

UNIVERSIDAD DE SONORA

División de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física

Posgrado en Nanotecnología

The seal of the University of Sonora is a large, circular emblem in the background. It features a central shield with a book, a lamp, and a sun. Above the shield is an owl. The shield is surrounded by a circular border with the text 'UNIVERSIDAD DE SONORA' and the year '1942' at the bottom. The seal is semi-transparent, allowing the text to be visible over it.

Tesis
Encapsulamiento de Nanopartículas de Óxido de Hierro Tipo Núcleo / Coraza en Quitosana como Posible Agente Teranóstico

Que para obtener el grado de:
Maestría en Nanotecnología

Presenta:

Ing. Perla Yazmín Saucedá Oloño

Teniendo como Director a:

Dr. Paul Zavala Rivera

Hermosillo, Sonora

Diciembre 2017

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

VOTOS APROBATORIOS

DR. MARIO ENRIQUE ÁLVAREZ RAMOS

Coordinador de Posgrado en Nanotecnología

Por medio de la presente nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis de Maestría: **“Encapsulamiento de Nanopartículas de Óxido de Hierro Tipo Núcleo / Coraza en Quitosana como Posible Agente Teranóstico”**, presentada por:

PERLA YAZMÍN SAUCEDA OLOÑO

La han revisado y cada uno de los integrantes da su VOTO APROBATORIO ya que cumple con los requisitos para la obtención del Título de Maestría en Nanotecnología:

Fecha

DR. PAUL ZAVALA RIVERA

Fecha

DR. JESUS ARMANDO LUCERO ACUÑA

Fecha

DR. EDUARDO ORTIZ RASCON

Fecha

DR. JOSUE ELIAS JUAREZ ONOFRE

Fecha

DR. AARÓN ROSAS DURAZO

AGRADECIMIENTOS

A mis compañeros y maestros, de ustedes he aprendido a crecer como persona, y lo más importante, aprendí que siempre puedes contar con aquellos que menos esperas. Gracias por compartir su tiempo, consejos y experiencias conmigo.

A mis hermanas Esmeralda y Rubí, a mis amigas y amigos, que son los principales partícipes en la historia de mi vida. Gracias a ustedes he logrado salir adelante, gracias por escucharme y estar ahí cuando más lo he necesitado.

A mis padres, gracias por todo su esfuerzo para ayudarme a concluir mis estudios de posgrado, una vida no basta para agradecer todo lo que han hecho por mí.

Al Dr. Mario Enrique Álvarez Ramos, por darme la oportunidad de continuar mis estudios profesionales, y a todos los docentes, técnicos y empleados del posgrado en nanotecnología, por su apoyo y ayuda.

A mi amigo, Jesús Pacheco, por impulsarme a seguir superándome día con día, por siempre creer en mí y por su ayuda incondicional. Gracias de todo corazón por todo lo que has hecho por mí.

A mi director de tesis, Dr. Paul Zavala Rivera, gracias por su paciencia infinita, por todo su apoyo y su tiempo. Gracias por no perder la fe en mí, y por siempre encontrar la manera de explicarme hasta los conceptos más difíciles. Con especial cariño.

Gracias.

DEDICATORIA

“El científico no tiene por objeto un resultado inmediato.

Él no espera que sus ideas avanzadas sean fácilmente aceptadas. Su deber es sentar las bases para aquellos que están por venir y señalar el camino.” – Nikola Tesla.

A mis padres, Pilar y Alfredo.

Su apoyo – y los problemas mentales que me dieron – hicieron que todo esto fuera posible.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA.....	iii
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS.....	ix
RESUMEN	x
1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Objetivo general	3
1.3 Objetivos específicos	3
2 MARCO TEÓRICO	5
2.1 Nanopartículas	5
2.1.1 Métodos de síntesis.....	5
2.1.2 Óxidos de hierro	8
2.2 Fundamentos de autoensamblaje y autoorganización	19
2.2.1 Surfactantes.....	21
2.2.2 Vesículas	24
2.2.3 Micelas	25
2.3 Nanocápsulas	26
2.3.1 Encapsulación	28
2.3.2 Interacción coloidal	29
2.3.3 Aplicaciones.....	31
2.4 Nanomedicina	32
2.4.1 Biomaterial.....	33
2.5 Caracterización	37
2.5.1 Dispersión dinámica de luz (DLS).....	37
2.5.2 Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z).....	39
2.5.3 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	40
2.5.4 Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM).....	42
2.5.5 Espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS).....	43
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	46

