



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES

**SÍNTESIS DE AGREGADOS NANOESTRUCTURADOS SUPERPARAMAGNÉTICOS
DE $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ POR SOL-GEL Y LIOFILIZACIÓN PARA SU APLICACIÓN COMO
PORTADORES DE FÁRMACOS**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES**

PRESENTA:

ING. INTI EMMANUEL CORREA CORREA

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. MARÍA EUGENIA DE LA SALUD CONTRERAS GARCÍA

CO-DIRECTOR DE TESIS:

D.C. MARIO EDUARDO ABAD JAVIER

Morelia, Michoacán, febrero 2022





Instituto de Investigación
en Metalurgia y Materiales

Of. Num. IIMM-025-2022

Morelia, Mich., a 10 de enero de 2022

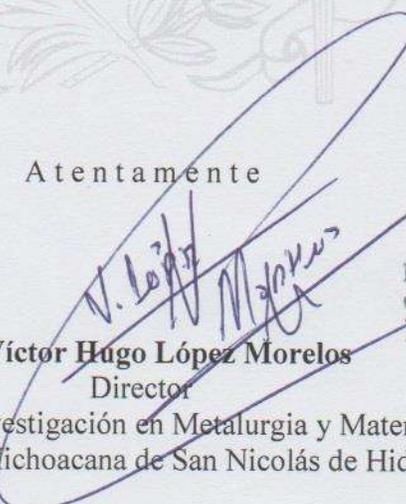
C. ING. INTI EMMANUEL CORREA CORREA
Presente

Por medio de la presente, esta dirección del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, tiene a bien informarle que para presentar su examen de grado de Maestría en Metalurgia y Ciencias de los Materiales con la tesis titulada: **“Síntesis de agregados nanoestructurados supermagnéticos de NiCuFe₂O₄ por sol-gel y liofilización para su aplicación como portadores de fármacos”**, le ha sido asignada la siguiente mesa sinodal:

76005461	DRA. MA. EUGENIA CONTRERAS GARCIA	(PRESIDENTE)
17010418	DR. MARIO EDUARDO ABAD JAVIER	(Co-director)
19000251	DRA. TZARARA LOPEZ LUKE	(Vocal)
97003581	DR. JUAN ZARATE MEDINA	(Vocal)
13001418	DRA. ROSA ELVIRA NUÑEZ ANITA	(Vocal)
91002524	DR. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO	(Suplente)

Agradeciendo de antemano las atenciones que se sirva prestar a la presente, aprovecho para enviarle un cordial saludo.

Atentamente


Dr. Víctor Hugo López Morelos
Director

Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



AGRADECIMIENTOS

Al proyecto A1-S-365061 del CONACYT por todas las facilidades proporcionadas para el desarrollo satisfactorio de este trabajo, así como la beca otorgada.

Al Instituto De Investigación En Metalurgia y Materiales por la formación académica y profesional brindada, así como a todo el personal docente y técnico que siempre tuvo la amabilidad y humildad de proporcionar su apoyo.

Mi agradecimiento primordial a mi directora de tesis, la Dra. María Eugenia de la Salud Contreras García por darme la oportunidad de formar parte de este proyecto, su apoyo tanto moral como académico y la aptitud de siempre otorgarme sus conocimientos, gracias por estos años y haber aportado mayor crecimiento a mi persona.

De igual manera un agradecimiento especial a mi codirector de tesis, el Dr. Mario Eduardo Abad Javier por todo el soporte para la realización de este trabajo, por siempre brindar su tiempo, dedicación, paciencia y sobre todo apoyo para guiarme en el desarrollo de esta tesis, gracias también por compartir sus conocimientos siempre con gentileza y contribuir a un mejor desempeño en mi formación académica.

Agradecimientos también a todos los profesores que me impartieron clase y a los sinodales, ya que gracias a sus conocimientos compartidos pude consolidar mis estudios de maestría que se ven reflejados en la calidad del trabajo y de mi propio desarrollo tanto personal como profesional, Dr. Ignacio Mejía Granados, Dr. Víctor Hugo López Morelos, Dra. María de la Salud Contreras García, Dra. Tzarara López Luke, Dra. Rosa Elvira Núñez Anita, Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo y Dr. Juan Zarate Medina.

DEDICATORIAS

El trabajo de esta tesis lo dedico con cariño a mi sobrinita Zoé que fue el impulso que me permitió e inspiró a seguir adelante, todos los días te recuerdo con mucha alegría y espero que ahora estes en un mejor lugar.

A mis padres, Ma del Carmen Correa Herrera y Magdaleno Correa Gallegos, a quienes les debo todo en la vida, mis estudios, y la persona que soy, siempre han dado lo mejor de sí mismos para que yo pueda estar mejor, admiro mucho su perseverancia y los valores que me han inculcado, han hecho que sea una persona de bien, gracias por todo los amo mucho.

A mis hermanos que siempre me han apoyado Gandhi Cuauhtémoc Correa Correa, Ramiro Alejandro Torres Correa, siendo un ejemplo a seguir, a mis hermanas Yuset Torres Correa y Alma Gabriela Torres Correa que me han dado sus mejores consejos, he aprendido bastante de ustedes, los aprecio muchísimo.

También a mis compañeros de posgrado Jorge Rodríguez García, Marcos García Domínguez, Oscar Ruiz Alfaro, Alan Jadir Romero Orozco, Juan Jose Laguna Gasca, Cesar Rivera y Martin Vega Salazar; no pude encontrar mejores personas en este camino que ustedes, siempre compartiendo su conocimiento conmigo de la manera más amable y humilde posible, dándonos soporte mutuamente, espero y deseo lo mejor en sus vidas.

Índice General

Índice de tablas y figuras	vi
RESUMEN	x
ABSTRACT	x
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.2.- Objetivo General	2
1.2.1.- Objetivos Específicos.....	2
1.3.- Justificación	3
1.4.- Hipótesis	4
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1.- Liberación de fármacos	5
2.1.1.- Tipos más comunes de sistemas para la liberación de fármacos	5
2.1.2.- Liposomas	6
2.1.3.- Micelas.....	6
2.1.4.- Dendrímeros.....	7
2.1.5.- Emulsiones.....	7
2.1.6.- Sistema Nanoparticulados.....	7
2.2.- Tipos de materiales magnéticos.....	8
2.2.1.- Diamagnéticos.....	9
2.2.2.- Paramagnéticos	10
2.2.3.- Ferromagnéticos.....	11
2.2.4.- Ferrimagnéticos.....	12
2.2.5.- Antiferromagnéticos	13
2.3.- Curvas de histéresis	14
2.3.1.- Superparamagnetismo.....	15

2.4.- Nanopartículas Magnéticas (MNP's)	18
2.4.1.- Ferritas Espinela.....	19
2.4.2.- Ferrita de Níquel-cobre (NiCuFe ₂ O ₄)	20
2.4.3.- Liberación de fármacos con MNP's	22
2.5.- Métodos de síntesis.....	26
2.5.1.- Sol-gel	26
2.5.1.- Proceso de liofilización.....	29
2.6.- Materiales porosos.....	31
2.7.- Fármacos.....	34
2.7.1.- Clasificación	35
2.7.2.- Antibióticos.....	35
2.7.3.- Aminoglucósidos	37
2.7.4.- Amikacina	38
3.-DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	44
3.1.- Materiales y Reactivos:	44
3.2.- Estrategia Experimental:	44
3.3.- Síntesis de agregados nanoestructurados de Ferrita-Níquel-Cobre	46
3.4.- Anclaje del fármaco (Amikacina) a los agregados de NiCuFe ₂ O ₄	51
3.5.- Caracterización	53
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
4.1.- Caracterización por Microscopia Electrónica De Barrido (MEB).	56
4.1.1.- MEB de NiCuFe ₂ O ₄ de muestra calcinada a 600°C/24 con velocidad de aspersión de 60 rpm y muestra calcinada a 300°C/2h con velocidad de aspersión de 80 rpm.....	56

4.1.2.- MEB de NiCuFe ₂ O ₄ de muestra calcinada a 600°C/2h con velocidad de aspersión de 100 rpm y muestra calcinada a 600°C/2h con velocidad de aspersión de 150 rpm.....	58
4.1.3.- MEB de NiCuFe ₂ O ₄ de muestra calcinada a 300°C/2h con velocidad de aspersión de 200 rpm y muestra calcinada a 600°C/2h con velocidad de aspersión de 200 rpm.....	61
4.2.- Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos-X (EDS).	63
4.3.- Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier (IR-TF).....	64
4.4.- Difractometría de Rayos-X (DRX).	67
4.5.- Área Superficial Específica por Método Brunauer, Emmett y Teller (BET).	69
4.6.- Magnetometría de Muestra Vibrante (MMV).	71
4.7.- Interacción de Nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄ con fármaco (Amikacina).	72
4.7.1 Análisis de Potencial Z en las nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄ y la amikacina.....	72
4.7.2.- Efecto de la interacción entre material y fármaco.	75
4.7.3.- Pruebas de actividad antimicrobiana de las nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄ funcionalizadas con amikacina.....	76
4.6.2.- Subcultivo de S. aureus en medio solido BHI después del tratamiento.....	78
5.- CONCLUSIONES	86
6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

Índice de tablas y figuras

Figura 2.1. Ilustración que presenta los diferentes vehículos utilizados para la liberación de fármacos.....	6
Figura 2.2. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material diamagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético.	10
Figura 2.3. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material paramagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético	11
Figura 2.4. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material ferromagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético.	12
Figura 2.5. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material ferrimagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético.	13
Figura 2.6. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material antiferromagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético.	14
Figura 2.7. Comportamiento de un material ferrimagnético en presencia de un campo magnético	15
Figura 2.8. Curva de magnetización de un material superparamagnético.....	16
Figura 2.9. Curvas M-H de los nanocristales sintetizados por M. Maria Lumina Sonia y colaboradores, a) NiFe ₂ O ₄ y b) NiCuFe ₂ O ₄	17
Tabla 2.1. Tamaño cristalino y parámetros magnéticos de NiFe ₂ O ₄ y NiCuFe ₂ O ₄ obtenidos por M. Maria Lumina Sonia y colaboradores.....	18
Figura 2.10. Representación de la estructura espinela.	20
Figura 2.11. Curvas de magnetización de nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄ con diferentes concentraciones	21
Figura 2.12. Proceso de preparación de partículas magnéticas para liberación de fármacos.....	24
Figura 2.13. Halos de inhibición de las nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄ contra cepas de a) <i>B. subtilis</i> , b) <i>S. aureus</i> , c) <i>E. coli</i> , y d) <i>K. pneumonia</i>	25
Figura 2.14. Diferentes tipos de materiales obtenidos mediante el proceso Sol-gel.....	27
Figura 2.15. Patrones de difracción de Rayos-X obtenidos por Anjali Nihore de la ferrita de níquel pura y la dopada con cobre	28
Figura 2.16. Micrografías MEB obtenidas en el estudio de la ferrita de níquel pura A) y ferrita de níquel dopada con cobre	29
Figura 2.17. Ilustración del proceso de congelamiento por aspersión	30
Figura 2.18. Ilustración del proceso de secado en frío	31

Figura 2.19. Los seis tipos de isothermas de adsorción (fisisorción) según la clasificación de la UIQPA	32
Figura 2.20. Clasificación de los distintos tipos de lazos de histéresis según la clasificación de la UIQPA	33
Figura 2.21. División de antibióticos según su mecanismo de acción	37
Figura 2.22. Efecto de los aminoglucósidos en la síntesis proteica	38
Figura 2.23. Ilustración de la estructura molecular de la amikacina	39
Figura 2.24. MET de las nanoestructuras portadoras de lípidos cargadas con amikacina	42
Figura 2.25. Muertes por año atribuidas a BRA en comparación con otras causas de muerte	43
Figura 3.1. Diagrama de estrategia experimental llevada a cabo para la síntesis, caracterización, funcionalización y pruebas microbiológicas de NiCuFe ₂ O ₄	45
Figura 3.2. A) Solución de Nitrato de Ni, B) Solución Nitrato de Cu y C) Solución Nitrato de Fe	46
Figura 3.3. Mezcla de las soluciones de nitratos y ácido cítrico	47
Figura 3.4. Proceso de aspersión en frío de la solución en N ₂ líquido	47
Figura 3.5. Muestra congelada puesta sobre caja Petri después de ser atomizada	48
Figura 3.6. Liofilizador LYO GT2 secando muestra congelada después de la aspersión en frío	49
Figura 3.7. A) Calcinación de la muestra en mufla, B) polvos obtenidos después de la calcinación	49
Tabla 3.1. Condiciones de síntesis planteadas para las muestras sintetizadas	50
Figura 3.8. Proceso de impregnación húmeda a 3 diferentes concentraciones de los polvos de ferrita de níquel-cobre sintetizados	51
Figura 3.9. Proceso de anclaje/quimisorción del fármaco (amikacina) en la superficie de los agregados nanoparticulados	52
Figura 3.10. Proceso de separación entre de los polvos de ferrita y la solución de amikacina	52
Figura 4.1. Micrografías obtenidas con MEB de muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C600A60 (a, b) y muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C300A80 (c, d)	57
Figura 4.1.1. Micrografías obtenidas con MEB de ferrita de níquel-cobre obtenida por B. Gayathri Manju y P. Raji	58
Figura 4.2. Micrografías obtenidas con MEB de muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C600A100 (a, b) y muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C600A150(c, d)	60
Figura 4.2.1. MEB de ferrita de níquel-cobre obtenida por M.Maria Lumina Sonia y col	60
Figura 4.3. Micrografías obtenidas con MEB de muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200 (a, b) y muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C600A200 (c, d)	62

Figura 4.3.1. MEB de ferrita de níquel dopada con cobre obtenida por Govindan Nadar Rajivgandhi y col. por método Sol-gel.....	63
Figura 4.4. a) Espectros EDS de las muestras sintetizadas (muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C300A80 y muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C600A150).....	64
Figura 4.5. Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier de las muestras a) NiCuFe ₂ O ₄ -C600A60, b) NiCuFe ₂ O ₄ -C300A80, c) NiCuFe ₂ O ₄ -C600A100, d) NiCuFe ₂ O ₄ -C600A150 y e) reportadas por Anjali Nihore y col.....	66
Figura 4.6. Patrones de difracción de las muestras a) NiCuFe ₂ O ₄ -C600A60, b) NiCuFe ₂ O ₄ -C300A80, c) NiCuFe ₂ O ₄ -C600A100, d) NiCuFe ₂ O ₄ -C600A150 y e) reportadas por Z. Kargar y col [40]	68
Figura 4.7. Isoterma de adsorción/desorción de muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200 calcinada a 300 °C.....	70
Figura 4.8. Isoterma de adsorción/desorción de muestra NiCuFe ₂ O ₄ -C600A200 calcinada a 600 °C.....	70
Figura 4.7.1. Isoterma de adsorción/desorción tipo 4 y ciclo de histéresis tipo H2	70
Figura 4.8.1. Isoterma de adsorción/desorción tipo 5 y ciclo de histéresis tipo H1	70
Figura 4.9. Curva de ciclo M-H de la ferrita de níquel-cobre sintetizada (NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200).	72
Figura 4.10. Análisis de Potencial Z de las nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄ sintetizadas	73
Figura 4.11. Análisis digital de carga de superficie de la molécula de amikacina.....	74
Figura 4.12. Adsorción de amikacina en nanopartículas de NiCuFe ₂ O ₄	76
Figura 4.13. Viabilidad de <i>S. aureus</i>	77
Figura 4.14. Cultivo en cajas Petri de a) <i>S. aureus</i> , b) <i>S. aureus</i> /1 mg de Ferrita Ni-Cu, c) <i>S. aureus</i> /10 mg de Ferrita Ni-Cu y d) <i>S. aureus</i> /20 mg de Ferrita Ni-Cu.....	78
Figura 4.15. Viabilidad de <i>E. Coli</i>	79
Figura 4.16. Cultivos en cajas Petri de a) <i>E. coli</i> /Amikacina b) <i>E. coli</i> , c) <i>E. coli</i> /1 mg de Ferrita Ni-Cu, d) <i>E. coli</i> /10 mg de Ferrita Ni-Cu y e) <i>E. coli</i> /20 mg de Ferrita Ni-Cu.....	80
Tabla 4.1. Condiciones de síntesis de muestras sintetizadas con diferentes variables y tamaño de partícula obtenido.....	81
Tabla 4.2. Valores de área superficial específica y diámetro de poro obtenidos, así como también los valores de Ms, Mr y Hc (NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200).....	82
Figura 4.17. Comparación de morfología, distribución, y tamaño de partícula, a partir de micrografías MEB	83
Figura 4.18. Comparación de isotermas de adsorción/desorción.....	84
Figura 4.19. Comparación de ciclos M-H y Ms, Mr y Hc, entre (a) NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200 y (b) reportadas por Z. Kargar y col.	85
Figura 4.20. Comparación entre carga de amikacina.....	86

Lista de abreviaturas y símbolos

DDS	Drug Delivery System (Sistema de liberación de drogas/fármacos)
nm	Nanómetro (10^{-9} metros)
Ni	Níquel
Cu	Cobre
Fe	Hierro
FeO	Óxido de hierro
NiCuFe ₂ O ₄	Ferrita de níquel-cobre
DRX	Difracción de Rayos-X
IR-TF	Infrarrojo por transformada de Fourier
MEB-EC	Microscopía electrónica de barrido por emisión de campo
EDS	Espectrometría de Dispersión de Energía De Rayos-X
BET	Método Brunauer, Emmett Y Teller
MMV	Magnetometría de Muestra Vibrante
Amk	Amikacina
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Ms	Magnetización de saturación
Mr	Magnetización remanente
Hc	Coercitividad
Oe	Oersted (unidad de intensidad de campo magnético)
KOe	Kilo Oersted (10^3 Oe)
H	Campo magnético aplicado
M	Momento magnético
D	Diámetro (nm)
K	Constante adimensional de Scherrer (0.9)
λ	Lamnda (Longitud de onda)
β	Ancho completo a la mitad del máximo (FWHM)
θ	Theta (Ángulo)

RESUMEN

Dentro de la gran variedad de microorganismos que afectan en distinto grado la salud humana, en muchas ocasiones los principales agentes causantes de esto son las bacterias, las cuales actúan como patógenos capaces de infectar diferentes zonas del cuerpo humano, provocando un efecto dañino en el organismo. Con la creación de los antibióticos en el siglo pasado se ha logrado reducir la tasa de mortalidad ocasionada por infecciones bacterianas, de manera que gracias a estas moléculas bioactivas se consigue frenar o erradicar la acción infecciosa, resultando así en la estabilización del organismo. Sin embargo, las dosis suministradas suelen ser mayores de lo realmente necesario para eliminar los patógenos, ya que los medios de administración de fármacos son relativamente poco eficientes, lo que conlleva a la creación de resistencia a los antibióticos por parte de estos microorganismos, desencadenando diversos problemas para la salud humana, una de las opciones más prometedoras es recurrir a la implementación de biomateriales capaces de contribuir o sustituir la manera en cómo se realizan los tratamientos antibacterianos. En el presente trabajo se realizó la síntesis de agregados nanoestructurados de ferrita de níquel-cobre ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$) empleando la técnica de sol-gel asistida con secado por liofilización. La técnica de síntesis permitió el control de variables determinantes en el tamaño, morfología, distribución de partícula y porosidad del material, lo que repercutió directamente en las propiedades magnéticas y área superficial específica de los agregados nanoestructurados para actuar como portadores de fármacos. Los agregados nanoestructurados sintetizados fueron sometidos a estudios de caracterización mediante difracción de rayos X (DRX), donde se confirmó la estructura de ferrita cubica espinela, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (IR-TF) indicando la presencia de los iones metálicos alojados en los sitios tetraédricos y octaédricos, microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (MEB-EC) observando la formación de esferas nanoestructuradas. Además, se efectuó análisis de magnetometría de muestra vibrante (MMV), el cual indicó un comportamiento superparamagnético del material, asimismo, se efectuaron análisis de área superficial BET, donde se obtuvieron áreas superficiales de más de $200 \text{ m}^2/\text{g}$ y porosidades en el rango de micro y mesoporos. Se efectuaron también diversas pruebas microbiológicas *in vitro*, resultando una carga de 0.760 mg por cada miligramo de nanopartícula de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$, con una efectividad antibacterial de 91.4% en cepas de *S.aureus* y de 33.3% contra *E.coli*.

Palabras clave: Nanomaterial, Magnetismo, Ferrita, Amikacina, Porosidad.

ABSTRACT

Among the great variety of microorganisms that affect human health at different degrees, it is common to find the bacteria as the main causative agents, which act as pathogens capable of infecting different human body areas, causing a harmful effect on the body. In the last century antibiotics creation, have become possible to reduce the mortality rate caused by infections, resulting in the organism stabilization. However, doses supplied are usually higher than really necessary to eliminate pathogens, since this drug administration are relatively inefficient, it leads to antibiotic resistance generation pathogen microorganisms, triggering various human health problems, one of the most promising options is to resort to the implementation of biomaterials that are capable of contributing to or replacing the way in which antibacterial treatments are carried out. In the present work, the synthesis of nanostructured aggregates of nickel-copper ferrite ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$) was carried out by using the sol-gel technique assisted by lyophilization drying. The synthesis technique allowed the control of determining variables such as size, morphology, particle distribution and porosity, which had a direct impact on the magnetic properties and specific surface area of the nanostructured aggregates to act as drug carriers. Synthesized nanostructured aggregates were subjected to characterization studies by X-ray diffraction (XRD) where cubic spinel ferrite structure was confirmed, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) indicate the presence of metal ions lodged in tetrahedral and octahedral sites, field emission scanning electron microscopy (FE-SEM) demonstrate the formation of nanostructured spheres. In addition, vibrating sample magnetometry (VSM) analysis was carried out, which indicated a superparamagnetic behavior of the material, similarly, BET surface area analysis was carried out where surface areas of more than $200 \text{ m}^2 / \text{g}$ and porosities in the range of micro and mesopores were obtained. Various “*in vitro*” microbiological tests were also carried out, resulting in a load of 0.760 mg for each milligram of $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ nanoparticle, with an antibacterial effectiveness of 91.4% on *S.aureus* strains and 33.3% against *E.coli*.

1.- INTRODUCCIÓN

Las ciencias médicas han avanzado considerablemente debido a la revolución tecnológica de los últimos años, esto radica en muchas innovaciones que conllevan una notable mejoría en todos los sectores, especialmente en el sector de la salud, permitiendo innovar en la creación de nuevos fármacos o en el mejoramiento de los mismos, sin embargo, aun al día de hoy, los métodos utilizados para suministrarlos son poco eficientes, siendo necesarias grandes dosis introducidas al cuerpo humano, por esta razón, se buscan nuevas formas para poder suministrar al cuerpo diversos fármacos para su posterior liberación, las cuales sean capaces de controlar la distribución de estos en el organismo para así poder reducir la cantidad de agentes activos que deben ser introducidos al organismo, resultando en beneficios tanto para la salud, como para el sector de la industria farmacéutica en general.

Debido a esto, la implementación de la nanotecnología es destacable gracias a la diversidad de campos que abarca. La nanotecnología es concretamente el estudio y fabricación de estructuras y dispositivos en una dimensión de nanómetros donde el prefijo “nano” significa 10^{-9} . En otras palabras, se refiere la ingeniería de máquinas complejas, de materiales y de circuitos formados átomo por átomo o molécula por molécula. Esta ciencia se orienta al estudio y desarrollo de materiales, dispositivos y sistemas que explotan las nuevas propiedades que se descubren de la materia. Propiedades nuevas que muestran la utilización de los materiales en los niveles físicos, químicos y biológicos [3].

Al día de hoy han sido investigados dentro del sector de biomedicina materiales tanto orgánicos como inorgánicos, en los cuales se encuentran: polímeros, liposomas, micelas, dendrímeros y nanopartículas magnéticas, siendo todas estas empleadas para reparación de tejidos, tratamiento de hipertermia, imagen de resonancia magnética, marcadores biológicos y como sistemas de liberación de fármacos o DDS (por sus siglas del inglés “Drug Delivery System”).

Una de las soluciones más prometedoras la encontramos en estos sistemas de liberación controlada de fármacos mediante uso de nanosistemas que supone un gran avance en el tratamiento de muchas

enfermedades, en especial en aquellas en que se usan para su tratamiento principios activos de alta toxicidad o que por su fisiopatología presentan impedimentos que dificultan la llegada del principio activo allí donde debe ejercer su efecto terapéutico [1]. Para este tipo de aplicación como DDS, los nanosistemas que son mayormente utilizados son las nanopartículas magnéticas debido a que poseen propiedades térmicas, químicas y estabilidad coloidal que no está presente en otros materiales usados para aplicaciones médicas [5].

Las nanopartículas tienen un tamaño de entre 1 y 100 nm, rango de tamaño que abarca desde las moléculas hasta las estructuras microscópicas, que debido a esta escala presentan propiedades físicas muy diferentes a los materiales macroscópicos, aunque tengan la misma composición química, propiedades que también dependen del método utilizado para su síntesis [2], existiendo una gran variedad de métodos, que, dependiendo de la preparación, radicarán directamente en propiedades tales como: el tamaño y distribución de las partículas, morfología, superficie, así como también las propiedades magnéticas que el material posea [4].

1.2.- Objetivo General

Sintetizar materiales cerámicos nanoestructurados de ferrita de níquel cobre ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$) empleando el método sol-gel y liofilización para estudiar sus propiedades magnéticas y su capacidad como portadores de amikacina.

1.2.1.- Objetivos Específicos

- Sintetizar materiales cerámicos nanoestructurados de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ empleando el método sol-gel auxiliado con liofilización para obtener agregados nanoestructurados de morfología esférica, porosos, y conformados por partículas de tamaño nanométrico.
- Determinar el tamaño, estructura cristalina, morfología, y propiedades fisicoquímicas de los agregados nanoparticulados de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ mediante el uso de técnicas de

caracterización de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (MEB-EC), difracción de Rayos-X (DRX), espectrometría de infrarrojo por transformada de Fourier (IR-TF), análisis de área superficial específica de Brunauer, Emmett y Teller (BET).

- Analizar las propiedades magnéticas de los sistemas nanoparticulados de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$, como lo son la magnetización de saturación (M_s), magnetización remanente (M_r) y coercitividad (H_c), utilizando un magnetómetro de fuerza vibratoria (VSM).
- Determinar cargas superficiales de las nanopartículas, para evaluar su reactividad y compatibilidad como portadoras de antibióticos mediante análisis de potencial Z.
- Cargar el antibiótico amikacina a los agregados nanoestructurados mediante adsorción en la superficie de los agregados por impregnación húmeda.
- Evaluar el perfil de liberación del fármaco (amikacina), para determinar el control de carga y suministro “*in vitro*”.
- Realizar pruebas de potencia de fármaco “*in vitro*”, para conocer la respuesta de organismos gram-positivos y gram-negativos ante los agregados nanoparticulados de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ cargados con el fármaco amikacina.

1.3.- Justificación

Pese a los avances en el sector médico de los últimos años, los métodos convencionales para administrar fármacos en el organismo no han sido mejorados ni actualizados, lo que conlleva a un problema significativo respecto al tratamiento de una gran cantidad de enfermedades infecciosas, ocasionando así que se necesite de mayores dosis suministradas de un respectivo medicamento para poder erradicar una enfermedad en cuestión, esto también desemboca en la resistencia que es generada por algunos microorganismos, en especial las bacterias, las cuales con el paso de los años pueden generar una resistencia considerable a cierto tipo de antibióticos o incluso inmunidad a los mismos, provocando así que sea necesaria la administración de dosis más concentradas, lo que a su vez causa efectos secundarios que son perjudiciales para órganos internos como lo son el hígado y los riñones. Por otra parte, existen de igual manera infecciones bacterianas en zonas del cuerpo, en donde es difícil hacer la entrega de algún fármaco debido a la complejidad de la zona en donde

se encuentra alojado el patógeno. Así, se propone la síntesis de agregados de nanopartículas superparamagnéticas de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$, capaces de portar fármacos, específicamente antibióticos, de manera que estos puedan ser direccionados mediante la utilización de campos magnéticos, explotando las propiedades superparamagnéticas del material, favoreciendo su localización y suministro de dosis necesaria para tratamientos de infecciones bacterianas y efectos adyacentes que las dosis excesivas conlleven.

1.4.- Hipótesis

La síntesis de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ mediante técnicas combinadas de Sol-gel y liofilización nos permitirá la obtención de agregados nanoparticulados superparamagnéticos con estructura nanométrica y de morfología esférica, con alta área superficial específica, y sitios activos con OH superficiales capaces de formar enlaces de anclaje químico, formados por puentes de hidrógeno, con las moléculas del fármaco amikacina (NH) y de esta manera ser utilizados como portadores del fármaco.

2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La importancia del desarrollo de materiales capaces de portar medicamento se considera primordial en el tratamiento de enfermedades infecciosas, debido a que en los últimos años se han publicado estudios que señalan la efectividad de los diferentes tipos de sistemas con esta característica, es por eso que se requiere analizar temas que aborden cuales son los materiales utilizados para esta aplicación, sus propiedades, métodos de síntesis, liberación de fármacos, tipos de fármacos, mecanismo de acción de medicamentos, microorganismos, y las reacciones que conllevan entre el material y su entorno.

2.1.- Liberación de fármacos

De acuerdo con Paul Ehrlich (1854-1915), si un agente podría dirigirse selectivamente a un organismo que causa una enfermedad, luego una toxina para ese organismo podría ser entregado junto con el agente de selectividad. Por lo tanto, se crearía una "bala mágica" capaz de matar al objetivo organismo exclusivamente. A partir de esta idea, se han propuesto varias estrategias para administrar un medicamento.

2.1.1.- Tipos más comunes de sistemas para la liberación de fármacos

Existen cinco diferentes tipos principales de sistemas utilizados para la liberación de medicamentos localizada, los cuales tienen propiedades que son adecuadas para según qué tipo de fármaco o tratamiento se requiera aplicar, en la **Figura 2.1** se aprecian los tipos y tamaños de diámetro aproximado de los sistemas usados.

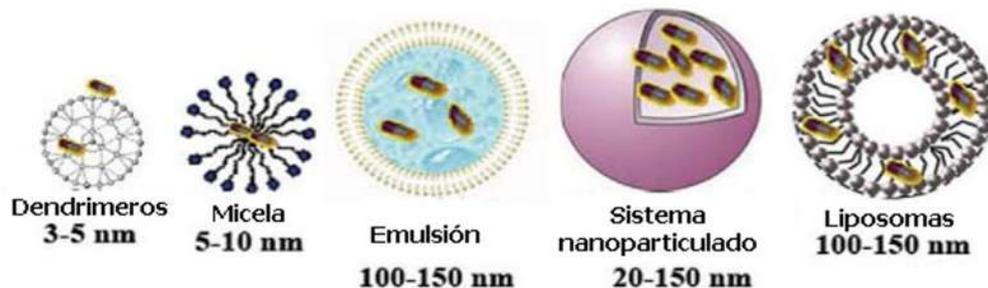


Figura 2.1. Ilustración que presenta los diferentes vehículos utilizados para la liberación de fármacos [23].

2.1.2.- Liposomas

Los liposomas son pequeñas esferas artificiales que están hechas de fosfolípidos, dentro de estas esferas, se generan cámaras acuosas microscópicas, es decir, bolas o esferas más pequeñas que pueden contener fármacos. A medida que el organismo metaboliza el liposoma, que no es tóxico, el fármaco se va liberando gradualmente. Debido a que los liposomas están compuestos de lípidos y agua, éstos pueden utilizarse para transportar los medicamentos que son lipófilos (como el fentanilo) así como los que son hidrófilos (como la morfina) [22].

