”.