3.1	Materiales (materiales no purificados).....	46
3.2	Métodos	46
3.2.1	Síntesis de nanopartículas	46
3.2.2	Nanopartículas y ácido oleico	47
3.2.3	Síntesis de nanoemulsión.....	47
3.2.4	Síntesis de nanocápsulas	48
3.3	Técnicas de caracterización	48
3.3.1	Dispersión dinámica de luz (DLS).....	48
3.3.2	Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z).....	49
3.3.3	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	49
3.3.4	Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM).....	49
3.3.5	Espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS).....	50
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1	Nanopartículas	51
4.1.1	Dispersión dinámica de luz (DLS).....	51
4.1.2	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	52
4.1.3	Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	53
4.2	Nanoemulsión	54
4.2.1	Dispersión dinámica de luz (DLS).....	54
4.2.2	Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z).....	56
4.2.3	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	58
4.3	Nanocápsulas	61
4.3.1	Dispersión dinámica de luz (DLS).....	61
4.3.2	Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z).....	62
4.3.3	Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM).....	62
4.3.4	Espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS).....	65
4.3.5	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	66
4.4	Conclusiones.....	69
4.5	Recomendaciones.....	70
	REFERENCIAS.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Esquema del proceso de sonicación en el ultrasonido [46].	8
Figura 2.2. Investigación multidisciplinaria de los óxidos de hierro [51].	9
Figura 2.3. Estructura cristalina de la magnetita [52].	10
Figura 2.4. Curva de histéresis.	14
Figura 2.5. Curva de histéresis para materiales diamagnéticos.	14
Figura 2.6. Curva de histéresis para materiales paramagnéticos.	15
Figura 2.7. Curva de histéresis para materiales ferromagnéticos a) blandos y b) duros.	16
Figura 2.8. Curva de histéresis para materiales superparamagnéticos.	17
Figura 2.9. Nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.	19
Figura 2.10. Representación esquemática del proceso de autoensamblaje con formación de un agregado mayor.	20
Figura 2.11. Surfactante aniónico.	21
Figura 2.12. Surfactante catiónico.	22
Figura 2.13. Surfactante no-iónico.	22
Figura 2.14. Surfactante anfótero.	23
Figura 2.15. Micela y grupos que conforman al surfactante.	23
Figura 2.16. Estructura de una vesícula.	24
Figura 2.17. Estructura de una micela.	25
Figura 2.18. Formación de una emulsión. (a) Dos líquidos inmiscibles formando una separación de fases, (b) La agregación de un surfactante rompe la tensión superficial, (c) Se forman pequeñas gotas cubiertas de surfactante, (d) Finalmente se tiene una sola fase dispersa.	26

Figura 2.19. Estructura de una nanocápsula.....	27
Figura 2.20. Procedimiento general para los distintos métodos de preparación de nanocápsulas [24].	29
Figura 2.21. Interacciones entre nanopartículas [89]. a) Fuerzas tradicionales para la fabricación coloidal y otras interacciones importantes. b) VDW y las fuerzas de reducción son atractivas, mientras que las fuerzas electrostáticas son repulsivas en una escala de longitud típica.	31
Figura 2.22. Estructura del AO.	34
Figura 2.23. Estructura del SDS.....	35
Figura 2.24. Estructura de la quitina (a) y de la quitosana (b).	36
Figura 2.25. Esquema básico del funcionamiento de un dispersor de luz dinámica.	38
Figura 2.26. Visualización de la doble capa [106].	39
Figura 2.27. Diagrama simplificado de un espectrómetro por transformada de Fourier [109].	41
Figura 2.28. Esquema de la metodología para imagen mediante SEM, TEM y STEM. (a) Colección en serie de puntos de datos en SEM. (b) Adquisición de imágenes en paralelo en TEM. (C) Colección en serie de electrones transmitidos en STEM [110].	43
Figura 2.29. Mecanismo de trabajo de la espectroscopía de energía dispersiva. .	44
Figura 4.1. DLS de nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.	51
Figura 4.2. Comparación de espectros FT-IR para nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.	53
Figura 4.3. Nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.....	54
Figura 4.4. Tamaños de nanoemulsiones a diferentes concentraciones de SDS.	55
Figura 4.5. Comparativa de tamaños de nanoemulsiones.	56
Figura 4.6. Cargas de nanoemulsiones a diferentes concentraciones.	57