2.1.3.- Micelas

Se le conoce como micela a cierto tipo de portadores esféricos biodegradables con un intervalo de tamaño de 10 a 200 nm. Estas estructuras son formadas por autoensamblaje de bloques de copolímeros compuestos de dos o más cadenas de polímeros con diferente hidrofobicidad. Tales copolímeros espontáneamente se ensamblan para formar una estructura de núcleo-coraza en un medio acuoso para minimizar la energía libre del sistema. Los segmentos hidrófobos forman el núcleo interior hidrófobo para minimizar su exposición al medio ambiente, mientras que las

cadenas hidrófilas forman la coraza hidrófila externa para estabilizar el núcleo a través del contacto directo con el agua [28].

2.1.4.- Dendrímeros

Los dendrímeros son estructuras poliméricas tridimensionales que poseen 3 componentes arquitectónicos: Un núcleo, una parte intermedia (brazos dendríticos) y una superficie (grupos terminales), su nombre proviene de las palabras griegas: dendrón (árbol), y meros (partes), que se refiere a la unidad estructural [26].

2.1.5.- Emulsiones

Las emulsiones son preparados líquidos y dispersos, que generalmente están compuestos por dos líquidos insolubles o no miscibles entre sí, de los cuales uno es acuoso y dispersa al otro, que con frecuencia es oleoso. Pueden ser mezclas de un semisólido con un líquido, y los compuestos pueden ser parcialmente solubles. Todas las emulsiones deben agitarse para su uso oral. Las emulsiones destinadas a su uso sobre la piel pueden denominarse linimentos. El linimento de silicato de metilo que se usa como antirreumático, es una forma de emulsión [27].

2.1.6.- Sistema Nanoparticulados

Las nanopartículas son sistemas de tamaño manométrico, es decir, cualquier nanomaterial que en alguna de sus 3 escalas sea de 10^{-9} m. Las nanopartículas se definen como dispersiones particuladas, o partículas sólidas con un tamaño en el rango de 10-100 nm. Este pequeño tamaño les dota de propiedades específicas como una gran superficie de actuación y una alta reactividad.

Las nanopartículas tienen una serie de propiedades fisicoquímicas únicas: tienen un tamaño muy pequeño, lo que conlleva una gran relación área superficial/masa, altas interacciones con microorganismos y células hospedadoras, y una versatilidad estructural y funcional grande. Todo esto las convierte en plataformas prometedoras para solventar las limitaciones propias de la resistencia a antibióticos.

Las ventajas de las nanopartículas portadoras de antibióticos para su liberación incluyen una mejora de la solubilidad de aquellos fármacos que son poco solubles en agua, una prolongada vida media del fármaco y también un aumento de la vida del fármaco en la circulación sistémica, además de una liberación del fármaco sostenida y con respuesta a un estímulo, lo cual a menudo disminuye la frecuencia de administración y la dosis necesaria. Es más, se minimizan los efectos adversos de la administración sistémica de antibióticos mediante una terapia específica y dirigida del fármaco antimicrobiano incorporado en los nanovehículos [29].

2.2.- Tipos de materiales magnéticos

Existe un interés particular sobre el tema del magnetismo, así como también lo hay por las propiedades magnéticas de los materiales, el cual se basa principalmente en dos factores de gran relevancia. En primer lugar, tenemos la gran variedad e importancia de sus aplicaciones comerciales, principalmente en el área tecnológica de sistemas computacionales, siendo que el componente de guardado de datos más importante se basa en fenómenos magnéticos, y, por otra parte, lo interesante que resultan los fenómenos físicos que producen el magnetismo. Uno de los conceptos básicos que se debe entender cuando se habla de magnetismo es el de campo magnético, el cual se suele representar con la letra “H”. La generación de éste en un determinado volumen de espacio provoca un cambio en la energía de dicho volumen, lo que provoca un gradiente de energía (o una fuerza) que puede ser detectado de varias formas, entre ellas por la reorientación de los espines de los electrones en cierto tipo de átomos (aquéllos capaces de magnetizarse). El ejemplo más común con el que se suele representar el efecto que un campo magnético tiene sobre un dipolo magnético, es el giro que éste provoca en la aguja de una brújula, en este caso producido por el campo magnético del planeta Tierra [44].

Un campo magnético puede ser generado artificialmente de dos maneras:

- a) Por el flujo de una corriente eléctrica en un alambre conductor, siendo que se crea un campo magnético alrededor de la corriente generada, (como demostró Oersted en 1819).
- b) Por un imán permanente (el giro de los espines de los electrones en los orbitales atómicos provoca magnetización “M” dentro del material y un campo magnético fuera de él) [44].

Existen diferentes comportamientos que cualquier material puede presentar cuando este es sometido a la presencia o inducción de un campo magnético, puede ser clasificado de acuerdo al comportamiento que tienen los espines de los electrones en los orbitales atómicos del mismo, más específicamente, como se orientan los espines antes, durante y después de aplicar el campo magnético, encontramos seis tipos de comportamiento clasificados como: paramagnético, diamagnético, ferromagnético, antiferromagnético, ferrimagnético o superparamagnético [44].

2.2.1.- Diamagnéticos

En los materiales, diamagnéticos los electrones presentes están completamente apareados, por esa razón no poseen momentos magnéticos netos, cuando sus electrones son sometidos a la presencia de un campo magnético, su magnetización se opone a la dirección del campo aplicado, y cuando se retira vuelven a su estado inicial (**Figura 2.2**), con lo que se puede deducir que la magnetización que presentan es demasiado baja o completamente nula. Algunos ejemplos de materiales diamagnéticos son: el cobre, la plata, el berilio, la mayoría de las moléculas orgánicas y muchos polímeros. Las aplicaciones de este tipo de materiales se limitan a las de los superconductores, que son una clase muy especial de materiales diamagnéticos. Aunque la susceptibilidad magnética de los superconductores se debe a corrientes macroscópicas que circulan en el material en dirección opuesta al campo aplicado y no al movimiento de los electrones en los orbitales [31].

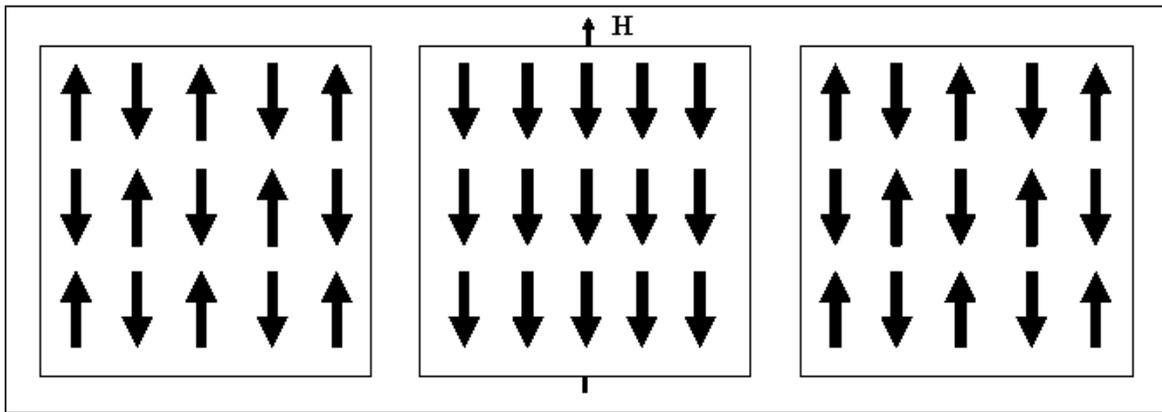


Figura 2.2. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material diamagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético [41].

2.2.2.- Paramagnéticos

Estos materiales se caracterizan por contener átomos con momentos magnéticos netos, es decir, con electrones desapareados. Antes de aplicar el campo, los momentos se encuentran orientados al azar y se cancelan unos a otros, por lo que la magnetización del material es cero. Una vez se aplica un campo magnético externo, los espines de los electrones tienden a orientarse en la misma dirección del campo aplicado, pero el movimiento térmico de los átomos se opone a esta tendencia, impidiendo la alineación perfecta. Cuando se retira el campo, los espines de los electrones vuelven a su estado inicial (**Figura 2.3**). En términos más simples los materiales paramagnéticos son materiales que son atraídos por imanes o se ven afectados por campos magnéticos inducidos, sin embargo, estos no se convierten en imanes permanentes una vez en campo magnético es retirado. Algunos de los materiales más comunes que presentan este tipo de comportamiento son: el oxígeno líquido y gaseoso, el sodio atómico en estado gaseoso, el hidrógeno atómico, metales como el platino y el aluminio, algunas sales como cloruros, sulfatos y carbonatos de manganeso, cromo, fierro y cobre [30].

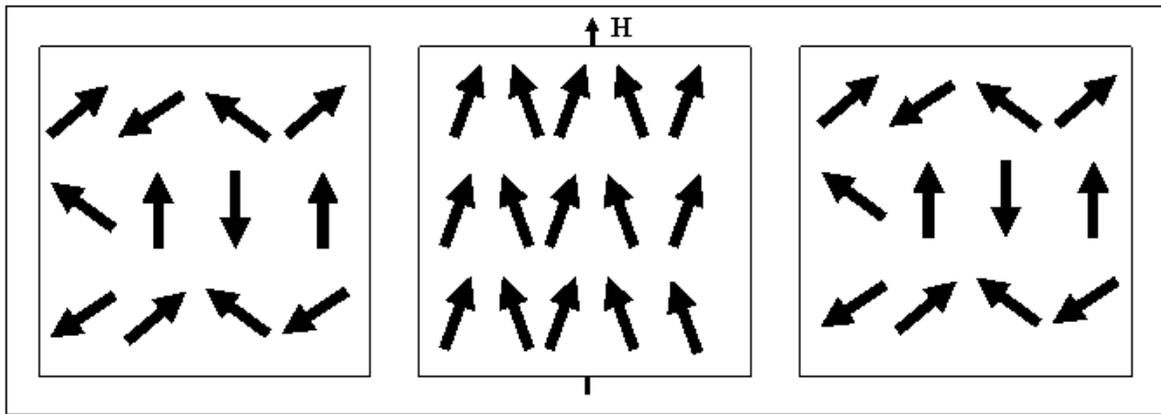


Figura 2.3. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material paramagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético [41].

2.2.3.- Ferromagnéticos

El ferromagnetismo es uno de los fenómenos más interesantes y conocido de los materiales que presentan comportamientos magnéticos. El proceso de magnetización ocurre con la alineación paralela de los dominios en presencia de un campo magnético. Debido a esta tendencia que presentan los espines de los electrones en los átomos de los materiales ferromagnéticos a mantenerse alineados dentro de los dominios, ocurre que cuando se retira el campo los dominios permanecen alineados conservando la magnetización (**Figura 2.4**). Este fenómeno es el que rige el comportamiento de los imanes permanentes, también conocidos como “imanes duros”, por lo que también son los más utilizados en el ámbito industrial, pudiéndose encontrar normalmente en discos duros, amplificadores de sonido, hornos de inducción magnética, entre otros. Las propiedades de los materiales ferromagnéticos son varias, pero las más importantes son: su gran inducción magnética y su sencillez de reunir las líneas del campo magnético, que posteriormente desciende a una gran acumulación de la densidad del flujo. Existen relativamente pocos elementos en la tabla periódica que presentan este tipo de comportamiento y son: el hierro, el cobalto, el níquel y algunas tierras raras [32].

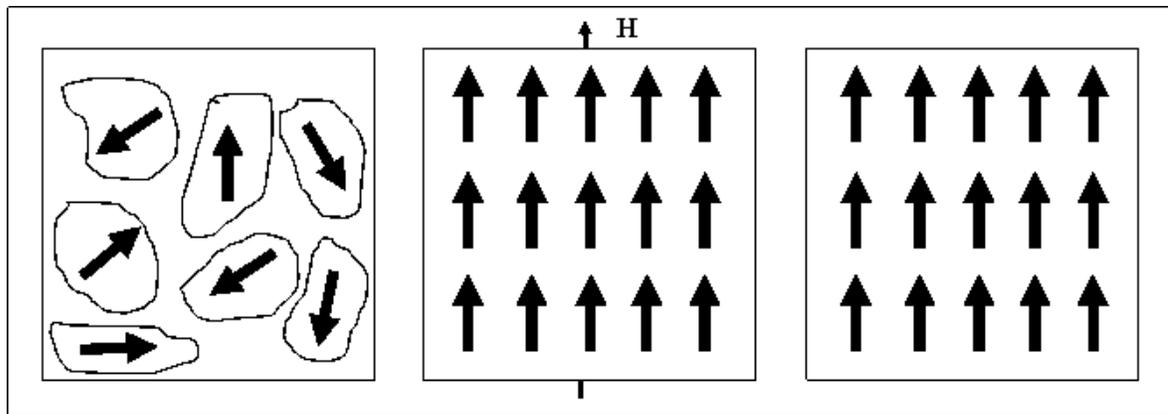


Figura 2.4. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material ferromagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético [41].

2.2.4.- Ferrimagnéticos

El ferrimagnetismo se puede considerar un caso especial de antiferromagnetismo, en el que la alineación antiparalela de los espines no es la misma y por tanto sus momentos magnéticos netos no se cancelan (**Figura 2.5**). Los ferrimagnetos son algo parecidos a los antiferromagnetos, en cuanto al alineamiento antiparalelo de sus dipolos; sin embargo, algunos de sus momentos dipolares son mayores que otros, de modo que el material posee un momento magnético neto. Como resultado de esto, los ferrimagnetos, así como los ferromagnetos, tienden a concentrar flujo magnético en sus interiores y, en consecuencia, a tener aplicaciones prácticas. El comportamiento macroscópico de este tipo de materiales es muy similar al de los ferromagnetos, ya que durante muchos años éstos fueron utilizados indistintamente. Los ferrimagnetos más utilizados son las ferritas de fórmula general $MO Fe_2O_3$, donde M es un metal de transición (divalente) como: manganeso, níquel, cobalto, zinc, etc. Estas ferritas son de un elevado interés tecnológico debido a la combinación de dos características importantes, lo relativamente fácil que resulta magnetizarlas (alta permeabilidad) y la baja conductividad electrónica que presentan, esto permite su aplicación en dispositivos de alta frecuencia, entre otras aplicaciones [32].

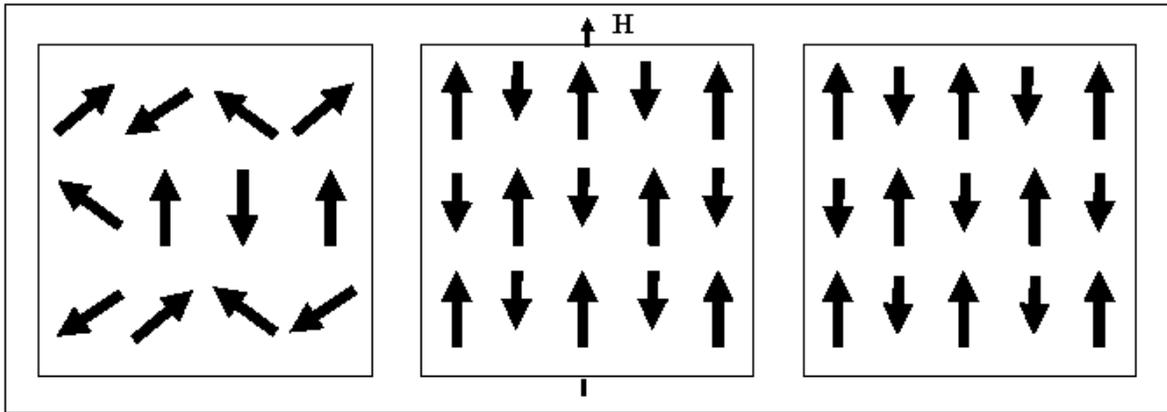


Figura 2.5. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material ferrimagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético [41].

2.2.5.- Antiferromagnéticos

En este tipo de material magnético se observa una fuerte tendencia a la alineación antiparalela de los espines, lo que provoca la cancelación de los momentos magnéticos netos. En los materiales antiferromagnéticos, los átomos o iones que lo constituyen tienen momentos dipolares magnéticos que se ordenan antiparalelos uno con otro. Los antiferromagnetos no encuentran aplicaciones amplias en tecnología dado que carecen de magnetización neta. El mecanismo de interacción en este tipo de materiales es llamado “superintercambio”, en éste, por ejemplo, la transferencia de los electrones del ion oxígeno hacia los átomos metálicos vecinos permite que los cationes “magnéticos” interactúen entre sí vía la intervención de los aniones (**Figura 2.6**). Como ejemplo de materiales antiferromagnéticos se encuentran el cromo, el manganeso y muchos óxidos de metales de transición como: MnO, FeO, CoO y NiO, por citar algunos. La principal aplicación de este tipo de materiales es la elaboración de magneto resistencias, las cuales son elaboradas con capas de materiales antiferromagnéticos y materiales ferromagnéticos, que en conjunto presentan una alta resistividad magnética [32].

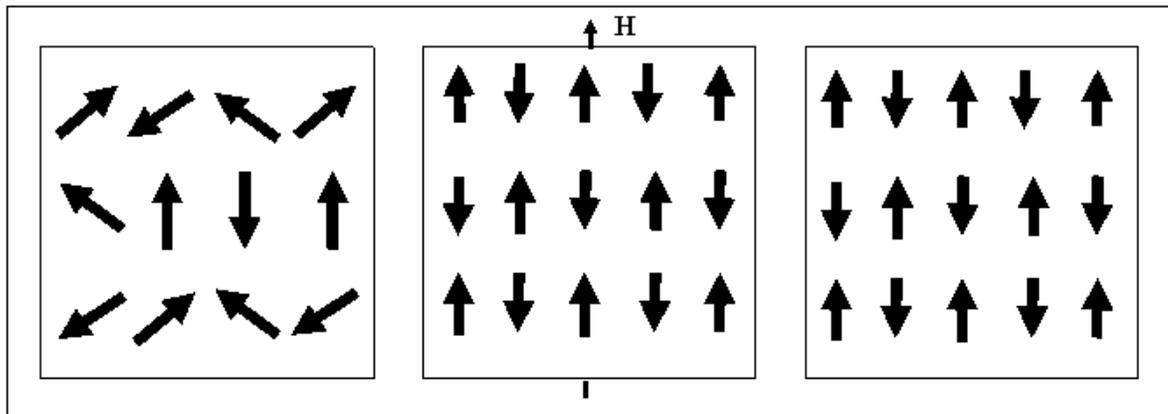


Figura 2.6. Efecto que tiene un campo magnético en los espines de los electrones de un material antiferromagnético. A) Antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético [41].

2.3.- Curvas de histéresis

Desde la fuerza que es ejercida por un campo magnético sobre un material magnético se puede describir desde un punto de vista microscópico, hablando del giro de los espines de los electrones, o desde un punto de vista macroscópico, cuando se habla de la magnetización del material. En la **Figura 2.7** podemos observar el origen de una gráfica en donde se encuentra un material ferrimagnético completamente desmagnetizado con los espines de los electrones ordenados de manera aleatoria. (A). Cuando es aplicado un campo magnético de fuerza H en una dirección X , los espines de los electrones comienzan a girar en la misma dirección del campo aplicado (B) hasta llegar al punto de saturación M_S , en el que se encuentran todos los electrones alineados al campo (C). Al momento de disminuir gradualmente el campo, los espines comienzan a desordenarse de nuevo, una vez que es retirado totalmente el campo, queda una magnetización remanente M_R (D). Si se aplica un campo magnético inverso de una magnitud suficiente como para desmagnetizar el material en estudio (coercitividad H_C) se vuelve a obtener un material con los electrones desordenados totalmente (E). Aumentando la intensidad del campo inverso se puede llegar hasta el valor de saturación a campo negativo, hasta obtener los electrones alineados en la dirección

contraria al campo aplicado inicialmente (F). Posteriormente el proceso descrito hasta ahora se invierte hasta obtener un ciclo de histéresis completo [41].

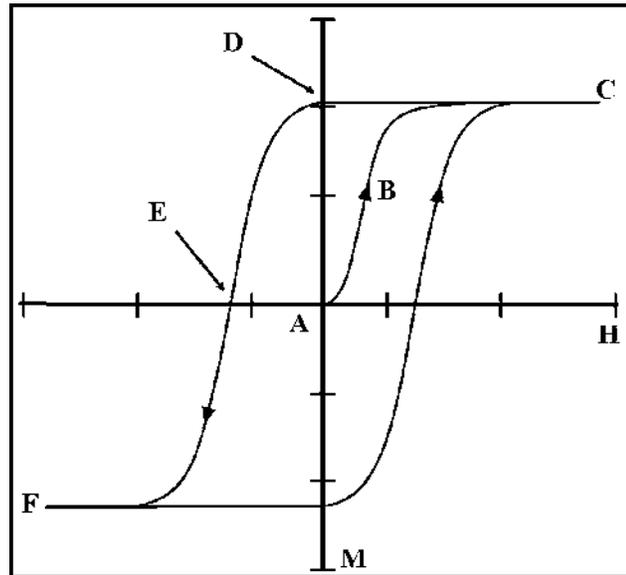


Figura 2.7. Comportamiento de un material ferrimagnético en presencia de un campo magnético [41].

2.3.1.- Superparamagnetismo

Para que un material presente un comportamiento superparamagnético debe estar formado por: 1) partículas ferrimagnéticas con tamaños de partícula muy pequeños, por debajo de un valor crítico que depende del material con el que se está trabajando específicamente, o 2) partículas ferri o ferromagnéticas dispersas en un recubrimiento dieléctrico que impide la interacción entre partículas adyacentes, lo que permite que la respuesta magnética de cada una sea independiente de la respuesta del resto. El comportamiento de los espines de los electrones en este tipo de materiales cuando se aplica un campo magnético es similar al de los materiales ferri o ferromagnéticos

respectivamente, más cuando el campo se retira la magnetización se pierde. Es decir, este tipo de materiales no posee “memoria magnética”. Algunas de las aplicaciones en las que se utilizan frecuentemente son: en la elaboración de electroimanes, convertidores electromecánicos como motores, generadores, transformadores o en equipos de transferencia de señal de alta o baja frecuencia, etc. [33].

Los materiales que presentan el fenómeno del superparamagnetismo generan una curva de magnetización sin histéresis (**Figura 2.8**) [32]. En este caso los espines de los electrones se encuentran inicialmente desordenados, a medida que se aplica un campo magnético H se orientan en la misma dirección del campo y cuando éste se retira la magnetización se pierde como una consecuencia de la orientación estocástica de los momentos magnéticos de los electrones en la muestra. Aunque este comportamiento es análogo al de los materiales paramagnéticos, es posible diferenciar un material paramagnético de uno superparamagnético por la forma de la curva de magnetización. En los materiales superparamagnéticos la magnetización de saturación se alcanza a intensidades de campo moderadas mientras que en los materiales paramagnéticos ésta se alcanza a intensidades de campo muy elevadas [32].

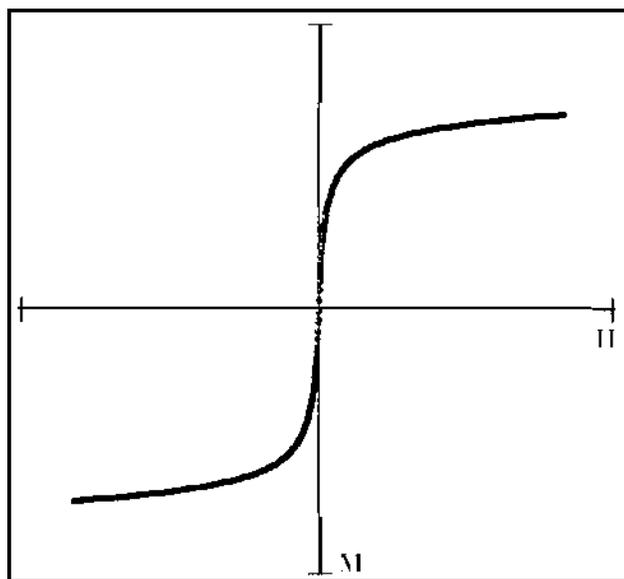


Figura 2.8. Curva de magnetización de un material superparamagnético [32].

En el estudio realizado por M. Maria Lumina Sonia y sus colaboradores, en donde sintetizaron nanopartículas de ferrita de níquel-cobre por el método Sol-gel, observaron la variación de las propiedades magnéticas entre las ferritas de níquel puras y las que contenían cobre atribuyendo su comportamiento a la competencia de iones ferromagnéticos tales como iones Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} así como iones de metales de transición no magnéticos en la ocupación de los sitios tetraédricos y octaédricos. Concluyendo que la adición de cobre redujo el tamaño de partícula, en ambos casos se puede observar un comportamiento superparamagnético, siendo que los valores de coercitividad (H_c) son bajos. En la **Figura 2.9** se pueden observar las curvas M-H de los nanocristales sintetizados y en la **Tabla 2.1** los valores obtenidos de tamaño y parámetros magnéticos [46].

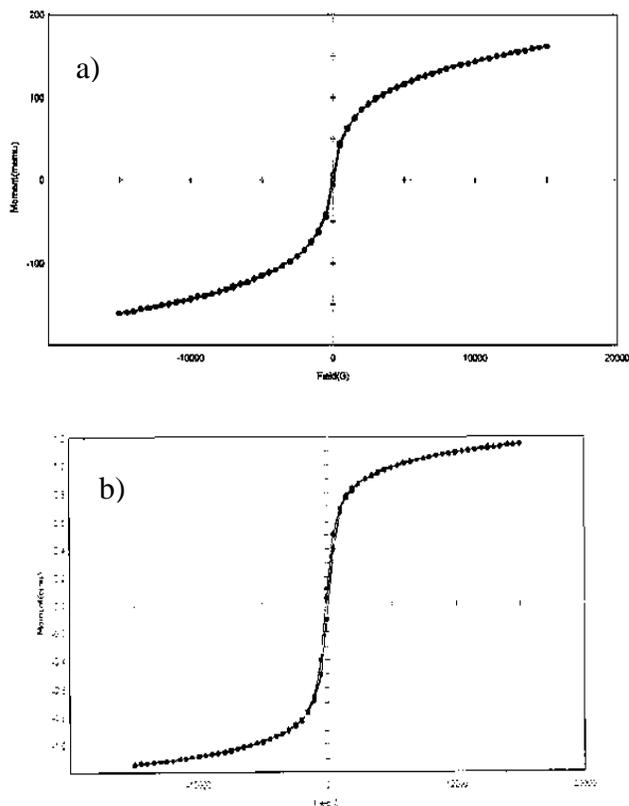


Figura 2.9. Curvas M-H de los nanocristales sintetizados por M. Maria Lumina Sonia y colaboradores, a) NiFe_2O_4 y b) $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ [46].

Tabla 2.1. Tamaño cristalino y parámetros magnéticos de NiFe₂O₄ y NiCuFe₂O₄ obtenidos por M. Maria Lumina Sonia y colaboradores [46].

Composición	Tamaño nanocristalino (nm)	Saturación de magnetización (emu/g)	Remanencia (emu/g)	Coercitividad (Hc)
NiFe ₂ O ₄	17.07	16.02	0.4232	43.294
NiCuFe ₂ O ₄	9.9	7.044	0.2722	66.198

2.4.- Nanopartículas Magnéticas (MNP's)

El interés por las nanopartículas magnéticas para sus potenciales aplicaciones biomédicas ha tenido un gran crecimiento en los últimos años, optando por su uso como herramientas terapéuticas y de diagnóstico, así como en agentes de contraste en resonancias magnéticas y como portadores de medicamentos. Las nanopartículas magnéticas están compuestas en su mayoría de elementos magnéticos (hierro, oro, cobalto) y de sus óxidos. El comportamiento magnético de un material depende de su configuración electrónica en concreto del número de electrones desapareados y el orbital en el que se encuentran. Las partículas con carga eléctrica al moverse generan un dipolo magnético. Cuando se aplica un campo magnético externo al material los dipolos se alinean con el campo magnético externo y forman un momento magnético dentro del material [7].

Cuando se reduce el tamaño de partícula de un material magnético disminuye también el número de dominios, al reducir el tamaño de una partícula llega un momento que cada nanopartícula es un mono dominio. En este momento aparece un nuevo tipo de comportamiento magnético conocido como superparamagnetismo [8].

En este tipo de comportamiento el material tiene una susceptibilidad al campo magnético elevada, propia de los materiales ferromagnéticos, pero cuando este campo cesa no permanecen

magnetizados como en el caso de los materiales paramagnéticos al organizarse sus spines de forma aleatoria. Las dos propiedades más importantes de las nano partículas súper paramagnéticas en lo que se refiere al magnetismo son la coercitividad y la histéresis. Esto es muy importante para el uso de las nanopartículas en biomedicina pues nos garantiza que las partículas sólo son activas al aplicar un campo externo. Si esto no fuese así las nanopartículas conservarían cierto grado de magnetismo que podría provocar entre otras cosas su agregación suponiendo un problema al formarse depósitos, lo que podría producir obstrucciones de los vasos sanguíneos [6].

2.4.1.- Ferritas Espinela

En las ferritas MFe_2O_4 sucede que la interacción entre los espines no ocurre de un modo directo ya que la distancia a la que se encuentran no lo permite. En este caso, la interacción ocurre mediante un mecanismo de canje indirecto que fue propuesto de un modo general por Zenner (1951) y desarrollado posteriormente por Anderson y Hasewaga (1955). Se conoce como interacción de superintercambio o de supercanje y tiene lugar entre dos cationes metálicos vía un ión diamagnético. En las ferritas MFe_2O_4 , el O^{2-} no es portador de momento por tener su capa de valencia completa, sin embargo, los iones metálicos de su entorno perturban este estado de tal forma que los espines de los electrones de los orbitales p del oxígeno pueden interaccionar con los espines de los electrones de orbitales d de los cationes adyacentes si el solapamiento entre las funciones de onda es efectivo. En los compuestos MFe_2O_4 debido a la configuración electrónica del ión Fe^{3+} (d^5) y la disposición paralela de sus electrones en los cinco orbitales d, la interacción de superintercambio más favorable es aquella en la que participa el elemento de transición Fe^{3+} y no M^{2+} . La interacción de supercanje ocurre entre dos iones Fe^{3+} (Fe-O-Fe) con espines antiparalelos. Esto es consecuencia de que un orbital p del oxígeno con 2 electrones con espines antiparalelos solapa de manera efectiva ($J < 0$) con un orbital d de cada uno de los átomos del Fe. De esta manera los electrones en los orbitales d de un átomo de hierro quedan acoplados de forma antiferromagnética con los electrones del otro átomo de hierro [35, 36].

2.4.2.- Ferrita de Níquel-cobre ($NiCuFe_2O_4$)

Una de las clases más importantes de ferritas de espinela es la ferrita de níquel, la cual presenta una alta magnetización y una baja pérdida de histéresis, siendo ambos factores muy útiles de la ferrita en muchas aplicaciones [35]. En forma masiva, la mitad de los iones Fe^{3+} en la ferrita de níquel, ocupan sitios octaédricos y la otra mitad de los iones Ni^{2+} ocupan los sitios tetraédricos representados en la estructura de la **Figura 2.10**. Esta disposición se llama espinela inversa [36]. Para mejorar o cambiar las propiedades de la ferrita de níquel, se han llevado a cabo muchos procedimientos, como la reducción del tamaño de partícula a nanoescala y la sustitución de diferentes cantidades de diversos cationes, como por ejemplo cobre, en la estructura de la espinela [46].

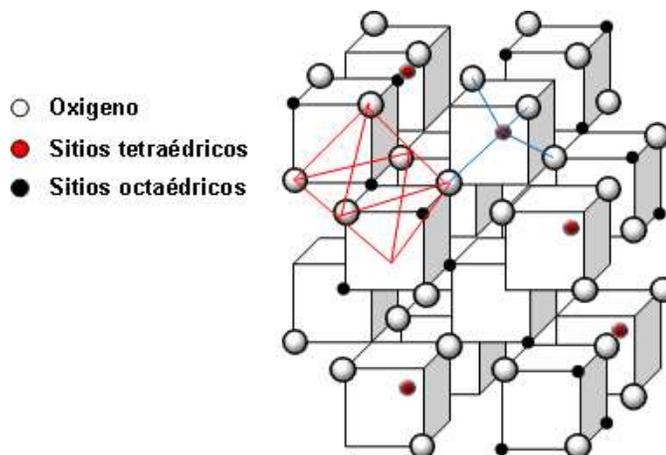


Figura 2.10. Representación de la estructura espinela.

Z. Cargar y colaboradores sintetizaron nanopartículas de ferrita de níquel-cobre mediante el método sol-gel Pechini o por citrato el cual consiste en el mismo proceso de sol-gel convencional que involucra la producción de nanopartículas mediante reacciones de hidrólisis y condensación, con la diferencia que en este proceso Pechini es agregado ácido cítrico a la solución, la síntesis fue preparada con diferentes concentraciones en volumen de las nanopartículas de $NiFe_2O_4$, para

obtener propiedades magnéticas mejoradas. Cuando se producen tamaño de partícula en el orden nanométrico, se observan variaciones anómalas en las propiedades de las ferritas. También se encuentra que la distribución de defectos de tipo vacante y vacío juegan un papel en la alteración de las propiedades de las nanopartículas magnéticas y de nanomateriales [38-39]. Por lo tanto, la determinación del tipo y la concentración de defectos en las nanopartículas de ferrita de Ni-Cu, así como el efecto del contenido de Cu en la distribución de defectos en la ferrita de Ni-Cu, pueden usarse para investigar el cambio de las propiedades electrónicas y magnéticas de la ferrita de Ni-Cu nanopartículas [40].

Se puede observar el área de histéresis de las diferentes muestras que Z. Cargar y colaboradores obtienen en las muestras sintetizadas, que en este caso es muy angosta, lo que indica un comportamiento superparamagnético ideal (**Figura 2.11**).

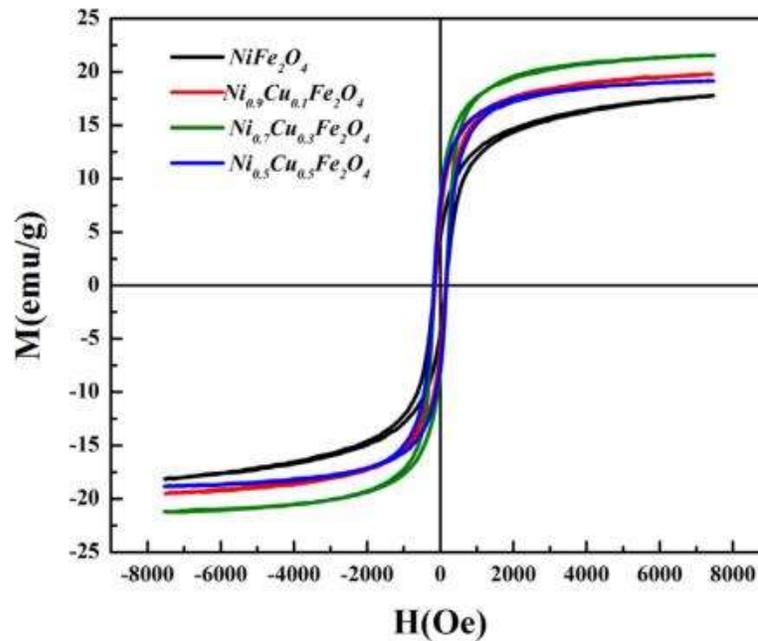


Figura 2.11. Curvas de magnetización de nanopartículas de NiCuFe₂O₄ con diferentes concentraciones [40].

2.4.3.- Liberación de fármacos con MNP's

Diferentes materiales orgánicos han sido investigados como nanovectores de administración de fármacos utilizando diferentes sustancias como: un objetivo pasivo, un objetivo activo con capacidad de reconocimiento (por ejemplo, un anticuerpo) o un objetivo activo mediante un estímulo físico (por ejemplo, magnetismo en magneto-liposomas). Sin embargo, estos sistemas orgánicos aún presentan una estabilidad química y mecánica limitada, hinchazón, susceptibilidad al ataque microbiológico, control inadecuado sobre la tasa de liberación del fármaco y un alto costo. Entre las principales ventajas de las MNP's (orgánicos o inorgánicos) se encuentra la capacidad de ser: visualizados (a través de resonancia magnética); guiados a un lugar en particular mediante un campo magnético; y la acción biológica inducida a través de un campo magnético para desencadenar acciones como la liberación del fármaco o la estimulación de hipertermia/ablación de tejido. Es importante señalar que la capacidad no está restringida a las NP's magnéticas, sino también a otras partículas capaces de absorber el infrarrojo cercano, microondas y radiación de ultrasonido.

Dependiendo del procedimiento de síntesis, se pueden obtener NP magnéticas o nanocápsulas. Las nanocápsulas designan sistemas vesiculares magnéticos en los que el fármaco se limita a una cavidad acuosa u oleosa, generalmente preparada mediante el procedimiento de micelas inversas, y rodeada por una membrana orgánica (magnetoliposomas) o encapsulada dentro de una cápsula inorgánica hueca [9].

Los parámetros clave en el comportamiento de las NP magnéticas están relacionados con la química de superficie, tamaño (núcleo magnético, volumen hidrodinámico y distribución de tamaño) y propiedades magnéticas (momento magnético, remanencia y coercitividad). La química de la superficie es especialmente importante para evitar la acción del sistema reticuloendotelial (RES), que es parte del sistema inmune, y para aumentar la vida media en el torrente sanguíneo. El recubrimiento de las NP's con un compuesto neutro e hidrófilo (es decir, polietilenglicol (PEG), polisacáridos, disopsoninas (HSA), etc.) aumenta la vida media circulatoria de minutos a horas o días. Otra posibilidad es reducir el tamaño de partícula; sin embargo, a pesar de todos los esfuerzos, la evasión completa de la RES no parece factible y la migración no deseada a otras áreas del cuerpo podría causar problemas toxicológicos [10].

Para la liberación dirigida magnéticamente, el fármaco debe estar ligado directamente al compuesto magnético, después será introducido al cuerpo y enseguida, será concentrado en el área localizada por medio de un campo magnético. Dependiendo de la aplicación, las partículas liberan el fármaco o dan lugar a un efecto local (irradiación por radioactividad, microesferas, hipertermia con MNP's, entre otros). La liberación de drogas también puede ser activada por una simple difusión o tomando lugar a través de mecanismos que requieran una actividad enzimática o cambios en condiciones fisiológicas tales como pH, osmolalidad o temperatura, [6].

En un estudio realizado por Jana Chomoucka y sus colaboradores, investigaron acerca de los parámetros que se deben considerar en el momento de utilizar nanopartículas magnéticas como sistemas de liberación de medicamentos. El uso efectivo de MNP para aplicaciones biomédicas, como la administración dirigida de medicamentos, depende de una serie de factores relacionados con el tamaño y el magnetismo de las nanopartículas biocompatibles. Parámetros tales como las propiedades fisicoquímicas de los MNP cargados de drogas, la fuerza y la geometría del campo, la profundidad del tejido objetivo, la tasa de flujo sanguíneo y el suministro vascular, todos juegan un papel en la determinación de la efectividad de este método de administración de drogas. El aumento de la magnetización es ventajoso para facilitar la manipulación en los esquemas de administración de fármacos. Las nanopartículas deben ser pequeñas para que puedan ser superparamagnéticas a fin de evitar la aglomeración después de detener el campo magnético y permanecer en circulación sin ser eliminadas por los filtros naturales del cuerpo como el hígado o el sistema inmunitario. Se prefiere el nanosistema superparamagnético debido a su capacidad de magnetizarse tras la exposición a un campo magnético, pero no tiene magnetización permanente (remanencia) una vez que se apaga el campo [43].

En las partículas superparamagnéticas, las fluctuaciones térmicas son lo suficientemente fuertes como para desmagnetizar espontáneamente un MNP previamente saturado que tiende a agregarse debido a las fuertes atracciones magnéticas dipolo-dipolo entre las partículas. Para evitar esta dificultad, la dispersión acuosa de los MNP se logra recubriendo sus superficies con polímeros hidrófilos como el almidón o el dextrano y el quitosano.

En este estudio Jana Chomoucka y col. sugirieron MNP Fe_2O_3 recubiertos de quitosano y técnicas para su transporte y concentración seguros en sitios específicos del cuerpo que constituirían una herramienta poderosa para la terapia génica/farmacológica in vivo. Además, la administración de

fármacos *in vitro* podría mejorarse si los fármacos se modificaran con anticuerpos, proteínas o ligandos. Dentro de este estudio también concluyeron que la funcionalización de MNP con grupo amino, sílice, polímero, varios surfactantes u otros compuestos orgánicos generalmente se proporciona para lograr mejores propiedades físicas y químicas. Además, la estructura núcleo/cubierta de las MNP tiene las ventajas de una buena dispersión, una alta estabilidad frente a la oxidación y una cantidad apreciable de fármaco que puede cargarse en la cubierta del polímero [42]. También, se pueden usar muchos grupos funcionales de polímeros en la superficie para una mayor funcionalización para obtener varias propiedades. En la **Figura 2.12** se describe los diversos procesos mostrados en su estudio para la preparación de nanopartículas superparamagnéticas, funcionalización y posible aplicación en terapias de liberación de fármacos localizada. Se favorece que las MNP retengan suficiente hidrofilia y, con el recubrimiento, no excedan los 100 nm de tamaño para evitar la eliminación rápida por el sistema reticuloendotelial (RES). Se descubrió que la funcionalización de la superficie también juega un papel clave en la toxicidad de las nanopartículas [43].

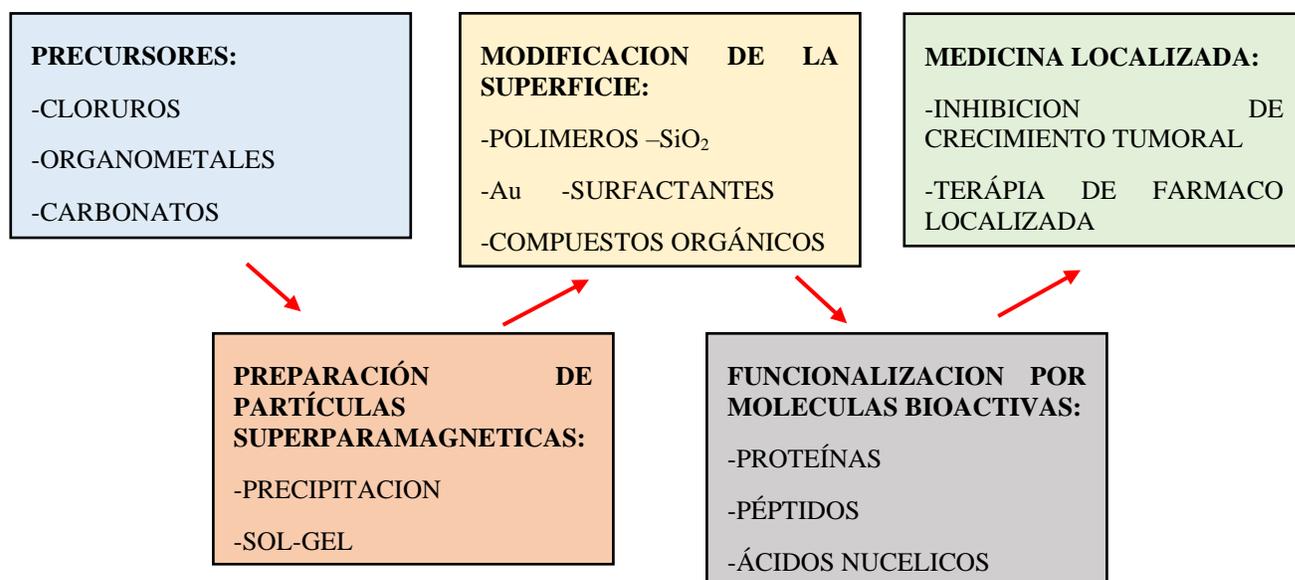


Figura 2.12. Proceso de preparación de partículas magnéticas para liberación de fármacos [43].

Por otro lado, en la investigación realizada por B. Gayathri Manju y su colaborador P. Raji evaluaron las propiedades estructurales, magnéticas y antibacteriales de las ferritas de níquel cobre, donde la actividad antibacteriana se probó contra cepas de bacterias gram positivas y los resultados mostraron una mayor actividad al agregar níquel a las nanopartículas de ferrita de cobre utilizando una solución extraída de *A. Barbadensis*. En la **Figura 2.13** se observa el efecto antibacterial de las nanopartículas de ferrita de níquel cobre sobre diferentes cepas bacterianas depositadas en cuatro diferentes cajas de Petri, en las cuales se puede apreciar el halo de inhibición acorde a la actividad antibacteriana de las nanopartículas de ferrita de níquel-cobre con cepas de *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, y *K. pneumonia*, demostrando la inhibición de crecimiento bacteriano en las zonas donde se colocaron las nanopartículas [50].

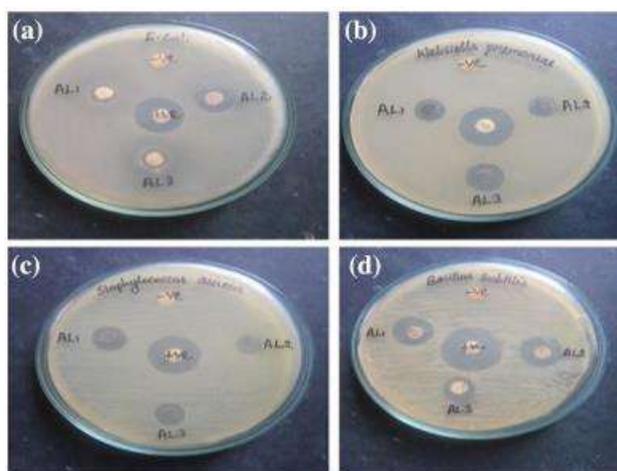


Figura 2.13. Halos de inhibición de las nanopartículas de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ contra cepas de a) *B. subtilis*, b) *S. aureus*, c) *E. coli*, y d) *K. pneumonia* [50].

De esta manera concluyendo en su investigación que, las nanopartículas de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ sintetizadas pueden tener aplicaciones prometedoras para dispositivos pseudosupercapacitores y tienen la ventaja de ser escalable y de bajo costo. Nanopartículas de ferrita mixtas de Cu-Ni en actividad electroquímica y antibacteriana para exhibir deliberadamente sus implicaciones funcionales [50].

2.5.- Métodos de síntesis

2.5.1.- Sol-gel

El método sol-gel generalmente es empleado para obtener nanopartículas de óxidos metálicos, el cual resulta ser económico y relativamente fácil de realizar. Se le denomina “sol” a una suspensión coloidal de partículas sólidas en una fase líquida, donde las partículas dispersas son lo suficientemente pequeñas para permanecer suspendidas por el movimiento Browniano. Un “gel” es una red de material sólido el cual contiene un componente líquido, ambos componentes se encuentran en un estado altamente disperso [11]. Este método se considera como el método de síntesis moderno más utilizado y consiste en una reacción química que parte de un ion o un compuesto molecular y forma una red tridimensional a través de la formación de enlaces de oxígeno entre los iones y la liberación de agua u otras moléculas pequeñas [12].

La transición sol-gel depende de la cantidad de precursor, agua, catalizador, temperatura y pH. El sol-gel puede producirse a partir de precursores inorgánicos u orgánicos (por ejemplo, nitratos o alcóxidos). Los alcóxidos metálicos son miembros de la familia de los metales/orgánicos, que tienen un ligando orgánico unido a un átomo de metal o metaloide. Los alcóxidos metálicos $M(OR)_z$ son precursores populares porque reaccionan fácilmente con el agua, en general muy reactivos debido a la presencia de grupos OR altamente electronegativos que se estabilizan M en su estado de oxidación más alto y hacen que M sea muy susceptible al ataque nucleofílico [13].

En el proceso acuoso sol-gel, la especie formada en la primera etapa es un enlace M-OH que no es estable y reacciona con otras especies. Este primer paso se llama hidrólisis. En una segunda etapa, el grupo M-OH lábil se condensa con otros grupos M-OH o M-OR (si los alcóxidos son precursores en la etapa sol-gel) para formar enlaces M-O-M bajo liberación de agua o alcohol, así, se forma una red tridimensional. Generalmente, las especies producidas no se condensan completamente en este proceso controlado cinéticamente, pero aún incluyen agua o grupos OH. Una vez ocurrida la hidrólisis la reacción de condensación guiará la formación de hidróxidos. En cuanto a la estructura, la hidrólisis y condensación conducen primeramente a la formación de partículas sólidas que están

suspendidas en el líquido llamado sol. Cabe mencionar que las partículas todavía contienen en sus grupos de superficie activos en etapas de condensación y por lo tanto se reticulan como gel. Esta última se define como una red sólida que contiene líquido en sus poros. El material sólido final tiene muchos grupos OH superficiales, que pueden estabilizarse mediante enlaces de hidrógeno con el disolvente y el agua residual. Además, después de la gelificación, todavía hay muchos grupos alcóxidos residuales y grupos OH no condensados presentes en el material. En la etapa de envejecimiento, estos grupos reaccionan entre sí para formar más agua y alcoholes. Por lo tanto, el tiempo de envejecimiento tiene un impacto importante en las propiedades texturales del material. La mejor solución para resolver el exceso de residuos orgánicos en el material, es someterlo a un tratamiento térmico, del cual, al finalizar obtendremos nuestro material en forma de monolito, fibra o de película delgada [12]. En la **Figura 2.14** se ilustran los diferentes materiales que pueden ser obtenidos mediante el proceso de sol-gel.

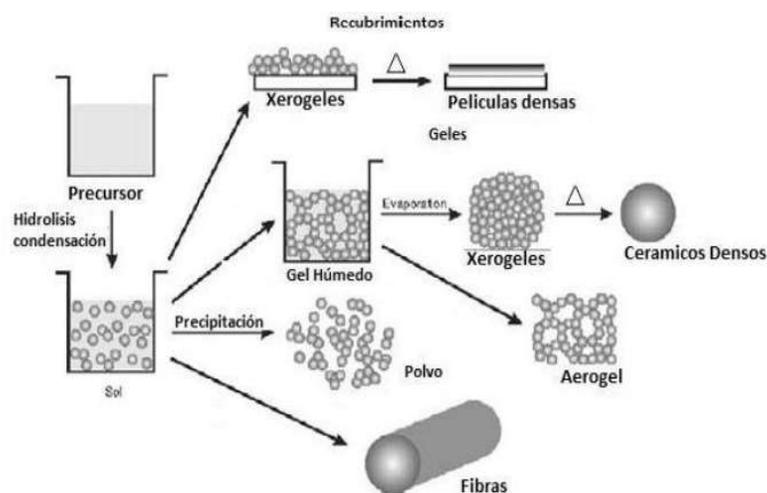


Figura 2.14. Diferentes tipos de materiales obtenidos mediante el proceso Sol-gel [20].

En el estudio publicado por Anjali Nihore y sus colaboradores, en donde sintetizaron nanopartículas de ferrita de níquel-cobre por el proceso sol gel, concluyeron que este método permite la formación de una buena estructura de espinela cristalina, bajas condiciones de

procesamiento y reproducibilidad (**Figura 2.15**). Con el dopaje con cobre, la intensidad de los picos principales correspondientes a los planos (111), (220), (311), (400), (422), (511) y (440) disminuye y han aparecido algunos picos nuevos en los difractogramas de Rayos-X, los cuales son resaltados con flechas en el patrón rojo correspondiente a la difracción de Rayos-X realizada a la ferrita de níquel dopada con cobre. Utilizaron la ecuación de Scherrer para calcular el tamaño del cristalito y se encontró que era 49,99 y 54,42 nm para NiFe_2O_4 puro y para NiFe_2O_4 dopado con cobre, respectivamente [49], concluyendo así que en este caso la adición de cobre a la estructura de la ferrita de níquel pura, ocasionaba un tamaño de cristalito de alrededor de 4 nm de diámetro.

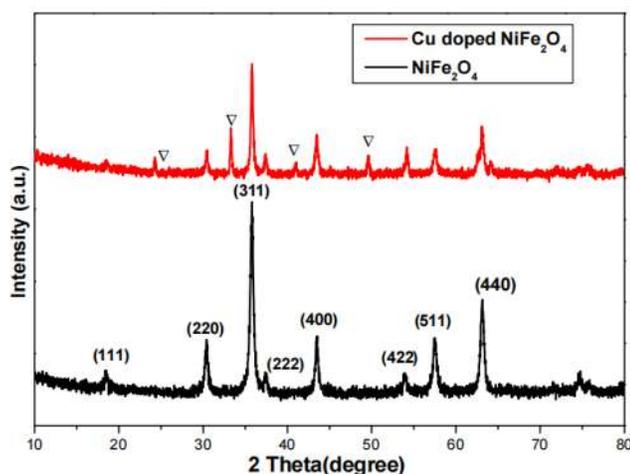


Figura 2.15. Patrones de difracción de Rayos-X obtenidos por Anjali Nihore de la ferrita de níquel pura y la dopada con cobre [49].

El estudio de microscopía electrónica de barrido de la ferrita de níquel A) y de la ferrita de níquel-cobre B) presentadas en la **Figura 2.16**, se observa la aglomeración de partículas con huecos y poros debido a la evaluación de una gran cantidad de gases durante el calentamiento [49], de la misma manera es posible destacar que la ferrita de níquel-cobre en este caso presenta una aglomeración mayor, pero al mismo tiempo una distribución de partículas y de tamaño ligeramente más uniformes que en el caso de la ferrita de níquel [49].

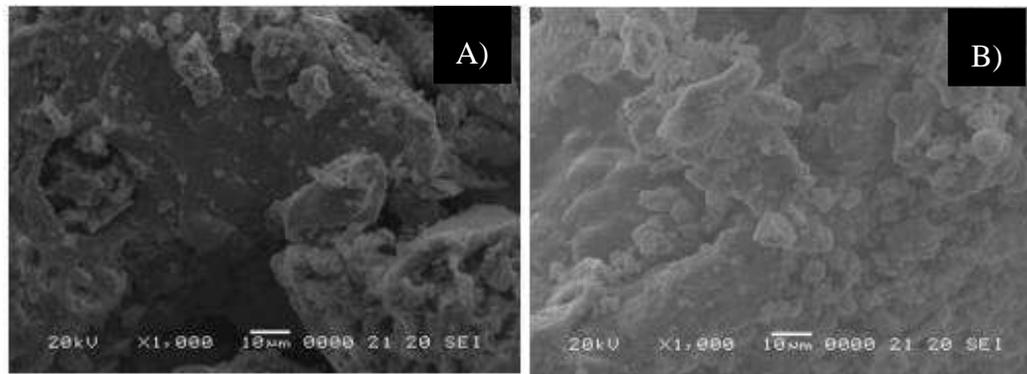


Figura 2.16. Micrografías MEB obtenidas en el estudio de la ferrita de níquel pura A) y ferrita de níquel dopada con cobre [49].

2.5.1.- Proceso de liofilización

El secado por aspersión en frío o secado por liofilización, es un método relativamente reciente, que, desde las últimas dos décadas, ha atraído un creciente interés de las industrias farmacéutica y alimentaria, porque supera la principal limitación del secado por aspersión o Spray Drying (SD) contra productos sensibles y biomoléculas que pueden degradarse cuando se exponen al calor durante la evaporación [17, 18].

Los dos métodos tienen su comienzo desde el mismo paso, que es la generación de gotas a través de la aireación del líquido de alimentación (atomización), pero en el proceso de aspersión las gotas se agregan al gas o líquido criogénico y una vez congeladas se subliman para obtener el polvo seco. Además de lo idóneo que es para procesar materiales sensibles y delicados, las resistencias de la liofilización también incluyen una temperatura de procesamiento baja, un mayor rendimiento, una mayor uniformidad del producto y, a menudo, una mayor calidad en términos de actividad, contenido de agua y / o estabilidad. La temperatura del producto será inferior a 0 °C durante el secado primario y, por lo general, inferior a 30 °C durante el secado secundario, y el solvente puede eliminarse sin exponer los sistemas a las fuerzas de tensión de un menisco en retroceso que forma sistemas de área de alta superficie [19].

El método de la preparación de los nanomateriales está relacionado directamente con el tamaño y la forma de la partícula, la distribución de tamaño, la química superficial de las partículas y, por consiguiente, sus propiedades magnéticas, así como también la porosidad que el material posee. El método Sol-gel asistido por liofilización es un proceso avanzado, usado para producir eficientemente partículas coloidales en el estado sólido. En dicho proceso, la solución que se obtiene después de que la mezcla de los precursores del proceso sol-gel haya terminado, se provee al proceso de aspersion siendo bombeada hacia el líquido criógenizante pasando por una boquilla que puede ser neumática, hidráulica o de otro tipo, donde la solución es congelada, En la **Figura 2.17** se ilustra el proceso, el cual es el responsable de generar la morfología esférica de los agregados mediante el congelamiento de las partículas esféricas que proceden de la aspersion de la boquilla hacia el nitrógeno líquido.



Figura 2.17. Ilustración del proceso de congelamiento por aspersion [21].

Posteriormente el proceso continúa, con la etapa de secado al vacío. En la **Figura 2.18** se denota la manera en que los componentes del equipo de liofilización actúan, en la parte superior se encuentra la cámara de vacío en donde se coloca la muestra congelada, esta cámara se encarga de realizar la sublimación, mientras que en la parte inferior se localiza el condensador, cuya función es bajar la temperatura de manera que el vacío se realiza de forma más rápida y efectiva, además que también se encuentra la válvula encargada de expulsar el contenido de residuos que se genera en la cámara de vacío, el mencionado proceso consiste en eliminar algunos de los remanentes de

la solución o determinados residuos producto de la mezcla de los precursores mediante la sublimación causada por el vacío de manera que, casi toda la estructura o estructuras sólidas adquiridas en la aspersion sean conservadas.

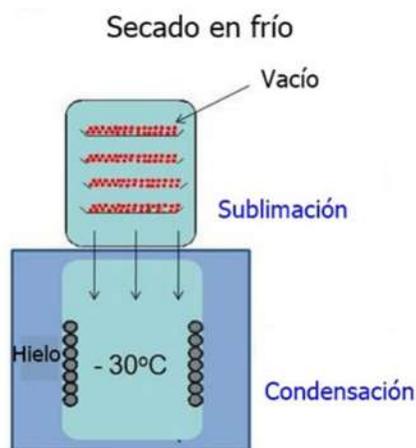


Figura 2.18. Ilustración del proceso de secado en frío [21].

2.6.- Materiales porosos

La porosidad de un material la podemos definir como la medida que hay entre sus espacios vacíos, es decir, de los poros que lo constituyen. La palabra “poro” proviene del término latino “*porus*”, y este a su vez del griego “*poros*”, el cual significa paso-pasado “paisaje”. Esta definición claramente permite imaginar el papel de un poro como un camino entre la superficie externa e interna de un sólido, permitiendo el paso de fluidos, dentro, a través o fuera del propio sistema poroso. (adsorción y absorción). Dichos poros están clasificados por la UIQPA (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada por sus siglas en español acorde al tamaño de su diámetro en: **microporos** (menores a 2 nm), **mesoporos** (2 nm-50 nm), y **macroporos** (mayores a 50 nm) [53].

Debido a las fuerzas de interacción entre los sólidos porosos y las moléculas de un gas u otro fluido, se producen fuerzas de básicamente dos clases: físicas y químicas, dando lugar a la *fisiadsorción* y a la *quimisorción* respectivamente. Indagando en la literatura del área es posible

encontrar miles de isothermas de adsorción medidas sobre una gran variedad de sólidos porosos. A pesar de esta diversidad la mayoría de estas isothermas, las cuales son el resultado de una adsorción física, pueden ser agrupadas convenientemente en seis clases las cuales son mostradas en la **Figura 2.19** según la clasificación de la UIQPA. *Tipo I*: Esta clase de isoterma es característica de materiales microporosos. *Tipo II*: Puede interpretarse como la formación de una capa adsorbida cuyo espesor incrementa progresivamente y empieza la formación de las capas multimoleculares conocidas también como multicapas. *Tipo III*: Esta es indicativa de interacciones débiles entre el adsorbato y el adsorbente. Este tipo de isoterma no es muy común. *Tipo IV*: Esta isoterma es característica de los sólidos mesoporosos. *Tipo V*: Al igual que el tipo 3, esta isoterma se obtiene cuando las interacciones entre en adsorbato y el adsorbente son débiles. En la práctica es poco usual encontrarse con este tipo. *Tipo VI*: Es la menos común de todos los tipos de isothermas, Se le asocia con la adsorción capa por capa sobre superficies que son altamente homogéneas respecto al adsorbato. La forma del escalón depende de la temperatura y de los detalles del sistema [53].

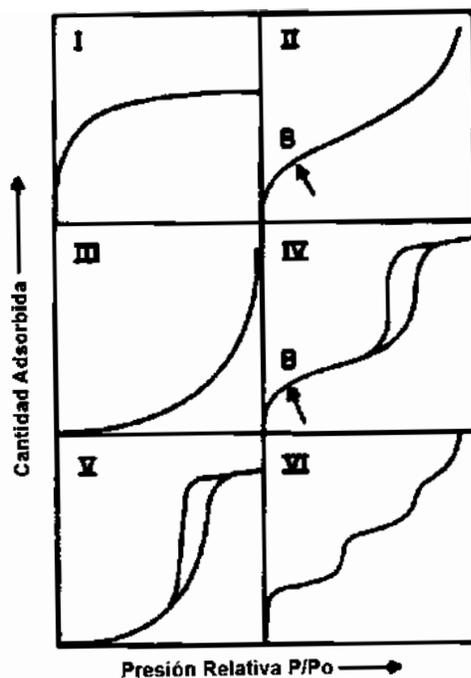


Figura 2.19. Los seis tipos de isothermas de adsorción (fisorción) según la clasificación de la UIQPA [53].

La mayoría de las isothermas de materiales mesoporosos con ciclo de histéresis pueden ser agrupadas según la clasificación de la UIQPA, ilustradas en la **Figura 2.20**, las cuales se describen como: Tipo H1 que es la que se asocia a una distribución de poros muy angosto (poros cilíndricos abiertos y cerrados) o en aglomerados de partículas esféricas de tamaños y distribuciones aproximadamente uniformes con sus ramas de adsorción y desorción paralelas entre sí. Al contrario, el tipo H2 es la más común, se caracteriza por un ciclo de histéresis ancho, lo que se traduce en una curvatura pronunciada. Los tipos 3 y 4 se obtienen al trabajar con aglomerados de poros de placas paralelas, presentan una curva a presiones altas, por lo que a veces es difícil determinar la rama de desorción. El tipo H4 tiene la distribución de tamaño en el rango de los microporos [53].

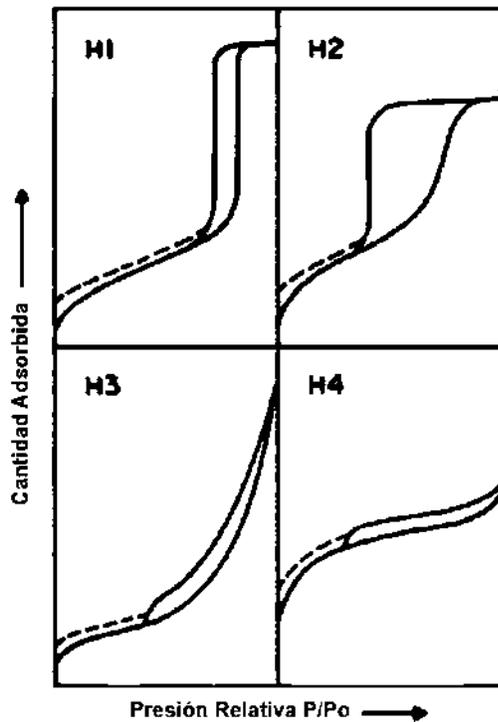


Figura 2.20. Clasificación de los distintos tipos de lazos de histéresis según la clasificación de la UIQPA [53].