Figura 4.7. Comparativa de cargas en nanoemulsiones.	57
Figura 4.8. Espectro de FT-IR de nanoemulsión sin nanopartículas.....	59
Figura 4.9. Espectro de FT-IR de nanoemulsión con nanopartículas.....	60
Figura 4.10. Comparativa de tamaños de nanocápsulas.	61
Figura 4.11. Comparativa de cargas de nanocápsulas.	62
Figura 4.12. Micrografía de nanocápsulas sin nanopartículas.	63
Figura 4.13. Micrografía de nanocápsulas con nanopartículas.	64
Figura 4.14. Micrografía de nanocápsulas con nanopartículas tipo núcleo/coraza.	65
Figura 4.15. Espectro EDS para nanocápsulas con nanopartículas.	66
Figura 4.16. Espectro de FT-IR de nanocápsulas de SDS.....	67
Figura 4.17. Espectro de FT-IR de nanocápsulas con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.	68

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Propiedades de los óxidos de hierro [51].	12
Tabla 2.2. Aplicaciones de las nanocápsulas.....	32
Tabla 4.1. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanopartículas de óxido de hierro y sus precursores.	53
Tabla 4.2. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanoemulsiones y sus precursores.	59
Tabla 4.3. . Asignación de espectroscopía FT-IR de nanoemulsiones con nanopartículas y sus precursores.....	60
Tabla 4.4. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanocápsulas y sus precursores.	67
Tabla 4.5. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanocápsulas con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza y sus precursores.	68

RESUMEN

En este trabajo se desarrolla un protocolo para la síntesis de nanopartículas tipo núcleo/coraza de $\text{Fe}_3\text{C}/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ encapsuladas en sistemas micelares de dodecilsulfato de sodio (SDS) con núcleo hidrofóbico de ácido oleico (AO) estabilizadas con quitosana (Q). Las nanopartículas se sintetizaron utilizando como precursor el pentacarbonilo de hierro ($\text{Fe}(\text{CO})_5$) y estabilizando las partículas (OA) para su uso en nanoemulsiones usando la técnica de sonosíntesis. Las nanopartículas obtenidas y purificadas por centrifugación a 7500xg, resultaron en partículas con un diámetro hidrodinámico de 19.71 nm y un índice de polidispersidad de 0.134, las cuales fueron utilizadas en la fase orgánica del proceso de síntesis de las nanoemulsiones, en el cual se varió la cantidad de surfactante SDS, dando como resultado óptimo el uso de una concentración final de 7 mM, con lo que se obtuvieron nanoemulsiones con un diámetro hidrodinámico de 223.6 nm y un índice de polidispersidad de 0.216; así mismo, se realizaron nanoemulsiones sin nanopartículas, esto con el fin de realizar una comparativa en cuanto a tamaños y cargas de las muestras, obteniendo para el caso de nanoemulsiones sin nanopartículas un diámetro hidrodinámico de 229.9 nm y un índice de polidispersidad de 0.146, ambos casos con un potencial zeta de -41.5 mV, esto debido a la carga negativa natural del surfactante utilizado. Una vez obtenidas las nanoemulsiones, se procedió a realizar el recubrimiento de las mismas mediante sonicación, con una disolución de Q de bajo peso molecular en ácido acético al 2%, obteniendo en el caso de las nanoemulsiones con nanopartículas un diámetro hidrodinámico de 185.3 nm y un índice de polidispersidad de 0.150, mientras que para las nanoemulsiones sin nanopartículas se obtuvo un diámetro hidrodinámico de 225.3 nm y un índice de polidispersidad de 0.222, con una carga de 36.7 mV y 36.2 mV respectivamente, confirmándose el encapsulamiento con Q, debido a que la quitosana tiene una carga positiva. Usando microscopía electrónica de barrido y transmisión, se encontró una morfología esférica, y el posible encapsulamiento de las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza. Los resultados de la técnica de dispersión de rayos-X (EDS) mostraron la presencia de los elementos de

interés. La técnica de espectroscopía infrarroja (FT-IR) nos mostró los cambios químicos durante las diferentes etapas de síntesis y encapsulamiento, mostrando la modificación de la superficie de las nanopartículas con AO y su nanoencapsulamiento con Q. Basándose en las características de las nanocápsulas obtenidas, éstas demuestran que sus propiedades químicas y físicas podrían ser usadas para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades, es decir, como un agente teranóstico.