2.7.- Fármacos

Se conoce como farmacología a la ciencia que se encarga del estudio de los medicamentos, en forma más general, “estudia todas las facetas de la interacción de sustancias químicas con los sistemas biológicos”; esta última definición se refiere en forma especial, aunque no exclusiva, a aquellas sustancias que son introducidas desde el exterior de dichos sistemas. Por tanto, se puede considerar que la farmacología comprende el conocimiento de la historia, fuente, propiedades físicas y químicas, componentes, efectos bioquímicos y fisiológicos, mecanismos de acción, absorción, distribución, biotransformación, excreción, usos terapéuticos y efectos adversos de tales sustancias, a las cuales, en conjunto, se les conoce como fármacos o drogas. Así, los fármacos podrían definirse como cualquier agente químico capaz de interactuar con un sistema biológico, afectando el proceso de la vida [14]. Estos agentes químicos serían entonces estudiados y utilizados en tres contextos diferentes pero relacionados:

- a) Estudio de mecanismos fisiológicos
- b) Uso en Medicina
- c) Efectos biológicos de químicos ambientales

La relación que se tiene entre la dosis de una droga dada a un paciente y su utilidad en el tratamiento de una enfermedad, son aspectos que se describen por las dos áreas principales de la Farmacología: La Farmacocinética y la Farmacodinámica. La primera puede definirse como el enfoque cuantitativo del comportamiento de los fármacos en el organismo, abarcando los mecanismos por los cuales este último influye en la concentración de aquellos, sea introduciéndolos y distribuyéndolos por el sistema (absorción y distribución), modificándolos (metabolismo, biotransformación) y/o desechándolos (excreción); estos procesos farmacocinéticos son descritos frecuentemente con el acrónimo ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción). Expresando el concepto de una manera algo diferente, la farmacocinética puede considerarse como la descripción cuantitativa de una droga y de su concentración en el organismo o en sus compartimientos a lo largo del tiempo. La Farmacodinámica, en contraste, incluye el estudio de los efectos bioquímicos y fisiológicos de las drogas, así como el de sus mecanismos de acción. Estudia el efecto y mecanismo de acción de los fármacos sobre el organismo [15].

2.7.1.- Clasificación

Existe una gran variedad de fármacos y una clasificación de acuerdo a su función y su mecanismo de acción, dentro de la cual podemos encontrar: **antiinflamatorios, hipnóticos y sedantes, antisépticos y desinfectantes, antiinfecciosos**, solo por mencionar algunos [16].

Estos son algunos de los tipos de fármacos más comunes y utilizados por la industria y en general, el sector de salud pública, sin embargo, los fármacos de mayor importancia son estos últimos, los antiinfecciosos, en este tipo de fármacos están presentes los **Antifúngicos** (contra hongos), **Antivirales** (contra virus), **Antiparasitarios** (contra parásitos) y **Antibióticos** (contra bacterias), los antibióticos son los de especial interés ya que, la mayoría de las enfermedades son ocasionadas por la acción o presencia de bacterias en el cuerpo humano [15].

2.7.2.- Antibióticos

Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones, y la toxicidad es selectiva con una mínima toxicidad para las células de nuestro organismo. El objetivo de la antibioticoterapia es controlar y disminuir el número de microorganismos viables, colaborando con el sistema inmunológico en la eliminación de los mismos.

Clasificación de los antibióticos:

a) De acuerdo a la interacción microorganismo-antibiótico:

Estos fármacos pueden dividirse en:

- **Bactericidas:** Su acción es letal, llevando a la lisis bacteriana, tiene la capacidad de matar bacterias, microorganismos unicelulares u otros organismos. Los bactericidas pueden venir en forma de desinfectantes, antisépticos o antibióticos.
- **Bacteriostáticos:** A las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana, básicamente es aquel que no destruye o mata las bacterias, pero si detiene su crecimiento, de tal manera que acaban muriendo sin reproducirse.

b) Según el espectro de acción en:

- Antibióticos de espectro amplio, como aquellos antibióticos que son activos sobre un amplio número de especies y géneros diferentes (aminoglucósidos y carbapenemes);
- Antibióticos de espectro reducido, antibióticos solo activos sobre un grupo reducido de especies (penicilinas).

c) Según el mecanismo de acción:

Es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana. En la **Figura 2.21** se ilustra la división de los antibióticos según su mecanismo de acción, donde aparecen clasificados tales mecanismos de acción como: inhibidores de la formación de la pared celular, inhibidores de la membrana citoplasmática, inhibidores de la duplicación del ADN, inhibidores de vías metabólicas e inhibidores de la síntesis proteica, estos últimos a su vez presentan una subdivisión concerniente a la subunidad proteica que se inhibe en el proceso como puede ser la subunidad 30s o 50s [25], del lado izquierdo de la figura se puede ver de manera superficial como actúa la inhibición bacteriana en tres principales procesos de la reproducción bacteriana, en primer lugar la alteración de ADN, seguida por la síntesis proteica y finalizando con procesos metabólicos.

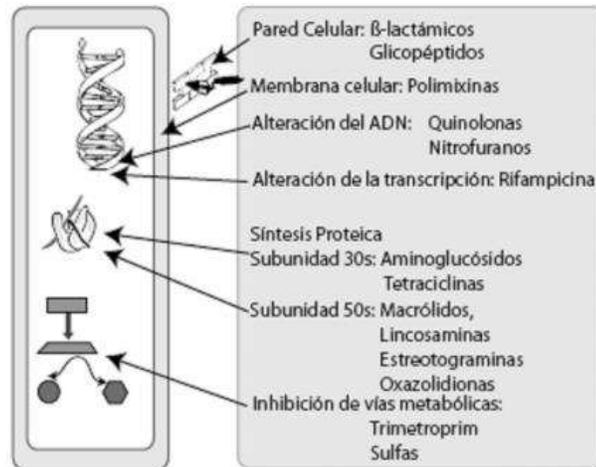


Figura 2.21. División de antibióticos según su mecanismo de acción [25].

2.7.3.- Aminoglucósidos

Este grupo está formado por gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, kanamicina, estreptomina y neomicina. Estos medicamentos se utilizan principalmente para el tratamiento de la tuberculosis. A diferencia de la mayor parte de los inhibidores de la síntesis microbiana de proteínas, que son bacteriostáticos, los aminoglucósidos son inhibidores bactericidas de la síntesis proteica. Las mutaciones que modifican las proteínas del ribosoma bacteriano, que es el objetivo de estos fármacos, confiere resistencia a su acción. Esta resistencia se debe casi siempre a la adquisición de plásmidos o genes codificadores de transposones para las enzimas que metabolizan aminoglucósidos o por alteraciones en el transporte del medicamento hacia el interior de la célula, esto da como resultado la posibilidad de resistencia cruzada entre los miembros de esta clase [25]. En la **Figura 2.22** es descrito el efecto que tienen los aminoglucósidos en la síntesis proteica en donde: A, El aminoglucósido, que está representado por círculos cerrados, se liga a la subunidad ribosómica 30S e interfiere en el comienzo de la síntesis proteica al fijar el complejo ribosómico 30S-50S al codón de comienzo (AUG) de mRNA.

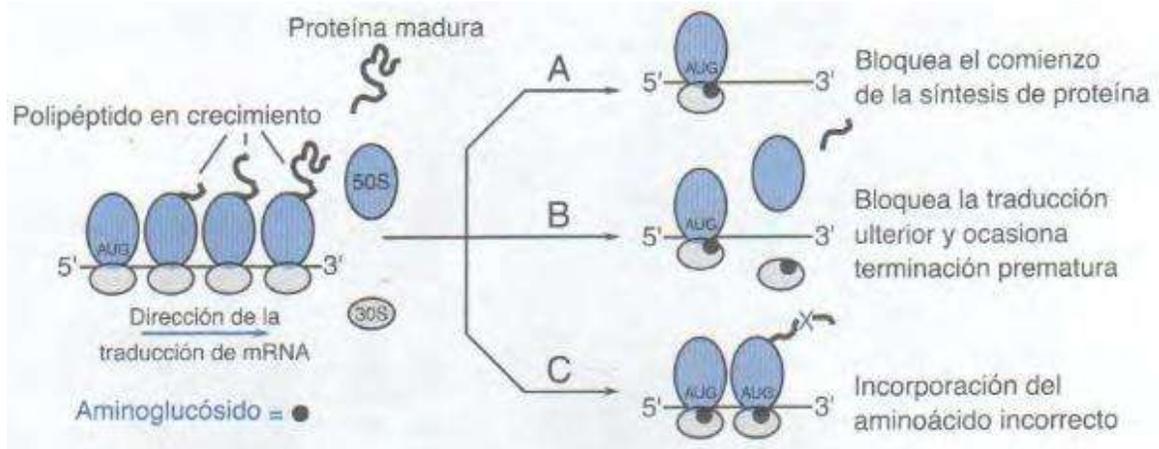


Figura 2.22. Efecto de los aminoglucósidos en la síntesis proteica [25].

Cuando los complejos 30S-50S completan la traducción del mRNA y su desprendimiento, se acumulan los complejos de inicio anormales, llamados monosomas de estreptomicina, y bloquean cualquier traducción ulterior del mensaje. El aminoglucósido que se liga a la subunidad 30S también ocasiona lectura errónea de mRNA, lo cual origina el proceso B (Figura 2.22), terminación prematura de la traducción, con separación del complejo ribosómico de una proteína sintetizada en forma incompleta o C (Figura 2.22), incorporación de los aminoácidos incorrectos (señalados por la "X") que culmina en la producción de proteínas anormales o no funcionales [25].

2.7.4.- Amikacina

La amikacina es un antibiótico aminoglucósido semisintético derivado de la kanamicina [47]. Bactericida, de rápida acción; inhibe la síntesis de polipéptidos bacterianos, probablemente al provocar la separación entre ribosomas y el RNA mensajero. La estructura molecular de la amikacina es apreciable en la **Figura 2.23**, destacando la presencia en su mayoría de grupos amino

(NH₂-) y grupos hidroxilo (OH-) Es el único antibiótico resistente a 8 de las 9 aminoglucosidas producidas por bacterias gran negativas [24].

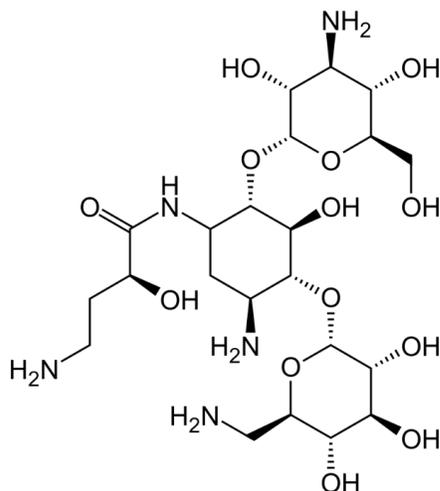


Figura 2.23. Ilustración de la estructura molecular de la amikacina.

2.7.4.1.- Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de la amikacina es dependiente del tipo de organismo al que se busca afecta:

a) Bacterias gram-negativas: La amikacina es activa contra todos los entero bacterios tales como *E. Coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* y *Citrobacter*. La *Pseudomona aeruginos* es sensible como también lo son la *Ps. Stulzeri* y la *Ps. Fluorescens*, pero son generalmente resistentes a la *Ps. Maltophilia* y la *Ps. Cepasia*. Este fármaco también es activo contra las *Neisserias*, los *H. influenza* y la *Pasteurella multacida*. Algunas cepas de *Acinetobacter* y *Alcaligenes* son resistentes. Los *Flavobacterium spp.* son siempre resistentes. Es inefectiva contra el *Bacteroides fragilis*, así como frente a la mayoría de las bacterias anaerobias gram negativas. La amikacina es activa contra la mayoría de las bacterias gran negativas resistentes a otros aminoglucósidos tales como gentamicina y tobramicina. Las bacterias resistentes al fármaco, lo son generalmente también,

aunque no de manera invariable a otros aminoglucósidos. Es muy probable que tal resistencia aumentara con el abuso de la misma, de modo que, se usa generalmente en infecciones por agentes resistentes a otros antibióticos.

b) Bacterias gram-positivas: Los *Staphylococcus*, incluyendo a los resistentes a la penicilina y meticilina, son sensibles, sin embargo, para estos bacterios, los isoxalos penicilina continúan siendo de elección. Los *Streptococcus pyogenes*, *Pneumniae* y *Fecalis* son resistentes. Los anaerobios gram positivos como el *Clostridium* y los *Actinomyces* son también resistentes. La *Nocardia asteroides* es sensible. El *Mycobacterio tuberculoso* es sensible también.

c) Singierismo: Este antibiótico posee sinergia con la carbenicilina y la ticarcilina contra la *Ps. Aeruginosa*, retrasando la aparición de resistencia. En combinación con cefalotina actúa sinérgicamente contra las *Klebsiella sp.* Trimetoprim y amikacina se sinergizan contra la *Klebsiella pneumoniae*, La *Serratia marcescens* y el *E. Coli*, pero no contra la *Pseudomona aeruginosa*.

2.7.4.2.- Farmacocinética

La amikacina es hidrosoluble y se distribuye rápidamente en el líquido extracelular después de su administración parenteral. No se une a proteínas, no es metabolizada y se excreta por filtración glomerular, ya que es reabsorbida escasamente por el túbulo proximal. Su vida media en pacientes con función renal normal, es de aproximadamente dos horas, recuperándose el 95% del fármaco en la orina durante las 24 horas siguientes después de su administración. Atraviesa de manera débil la barrera hematoencefálica, lo que hace necesario su uso intrafeca, en los casos requeridos. Es concentrada de buena manera en los líquidos ascítico y sinovial, pero de manera contraria en las secreciones bronquiales, tejido pulmonar, precordio y miocardio, puede atravesar con facilidad la placenta, alcanzando al feto.

Este fármaco debe ser considerado como un antibiótico de reserva para infecciones causadas por bacilos aeróbicos gram negativos, resistentes a otros aminoglucósidos. Debería ser elegido al

iniciar el tratamiento de sepsis presumiblemente producidas por bacilos gram negativos de origen intrahospitalario, frecuentemente resistentes a la gentamicina. Además, ha demostrado ser de gran utilidad en pacientes neutropénicos; las infecciones localizadas en tejido renal, responden mejor que las de origen pulmonar. También se considera eficaz en el tratamiento de peritonitis, artritis sépticas y heridas infectadas. En el caso de endocarditis y osteomielitis debe usarse en combinación con otros antibióticos. En infecciones secundarias a cirugía digestiva (anaerobios), es recomendable combinarla con cloranfenicol, clindamicina o metronidazol [48].

2.7.4.3.- Administración

Al igual que casi todos los aminoglucósidos, no se absorbe por vía oral, sino que debe ser administrada por vía intramuscular o endovenosa. La dosis habitual para un adulto, teniendo este un riñón sano, es de 15 mg/kg/día, administrada cada 8 o 12 horas. Con dosis de 7.5 mg/kg cada 12 horas, cuando se es inyectada se obtiene una concentración sérica de 20 a 25 microgramos/ml y de 5 microgramos/ml inmediatamente antes de la siguiente dosis. Cuando es suministrada por vía endovenosa, se obtiene una concentración máxima de 40 a 45 microgramos /ml 12 horas después de ser inyectada. Puede disolverse en 100 ml de suero glucosado isotónico e infundirse en 30 minutos, es importante saber que no debe ser mezclado con otros antibióticos ya que se inactiva, como ejemplo, cuando se mezcla con penicilina forma enlaces químicos de tipo amida, lo que perjudica su eficacia.

C. Vairo y colaboradores realizaron un estudio sobre la carga de amikacina en portadoras de lípidos nanoestructurados, en la **Figura 2.24** se pueden contemplar micrografías de microscopía electrónica de transmisión de tales nanoestructuras, destaca en la imagen del lado izquierdo la micrografía en campo claro, la adherencia del fármaco en la superficie, mientras que en la imagen situada en el lado derecho de la figura la micrografía de campo oscuro el tamaño más definido de la nanoestructura una vez se ha anclado la amikacina a la superficie; la investigación se llevó a cabo en diferentes formulaciones, mediante homogeneización a alta presión, y se analizó su efectividad *in vitro* e *in vivo* encontrando que la encapsulación no redujo la eficacia del fármaco, también se observó una mejor eficacia en varias cepas de bacterias, especialmente en *A. baumannii*. Finalmente, el estudio de eficacia *in vivo* reveló que podría administrarse con un intervalo de dosis

de cada 24 h con una dosis 10 veces menor (6 mg / kg) para lograr el mismo efecto de la dosis actual de tratamiento, esto puede representar una opción prometedora para luchar contra las infecciones pulmonares resistentes debidas a *A. baumannii* [51].

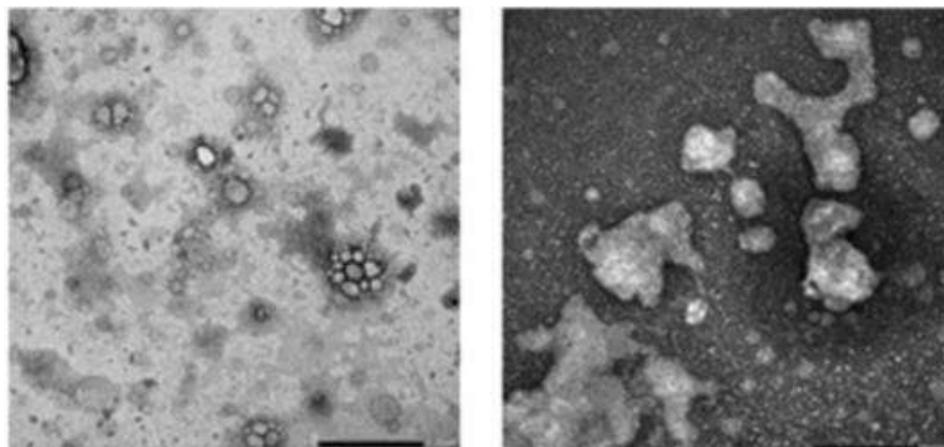


Figura 2.24. Micrografías obtenidas por Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) de las nanoestructuras portadoras de lípidos cargadas con amikacina (cota de medida: 430 nm) [51].

La propagación de bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) en el medio ambiente está aumentando debido al uso excesivo de antibióticos en humanos, animales y plantas [64, 65], lo que a su vez ha provocado una reducción considerable en la eficacia de las terapias basadas en antibióticos [66]. Entre muchos conductos ambientales que se sabe que propagan BRA, se ha informado que las aguas residuales son un vehículo importante. Un estudio informó que aproximadamente del 50% al 90% de los antibióticos administrados a humanos o animales son eliminados a través de la orina y los excrementos [67, 68]. La rápida propagación global de las BRA ocasiona que el tratamiento de enfermedades graves con antibióticos se esté volviendo más difícil o casi imposible. Continuamente se desarrollan nuevos antibióticos de amplio espectro para eliminar este tipo de bacterias resistentes, pero la aparición de nuevas cepas dificulta su eficacia. Por esta razón, la resistencia a los antibióticos de las bacterias ha sido clasificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como una de las 10 principales amenazas mundiales para la salud pública que enfrenta la humanidad [69].

En la **Figura 2.25** se pueden apreciar las muertes por año (mpa) atribuibles a la resistencia a los antibióticos en comparación con otras causas de muerte como lo son: tétanos con 60,000 mpa, cólera con 120,000 mpa, sarampión con 130,000 mpa, accidentes de tráfico con 1,2 millones de mpa, diarrea 1,4 millones de mpa, diabetes con 1,5 millones mpa, cáncer con 8,2 millones mpa y finalmente 700,000 mpa a causa de las BRA.

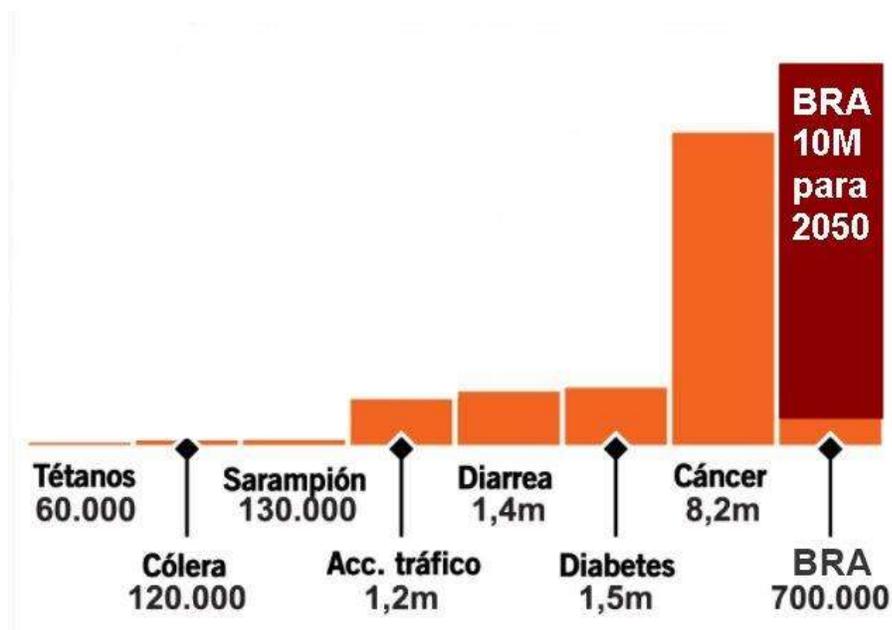


Figura 2.25. Muertes por año atribuidas a BRA en comparación con otras causas de muerte [69].

De esta manera se estima que alrededor de 10 millones de personas podrían morir cada año en 2050 si no se realiza un cambio radical de manera global contra la resistencia a los antibióticos [69], superando así la tasa de mortalidad de enfermedades como el cáncer o la diabetes o incluso a estas dos juntas, de ahí la importancia de idear estrategias nuevas que tengan un efecto directo que favorezca la reducción de la tasa de mortalidad de las BRA, como lo puede ser creación de nuevas terapias o maneras por las cuales se suministran los fármacos, siendo este el objetivo principal de este trabajo de investigación.

3.-DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se describen los materiales y reactivos utilizados en el proceso de síntesis, así como los medios de cultivo y el fármaco funcionalizado en la superficie del material, asimismo es descrito del proceso de síntesis de los polvos de ferrita de níquel-cobre mediante el método de síntesis Sol-gel, el cual, fue asistido por el proceso de liofilización, de igual manera, se detalla el proceso de inmersión por el cual se realiza el anclaje del fármaco (Amikacina) en la superficie del material, obteniendo así los polvos de ferrita funcionalizados, al igual, se especifican los métodos de caracterización realizados en el material obtenido.

3.1.- Materiales y Reactivos:

Los reactivos para la síntesis de ferrita de níquel-cobre y su caracterización fueron adquiridos de la empresa Sigma-Aldrich: Nitrato de níquel hexahidratado $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 98.5%, Nitrato de cobre trihidratado $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 99.10 %, Nitrato de hierro nonahidratado $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$ 98%, Ácido cítrico $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ 99.99%, Bromuro de Potasio (FTIR). Los medios de cultivo se adquirieron de BD: Agar Mueller Hinton, Medio líquido Luria-Bertani. El antibiótico amikacina se adquirió de la empresa AMSA.

3.2.- Estrategia Experimental:

La estrategia experimental efectuada en este trabajo se describe de manera resumida a través del diagrama ilustrado de la **Figura 3.1**, en donde inicialmente se exhiben los precursores empleados para el inicio del proceso Sol-gel, los cuales forman la solución acuosa que posteriormente sigue una etapa de agitación hasta la formación de la solución, de manera que esta pasa al proceso de aspersión seguida del secado por liofilización, para finalizar el proceso de síntesis se llevó a cabo

la calcinación del producto liofilizado para así obtener la ferrita de níquel-cobre sólida, prosiguiendo de esta manera con la etapa de caracterización del material, que en primera instancia comprende la caracterización morfológica incorporada por la Microscopía Electrónica de Barrido y la Difracción de Rayos-X, continua con la caracterización físico-química integrando el análisis de Potencial Z, Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier, Análisis de área superficial específica por el método de Brunauer, Emmett y Teller y por ultimo Magnetometría de Muestra Vibrante; la estrategia experimental concluye con el anclaje del fármaco al material para posteriormente llevar a cabo las pruebas microbiológicas, consistiendo estas de las pruebas de liberación del fármaco y de la actividad microbiana.

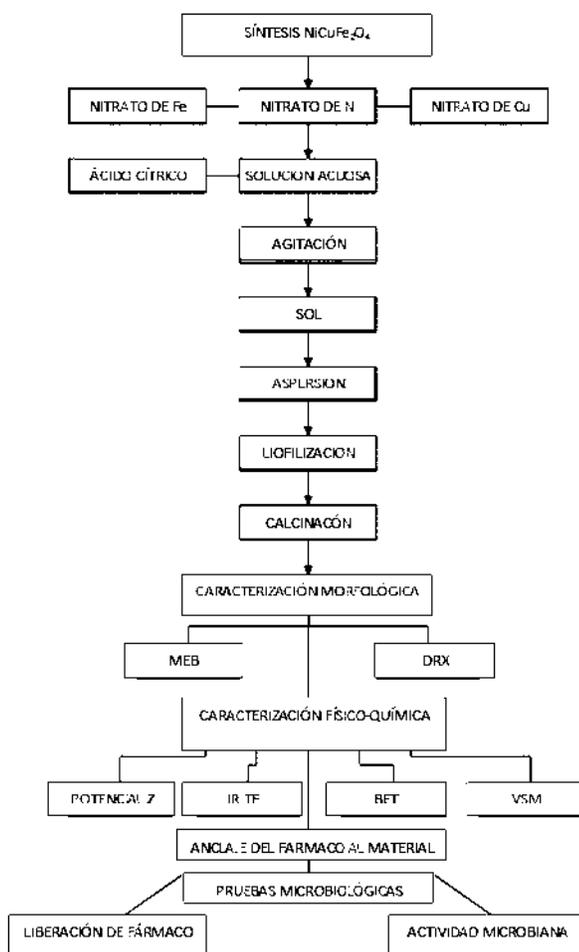


Figura 3.1. Diagrama de estrategia experimental llevada a cabo para la síntesis, caracterización, funcionalización y pruebas microbiológicas de NiCuFe₂O₄.

3.3.- Síntesis de agregados nanoestructurados de Ferrita-Níquel-Cobre

Se sintetizaron agregados nanoestructurados de ferrita níquel-cobre mediante el proceso Sol-Gel, para lo cual se utilizaron los precursores $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, agua destilada y ácido cítrico.

Se pesaron las siguientes sales estequiométricamente: $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. En este caso los valores corresponden a:

$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0.31g

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: 0.26g

$\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$: 1.7g

Para elaborar 0.5 g de producto, se diluyeron por separado las sales en tres vasos de precipitados de 50 ml con 5 ml de agua destilada cada uno durante 10 minutos como se muestra en la **Figura 3.2.**, posteriormente se mezclaron las tres soluciones en un mismo vaso de precipitados igualmente de 50 ml durante aproximadamente 10 minutos y una velocidad de agitación de 400 rpm, después de 10 minutos se prosiguió con la adición del ácido cítrico en una proporción 5:1.

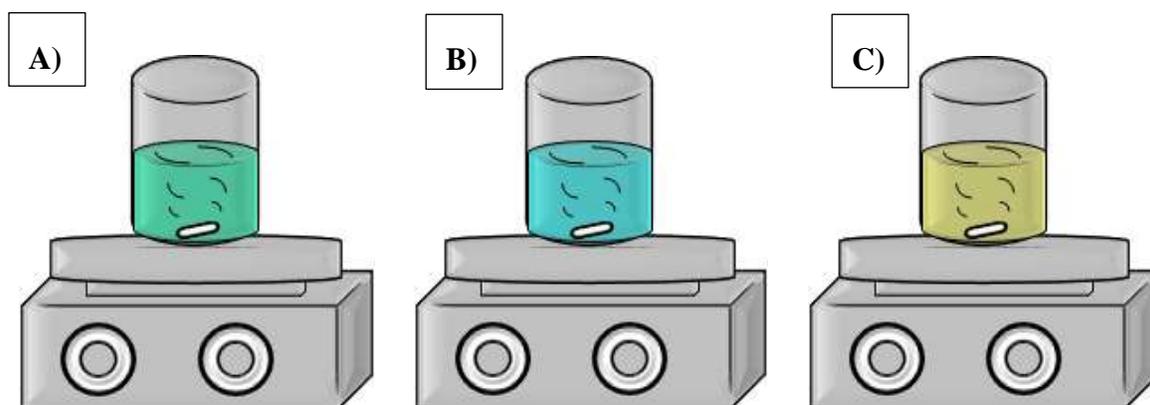


Figura 3.2. A) Solución de Nitrato de Ni, B) Solución Nitrato de Cu y C) Solución Nitrato de Fe.

Una vez que se genera un color marrón (**Figura 3.3**), se continuó el mezclado durante 30 minutos para diluir los precursores uniformemente a 25 °C aproximadamente.

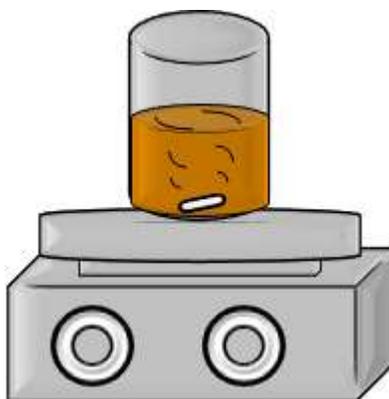


Figura 3.3. Mezcla de las soluciones de nitratos y ácido cítrico.

Una vez completo el tiempo de agitación, el sistema de reacción se llevó a un equipo de aspersión LS-2 que depende de la velocidad de aspersión acorde a las revoluciones por minuto (rpm) de la bomba peristáltica (**Figura 3.4**), donde a través de un flujo binario sistema de reacción/aire con una presión de 0.5 mbar, se dispersó la mezcla sobre nitrógeno líquido en agitación en un vaso de precipitados de 500 ml hasta que toda la solución fue congelada.

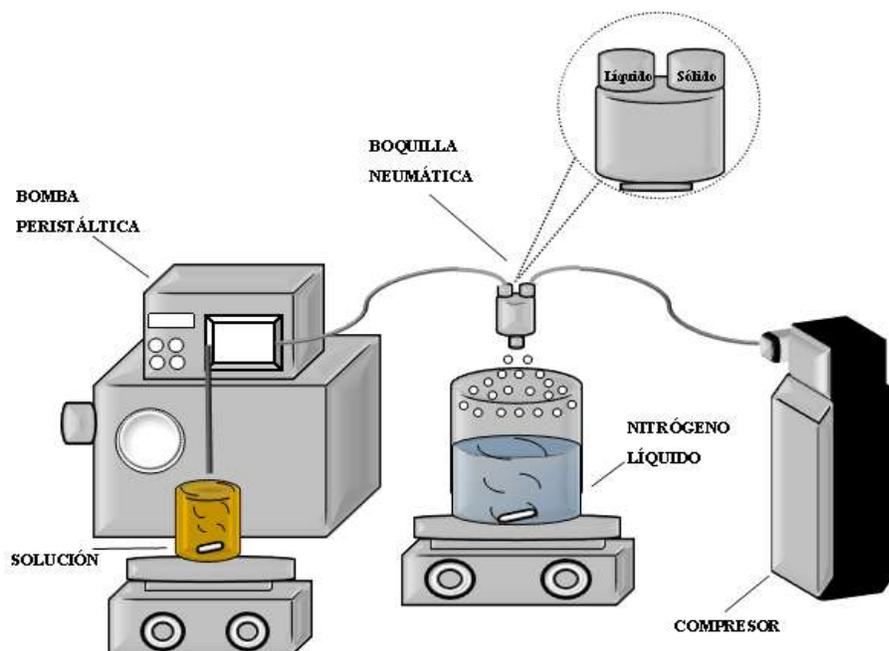


Figura 3.4. Proceso de aspersión en frío de la solución en N₂ líquido.