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1 Introducción

Los avances en la ciencia siempre han sido una fuerza impulsora en tecnología de dispositivos médicos, y la aparición de la nanotecnología en los últimos años ha tenido una fuerte influencia en la mejora de dispositivos médicos. La nanotecnología es el término utilizado para cubrir el diseño [1], la construcción [2] y el uso de las estructuras funcionales [3] con al menos una dimensión característica que se mide en nanómetros (de 1 a 100 nanómetros) [4]. Esto se deriva del hecho de que, al cambiar el tamaño de los materiales comúnmente conocidos, surgen nuevas propiedades que se pueden utilizar en muchas áreas de las tecnologías actuales, como por ejemplo medicina [5], electrónica [6], celdas solares [7], combustibles [8], entre otros [9].

La nanotecnología se puede llamar una tecnología de "habilitación". Es un campo altamente interdisciplinario que implica químicos, físicos, biólogos, ingenieros y médicos por nombrar sólo unos pocos [10]. En los últimos años, la interacción de diferentes campos como son la medicina y la nanotecnología han producido una amplia gama de técnicas y materiales con cualidades compatibles para la aplicación controlada en la liberación de fármacos.

Recientemente, se ha incrementado la búsqueda de aplicaciones biomédicas de las nanopartículas en la terapia enfocada al cáncer. Algunas aplicaciones que se pueden mencionar son como agentes de contraste para la detección oportuna de la enfermedad [3] y/o el uso de las mismas como agente de transporte de moléculas con actividad biológica o agente terapéutico [11].

Las aplicaciones de nanopartículas de óxido de hierro se han investigado ampliamente, como por ejemplo las nanopartículas de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), que son utilizadas en biomedicina [12], debido a que son biocompatibles y no tóxicas para los humanos [13], mientras que su magnetismo permite la manipulación a distancia con campos magnéticos externos [14]. Algunos de sus usos potenciales son electrofotografía, hipertermia enfocada para la eliminación de células

cancerígenas, imágenes de resonancia magnética para el diagnóstico clínico, entre otros [15], [16].

Las nanopartículas magnéticas, debido a su tamaño, presentan un comportamiento superparamagnético [17], es decir, requieren de un campo magnético para lograr su ordenamiento por debajo de la temperatura crítica y éste desaparece en ausencia del campo magnético antes mencionado [16].

Las nanopartículas magnéticas con recubrimientos superficiales son cada vez más utilizadas clínicamente para diversas aplicaciones biomédicas, tales como resonancia magnética [18], termoterapia [19], administración de fármacos [5], reparación de tejidos [20], células [21], así como tejido diana y transfección genética [3], esto debido a su biocompatibilidad y buena respuesta a campos magnéticos.

Los sistemas nanoencapsulados han atraído un gran interés en los últimos años debido a la facilidad en su síntesis y las cualidades intrínsecas como medio para atrapar y liberar agentes terapéuticos a través de su membrana [22]. Las nanocápsulas pueden servir como portadores de fármacos u otras sustancias para lograr la liberación controlada de éstos por medio de la selección adecuada de los materiales y tamaño que la conforman, propiedades que se ven potenciadas por su estabilidad física y química.

Las nanocápsulas son materiales nanoestructurados, están compuestas por un núcleo, normalmente sólido o líquido y una capa protectora que envuelve a éste, la cual es por lo regular una membrana polimérica no tóxica (ej. la quitosana), que hace posible la deposición de fármacos [22]. Debido a su tamaño, las nanocápsulas pueden ser utilizadas para la liberación controlada y la concentración de medicamentos contra la protección de enzimas, proteínas y células extrañas, además de tener un gran número de aplicaciones, ya sean farmacéuticas [23], bioquímicas [5], eléctricas [24], cuidado personal [25], agricultura [22], etcétera.

Cuando un medicamento es colocado dentro del hueco de las nanocápsulas, el fármaco podría ser entregado directamente en el sitio que es requerido, mediante el efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR), el cual es un mecanismo de difusión pasiva que se encuentra en situaciones como el cáncer, en el que debido al crecimiento de las células se aumenta el flujo sanguíneo en la región de

crecimiento tumoral; y en una dosis mucho menor, lo que reduce significativamente cualquier efecto secundario que se pudiera presentar y controla estrictamente el área de curación [26], [27].

La preparación de las nanocápsulas involucra la fase orgánica (solvente, polímero, aceite y fármaco) y la fase acuosa (agua y surfactante) [22], [25]. Una vez completas, éstas pueden funcionalizarse en sus superficies, para proporcionar conexiones para anticuerpos u otros tipos de moléculas para aumentar su efectividad biológica.

El trabajo propuesto en esta investigación está enfocado a la preparación de nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza preparadas por sonosíntesis, utilizando como precursor el pentacarbonilo de hierro con la técnica de sonólisis. Una vez sintetizadas estas nanopartículas magnéticas se pretende encapsular las mismas, utilizando la técnica de nanoprecipitación, esto con el fin de obtener una nanocápsula que pueda ser recubierta con quitosana para utilizarse en aplicaciones teranósticas.

1.2 Objetivo general

Desarrollar un protocolo general para la preparación de nanopartículas encapsuladas recubiertas con quitosana.

1.3 Objetivos específicos

- Preparar nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza de diámetro aproximado de 20 nm.
- Preparar nanoemulsiones de SDS, utilizando las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza suspendidas en AO.
- Recubrir la nanoemulsión con quitosana.
- Realizar pruebas de hidratación a las nanocápsulas recubiertas.
- Caracterizar físicamente las nanocápsulas usando técnicas como dispersión de luz dinámica, potencial Z, SEM y TEM.

- Caracterizar las nanocápsulas químicamente usando técnicas como FT-IR, y EDS.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Nanopartículas

Las nanopartículas se definen como partículas con tamaños que van de uno a 100 nanómetros (nm) en al menos una de sus tres dimensiones. Debido a tan pequeña escala, las nanopartículas poseen una inmensa área por unidad de volumen, una gran proporción de átomos en la superficie [7], la habilidad de exhibir efectos cuánticos [28], diversidad química (metales, óxidos, semiconductores, etc.) [29], diversidad morfológica (esferas, cilindros, discos, tubos, etc.) [30]. Debido a las características únicas antes descritas (entre otras), las propiedades de las nanopartículas no pueden ser anticipadas de una simple extrapolación de propiedades de conglomerados de materiales, generalmente las características de una nanopartícula de cierto elemento no pueden ser derivadas o descritas a partir de una muestra de ese mismo elemento.

Las nanopartículas pueden ser generadas utilizando distintos enfoques de síntesis, incluyendo aquellos basados en fase gaseosa, líquida, o sólida. Una vez sintetizadas, las superficies de las nanopartículas deben ser modificadas (en la mayoría de los casos), para pasivarlas y estabilizarlas ya que su nanoescala las hace muy reactivas químicamente y/o físicamente agregativas.

2.1.1 Métodos de síntesis

A continuación, se describen los principales métodos de síntesis y el método a utilizar en este trabajo.

2.1.1.1 Síntesis clásica: Coprecipitación.

La técnica de coprecipitación es probablemente la más simple y efectiva para obtener partículas magnéticas. Los óxidos de hierro (Fe_3O_4 y $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) son usualmente preparados por una mezcla estequiométrica de envejecimiento de sales

ferrosas y férricas en medio acuoso, así como otros compuestos que ayudan en el control de estructura, tamaño y forma de las nanopartículas [19].

La magnetita (Fe_3O_4) es un material poco estable, proclive a oxidarse y transformarse en maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) en la presencia de oxígeno [19].

La principal ventaja que presenta este método es que se puede sintetizar una gran cantidad de nanopartículas. Sin embargo, se tiene un limitado control en la distribución de tamaños, porque sólo los factores cinéticos están controlando el crecimiento del cristal [31].

2.1.1.2 Hidrotermal y reacciones a altas temperaturas.

La síntesis hidrotermal de las nanopartículas de Fe_3O_4 se lleva a cabo en un medio acuoso en reactores o autoclaves donde la presión puede alcanzar más de los 2000psi y una temperatura por encima de los 200°C [19].