Una vez que todo el sistema de reacción ha sido atomizado y congelado, se recuperó el depósito que se encuentra al fondo del vaso de precipitados en una caja de Petri como es mostrado en la **Figura 3.5**, posteriormente la caja se coloca en el contenedor del liofilizador (LYO GT 2) y se inició con el proceso de secado por vacío.

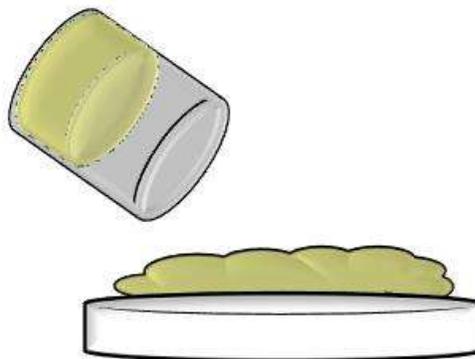


Figura 3.5. Muestra congelada puesta sobre caja Petri después de ser atomizada.

En la **Figura 3.6** se ilustra el equipo de liofilización LYO GT2, donde se llevó a cabo el secado por sublimación/liofilización, el equipo consta de una cámara de vacío donde coloca la muestra y se realiza el proceso de sublimación, se compone también en la parte inferior de un condensador cuya función es enfriar la cámara de vacío de manera que la muestra no se ve afectaba por un gran cambio de temperaturas al ser colocada en la cámara de vacío, dispone también de dos válvulas principales, una ubicada en la parte inferior izquierda de la base del equipo, y otra en la parte trasera, su función principal es la de permitir el paso de aire de manera que se estabiliza la presión dentro de la cámara a presión ambiente de alrededor de 1 atm una vez finalizado el secado. Dicho proceso de liofilización se realizó a una presión 1.6 mbar (0.0015 atm) con una temperatura de operación de -20°C , la bomba de vacío utilizada para asistir el equipo fue una LVO modelo 100, el proceso tuvo un tiempo de secado de 12 horas efectivas. Al finalizar la liofilización, la muestra obtenida se trasladó de la caja de Petri y se colocó en un crisol para realizar el debido tratamiento térmico.

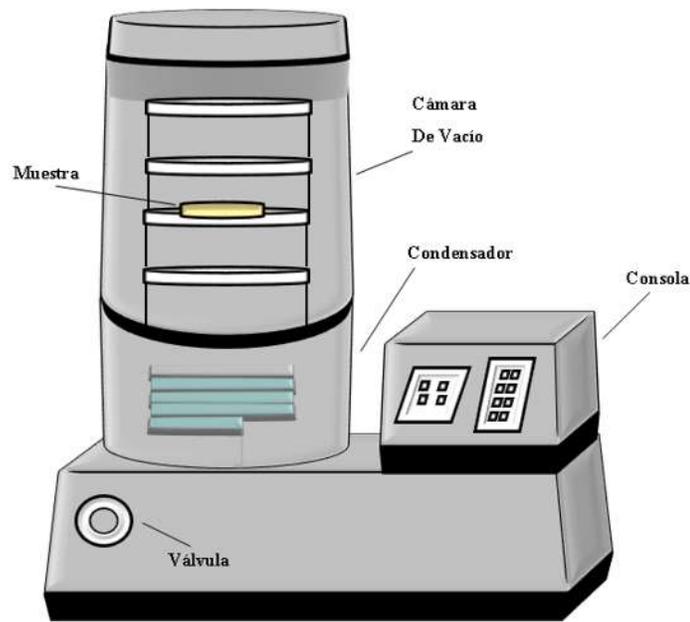


Figura 3.6. Liofilizador LYO GT2 secando muestra congelada después de la aspersion en frío.

En la etapa final del proceso de síntesis (**Figura 3.7**) se sometió el producto obtenido a tratamiento térmico en mufla a 300°C o 600°C durante un tiempo determinado (dependiendo de las condiciones de cada muestra) con una rampa de calentamiento de 1°C por minuto para alcanzar dicha temperatura, de esta manera se debe un producto solido final, el cual fue dispersado mediante un mortero de ágata hasta obtener un polvo el cual fue almacenado en un porta muestras eppendorf.

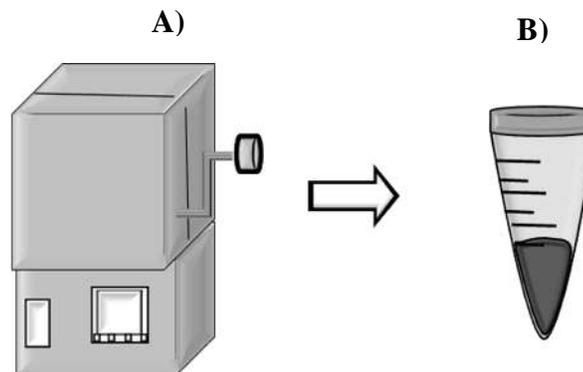


Figura 3.7. A) Calcinación de la muestra en mufla, B) polvos obtenidos después de la calcinación.

Las variables de calcinación usadas para las muestras sintetizadas se basaron en las síntesis de ferrita de níquel-cobre realizadas por Z. Kargar y colaboradores, y del mismo modo, la síntesis del mismo material llevada a cabo por M.Maria Lumina y col., en estos trabajos se realizó la calcinación de las muestras a temperaturas de 300 y 600 °C en el caso de Z. Kargar el tiempo de calcinación fue de 2h [40], mientras que en el trabajo de M.Maria Lumina el tiempo fue de 24h [46], obteniendo en ambos trabajos nanopartículas de ferrita de níquel-cobre con estructura cubica espinela de manera efectiva, y siendo que esta característica es fundamental, concretamente en el comportamiento superparamagnético, se optó por realizar las dos síntesis con las condiciones de calcinación de los trabajos anteriormente mencionados, además, las condiciones de calcinación son ideales para evitar una fuerte disminución de las características de adsorción que ocurre al aumentar la temperatura, debido a una pérdida de grupos OH [70].

Para el segundo parámetro importante del proceso de síntesis, como lo es, la morfología y tamaño del agregado nanoestructurado obtenido, el principal factor que tiene repercusión directa con estas propiedades, en el caso de la síntesis Sol-gel asistido por secado mediante liofilización, es la velocidad con la cual se realiza la aspersion de la solución obtenida de la mezcla de precursores sobre el líquido criógenizante, por lo que las condiciones de síntesis para las muestras se plantearon de la manera que se observa en la **Tabla 3.1**, en donde se contempla de manera más detallada las variables de la síntesis.

Tabla 3.1. Condiciones de síntesis planteadas para las muestras sintetizadas.

Muestra	T-°C (Mezcla)	Tiempo (Mezcla)	Proporción (C ₆ H ₈ O ₇)	Aspersion (LS-2)	T-°C (Calcinación)
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A60	80	3 h	5:1	60 rpm	600/24 h
NiCuFe ₂ O ₄ -C300A80	25	30 min	5:1	80 rpm	300/2 h
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A100	25	30 min	5:1	100 rpm	600/2 h
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A150	25	30 min	3:1	150 rpm	600/2 h
NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200	25	30 min	5:1	200 rpm	300/2 h
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A200	25	30 min	5:1	200 rpm	600/2 h

3.4.- Anclaje del fármaco (Amikacina) a los agregados de NiCuFe₂O₄.

El anclaje de la amikacina en los agregados nanoparticulados de NiCuFe₂O₄ fue realizado mediante impregnación húmeda o inmersión, la cual consistió en la preparación de la solución de sulfato de amikacina a 250 mg/ml, en amortiguador de fosfatos pH = 7.0 con el fin de no alcalinizar ni acidificar la solución y mantener estables los agregados. Una vez lista la solución se procedió a agregarla a 3 diferentes cantidades de los polvos de ferrita como se muestra en la **Figura 3.8**, en donde se puede observar el procedimiento y las concentraciones finales de las suspensiones, siendo estas de 10 mg/mL, 20 mg/mL y 40 mg/mL.

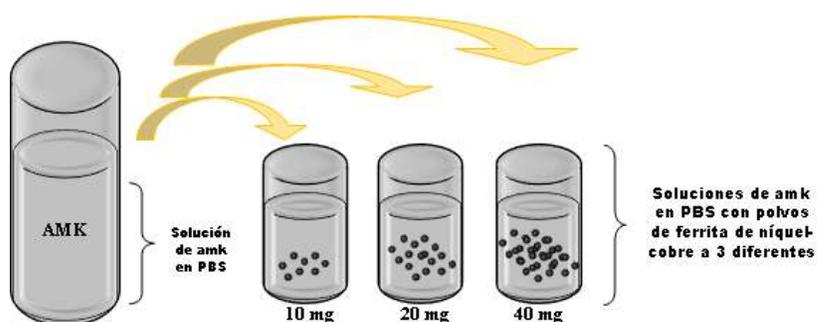


Figura 3.8. Proceso de impregnación húmeda a 3 diferentes concentraciones de los polvos de ferrita de níquel-cobre sintetizados.

Después de añadir la solución a los polvos de ferrita, comienza la interacción de la superficie con los sitios activos debido a la alta área superficial obtenida por el proceso de síntesis sol-gel, así como la porosidad que el material posee, el anclaje consiste en la interacción entre los átomos de hidrógeno de los grupos hidroxilo (OH-) en la superficie de la ferrita con los átomos de nitrógeno de los grupos amino (NH-) de la amikacina presente en la solución formando un enlace de hidrogeno como se describe en la **Figura 3.9**, la solución con los polvos se mantuvo durante un periodo de 72 h, con el fin de favorecer este proceso de quimisorción del fármaco en la superficie de los agregados.

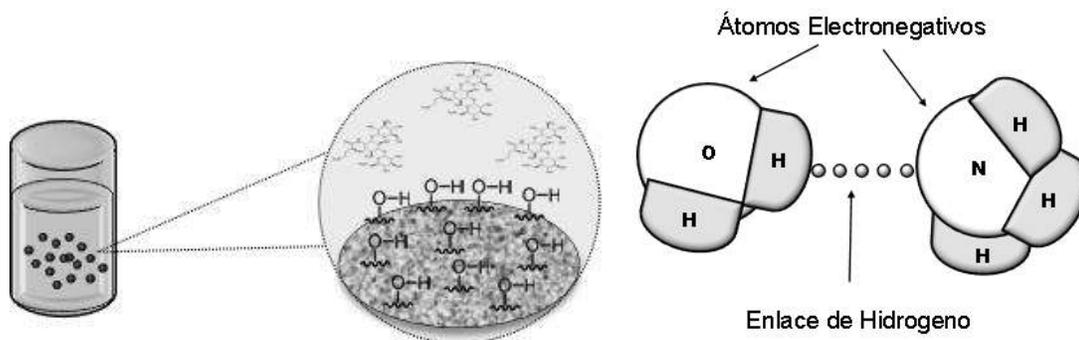


Figura 3.9. Proceso de anclaje/quimisorción del fármaco (amikacina) en la superficie de los agregados nanoparticulados mediante formación de enlaces de hidrogeno entre los grupos OH- y NH-.

Al finalizar el tiempo de interacción de los polvos con la solución, se colocó un imán de neodimio en la base de la misma tal y como se muestra en la **Figura 3.10**, para así precipitar los polvos y lograr separarlos de la solución para su posterior aplicación y análisis tanto para los polvos como para la solución residual.



Figura 3.10. Proceso de separación entre de los polvos de ferrita y la solución de amikacina.

3.5.- Caracterización

Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (MEB-EC)

Las muestras fueron colocadas en un porta muestras cilíndrico de Cu-Zn, con el fin de poder ser observadas mediante el microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-7600F FEG-SEM) en el modo de electrones secundarios. Los análisis de EDS hechos para las muestras, fueron realizados con este mismo equipo.

Infrarrojo por transformada de Fourier (IR-TF)

La identificación de los enlaces presentes, se efectuó mediante espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (IR, BRUKER TENSOR 27), en el modo de absorbancia, con un alcance de medición de 4000 a 400 cm^{-1} , una resolución de 4 cm^{-1} , el tiempo de escaneo de la muestra fue de 32 scans al igual que el tiempo de escaneo de background, la temperatura del análisis se realizó a 19 °C y la humedad registrada fue de 42% HR. Para el análisis, se fabricaron pastillas de los polvos de la muestra, embebidos en una matriz de KBr.

Difracción de rayos X (DRX).

Los patrones de difracción se obtendrán con el sistema de difracción de Rayos-X modelo D8 ADAVANCE DAVINCI, en el laboratorio de Rayos X del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales con una longitud de onda fija de Cu $K\alpha = 0.1541$ nm, durante 0.6 segundos, el intervalo de ángulo de difracción se inició en 5 2θ y finalizó en 80 2θ .

Método BET (método ideado por Brunauer, Emmett y Teller)

La información de las isotermas de adsorción/desorción, así como los datos del poro y el área específica de las muestras fueron realizadas mediante el equipo NOVA touch Analizador de superficie y tamaño de poro, en el Instituto de Ciencias Físico-matemáticas de la UMSNH, La

temperatura de desgasificación se realizó a 80 °C en un periodo de 12 horas, el gas utilizado fue N₂.

Análisis de Potencial Z

La medida del potencial Z se realizó con un equipo 90Plus Zeta NanoBrook en la Facultad de Ingeniería Química de la UMSNH, para los respectivos análisis se utilizó una solución de polvos de ferrita y una de amikacina ambas con agua desionizada previamente filtrada con un pH de 7 a temperatura ambiente (25°C). Se colocó 1 ml de cada solución en la celda para su respectiva medición.

Magnetometría de Muestra Vibrante (MMV)

Las curvas de momento magnético y campo aplicado (M-H) fueron obtenidas mediante el análisis de los polvos de ferrita en un Magnetómetro de Muestra Vibrante VSM 9600 en el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) con unas condiciones de temperatura similares a la corporal de 35°C, y una intensidad de campo aplicado de 15 KOe.

Pruebas de Densidad Óptica (D.O)

Las pruebas de densidad óptica se realizaron mediante un lector de microplacas multimodo modelo Varioskan LUX. Diferentes concentraciones de los polvos de ferrita se incubaron con amikacina [5 mg/ml] durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la incubación, la lectura de absorbancia de amikacina fue realizada a 220 nm. (Prueba de t student y anova de una vía, P< 0.05.)

La bacteria *S. aureus* fue incubada por 24 horas a 37 °C después de los tratamientos. La lectura de absorbancia fue realizada a 530 nm. Las mismas condiciones se aplicaron a la bacteria *E. Coli*. Como control se utilizó antibiótico Amikacina (AMK) [30 µg / ml].

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por las técnicas de caracterización efectuadas que a continuación se presentan, fueron realizadas a seis diferentes muestras, primeramente, se llevó a cabo la microscopía electrónica de barrido, en donde se examinó principalmente la morfología del material obtenido y el tamaño aproximado de las nanopartículas por las cuales se conforma, seguidamente, se realizó el análisis EDS con el fin de advertir los elementos presentes en el material al igual que su distribución, posteriormente la Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier contribuyó a reconocer los enlaces y grupos funcionales presentes en las muestras, se exponen también los resultados de la Difracción de Rayos-X, en donde se denota principalmente la fase cristalina obtenida y de igual manera el tamaño cristalino promedio, para el análisis de área superficial específica por el método de BET, siguiendo los resultados obtenidos de las muestras previas y descritos más a detalle a lo largo de este capítulo, principalmente la morfología observada en MEB de las muestras NiCuFe₂O₄-C300A200 y NiCuFe₂O₄-C600A200, se realizó dicho análisis de área superficial tomando en cuenta que poseían agregados con morfología esférica, el análisis de superficie permitió conocer el área superficial específica en m²/g de los productos obtenidos de ambas muestras, siendo también que esta técnica proporciona datos referentes a la porosidad del material, por último, en cuanto a la caracterización de Magnetometría de Muestra Vibrante, se consideró únicamente la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200, debido a que tanto la morfología y tamaño de los agregados fueron ideales para el anclaje del fármaco, así como también el área superficial específica y la porosidad, siendo que, considerado lo anterior, los resultados de este análisis de magnetometría indicaron las propiedades magnéticas del material, tales como: la saturación magnética (M_s), magnetización remanente (M_r), y la coercitividad (H_c). Del mismo modo y debido a las características antes mencionadas, la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200 fue seleccionada para realizar el anclaje del fármaco (Amikacina) y posteriormente se llevaron a cabo las pruebas biológicas de liberación del fármaco y la efectividad del material funcionalizado contra cepas de *S. aureus* y *E. coli*.

4.1.- Caracterización por Microscopia Electrónica De Barrido (MEB).

4.1.1.- MEB de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ de muestra calcinada a $600^\circ\text{C}/24$ con velocidad de aspersión de 60 rpm y muestra calcinada a $300^\circ\text{C}/2\text{h}$ con velocidad de aspersión de 80 rpm.

En la **Figura 4.1** se pueden apreciar las micrografías de las muestras $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$ (a, b) y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$ (c, d), En las micrografías de la Figura 4.1 a) y c), las cuales se encuentran a 10 000 aumentos, en ambas síntesis se muestra la presencia de agregados amorfos compuestos por nanopartículas, así como también puede ser levemente apreciable la porosidad en los mismos, las nanopartículas de las cuales está constituido el agregado se encuentran distribuidas de una manera considerablemente uniforme al igual que la porosidad, por otra parte, en las Figuras 4.1 b) y d) con 100 000 y 200 000 aumentos respectivamente, se logran apreciar con mejor definición los constituyentes nanoparticulados, al igual que los límites por los cuales se separan estas nanopartículas que se relacionan directamente con a los poros presentes, el tamaño en cuanto al diámetro de partícula que se advierte acorde a la cota de medición de la micrografía es de alrededor de 33 nm aproximadamente, y en cuanto a la porosidad la medición indica que se tiene un valor cercano a los 19 nm en la estructura de los agregados de ambas muestras, pudiendo destacar que en este caso se obtuvo una mesoporosidad dada la definición de la misma (2-50 nm). Las muestras fueron calcinadas a temperaturas y tiempos diferentes, siendo estas variables de 600°C durante 24 h para la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$ y de 300°C por 2 h para la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$, variables acordes a las síntesis reportadas por Z. Kargar y M. Maria Lumina, respectivamente [40, 46], a pesar de que este cambio de variables relativamente diferentes, en las micrografías no se observa una diferencia significativa en cuanto a tamaño de partícula, poros, agregados; y la distribución de dichas características, por tanto el cambio de estas variables se consideró para las síntesis posteriores teniendo en cuenta la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$. Además las condiciones de síntesis de mezclado y revoluciones por minuto (rpm) de la aspersión en frío variaron ligeramente, para la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$, tales condiciones fueron de 80°C por 3 h con una aspersión de 60 rpm y de 25°C (Temperatura ambiente) durante 30 minutos y 80 rpm para la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$, dichos cambios en la síntesis tampoco muestran gran diferencia en las estructuras mostradas en las micrografías respectivas de cada muestra, de la misma forma en la que los cambios entre distribución y tamaño tanto de partícula como de poro son indistinguibles.

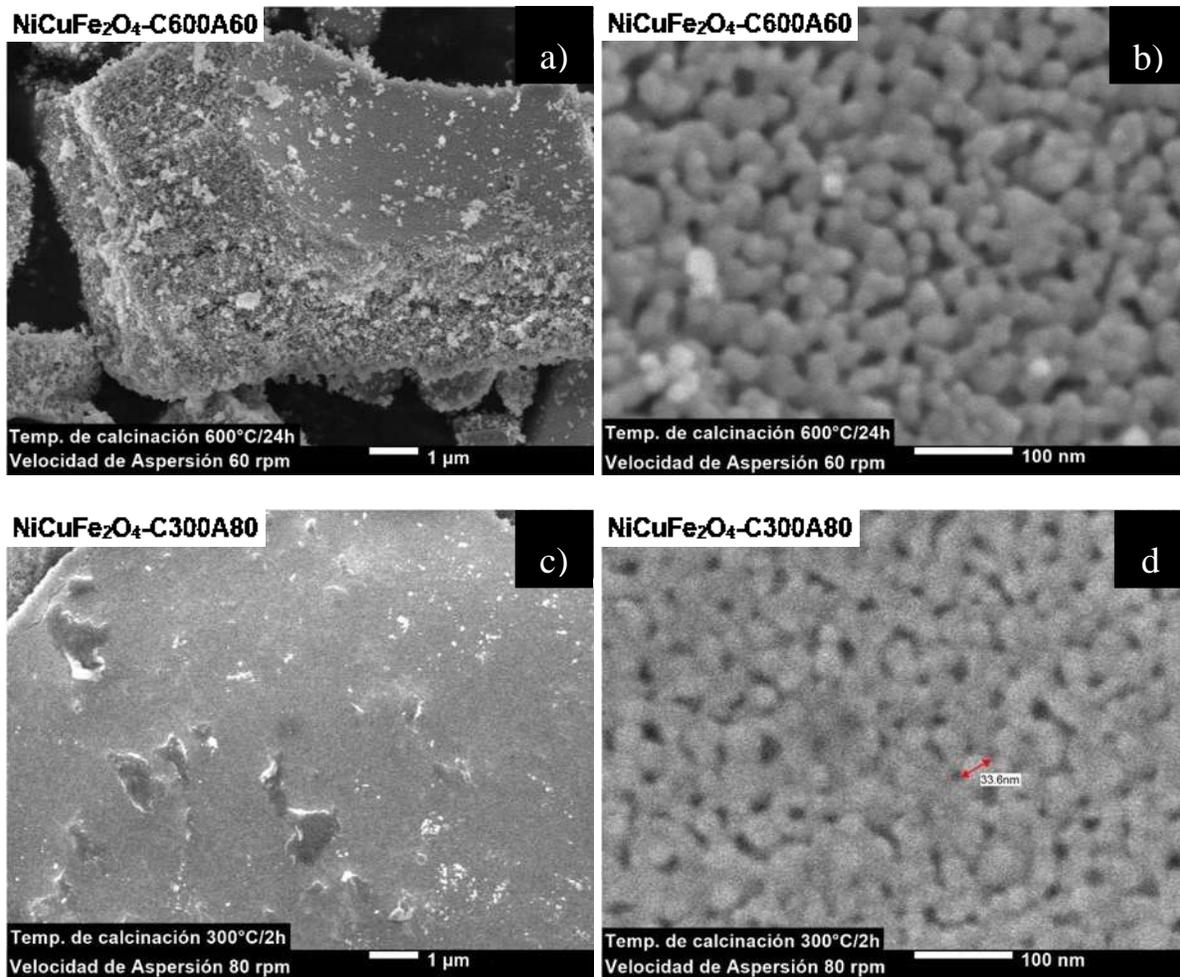


Figura 4.1. Micrograffías obtenidas con MEB de muestra NiCuFe₂O₄-C600A60 (a, b) y muestra NiCuFe₂O₄-C300A80 (c, d).

En la **Figura 4.1.1**, se ilustra la micrografía MEB de la ferrita de nique-cobre obtenida por B. Gayathri Manju y P. Raji [45], en donde se aprecia otra característica importante que se puede comparar con más detalle con las micrograffías previamente mostradas en la Figura 4.1 b) y d) correspondientes a las muestras NiCuFe₂O₄-C600A60 y NiCuFe₂O₄-C300A80, tratándose está de una cantidad significativa de aglomeración de partículas en estas micrograffías, esto puede deberse a que, durante el proceso de calentamiento, la alta energía conduce a que suceda la aglomeración de las nanopartículas de ferrita. También se observan vacíos y poros en la superficie de las

partículas, lo que puede dilucidarse en términos de la evolución de una gran cantidad de producto gaseoso desde la superficie de la ferrita durante el proceso de combustión [45].

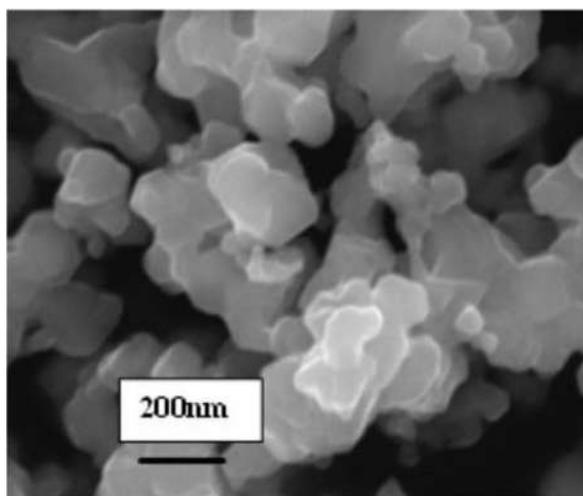
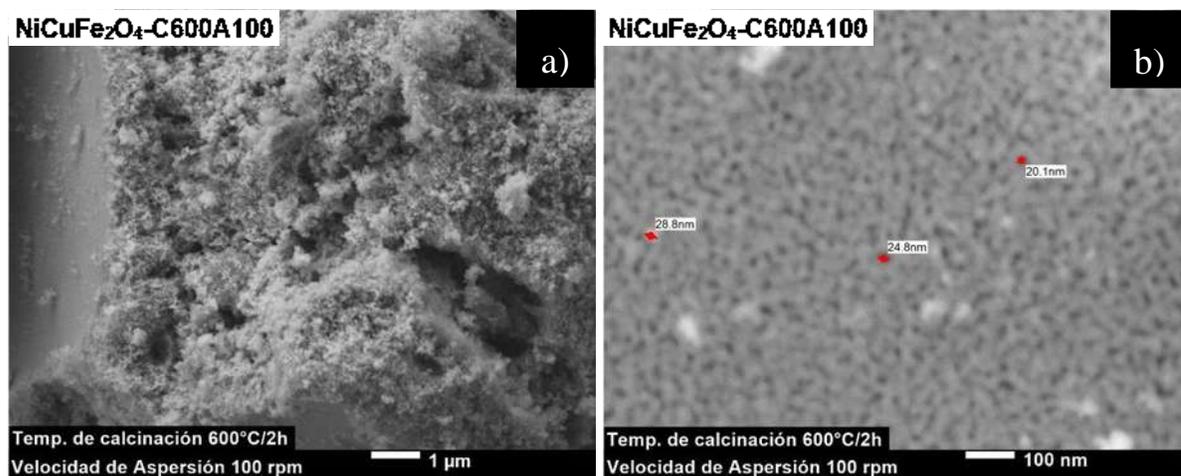


Figura 4.1.1. Micrografías obtenidas con MEB de ferrita de níquel-cobre obtenida por B. Gayathri Manju y P. Raji [45].

4.1.2.- MEB de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ de muestra calcinada a $600^\circ\text{C}/2\text{h}$ con velocidad de aspersión de 100 rpm y muestra calcinada a $600^\circ\text{C}/2\text{h}$ con velocidad de aspersión de 150 rpm.

Las micrografías mostradas en la **Figura 4.2**, que son correspondientes a las muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$ (a, b) y muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$ (c, d), al igual que en el caso de síntesis anteriores, puede observarse agregados de nanopartículas presentes en Figura 4.2 a) y c) con sus respectivos 10 000 y 50 000 aumentos que, aunque siguen presentando una geometría amorfa, también es apreciable una mayor uniformidad en la distribución y morfología de dichos agregados, al igual que las muestras previstas en las micrografías anteriores, es posible distinguir porosidad en las estructuras de estos materiales. Las condiciones de sinterizado variaron con respecto a las síntesis anteriores ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$ y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$), pero tomando como referencia la segunda síntesis debido a que al haber obtenido resultados similares, se optó por mantener condiciones más eficientes en cuanto a tiempo de calcinación, por lo que la calcinación en este

caso se realizó a 600°C durante 2 h para ambas muestras, en el caso de las micrografías de Figura 4.2 b) y d) a 100 000 aumentos en ambos casos, mostrando la presencia de nanopartículas más pequeñas que en las muestras NiCuFe₂O₄-C600A60 y NiCuFe₂O₄-C300A80, estando en este caso en un intervalo de entre 17 y 34 nm para las ambas muestras como promedio, pero siendo la muestra NiCuFe₂O₄-C600A150 la que denota un tamaño de partícula más pequeño 20-28 nm a diferencia de la muestra NiCuFe₂O₄-C600A150 donde este intervalo se encuentra entre 20 a 34 nm, ocurre de manera similar en ambas muestras con el diámetro obtenido respecto a su mesoporosidad con un valor de 17 nm aproximadamente. Esta reducción de tamaño se asocia a el cambio de variables de la síntesis, más concretamente con la velocidad de aspersión, ya que, en ambas muestras se mantienen las mismas condiciones de mezclado (25°C durante 30 minutos) y calcinación, sin embargo, las rpm de la aspersión en este caso fueron aumentadas, de 100 rpm para la síntesis de la muestra NiCuFe₂O₄-C600A100 y de 150 rpm para la muestra NiCuFe₂O₄-C600A150, dado que se cambió este único parámetro en las síntesis, se puede relacionar directamente con los cambios ya mencionados observados en las micrografías de cada muestra.



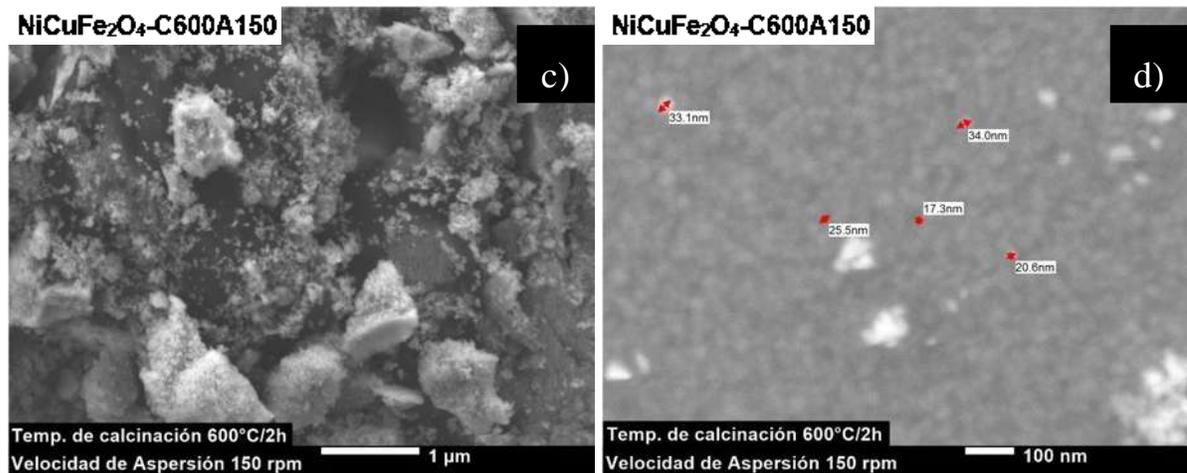


Figura 4.2. Micrografías obtenidas con MEB de muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$ (a, b) y muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$ (c, d).

Al igual que en las muestras anteriores ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$ y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$), se observa una aglomeración de nanopartículas en la superficie de los agregados observados en las micrografías de la Figura 4.2, al igual que en el caso anterior, esto puede deberse al proceso de calentamiento y a la alta energía que repercute en la aglomeración de las nanopartículas de ferrita, sin embargo, como se ilustra de manera similar en la **Figura 4.2.1**, en donde se logra apreciar también con MEB la ferrita de níquel-cobre obtenida por M.Maria Lumina Sonia y col. [46], en este caso se le atribuyó esta cohesión de partículas a la atracción magnética que existe entre ellas, por lo que podemos determinar que la cohesión se debe a una combinación de estos dos fenómenos.

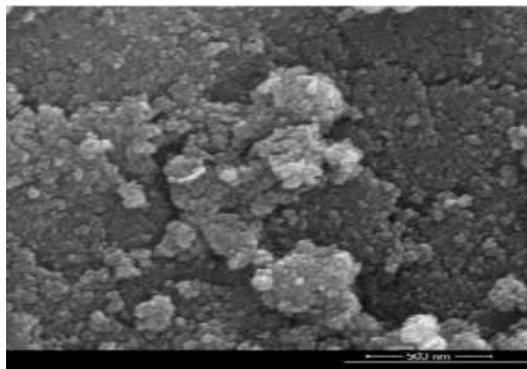


Figura 4.2.1. MEB de ferrita de níquel-cobre obtenida por M.Maria Lumina Sonia y col [46].

4.1.3.- MEB de NiCuFe₂O₄ de muestra calcinada a 300°C/2h con velocidad de aspersión de 200 rpm y muestra calcinada a 600°C/2h con velocidad de aspersión de 200 rpm.

Puede apreciarse en la **Figura 4.3** las micrografías capturadas de la síntesis de la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200 (a y b) y la síntesis de la muestra NiCuFe₂O₄-C600A200 (c y d), tales síntesis se realizaron tomando en cuenta las condiciones de las muestras previas NiCuFe₂O₄-C300A80 y NiCuFe₂O₄-C600A150, se tomó en cuenta la temperatura y tiempo de calcinación de 300°C y 600°C respectivamente durante 2 h, por otra parte también la muestra NiCuFe₂O₄-C600A150 se consideró la reducción de tamaño en las nanopartículas y los agregados, así como la morfología más uniforme obtenida debido al aumento en la velocidad con la que se realizaba la aspersión en frío, puesto que, como se observó en las micrografías de las figuras 4.2 c) y d) con el aumento de dicho parámetro se redujo el tamaño de partícula, como también del agregado que conforman, aunado a esto, también destaca la distribución uniforme que presentan los agregados nanoparticulados, en este caso la velocidad se aumentó a 200 rpm para la aspersión de las muestras NiCuFe₂O₄-C300A200 y NiCuFe₂O₄-C600A200. Debido a esto también se observa que en las micrografías que constan de 50,000 aumentos para la figura 4.3 a) y b), al igual que para las figuras c) y d); destacan de igual manera, agregados con una particular geometría esférica aproximada (esferoide) con una notable mejora morfológica mayormente definida para la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200, por otra parte la distribución que presentan entre si es uniforme y no aparentan estar altamente aglomerados, la cota de medida en las micrografías a) y b) indica un tamaño promedio de los cuerpos esféricos presentes, siendo esta de 100 nm, pudiendo intuir un tamaño de agregado en el mismo intervalo. De manera distinta, las micrografías de la muestra NiCuFe₂O₄-C600A200 denotan un mayor tamaño en los agregados, así como también un aumento de tamaño, pese a que las condiciones de velocidad de aspersión fueron iguales a la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200, no lo fue la temperatura de calcinación, siendo esta mayor, por lo que se atribuye este aumento de tamaño de los agregados a este parámetro, debido a que el aumento de temperatura favorece la difusión de las partículas lo que repercute al crecimiento de los agregados. Esta inspección de las micrografías en la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200 concuerdan con el cambio de parámetros de las síntesis que le anteceden, de manera que, se puede denotar que con el aumento de revoluciones por minuto inducidas al sistema de aspersión en frío se logra mejorar las variables de tamaño, morfología y distribución de las partículas que conforman el agregado así como el mismo,

Adicionalmente en la micrografía b) se aprecian agregados de centro cóncavo rondando los 100 nm de diámetro, en vista que se trata de una partícula bimetálica, tal efecto puede deberse a la diferencia de potenciales de reducción que presentan los elementos de este tipo de materiales.

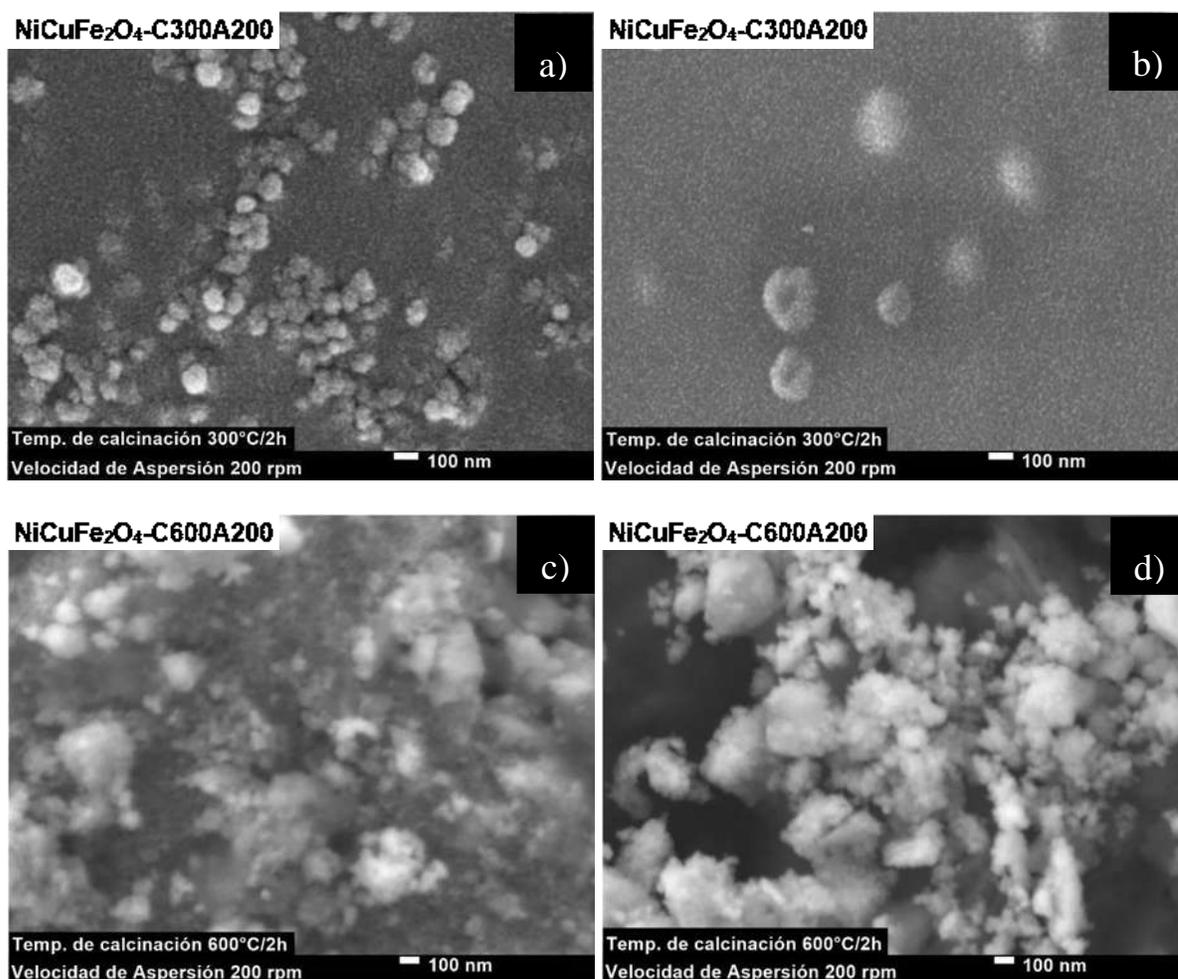


Figura 4.3. Micrografías obtenidas con MEB de muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ (a, b) y muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A200}$ (c, d).

En un estudio publicado por Govindan Nadar Rajivgandhi y col. [71], en el cual, sintetizaron nanopartículas de ferrita de níquel dopadas con cobre mediante el método Sol-gel, expuestas en la

micrografía de la **Figura 4.3.1.**, se logra contemplar nanopartículas, que acordes a la cota de medida (0.2μ), tienen un tamaño en un intervalo de 100 a 200 nm, al igual que en la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A200}$, no obstante, los agregados de la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$, se muestran mucho más uniformes, tanto en tamaño como en distribución, esto por consecuencia conlleva a una mejora en la actividad antibacteriana, debido a que la disminución de tamaño permite penetrar fácilmente y dañar las membranas celulares de algunos microorganismos con relativa facilidad [71].

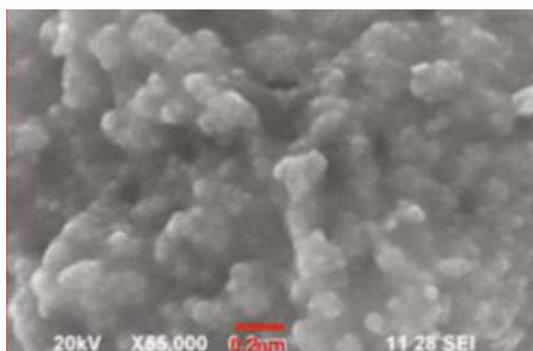


Figura 4.3.1. MEB de ferrita de níquel dopada con cobre obtenida por Govindan Nadar Rajivgandhi y col. por método Sol-gel [71].

4.2.- Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos-X (EDS).

La espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS) arrojo resultados sustancialmente equivalentes para las muestras sintetizadas $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$, $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$, $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$ y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$, por tal motivo solo se presentan los EDS de las muestras $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$ y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$ calcinadas a 300 y 600 °C, respectivamente (**Figura 4.4**), las bandas indican la presencia de los elementos presentes en las muestras mediante análisis cualitativo y mapeo a 1500X de las mismas. Señalando así en el espectro (Figura 4.4 a)) la presencia de los elementos níquel (azul claro), cobre (morado), hierro (azul oscuro) y oxígeno (verde). En la Figura 4 b) se precisa el mapeo químico refiriendo una distribución uniforme de los elementos mencionados anteriormente presentes en la muestra,

coincidiendo de tal forma que es congruente con el espectro arrojado por el análisis EDS. La relevancia de esta técnica radica en la demostración de los elementos presentes, y por otra, parte la ausencia de elementos contaminantes participantes. En vista que los resultados de las cuatro muestras fueron semejantes y la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ asimila las mismas condiciones de síntesis que la muestra 2 exceptuando el aumento de rpm de la aspersión, no se consideró relevante realizar el mismo análisis para las muestras $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A200}$.

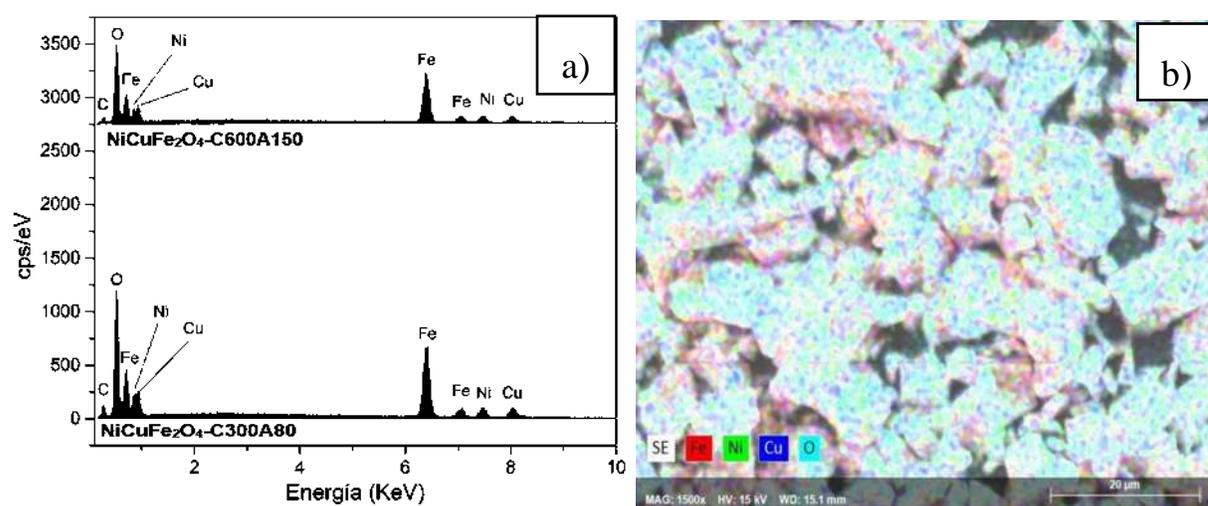


Figura 4.4. a) Espectros EDS de las muestras sintetizadas (muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$ y muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$), y b) Mapeo químico, níquel (verde), cobre (azul oscuro), hierro (rojo) y oxígeno (azul claro), correspondiente a la Muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$.

4.3.- Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier (IR-TF).

Los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier realizados para las muestras de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ fueron preparadas en pastillas con KBr y tomadas partiendo de 400 a 4000 cm^{-1} con el fin de determinar los enlaces presentes en las muestras, los cuales son mostrados en la **Figura 4.5** $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$ (a), $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$ (b), $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$ (c) y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-}$

C600A150 (d). La banda presente entre 3400 y 3500 cm^{-1} corresponde a estiramientos vibracionales característicos de grupos (-OH) [54]. En cuanto a las señales en la banda más alta, está asociada con las vibraciones de estiramiento intrínsecas de los átomos de oxígeno y metal del sitio tetraédrico ($M_{\text{tetraédrico-O}}$), se observa a 569,92 cm^{-1} , y la banda más baja corresponde a las vibraciones de estiramiento del metal en el sitio octaédrico ($M_{\text{octaédrico-O}}$), se observa alrededor de 470-490 cm^{-1} [55, 56]. Bandas que son características de ferrita de espinela inversa y las posiciones máximas de estas bandas de vibración a 600-400 cm^{-1} , confirma la formación de ferrita de níquel-cobre nanocrystalina [57]. Por otro lado, la banda cercana a 1400 cm^{-1} está dada por la vibración antisimétrica del grupo (-NO) que surge del nitrato presente como residuo en la muestra.

En referencia a las bandas situadas entre 1000 y 1300 cm^{-1} , estas están atribuidas al grupo carboxilo (C=O), que se puede deber a CO_2 atmosférico absorbido. De forma similar, la banda presente a 1630 cm^{-1} , se presenta por la posible adsorción de agua, es decir, humedad. Mientras que en las bandas cercanas a 2300 cm^{-1} se asocia también a complejos metal ion-oxígeno de los sitios tetraédricos ($M_{\text{tetraédrico-O}}$), asimismo, las vibraciones cercanas a 3000 cm^{-1} , son atribuidas al estiramiento del metal en los sitios octaédricos ($M_{\text{octaédrico-O}}$) [46]. El análisis de FT-IR tiene coherencia con las bandas arrojadas por la espectrometría de dispersión de energía de Rayos-X (EDS) y con DRX, ya que los enlaces entre los elementos presentes que conforman los grupos funcionales coinciden con las bandas indicadas y puede ser indicativo de la fase cristalina que dispone el material. Adicionalmente, mostrado en la Figura 4.5 (e) se encuentran dos espectros de IR reportados por Anjali Nihore y col. [49], en donde se realiza una comparación entre el espectro obtenido de una ferrita de níquel pura y el espectro arrojado por ferrita de níquel dopada con cobre, se puede observar que las bandas correspondientes a la ferrita de níquel-cobre son similares a las obtenidas en este trabajo, resaltando los grupos correspondientes a las vibraciones de estiramiento del metal en los sitios tetraédrico ($M_{\text{tetraédrico-O}}$) y octaédrico ($M_{\text{octaédrico-O}}$), cabe mencionar también que en los espectros obtenidos por Anjali Nihore y col. logra apreciarse una diferencia en el porcentaje de transmitancia entre NiFe_2O_4 y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$, esto puede deberse a que se ha observado una tendencia presente de ferritas que indican la ocupación de iones Cu^{2+} en sitios octaédricos y tetraédricos, en donde a medida que los iones Fe^{3+} (0,64 Å) se reemplazan con iones Cu^{2+} de radio iónico, 0,73 Å, se produce un acortamiento de la longitud del enlace $\text{Fe}^{3+}-\text{O}^{2-}$ [72]. Por lo tanto, el cambio observado en los datos de absorción y por lo tanto en el porcentaje de transmitancia, se atribuye al cambio pronunciado en la longitud del enlace $\text{Fe}^{3+}-\text{O}^{2-}$ por la adición

de iones Cu^{2+} , esta diferencia se aprecia también de manera sutil entre las muestras $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$, $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$, $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$, aunque es más notable en la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$.

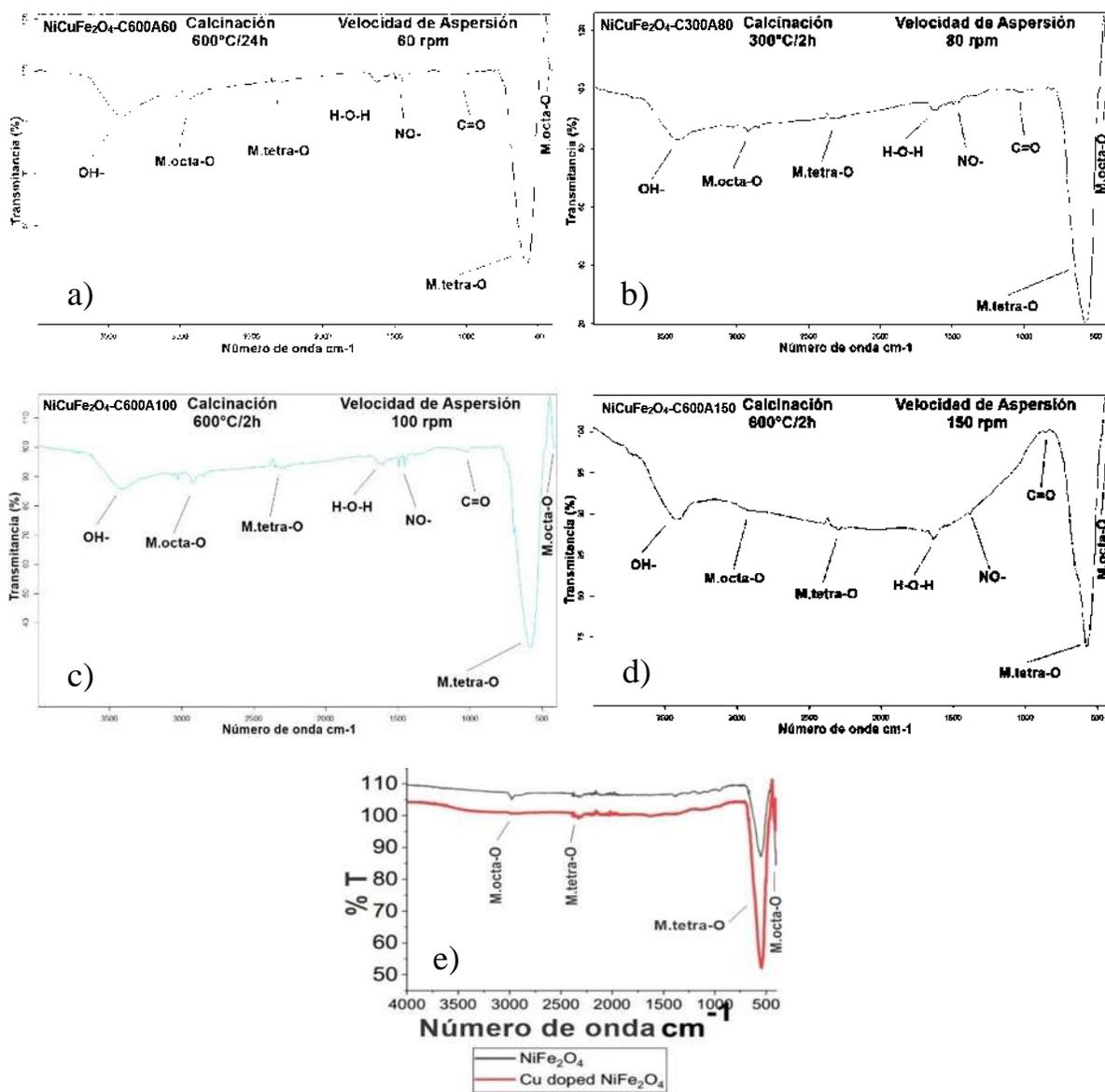


Figura 4.5. Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier de las muestras a) $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A60}$, b) $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A80}$, c) $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A100}$, d) $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C600A150}$ y e) reportadas por Anjali Nihore y col [49].

4.4.- Difractometría de Rayos-X (DRX).

Los patrones de difracción de la **Figura 4.6** procedentes de las muestras NiCuFe₂O₄-C600A60, NiCuFe₂O₄-C300A80, NiCuFe₂O₄-C600A100 y NiCuFe₂O₄-C600A150, confirmaron la formación de estructura de espinela cúbica monofásica y coincidencias para ferritas de Ni y Cu con tarjetas ICDD (86-2287) y (34-0425), los patrones se compararon con los reportados por Z. Kargar y col [40]. donde sintetizaron nanopartículas de NiCuFe₂O₄ con diferentes concentraciones, sin una aparente diferencia entre los picos observados en los patrones, reparando una coincidencia entre estas muestras obtenidas por Z. Kargar y las sintetizadas en el presente trabajo. Es posible también distinguir que los cuatro patrones de difracción no difieren mucho en el ángulo posicionado ni en la intensidad de los mismos, la fase cristalina característica de este material se denota dados los picos de difracción con los planos asociados: (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511), y (440) [45]. Al no apuntar un desplazamiento notable en ninguna de las cuatro difractometrías se puede asumir que no se presenta un elemento externo que contribuya a una contaminación del material, además, esto indica que casi todos los átomos de Cu se han colocado en las redes cúbicas [46], por lo que, a consecuencia, esta afirmación es equiparable con los resultados de las mismas muestras obtenidas por las bandas asociadas a los sitios tetraédricos y octaédricos de la espectroscopia infrarroja. El tamaño del cristal fue calculado con la ayuda del ancho completo a la mitad del máximo (FWHM) del pico con mayor definición e intensidad concerniente al plano (311) y al ángulo (2θ) 35.84 de las muestras, recurriendo a la ecuación de Debye-Scherrer [46].

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta}$$

Donde D es el tamaño medio de cristalito de NiCuFe₂O₄, K = 0,9 es la constante adimensional de Scherrer (adimensional factor de forma de las partículas), β es FWHM en radianes observado para las muestras NiCuFe₂O₄, proporcionado mediante el software Origin 8, constatando un valor de 0.515 grados, este valor para efectos prácticos del uso de la ecuación de Debye-Scherrer fue transformado en radianes obteniendo un valor de 0.0089 radianes, la longitud de onda de radiación (λ) usada fue la referida al elemento Cu (1.5046Å) y θ es el ángulo de Bragg dividido entre dos, en cuyo caso fue el mismo de 35.84 resultando en 17.92 θ. Al sustituir los valores antes mencionados en la ecuación Debye-Scherrer, se extrajo el producto dando un resultado un diámetro de partícula de alrededor de 17 a 19 nm.

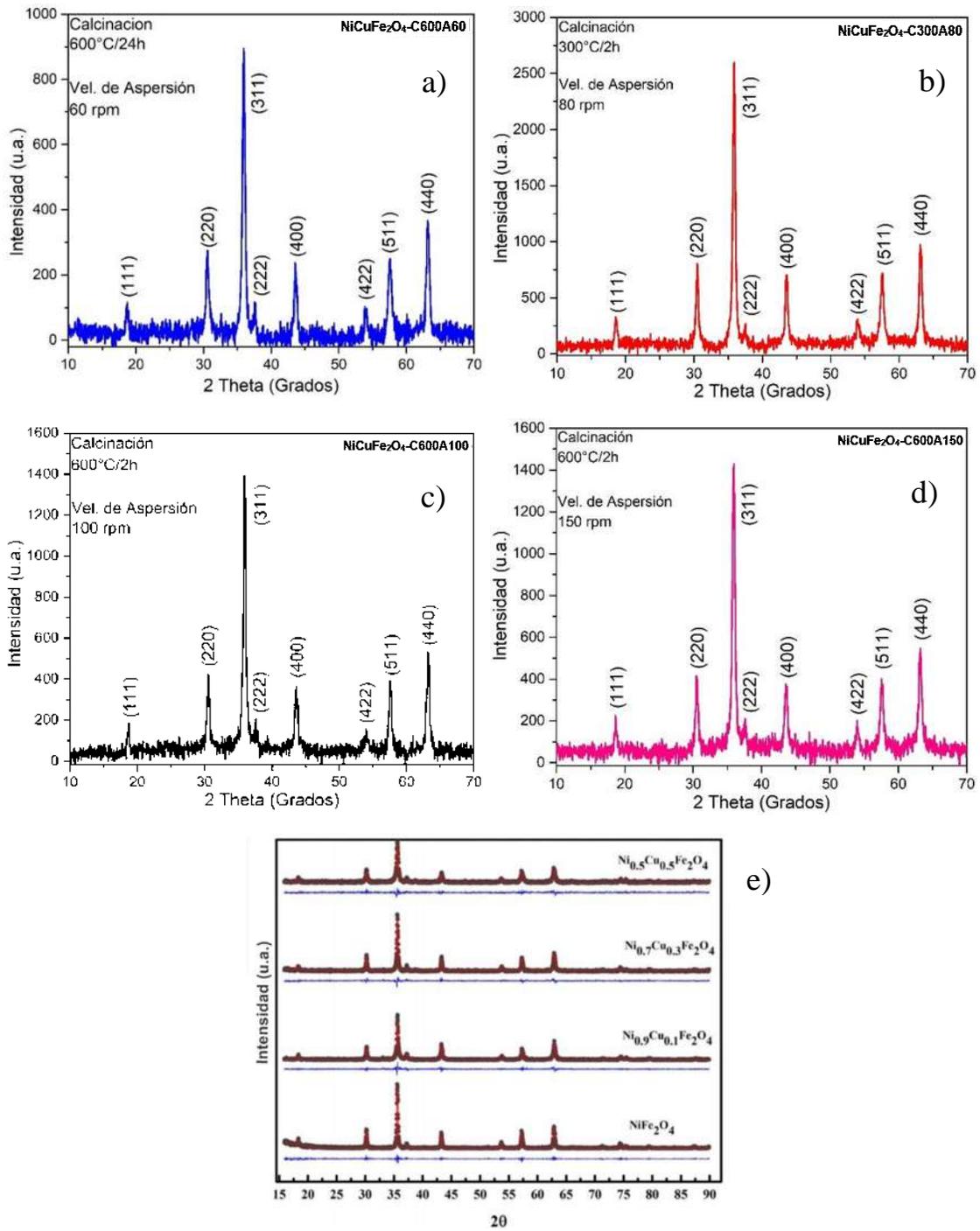


Figura 4.6. Patrones de difracción de las muestras a) NiCuFe₂O₄-C600A60, b) NiCuFe₂O₄-C300A80, c) NiCuFe₂O₄-C600A100, d) NiCuFe₂O₄-C600A150 y e) reportadas por Z. Kargar y col [40].

4.5.- Área Superficial Específica por Método Brunauer, Emmett y Teller (BET).

Las isotermas de adsorción y desorción de la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200 y muestra NiCuFe₂O₄-C600A200 correspondientes a **Figura 4.7** y **Figura 4.8** respectivamente, fueron realizadas mediante un equipo de análisis de superficie BET, dicho análisis denota las características superficiales del material obtenido a diferentes temperaturas de calcinación, siendo estas de 300 y 600°C para cada muestra respectivamente.

En la **Figura 4.7** (NiCuFe₂O₄-C300A200), es apreciable una isoterma del tipo IV acorde a la clasificación de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (UIQPA), la cual indica una interacción fuerte entre el adsorbato (N₂ gaseoso) y el adsorbente (polvos de NiCuFe₂O₄), así como la presencia de mesoporosidad, lo cual es coherente con el área superficial obtenida, la cual en este caso fue de alrededor de 209 m²/g y el tamaño de poro de aproximadamente 2 nm, el ciclo de histéresis observado es del tipo H2 para esta muestra, cuya característica es de un ciclo ancho, siendo congruente con el alta área superficial obtenida y por consecuencia interacciones más fuertes [52].

Por otro lado, se puede advertir una isoterma tipo V en la **Figura 4.8** (NiCuFe₂O₄-C600A200), este tipo de isoterma indica una interacción débil entre adsorbato (N₂ gaseoso) y adsorbente (polvos de NiCuFe₂O₄) [52], este dato está directamente relacionado con el área superficial específica ya que para esta muestra se obtuvo de 35 m²/g, en cambio el ciclo de histéresis que señala la isoterma es del tipo H1, lo que refleja la obtención de poros cilíndricos tanto abiertos como cerrados, así como una distribución angosta y uniforme entre los mismos con diámetros de alrededor de 6 nm.

La comparación de las isotermas de adsorción/desorción de las muestras NiCuFe₂O₄-C300A200 y NiCuFe₂O₄-C600A200, referentes a la clasificación de la UIQPA, se muestran en la **Figura 4.7.1** y **Figura 4.8.1** respectivamente, siendo la primera la isoterma de adsorción/desorción de tipo 4 con un ciclo de histéresis tipo H2, y la segunda isoterma de adsorción/desorción de tipo 5 con un ciclo de histéresis tipo H1 [53].

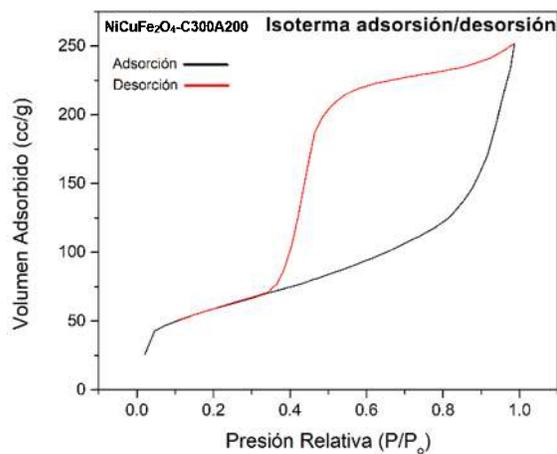


Figura 4.7. Isotherma de adsorción/desorción de muestra NiCuFe₂O₄-C300A200 calcinada a 300 °C.

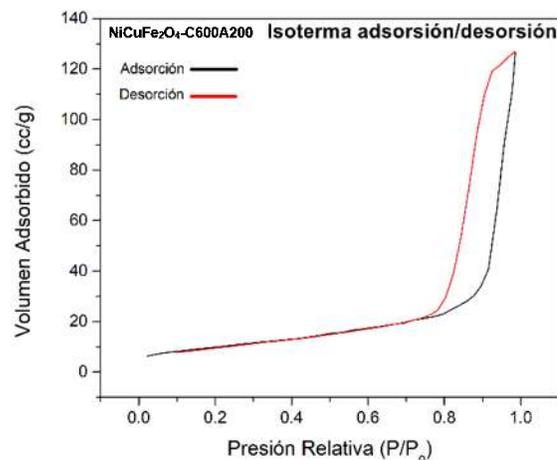


Figura 4.8. Isotherma de adsorción/desorción de muestra NiCuFe₂O₄-C600A200 calcinada a 600 °C.

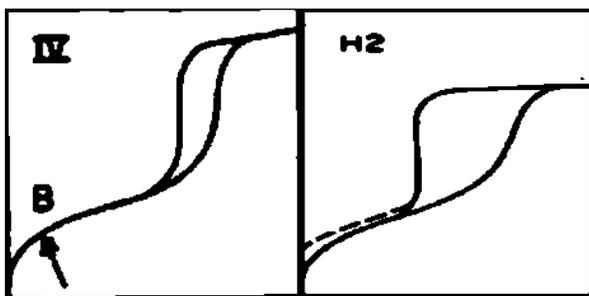


Figura 4.7.1. Isotherma de adsorción/desorción tipo 4 y ciclo de histéresis tipo H2 acorde a la clasificación de la UIQPA [53].