Existen dos rutas para la formación de ferritas mediante este método: hidrólisis y oxidación, o bien, neutralización de hidróxidos metálicos mixtos. Estas dos reacciones son similares a excepción de que se utilizan sales ferrosas en el primer método [32].

Cabe mencionar que en este método se observa que el tamaño de partícula Fe_3O_4 se incrementa conforme se incrementa el tiempo de reacción y que un mayor contenido de agua da como resultado la precipitación de partículas más grandes de Fe_3O_4 [33].

En el proceso hidrotermal, el tamaño de partícula es controlado por los procesos de nucleación y crecimiento de grano [34]. La nucleación puede ser más rápida que el crecimiento de grano a temperaturas muy altas y resulta en una disminución en el tamaño de partícula. Por otra parte, el tiempo de reacción prolongado favorecería el crecimiento de grano [33].

Las nanopartículas con un alto nivel de monodispersidad y control de tamaño pueden ser obtenidas por descomposición a altas temperaturas de precursores orgánicos de hierro, tales como pentacarbonilo de hierro ($\text{Fe}(\text{CO})_5$) o acetilacetato de hierro ($\text{Fe}(\text{acac})_3$), usando solventes orgánicos y surfactantes. Por ejemplo, el

oleato de hierro puede formarse a partir de la descomposición de carbonilo de hierro en presencia de octil éter y AO a 100°C [35].

En el trabajo realizado por Hyeon et al.[35], se obtuvo material altamente cristalino y cristales monodispersos de maghemita obtenidos a 100°C por descomposición térmica de pentacarbonilo de hierro en presencia de AO, para luego envejecer a 300°C el complejo de hierro oleico. Obteniendo así un tamaño de partícula entre 4 a 16 nm.

El tamaño y morfología de las nanopartículas puede ser controlado por los tiempos y temperaturas de reacción, pero también por los rangos y concentraciones de los reactantes, naturaleza del solvente, precursores, fuerza complejante y la adición de semillas [19]. Así mismo, partículas de magnetita hidrofóbica con un tamaño monodisperso han sido preparadas por descomposición termal de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ en octil éter con una disolución de AO, consecutivo a una aireación [36].

La descomposición termal de hierro pentacarbonilo y oleato de hierro a diferentes temperaturas ofrecen nanopartículas monodispersas en un rango de 4 a 11 nm, dispersables en solventes orgánicos (hexano y tolueno) pero no en agua, ya que se requeriría de métodos pos-preparativos para hacer estos nanocristales solubles en agua [37].

2.1.1.3 Sonólisis

Un punto caliente de muy alta temperatura generada por el rápido colapso de cavitaciones, formadas sónicamente, permite la conversión de sales ferrosas en nanopartículas magnéticas. La sonólisis de una disolución de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ en presencia de dodecil sulfato conduce a la formación de un hidrosol estable de nanopartículas amorfas de Fe_3O_4 [38]. En la Figura 2.1 se presenta el esquema del proceso de sonicación, y equipo a utilizar en este trabajo.

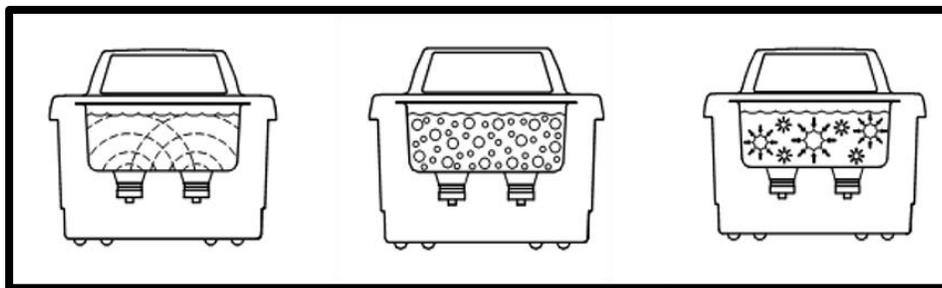


Figura 2.1. Esquema del proceso de sonicación en el ultrasonido [39].

Nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas con una alta magnetización y cristalinidad han sido sintetizadas utilizando el método sonoquímico. Fluidos ferrosos de estas nanopartículas, cubiertas con AO como surfactante, han sido preparados por este método [19].

El método descrito anteriormente, está propuesto como la técnica de síntesis planificada para la elaboración de las nanopartículas de magnetita recubiertas de AO como estabilizante para ser usado continuamente a lo largo de esta investigación.

La ventaja de utilizar este método es el hecho de que se utiliza un equipo de baja potencia, como baño ultrasónico, que se puede encontrar en cualquier laboratorio, ya que en la literatura solamente se utilizan equipos de alta potencia [39]–[41].

2.1.2 Óxidos de hierro

Los óxidos de hierro son compuestos de hierro y oxígeno que se encuentran dispersos en la naturaleza y son fácilmente sintetizados en el laboratorio. Por ejemplo, el hierro comúnmente es almacenado en la proteína ferritina ($[\text{FeOOH}]_n$ que contiene nanopartículas magnéticas), la cual está presente en las células de plantas y animales, incluyendo a seres humanos. Cabe destacar que el cerebro humano contiene más de 10^8 nanopartículas magnéticas de magnetita-maghemita por gramo de tejido [42].

Existen siete tipos de óxidos [43]:

- Óxido de hierro II, wüstita (FeO)

- Óxido de hierro II, III, magnetita (Fe_3O_4)
- Óxido de hierro III (Fe_2O_3)
 - Hematita, fase alfa ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
 - Fase beta ($\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
 - Maghemita, fase gamma ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
 - Fase épsilon ($\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

Por la variedad de óxidos de hierro es que se tiene un gran interés en diferentes disciplinas, como se muestra en la Figura 2.2.



Figura 2.2. Investigación multidisciplinaria de los óxidos de hierro [44].

La hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) es el mineral con mayor tiempo de conocerse y se encuentra disperso en rocas y suelos de un color rojo-sangre. La fase cristalina de la hematita es termodinámicamente estable y el último miembro de las transformaciones de óxido de hierro [43].

La magnetita (Fe_3O_4) es un material ferrimagnético de color negro que contiene Fe^{+3} y Fe^{+2} . Posee una estructura cúbica de espinela inversa, es decir, los átomos de oxígeno (esferas verdes) forman parte de una celdilla unidad cúbica centrada en las caras (fcc) y los cationes de Fe ocupan los huecos intersticiales. Los huecos tetraédricos (esferas rojas) están ocupados por los iones de Fe^{3+} , mientras que los octaédricos (esferas amarillas) están ocupados por los iones de Fe^{2+} y Fe^{3+} por igual [45], como se muestra en la Figura 2.3. En cuanto a los puntos de fusión y ebullición se observan a temperaturas de 1590°C y 2623°C , respectivamente [46].

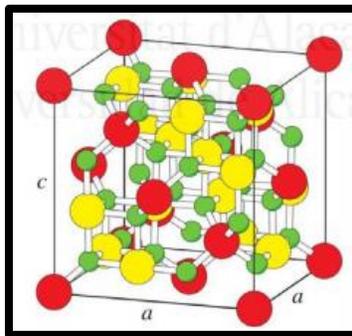


Figura 2.3. Estructura cristalina de la magnetita [45].

Las nanopartículas de magnetita presentan superparamagnetismo ya que debido a su tamaño no presentan un momento magnético permanente, evitando así que se formen agregados. El superparamagnetismo se produce cuando la energía térmica puede superar las fuerzas de unión magnéticas, provocando que los momentos magnéticos atómicos fluctúen al azar. Cuando se aplica un campo magnético externo, las partículas superparamagnéticas adquieren cierta magnetización, pero debido a la elevada energía térmica de éstas, la magnetización se pierde cuando el campo magnético es retirado. Es por ello que la magnetita puede ser fácilmente separada del resto de los componentes de una reacción, o bien confinarse mediante la aplicación de un campo magnético externo [45].

Es usualmente considerado que la historia del magnetismo comienza con la magnetita (Fe_3O_4), el primer material magnético conocido por el hombre. Mientras que, la oxidación de la magnetita, la cual ocurre a muy bajas temperaturas ($>50^\circ\text{C}$),

resulta en maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Ambos son materiales muy similares en estructura (tipo espinela) y en propiedades magnéticas, lo que hace difícil diferenciarlos, pero difieren significativamente en características ópticas y eléctricas [14]. La principal ventaja de la maghemita sobre la magnetita es su estabilidad química. La maghemita es de color rojo-café y es un mineral ferrimagnético y superparamagnético cuando la partícula está por debajo de los 10 nm, al igual que la magnetita, pero con vacancias catiónicas [19].