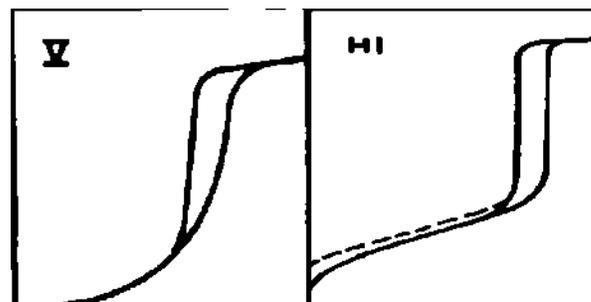


Figura 4.8.1. Isotherma de adsorción/desorción tipo 5 y ciclo de histéresis tipo H1 acorde a la clasificación de la UIQPA [53].

4.6.- Magnetometría de Muestra Vibrante (MMV).

El comportamiento magnético de la ferrita de níquel-cobre sintetizada ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$) obtenido por el análisis de magnetometría de muestra vibrante, el cual fue estudiado a un campo aplicado máximo de 15 KOe. El ciclo de histéresis arrojado es mostrado en la **Figura 4.9**, en donde el eje “x” indica el campo aplicado (KOe) y el eje “y” el momento magnético (emu/g), el ciclo de histéresis revela características de un material magnético blando a 35°C. La saturación magnética (M_s) de la ferrita sintetizada obtenido fue de 31.72 emu/g mientras que la magnetización remanente (M_r) fue de 5.8 emu/g, estos valores junto con la baja coercitividad (H_c) obtenida de 137.8 Oe indican un comportamiento superparamagnético de la muestra sintetizada.

Las curvas M-H muestran un alto valor en la saturación magnética, esto puede deberse a los cambios entre interacciones entre los sitios tetraédricos y los sitios octaédricos, un incremento en la naturaleza cristalina y una estrecha distribución de tamaño de partícula [50], datos que son coherentes con las micrografías de la Figura 4.3 (a y b, donde se observaba esta estrecha distribución de partículas y el análisis de difracción de Rayos-X, donde también se obtuvo que las condiciones de síntesis realizadas para todas las muestras indicaban una alta cristalinidad debido a la alta definición los picos mostrados, dichos patrones de difracción respectivos igualmente para todas las muestras obtenidas, a pesar de las variables de síntesis, así como el tamaño de cristal promedio de 17 nm concerniente a una curva indicativa de superparamagnetismo.

Por otro lado, la introducción de iones de Ni^{2+} en el sitio tetraédrico fuerza a los iones de Fe^{3+} a migrar del sitio tetraédrico al sitio octaédrico, incrementando así la concentración de estos iones lo cual conlleva a aumentar los momentos magnéticos en las subredes del sitio octaédrico [50]. El bajo valor de permeabilidad magnética se debe a que en partículas superparamagnéticas las fluctuaciones térmicas son lo suficientemente fuertes como para desmagnetizar espontáneamente un ensamblaje previamente saturado, por lo tanto, también se tiene una baja o nula coercitividad [43].

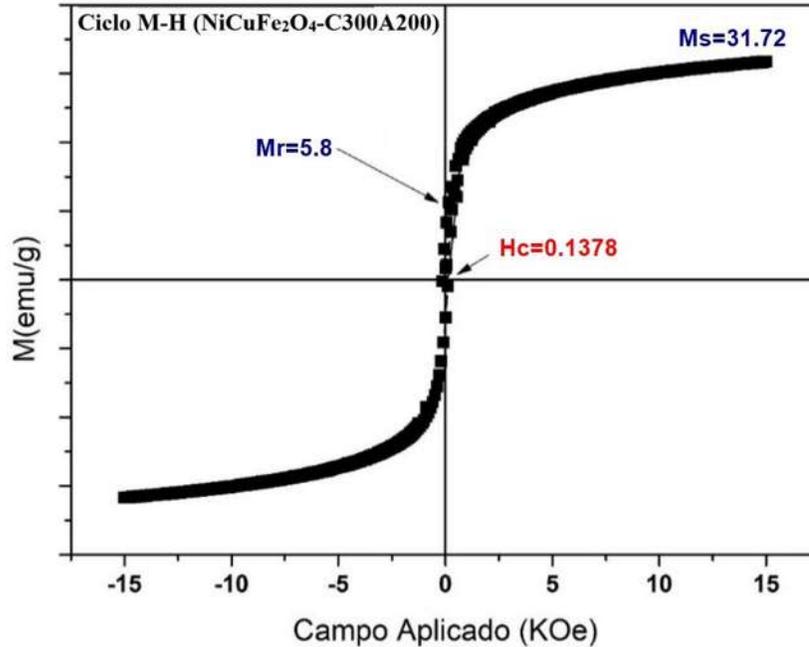


Figura 4.9. Curva de ciclo M-H de la ferrita de níquel-cobre sintetizada (NiCuFe₂O₄-C300A200).

4.7.- Interacción de Nanopartículas de NiCuFe₂O₄ con fármaco (Amikacina).

4.7.1 Análisis de Potencial Z en las nanopartículas de NiCuFe₂O₄ y la amikacina.

Para determinar el proceso de funcionalización se realizó un proceso de determinación del potencial Z de la superficie de las nanopartículas de NiCuFe₂O₄, (muestra NiCuFe₂O₄-C300A200), para determinar si efectivamente en un pH fisiológico se podrían encontrar las cargas correspondientes a los grupos hidróxido necesarios para que se pueda realizar la interacción con la molécula de amikacina, situación que se corroboró al encontrarse un valor de carga de -43.71 mV (**Figura 4.10**), valores que corresponden con materiales similares [58,59].

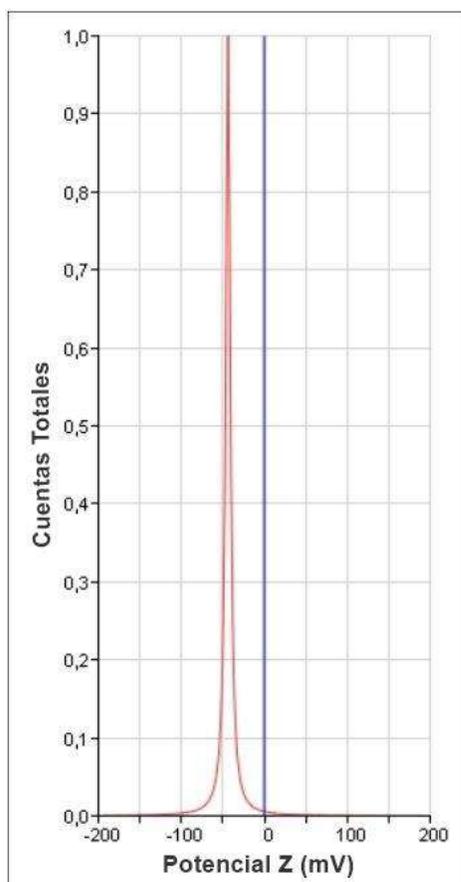


Figura 4.10. Análisis de Potencial Z a un pH de 7 de las nanopartículas de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ sintetizadas por la vía sol-gel acoplada a secado por liofilización.

Por otro lado, para corroborar que del mismo modo la amikacina conserva las cargas necesarias en la superficie al disolverse en el medio de funcionalización, se analizó la carga superficial de la molécula a través de un sistema operativo denominado Chimera (**Figura 4.11**), donde se encontró una carga prioritariamente positiva, mostrándose en color azul este efecto y en rojo las cargas negativas, debido a los átomos de nitrógeno que la componen, análisis que concuerda con trabajos de otros autores donde se ha reportado esta carga positiva en la molécula [60, 61, 62], situación que como se mencionó desde la metodología, es necesario para que exista la interacción de esta molécula sobre la superficie del material cargado con grupos OH.

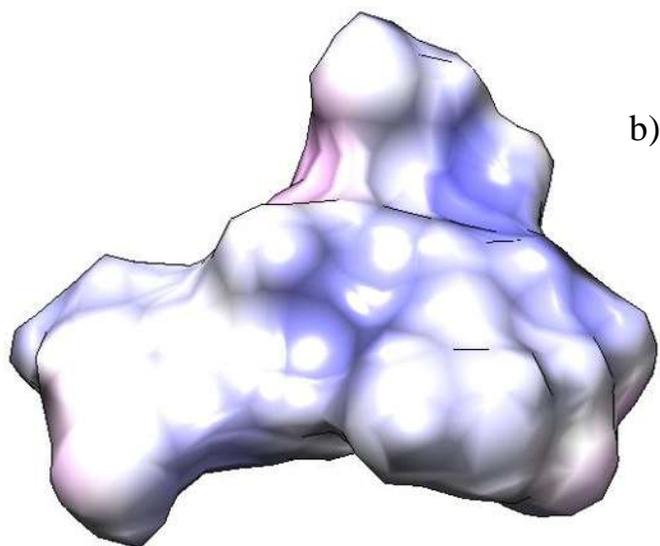
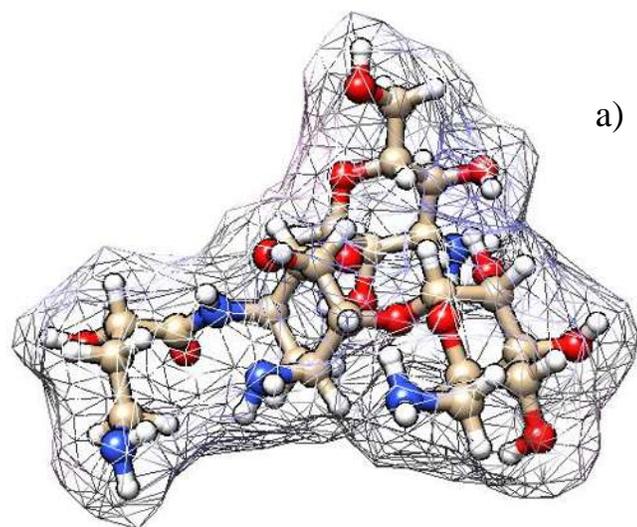


Figura 4.11. Análisis digital de carga de superficie de la molécula de amikacina, a) estructura molécula (azul: átomos de nitrógeno, rojo: átomos de oxígeno, blanco: átomos de hidrógeno y café: átomos de carbono), b) análisis de la carga superficial de la molécula de amikacina (azul: carga positiva, rojo: carga negativa y blanco: regiones neutras).

4.7.2.- Efecto de la interacción entre material y fármaco.

En la **Figura 4.12** se puede observar de forma indirecta el comportamiento de la amikacina al interactuar con las nanopartículas, siendo así que se encontró una disminución en la concentración de la solución inicial de amikacina donde al colocarse las nanopartículas y debido a la absorción del antibiótico en su superficie, se provoca la disminución en la señal de la amikacina (220 nm) al retirar las nanopartículas, debido a que éstas se han adsorbido en la superficie del material.

Realizando los cálculos pertinentes, se encontró una medición de absorbancia de 5.89 para la solución inicial de la suspensión de amikacina que corresponde a una concentración de 5 mg/mL que posterior a la interacción con 10 mg de nanopartículas de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ y su separación, disminuyó en 0.9006 unidades de absorbancia, que corresponde con un total de 0.760 miligramos de amikacina que se adsorbieron en la superficie del material.

Además, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la densidad óptica observada de los medios de funcionalización donde se colocaron 20 y 40 mg de nanopartículas, esto debido a la alta concentración del material en el líquido en conjunto con los fenómenos magnéticos ocasionaron una aglomeración parcial de las nanopartículas y por lo tanto disminuyen el área superficial para que la amikacina interactúe.

A partir de esa diferencia de 0.9006 en densidad óptica y su correlación directa con la concentración del antibiótico, se ha determinado que la cantidad de amikacina que se ha absorbido en los 10 miligramos de nanopartículas de $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ es de 0.760 mg, o lo mismo que 76 microgramos de amikacina por miligramo de nanopartículas de ferrita, valor que se analizó mediante cultivos con microorganismos para determinar si el material ha afectado a la actividad de la amikacina, pero que se puede encontrar adecuado ya que sistemas de liberación de este fármaco han encontrado rendimientos de funcionalización de alrededor de los 26 microgramos por miligramo de nanopartícula [63], siendo el desarrollado en el presente proyecto casi del triple.

4.7.3.- Pruebas de actividad antimicrobiana de las nanopartículas de NiCuFe₂O₄ funcionalizadas con amikacina.

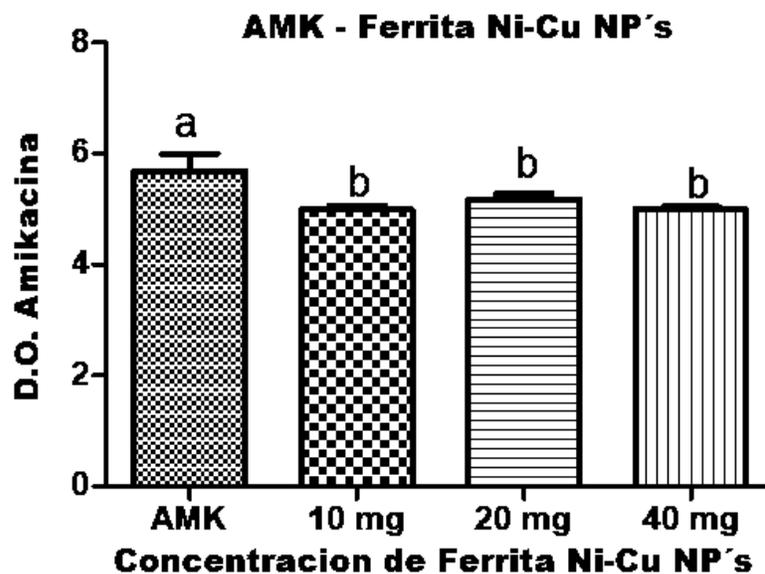


Figura 4.12. Adsorción de amikacina en nanopartículas de NiCuFe₂O₄. Diferentes concentraciones de los polvos de ferrita se incubadas con amikacina [5 mg/ml].

A través de un cultivo en medio líquido inoculado con *S. aureus*, se ha analizado el efecto de las nanopartículas cargadas con el antibiótico Amikacina, donde se han adicionado las nanopartículas funcionalizadas con una concentración correspondiente a $76 \mu\text{g}_{\text{amikacina}}/\text{mg}_{\text{nanopartículas}}$, en concentraciones de 1, 10 y 20 $\text{mg}_{\text{nanopartículas}}/\text{ml}$ de medio de cultivo ($76 \mu\text{g}_{\text{amikacina}}/\text{mL}$, $760 \mu\text{g}_{\text{amikacina}}/\text{mL}$ y $1520 \mu\text{g}_{\text{amikacina}}/\text{mL}$), concentraciones que se consideraron superiores al control de amikacina libre ($30 \mu\text{g}/\text{mL}$) ya que al estar funcionalizadas no existe una disponibilidad inmediata de la molécula.

En seguida se realizó la interacción de 2 horas con el cultivo de microorganismos para ser analizados a través de un ensayo por densidad óptica a 530 nm, donde se puede determinar el desarrollo microbiano donde una menor densidad involucra una menor cantidad de células y por lo

tanto, la inhibición de su desarrollo, demostrándose que existe un efecto inhibitor en las alícuotas adicionadas con las nanopartículas desde la concentración baja hasta la más alta (**Figura 4.13** 1g, 10g y 20g de NiCuFe₂O₄ NP's) aunque con un menor efecto con respecto al control con antibiótico (Figura 10 Columna AMK), que corresponde a la adición de 30 microgramos por mililitro de medio, indicando que no existe una liberación espontánea del antibiótico en el medio, pero al mismo tiempo demuestra parcialmente que no existen cambios químicos que puedan alterar la estructura del antibiótico, al conservar la actividad biocida.

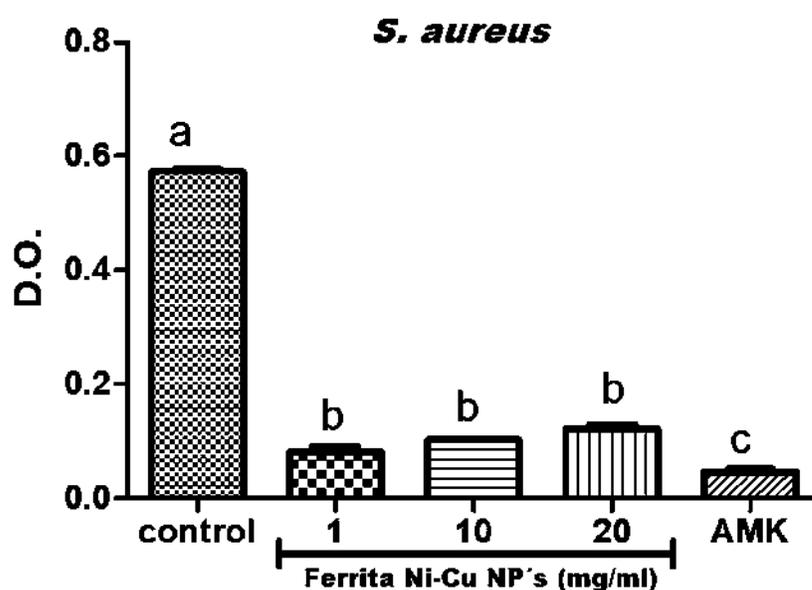


Figura 4.13. Viabilidad de *S. aureus*. Absorbancia a 530 nm, la viabilidad de la bacteria es proporcional a la densidad óptica (D. O:)). Control Amikacina (AMK) [30 µg / ml]. Las letras diferentes indican significancia estadística.

4.6.2.- Subcultivo de *S. aureus* en medio sólido BHI después del tratamiento

Posterior al ensayo de densidad óptica, se procedió a analizar si la actividad es de tipo biocida o bacteriostática retirando las nanopartículas del medio e inoculando los medios con *S. aureus* que fueron tratados con el material funcionalizado y con la amikacina libre, estos se vertieron en medio de cultivo sólido, donde se analizó la aparición de unidades formadoras de colonias, siendo incubados a 24 horas y revisados a 72 horas, para así determinar si las bacterias han sido inhibidas adecuadamente. Así, es posible demostrar como el control positivo, en el cuál no se ha colocado ningún tipo de antibiótico, presenta una gran cantidad de unidades formadoras de colonias, mientras que en los experimentos donde se colocaron 1, 10 y 20 mg/mL de las nanopartículas cargadas con amikacina, se puede encontrar un nulo crecimiento de las bacterias. Donde al no encontrarse ninguna unidad formadora de colonias, se puede determinar que el efecto de las nanopartículas es de tipo bactericida y no bacteriostático, debido a que la mayoría de los antibióticos de este grupo (aminoglucósidos) se comportan como bactericidas [34]. (**Figura 4.14**).

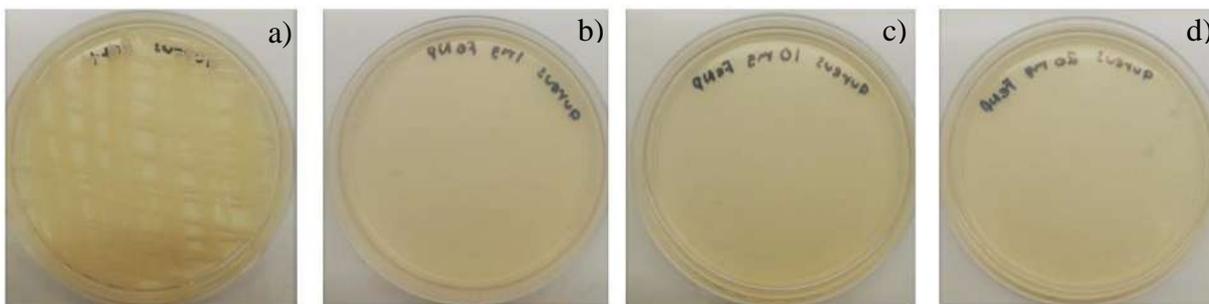


Figura 4.14. Cultivo en cajas Petri de a) *S. aureus*, b) *S. aureus*/1 mg de Ferrita Ni-Cu, c) *S. aureus*/10 mg de Ferrita Ni-Cu y d) *S. aureus*/20 mg de Ferrita Ni-Cu.

De forma similar a los ensayos con *S. aureus*, se realizaron diferentes cultivos de *E. Coli*. (**Figura 4.15**) con la adición de 1, 10 y 20 mg/mL de nanopartículas funcionalizadas, sin embargo, en la etapa de cultivo en medio líquido se encontró que solamente se genera un efecto inhibitor del

crecimiento cuando la concentración de nanopartículas alcanza los 20 mg_{nanopartículas}/mL (720 mg_{amikacina}/mL), indicando que es posible que la liberación del antibiótico no sea la adecuada para inhibir este microorganismo, ya que en el control donde se inoculó al cultivo con la amikacina directamente se puede ver un efecto inhibitor altamente significativo.

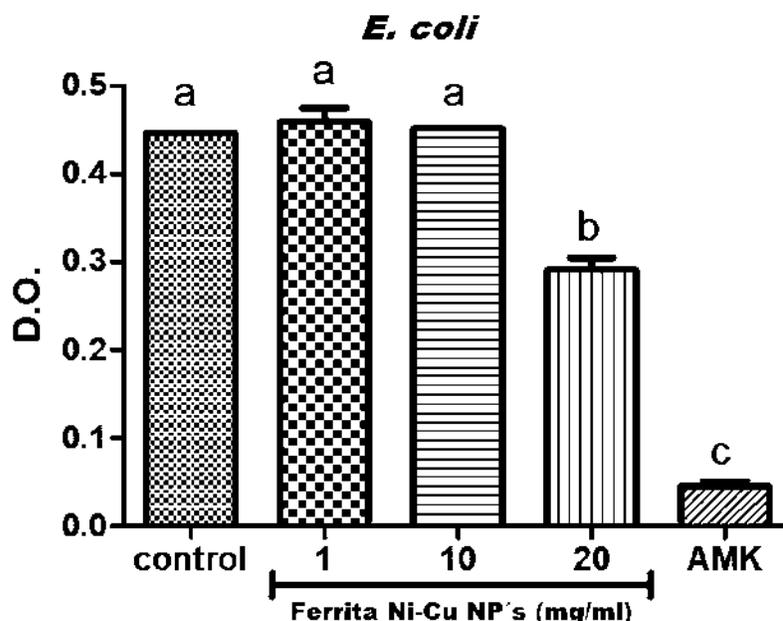


Figura 4.15. Viabilidad de *E. Coli*. Absorbancia a 530 nm, la viabilidad de la bacteria es proporcional a la densidad óptica (D. O:)). Control Amikacina (AMK) [30 µg / ml].

Posteriormente al ensayo en medio de cultivo líquido (**Figura 4.13**), se analizó la actividad bactericida de las nanopartículas cargadas con amikacina mediante cultivo en medio sólido, encontrándose un resultado similar al reportado en la figura anterior, siendo posible determinar que sigue existiendo un efecto inhibitor muy leve de las nanopartículas cargadas con amikacina con respecto al control, y este solamente es medianamente visible en las muestras inoculadas con 20 mg/mL de medio, por lo que es posible que la inhibición en el medio líquido no sea suficiente para generar un efecto bactericida, por lo que se podría analizar otro tipo de antibióticos con más especificidad para microorganismos gram-negativos.

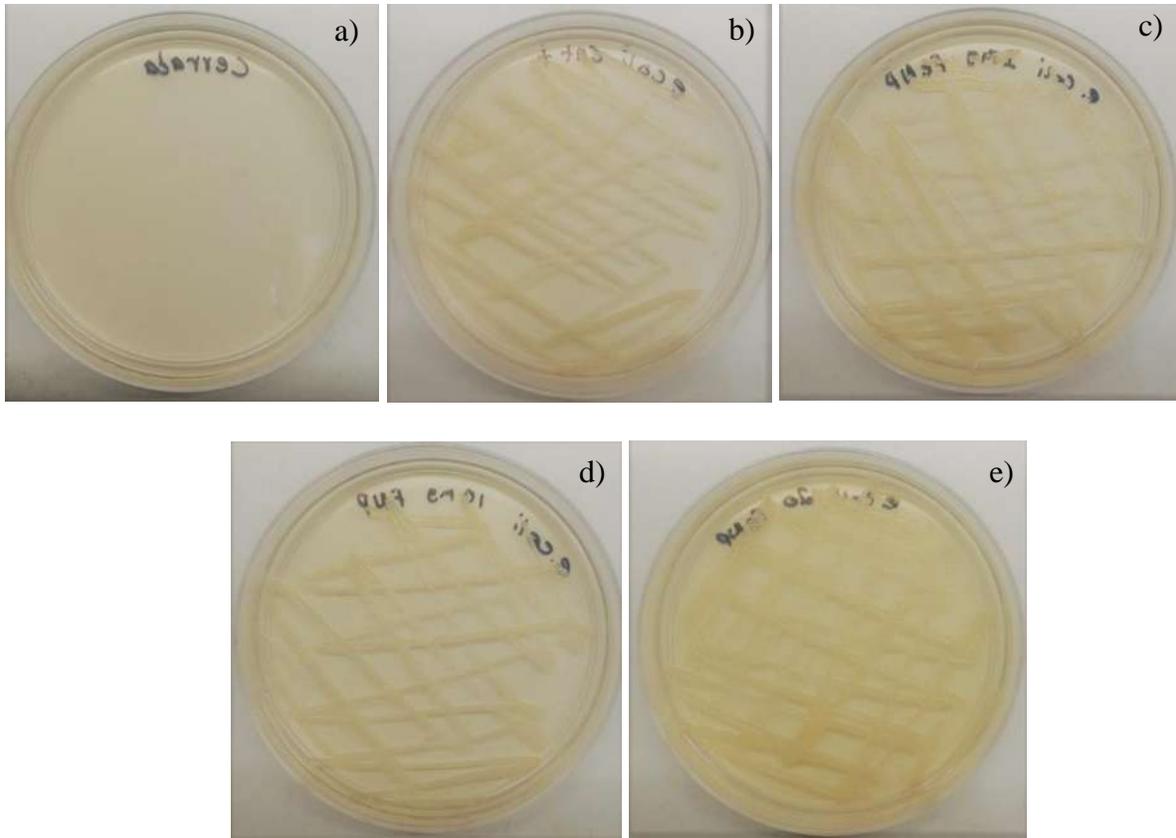


Figura 4.16. Cultivos en cajas Petri de a) *E. coli*/Amikacina b) *E. coli*, c) *E. coli*/1 mg de Ferrita Ni-Cu, d) *E. coli*/10 mg de Ferrita Ni-Cu y e) *E. coli*/20 mg de Ferrita Ni-Cu.

En la **Tabla 5.1** se resume las condiciones de síntesis para cada muestra y los tamaños de cristal obtenidos a partir de las variables en el proceso Sol-gel asistido por liofilización observadas en DRX, así como también se muestran los valores de área superficial específica y diámetro de poro para las muestras $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ y $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ indicados en **Tabla 5.2**, cabe mencionar que en base a la morfología, área superficial y diámetro de nanopartícula solo se realizó el análisis de magnetometría de muestra vibrante a la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$, donde los datos son mostrados igualmente para esta muestra en la misma tabla, muestra que también fue la utilizada para el anclaje del fármaco así como las respectivas pruebas con cepas de *S. aureus* y *E. coli*.

Tabla 4.1. Condiciones de síntesis de muestras sintetizadas con diferentes variables y tamaño de partícula obtenido.

Muestra	Sol-gel			Liofilización			Tamaño de cristal promedio (DRX)
	T-°C (Mezcla)	Tiempo (Mezcla)	Proporción (C ₆ H ₈ O ₇)	Aspersión (LS-2)	T-°C (LYO GT-2)	T-°C (Calcinación)	
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A60	80	3 h	5:1	60 rpm	-15	600/24 h	17.4 nm (DRX)
NiCuFe ₂ O ₄ -C300A80	25	30 min	5:1	80 rpm	-15	300/2 h	16.9 nm (DRX)
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A100	25	30 min	5:1	100 rpm	-20	600/2 h	17.2 nm (DRX)
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A150	25	30 min	3:1	150 rpm	-20	600/2 h	17 nm (DRX)
NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200	25	30 min	5:1	200 rpm	-20	300/2 h	16.9 nm (DRX)
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A200	25	30 min	5:1	200 rpm	-20	600/2 h	17 nm (DRX)

Tabla 4.2. Valores de área superficial específica y diámetro de poro obtenidos, así como también los valores de Ms, Mr y Hc (NiCuFe₂O₄-C300A200).

Muestra	Área superficial específica (m ² /g)	Diámetro de poro (nm)	Magnetización de Saturación (emu/g)	Magnetización remanente (emu/g)	Coercitividad (KOe)
NiCuFe ₂ O ₄ -C300A200	209	2	31.72	5.8	0.1378
NiCuFe ₂ O ₄ -C600A200	35	6	-----	-----	-----

Los resultados reportados en esta investigación manifiestan que, el método de síntesis Sol-gel asistido por liofilización demostró ser una ruta viable para la obtención de agregados nanoestructurados superparamagnéticos de NiCuFe₂O₄, consiguiendo propiedades morfológicas con mayor control, como los son el tamaño, distribución y geometría (esférica), esto llevado a cabo a temperatura y tiempos de calcinación relativamente bajos en comparación con condiciones similares a otras tipos de rutas de obtención del mismo material, destacando principalmente la síntesis sol-gel sin secado asistido, coprecipitación y síntesis verde, esta comparación de materiales obtenidos se puede apreciar en la **Figura 4.17**, en donde se equiparan tres micrografías de MEB, destacando que, en cuanto a morfología, y distribución de partícula, para la muestra obtenida (NiCuFe₂O₄-C300A200) Figura 4.17 (a), resulta ser más uniforme y tener un menor tamaño de partícula en comparación con la micrografía mostrada en la Figura 4.17 (b), correspondiente al trabajo reportado por M. Maria Lumina y col [46], en el cual el material se obtuvo por la ruta de síntesis sol-gel; del mismo modo encontramos en Figura 4.17 (c), la micrografía reportada por J. Balavijayalakshmi y col [73], en donde la síntesis usada fue coprecipitación; y por último la Figura 4.17 (d), donde es apreciable el trabajo reportado por B. Gayathri Manju y P. Raji [45], en donde el procesos de obtención del material fue síntesis verde a partir de *A. barbadensis*.

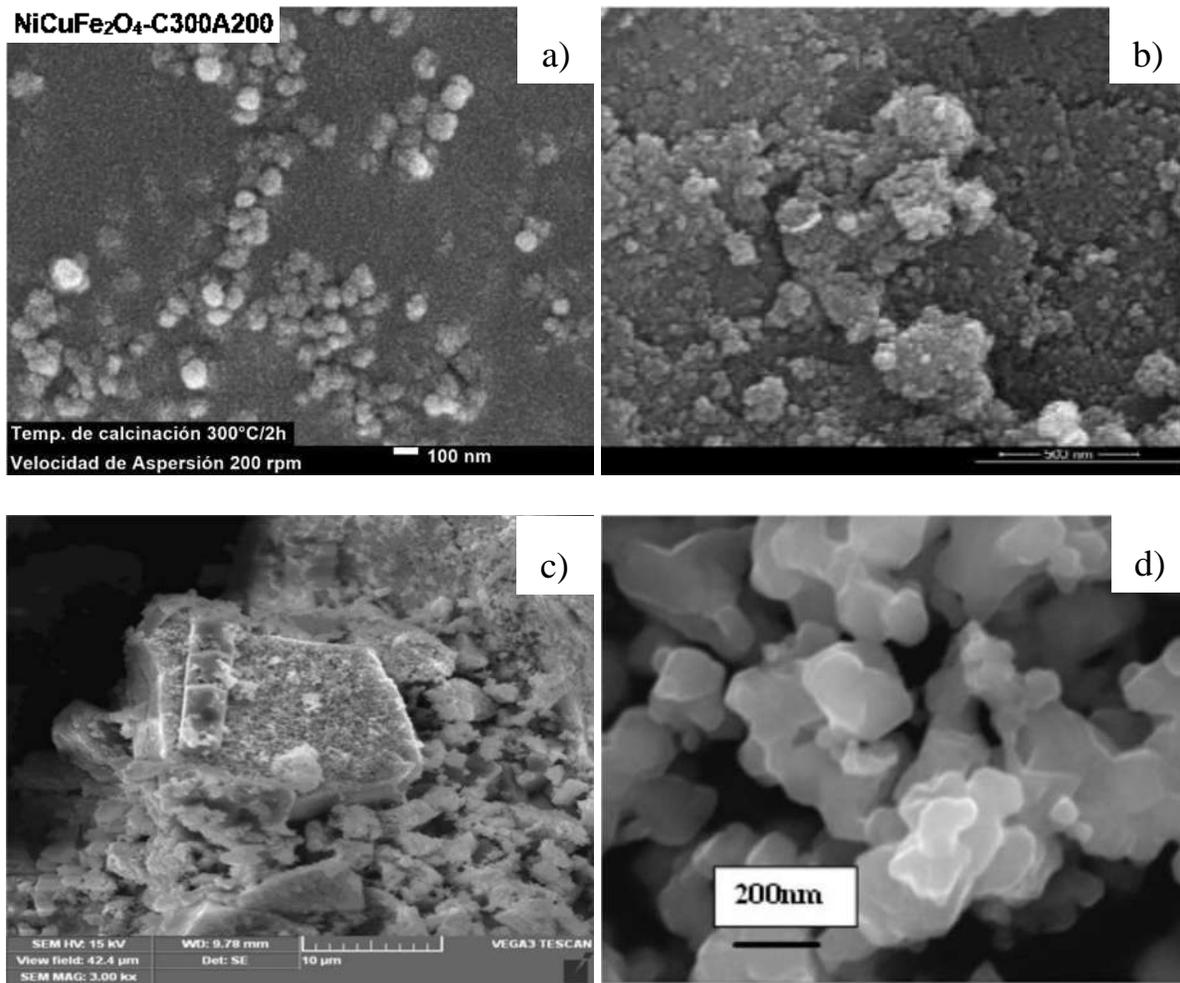


Figura 4.17. Comparación de morfología, distribución, y tamaño de partícula, a partir de micrografías MEB de a) muestra obtenida (NiCuFe₂O₄-C300A200), muestra reportada por M. Maria Lumina y col, c) J. Balavijayalakshmi y col, d) B. Gayathri Manju y P. Raji [45, 46, 73].

La síntesis de ferrita de níquel-cobre por sol-gel asistida por liofilización, también demostró ser viable para alcanzar valores de área superficial más altos en comparación con algunos reportados en la literatura para otras ferritas, citando de ejemplo al trabajo reportado por Andrei Ivanets y col [74], donde se sintetizaron nanopartículas de ferrita de magnesio mediante de método de coprecipitación, obteniendo un área superficial mediante método de BET máxima de 179 m²/g, mientras que la ferrita de níquel-cobre obtenida de la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200, presenta un área superficial de 209 m²/g, cabe mencionar de igual modo que la ferrita de magnesio reportada por Andrei Ivanets y col, se sometió a diferentes temperaturas de calcinación siendo que la mayor

área superficial de $179 \text{ m}^2/\text{g}$ se obtuvo a una temperatura de $80 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura a la cual este tipo de ferrita es amorfa; por el contrario, la ferrita de níquel-cobre ($\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$), además de tener una mayor área superficial como se mencionó con anterioridad, posee una fase cristalina definida, en la **Figura 4.18**, se presenta la comparación de isothermas de adsorción/desorción entre la muestra $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ (a), y lo reportado por Andrei Ivanets y col (b), donde se observa con más detalle que las isothermas tienen los ciclos de histéresis (a excepción de la muestra calcinada a 80°) que se caracterizan por un tipo H4, lo que describe una porosidad en el rango de microporos, sin embargo, también denotan una débil interacción entre adsorbato y adsorbente, lo que por consecuencia resulta en las áreas superficiales bajas [53].

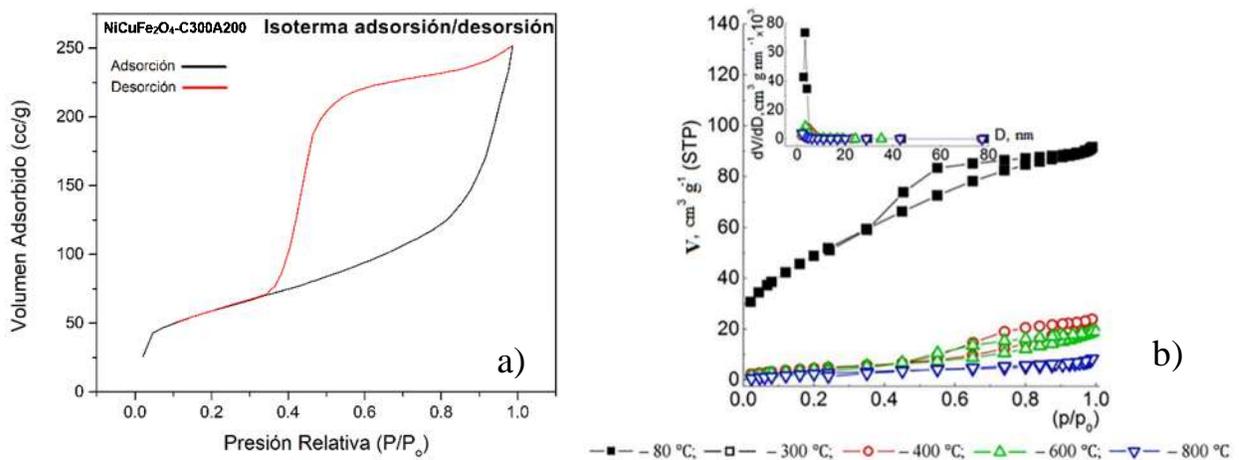


Figura 4.18. Comparación de isothermas de adsorción/desorción entre (a) $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4\text{-C300A200}$ y (b) isothermas reportadas por Andrei Ivanets y col, de ferrita de magnesio a diferentes temperaturas de calcinación [74].

En cuanto a las propiedades magnéticas de la ferrita de níquel-cobre de la presente investigación, la ruta de síntesis sol-gel asistida por liofilización, resulto ser efectiva para la obtención de este material con propiedades de comportamiento superparamagnético, si bien no existe una gran diferencia entre las propiedades ya reportadas para este material por Z. Kargar y col [40], si se logró mejorar las propiedades en cuanto al aumento de la magnetización de saturación (M_s) y

disminución de la magnetización remanente (M_r) y coercitividad (H_c), dado que en el caso de la muestra $NiCuFe_2O_4$ -C300A200 este valor obtenido para M_s fue de 31.72 emu/g, M_r de 5.8 emu/g y H_c de 137.8 Oe, en comparación con lo reportado por Z. Kargar de 19.03 emu/g para la M_s , 7.46 emu/g de M_r y H_c de 171.91 Oe, para la muestra similar. En la Figura 4.19, se muestra una comparación entre la muestra sintetizada $NiCuFe_2O_4$ -C300A200 y las muestras reportadas por Z. Kargar con diferentes concentraciones de cobre.

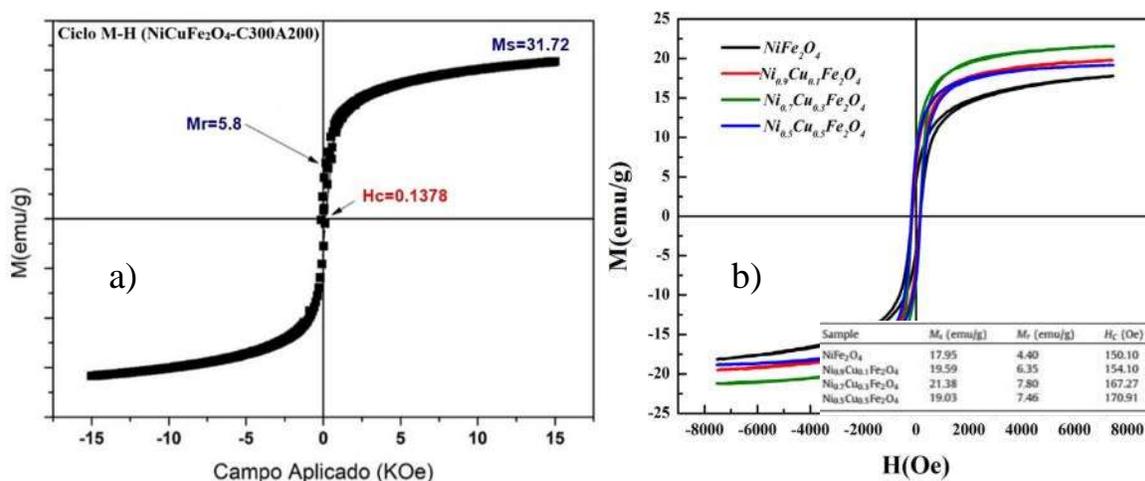


Figura 4.19. Comparación de ciclos M-H y M_s , M_r y H_c , entre (a) $NiCuFe_2O_4$ -C300A200 y (b) reportadas por Z. Kargar y col, [40].

Por parte de las pruebas de funcionalización del fármaco (amikacina), también se encontró una notable mejoría de los agregados de $NiCuFe_2O_4$ comparado con trabajos reportados, en la Figura 4.20 se puede observar una comparación entre los resultados obtenidos en este trabajo de la ferrita de níquel-cobre muestra $NiCuFe_2O_4$ -C300A200 (a), comparada con nanopartículas PLGA (Poly (lactic-co-glycolic acid)) (b), reportadas por Parastoo Sabaeifard y col [63], trabajo en el que la carga de la amikacina fue de alrededor de 26 microgramos por miligramo de nanopartícula, mientras que en el caso de la muestra $NiCuFe_2O_4$ -C300A200 fue de 76 microgramos de amikacina por miligramo.

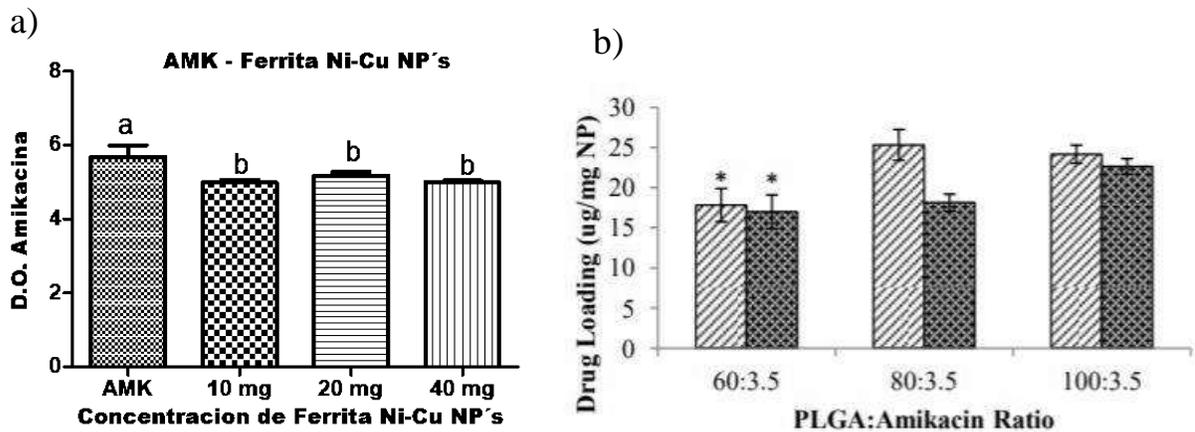


Figura 4.20. Comparación entre carga de amikacina de la ferrita de níquel-cobre muestra NiCuFe₂O₄-C300A200 (a), y PLGA (Poly (lactic-co-glycolic acid)) (b), reportadas por Parastoo Sabaeifard y col [63].

5.- CONCLUSIONES

En concordancia con los resultados obtenidos a partir de las micrografías del MEB podemos concluir que las variables y parámetros establecidos en el proceso Sol-gel tienen gran repercusión poco notable, tales variables como lo fueron: cambios de temperatura, tiempo y velocidad de agitación, observando cambios limitados en cuanto a la morfología, tamaño y distribución de partícula, ya que, como se observó, en las muestras NiCuFe₂O₄-C600A60 y NiCuFe₂O₄-C300A80, tales que fueron sometidas a condiciones diferentes en cuanto a los parámetros antes mencionados, no presentan cambios significativos en estas propiedades, sin embargo las muestras NiCuFe₂O₄-C600A100 y NiCuFe₂O₄-C600A150 si presentan cambios considerables en cuanto a la morfología y tamaño de partícula, así como también su porosidad respecto a las muestras NiCuFe₂O₄-C600A60 y NiCuFe₂O₄-C300A80; debido a que no se realizaron cambios en las variables del proceso Sol-

gel, pero si en el proceso de secado por aspersión en frío, podemos atribuir estos cambios, principalmente en la morfología de los agregados y el tamaño de partícula a los cambios hechos en las variables de dicho proceso, logrando de manera análoga una morfología más uniforme y una reducción del tamaño de partícula menor, de en promedio 33 nm a 20 nm, resultado que puede ser equiparable a los difractogramas de rayos x, donde además de confirmar la fase cubica espinela de la ferrita de níquel cobre, se obtuvo un tamaño de partícula de 17 nm semejante a los 20 nm antes mencionados del MEB. El análisis de MMV fue concerniente al tamaño de nanopartícula obtenido de la muestra en DRX de 17 nm aproximadamente, indicando un comportamiento superparamagnético, con bajos valores de M_r y H_c , los cuales se atribuyen a la interacción de los sitios tetraédricos y los octaédricos dado que la presencia de los átomos tanto de níquel como de cobre realizan cambios significativos en la interacción de los iones de hierro así como su migración de un sitio a otro, teniendo como resultado de igual manera también una alta magnetización, esperada por la estructura cristalina de ferrita cubica espinela. Realizando el análisis de las isothermas de adsorción y desorción del BET, podemos relacionar la diferencia entre los datos conseguidos con la temperatura de calcinación, ya que debido a que las condiciones de síntesis fueron similares, a excepción de los parámetros de calcinación, la distribución y tamaño de poro si se ve afectada por este parámetro como lo indico la diferencia de patrones en cuanto a los tipos de isoterma y ciclo de histéresis, además de la gran disparidad con el área superficial específica, siendo de alrededor del 70%, teniendo menos la muestra calcinada a 600°C (NiCuFe₂O₄-C600A200). Cabe mencionar también que los tamaños de poro observados en el MEB y los obtenidos con el análisis BET, discrepan en gran medida ya que las micrografías solo fueron el promedio de una zona de la muestra en específico, mientras que el análisis de superficie se realiza en toda la muestra de manera uniforme. El análisis BET fue crucial para las pruebas microbiológicas del fármaco en las nanopartículas ya que la síntesis de la muestra NiCuFe₂O₄-C300A200, al poseer una mayor área superficial específica, además de una porosidad óptima para el anclaje del fármaco, fue la seleccionada para dichas pruebas dando resultados interesantes, en donde se pudo corroborar la capacidad antibacterial que poseen las nanopartículas de NiCuFe₂O₄ al ser cargadas con amikacina, teniendo una mejor eficacia contra las cepas de *S. aureus*, sin embargo, aunque la eficacia ante las cepas de *E. Coli* fue menor, sigue siendo optima la actividad antibacterial de las nanopartículas ante este microorganismo patógeno.

6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Martin del Valle, E.M. Galan, M.A & Carbonell, R.G. *Drug Delivery Technologies; The Way Forward in the New Decade. Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48 (5), :2475-2486. 2009.
- [2] Puentes VF, Krishnan KM, Alivisatos AP. *Colloidal nanocrystal shape and size control: the case of cobalt. Science*, 291(5511):2115-2117. 2001.
- [3] Akbarzadeh A, Samei M, Davaran S. *Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties and applications in biomedicine. Nanoscale Res Lett*, 7:144. 2012.
- [4] Niemirowicz K, Markiewicz KH, Wilczewska AZ, Car H. *Magnetic nanoparticles as new diagnostic tools in medicine. Advances in Medical Sciences* Vol. 57(2). 2012.
- [5] Tartaj P, Morales MDD, Veintemillas-Verdaguer S, Gonzalez-Carreño T, Serna CJ. *The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. J Phys D: Appl Phys*, 36: R182-R197. 2003.
- [6] Colombo M, Carregal-Romero S, Casula M, Gutiérrez L, Morales M, Böhm. *Biological applications of magnetic nanoparticles. Chemical Society Reviews*. 2012.
- [7] Alonso M, Finn E, Heras C, Barreto Araujo. J. *Física. México* [etc.]: Fondo Educativo Interamericano; 1981.
- [8] Mojica Piscioti M. *Estudio del proceso de calentamiento de nanopartículas con campos magnéticos para su utilización en el tratamiento de tumores por hipertermia. Tesis Doctoral*. Universidad Nacional de Cuyo, Comisión Nacional de Energía Atómica. 2009.
- [9] Arruebo, M. *Chem. Mater.* 18, 1911. 2006.
- [10] Gaur, U. *Int. J. Pharmacol.* 202,1. 2000.

- [11] Ahmed MA, Abdel-Messih MF. *Structural and nano-composite features of TiO₂Al₂O₃ powders prepared by sol-gel method*, **Journal of Alloys and Compounds**, V. 509, No.5. pp. 2154-9. 2011.
- [12] Guglielmi M, Kickelbick G, Martucci A. *Sol-Gel Nanocoposites*. New York. 2011.
- [13] Brinker C. J. Scherer G. W. *Sol-gel Science*. Boston San Diego New York, London, Sydney, Tokio, Toronto, United Kingdom Edition published by **Academic Press Limited**. 1990.
- [14] Birkett DJ. *Pharmacokinetics made easy*. **McGraw - Hill**. Sidney, Australia. 1998
- [15] Buxton ILO. *Farmacocinética y Farmacodinámica*. En: Brunton LL; Lazo JS, Parker KL, ed. **Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11ma Edición. McGraw - Hill**. México. pp: 1 - 39. 2007.
- [16] Chambers HF. *Miscellaneous Antimicrobial Agencts: Disinfectants, antiseptics, and sterilants*. En: **Katzung BG, ed. Basic & Clinical Pharmacology. 8th edition**. LANGE. New York, USA. pp: 845 - 53. 2001.
- [17] T. Moritz, A. Nagy, J. **Nanopart. Res.** 4: 439–448. 2002.
- [18] S. Padma Ishwarya, C. Anandharamakrishnan, Andrew G.F. Stapley, *Trends Food. Sci Tech.* 41: 161–181. 2015.
- [19] Alice Lolli, Magda Blosi. *Innovative synthesis of nanostructured composite materials by a sprayfreeze drying process: Efficient catalysts and photocatalysts preparation*. **Dipartimento di Chimica Industriale “Toso Montanari”**, University of Bologna, viale del Risorgimento 4, 40136, Bologna, Italy. 2018.
- [20] Hench L. L., West J. K. **Chem. Rev.** 90: 33-72. 1990.
- [21] Kent Rundgren. *Freeze Granulation for Processing of Nano Materials*. **Powderpro. NanoMaterials**. 2013.
- [22] Yvonne d’arcy, crnp, cns, ms. *Liposomas: una nueva manera de administrar analgésicos*. **Suburban Hospital de Bethesda**, Maryland. 2016

- [23] Fentem J.H. *The use of human tissues in vitro toxicology*, **Summary of general discussions. Human Experimental Toxicology**; 13 (2):445-449. 1994.
- [24] Kawaguchi H. *Discovery, chemistry and activity of amikacin*. **Journal of Infectious Disease**. 134:S 249-261. 1976.
- [25] Laurence L. Burton, John S. Lazo, Keith L. Parker. *Aminoglucósidos*. **Goodman y Guilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica**. Capítulo 45/ Henry E. Chambers. 2004.
- [26] Tomalia AD, Dvornic PR. *Recent advances in dendritic Polymers*. **Curr.Opin.Colloid. Interface. Sci**; 1:221-235. 1996.
- [27] Desirée Saénz Campos. *Principios de Farmacología General Y Administración de Fármacos*. **Editorial Universidad de Costa Rica**. 1993.
- [28] C. Oerlemans, W. Bult, M. Bos, G. Storm, J. F. W. Nijssen, and W. E. Hennink. *Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release*. **Pharmaceutical Research**, Vol. 27, pp. 2569-2589, 2010.
- [29] Raquel Olmeda Pérez. *Nanovehículos Para El Tratamiento De La Infección Bacteriana*. **Tesis Doctoral**. Facultad De Farmacia - Departamento De Química Inorgánica Y Bioinorgánica - Universidad Complutense De Madrid. 2017
- [30] Ahmed, S. R. and Kofinas, P.; **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**; 88: 219-223. 2005.
- [31] Brinker, C. J. and Scherrer, G. W. *The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. **Sol-gel Science** Ed. Academic Press. 1989.
- [32] Huang, X. and Chen, Z.; **Journal of Cristal Growth**; 271: 287-293. 2004.
- [33] Huang, X. and Chen, Z.; **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**; 280: 37-43. 2004.
- [35] A. Goldman. *Modern Ferrite Technology*. **Springer Science and Business Media Inc**, 2006.
- [34] Jorge Calvo y Luis Martínez. *Mecanismos de acción de los antimicrobianos*. **Enferm Infecc Microbiol Clin**; 27:44-52. 2009.

- [36] M. Kooti, A.N. Sedeh, *Synthesis and characterization of NiFe₂O₄ magnetic nanoparticles by combustion method*. **J. Mater. Sci. Technol.** 29: 34–38. 2013.
- [37] A.T. Raghavender, N. Biliskov, Z. Skoko, *XRD and IR analysis of nanocrystalline Ni–Zn ferrite synthesized by the sol-gel method*. **Mater. Lett.** 65: 677–680. 2011.
- [38] S. Chakraverty, S. Mitra, K. Mandal, P.M.G. Nambissan, S. Chattopadhyay. *Positron annihilation studies of some anomalous features of NiFe₂O₄ nanocrystals grown in SiO₂*. **Phys. Rev. B** 71: 024115. 2005.
- [39] A. Mukherjee, M. Banerjee, S. Basu, P.M.G. Nambissan, M. Pal. *Gadolinium substitution induced defect restructuring in multiferroic BiFeO₃: case study by positron annihilation spectroscopy*. **J. Phys. D: Appl. Phys.** 46: 495309. 2013.
- [40] Z. Kargar, S.M. Asgarian, M. Mozaffari. *Positron annihilation and magnetic properties studies of copper substituted nickel ferrite nanoparticles*. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B** 375, 71-78. 2016.
- [41] Sagario Martinez Montemayor. *Materiales magneticos puros, compuestos e hibridos, su sintesis mediante un proceso de Pechini modificado y su caracterizacion magnetica, estructural y morfologica*. **Tesis Doctoral**. Centro de investigacion en quimica aplicada. Saltillo, Coahuila. 2006.
- [42] Hu FX, Neoh KG, Kang ET. *Synthesis and in vitro anti-cancer evaluation of tamoxifen-loaded magnetite/PLLA composite nanoparticles*. **Biomaterials**; 27:5725–33. 2006.
- [43] Jana Chomoucka, Jana Drbohlavova, Dalibor Huska, Vojtech Adam, Rene Kizek, Jaromir Hubalek. *Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering*. **Pharmacological Research** 62. 144-149. 2010.
- [44] Montemayor, S. M., García-Cerda, L. A., Torres-Lubián, J. R.; **Materials Letters**; 59 1056-1060. 2005.
- [45] B. Gayathri Manju, P. Raji. *Green Synthesis of Nickel–Copper Mixed Ferrite Nanoparticles: Structural, Optical, Magnetic, Electrochemical and Antibacterial Studies*. **Journal of Electronic Materials**. 2019.

- [46] M. Maria Lumina Sonia, S.Blessi, S. Pauline. *Effect of Copper Substitution on the Structural, Morphological and Magnetic properties of Nickel Ferrites*. **International Journal of Research (IJR)** Vol-1, Issue-8, 2014.
- [47] E. Adams, G. Van Vaerenbergh, E. Roets, J. Hoogmartens. *Analysis of amikacin by liquid chromatography with pulsed electrochemical detection*. **J. Chromatogr A** .819, 93–97. 1998.
- [48] Meyer R.D. *Amikacin*. **Annals of Internal Medicine** 95:328 - 332. 1981.
- [49] Anjali Nihorea, Fozia Azizb, Nidhi Oswalb, Pranat Jainc, Oroosa Subohid and Nitish Guptaa. *Synthesis and Characterization of Copper doped Nickel Ferrite Prepared by Sol-gel Method*. **Materials Today: Proceedings** 18, 3651–3656. 2019.
- [50] N. Lenin, K. Sakthipandi, R. Rajesh Kanna, and G. Rajkumar. *Electrical, magnetic and structural properties of polymer-blended lanthanum-added nickel nano-ferrites*. **Ceram. Int.** 44, 21866. 2018.
- [51] C. Vairo, J. Basas, M. Pastor, M. Palau, X. Gomis C, B. Almirante, E. Gainza, R.M. Hernandez, M. Igartua, J. Gavalda, G. Gainza. *In vitro and in vivo antimicrobial activity of sodium colistimethate and amikacin-loaded nanostructured lipid carriers (NLC)*. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine** 29; 102259. 2020.
- [52] Bruanuer S, Emmett PH, Teller E. *Adsorption of gases in multimolecular layers*. **J Am Chem Soc**; 60:309–316, 1938.
- [53] K. S. W. Sing, D. H. Everett, R. A. W. Haul, L. Moscou, R. A. Pierotti, J. Rouquerol y T. Siemieniewska. *Reporting Physisorption Data for Gas/Solid Systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity*. **Pure Appl. Chem.** 57 603-619. 1985.
- [54] X.-R. Zhu, Z.-G. Zhu, C. Chen, and H.-L. Shen, J. **Nanosci. Nanotechnol.** 15, 3182. 2014.
- [55] R.D.Waldron. *Infrared Spectra of Ferrites*. **Phys Rev.** 9, 1727-35. 1955.
- [56] P.M. Prithviraj Swamy, S. Basavaraja, A. Lagashetty, N.S. Rao, R. Nijagunappa, and A. Venkataraman. *Bull. Mater. Sci.* 34, 1325. 2011.
- [57] M. Gotic, I. Czako-Nagy, S. Popovic, S. Music. *Formation of Nanocrystalline NiFe₂O₄*. **Philos. Mag. Lett.** 78: 193-201. 1998.

- [58] Amir Karimi, Mohamad Amin Abdolahi Sadatlu, Behzad Saberi, Hamed Shariatmadar, Mehdi Ashjaee. *Experimental investigation on thermal conductivity of water based 5 nickel ferrite nanofluids*. **Advanced Powder Technology**. 2015.
- [59] António B. Mapossa, Joelda Dantas, Manoel R. Silva, Ruth H.G.A. Kiminami, Ana Cristina F.M. Costa, Michael O. Daramola. *Catalytic performance of NiFe₂O₄ and Ni_{0.3}Zn_{0.7}Fe₂O₄ magnetic nanoparticles during biodiesel production*. **Arabian Journal of Chemistry**. 2020.
- [60] European Medicines Agency. Arikayce liposomal, *International non-proprietary name: amikacin*. **Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)**. 2020.
- [61] Solmaz Ghaffari, Jaleh Varshosaz, Afrooz Saadat, Fatemeh Atyabi. *Stability and antimicrobial effect of amikacin-loaded solid lipid nanoparticles*. **Int J Nanomedicine**; 6: 35–43. 2011.
- [62] Sara Nicoli, Patrizia Santi. *Transdermal delivery of aminoglycosides: Amikacin transport and iontophoretic non-invasive monitoring*. **Journal of Controlled Release**; 111: 89 – 94. 2006.
- [63] Parastoo Sabaeifard, Ahya Abdi-Ali, Mohammad Reza Soudi, Carlos Gamazo, Juan Manuel Irache. *Amikacin loaded PLGA nanoparticles against Pseudomonas aeruginosa*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. Volume 93; Pages 392-398. 2016.
- [64] V.K. Sharma, N. Johnson, L. Cizmas, T.J. McDonald, H. Kim. *A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes*. **Chemosphere** 150. 2016.
- [65] A. Turolla, M. Cattaneo, F. Marazzi, V. Mezzanotte, M. Antonelli. *Antibiotic resistant bacteria in urban sewage: role of full-scale wastewater treatment plants on environmental spreading*. **Chemosphere**. 191. 2018.
- [66] H. He, P. Zhou, K.K. Shimabuku, X. Fang, S. Li, Y. Lee, M.C. Dodd. *Degradation and Deactivation of Bacterial Antibiotic Resistance Genes during Exposure to Free Chlorine, Monochloramine, Chlorine Dioxide, Ozone, Ultraviolet Light, and Hydroxyl Radical*. **World Journal of Gastroenterology**. 2019.
- [67] K. Kümmerer. *Antibiotics in the aquatic environment - a review - part I*. **Chemosphere**, 75. 2009.

- [68] N.H. Tran, H. Chen, M. Reinhard, F. Mao, K.Y.H. Gin. *Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes*. **Water Res.** 104; 461–472. 2016.
- [69] Miguel Herraiz-Carbone, Salvador Cotillas, Engracia Lacasa, Caridad Sainz de Baranda, Eva Riquelme, Pablo Canizares, Manuel A. Rodrigo, Cristina Saez. *Are we correctly targeting the research on disinfection of antibiotic-resistant bacteria (ARB)?*. **Journal of Cleaner Production**. 2021.
- [70] Andrei Ivanets, Vladimir Prozorovich, Marina Roshchina, Tatyana Kouznetsova, Nikolai Budeiko, Lyudmila Kulbitskaya, Ahmad Hosseini-Bandegharai, Vhahangwele Masindi, Vladimir Pankov. *A comparative study on the synthesis of magnesium ferrite for the adsorption of metal ions: Insights into the essential role of crystallite size and surface hydroxyl groups*. **Chemical Engineering Journal** 411. 2021.
- [71] Govindan Nadar Rajivgandhi, Govindan Ramachandran, Chelliah Chenthis Kanisha, Naiyf S. Alharbi, Shine Kadaikunnan, Jamal M. Khaled, Khalid F. Alanzi, Wen-Jun Li. *Effect of Ti and Cu doping on the structural, optical, morphological and anti-bacterial properties of nickel ferrite nanoparticles*. **Results in Physics** 23. 2021.
- [72] V. Lakshmi Savithri Vatsalya, G. Sunita Sundari, Ch.S.L.N. Sridhar, Ch. S. Lakshmi. *Evidence of Superparamagnetism in nano phased copper doped nickel zinc ferrites synthesized by Hydrothermal Method*. **Optik-International Journal for Light and Electron Optics** 247. 2021.
- [73] J. Balavijayalakshmi, N. Suriyanarayanan, R. Jayaprakash. *Role of copper on structural, magnetic and dielectric properties of nickel ferrite nano particles*. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**. 2015.
- [74] Andrei Ivanets, Vladimir Prozorovich, Marina Roshchina, Tatyana Kouznetsova, Nikolai Budeiko, Lyudmila Kulbitskaya, Ahmad Hosseini-Bandegharai, Vhahangwele Masindi, Vladimir Pankov. *A comparative study on the synthesis of magnesium ferrite for the adsorption of metal ions: Insights into the essential role of crystallite size and surface hydroxyl groups*. **Chemical Engineering Journal** 411. 2021.