La versatilidad de la maghemita está basada en la posibilidad de obtener este material como partículas de diferentes morfologías, desde esferas hasta elipsoides, con un amplio rango de tamaños, entre 2 y 1000 nm, lo cual depende del método de síntesis. Finalmente, la maghemita se puede utilizar en muchas aplicaciones, que dependen de la forma y tamaño de las partículas, incluyendo almacenamiento de información, refrigeración magnética, ferrofluidos, sensores magnéticos, etc., haciéndola uno de los materiales más fascinantes [47]–[50]. Inicialmente, su uso estaba limitado a cintas de audio, en la forma de partículas aciculares de ~1000 nm para aumentar la coercitividad [47]. Después, tomando ventaja del cambio de comportamiento ferrimagnético a superparamagnético (esto cuando las partículas son menores a 10 nm), la maghemita ha sido ampliamente usada en la preparación de fluidos magnéticos y compósitos [48]–[51]. Por lo tanto, muchos ferrofluidos son creados de suspensiones de pequeñas partículas de maghemita (<10 nm) cubiertas con AO o dextran para prevenir su aglomeración [48].

Aparte de sus aplicaciones basadas en sus propiedades magnéticas, la maghemita también es un sólido bastante interesante desde el punto de vista de cristalografía, debido a que contiene vacancias de cationes dentro de la estructura, lo que puede ser distribuido con diferentes grados de ordenamiento, afectando sus propiedades estructurales y magnéticas. La maghemita es también un sólido de gran interés científico y es usualmente utilizado como modelo para la comprensión de las propiedades magnéticas de las partículas ferrimagnéticas [14].

En la Tabla 2.1 se muestra un resumen de las propiedades más relevantes de los óxidos de hierro.

Tabla 2.1. Propiedades de los óxidos de hierro [44].

Nombre	Hematita	Magnetita	Maghemita	Wüstita
Tipo de Celda	Hexagonal (Romboédrica)	Cúbica	Cúbica o tetragonal	Cúbica
Dimensiones de celda (nm)	a = 0.50356 c = 1.37489	a = 0.8396	a = 0.83474	a = 0.4302 ó 0.4275
Núm. De átomos por celda (Z)	6	8	8 / 24	4
Densidad (g/cm ³)	5.26	5.18	4.87	5.9 ó 5.99
Color	Rojo	Negro	Rojo-café	Negro
Tipo de magnetismo	Débilmente ferromagnético o antiferromagnético	Ferrimagnético	Ferrimagnético	Antiferromagnético

Al trabajar con óxido de hierro es muy importante controlar un tamaño monodisperso, ya que las propiedades de un nanocrystal dependen fuertemente de las dimensiones de la nanopartícula, en particular las propiedades fotónicas, bioquímicas, eléctricas y magnéticas [31].

Las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas con una apropiada superficie química pueden ser utilizadas en diferentes aplicaciones in vivo, tales como agente de contraste en resonancia magnética, reparación de tejido, inmunoensayo, desintoxicación de fluidos biológicos, hipertermia, administración de fármacos y separación celular [52]. Dichas aplicaciones biomédicas requieren de nanopartículas con altos valores de magnetización, un tamaño menor a 100 nm y una distribución de tamaño de partícula estrecha. Estas aplicaciones necesitan una partícula magnética con un revestimiento superficial peculiar, debido a que deben ser no tóxicas, biocompatibles y que también les permita ser dirigidas a un área específica [19].

La funcionalización de la superficie de las nanopartículas es un desafío, así como la síntesis de nanopartículas capaces de circular durante un tiempo por el torrente sanguíneo y tener ligandos aptos para facilitar su internalización específica en células tumorales [53].

2.1.2.1 Propiedades magnéticas

Todos los materiales están formados por átomos; los átomos contienen electrones que giran alrededor del núcleo igual que un ciclo portador de corriente que genera un campo magnético, es decir, todo material responde a un campo magnético. Un material muy magnético o poco magnético es determinado por la escala con la cual se presenta la respuesta de electrones y átomos [54].

En general hay dos tipos principales de materiales magnéticos: materiales magnéticos blandos y magnéticos duros. Los blandos se utilizan en aplicaciones en las cuales el material debe imantarse y desimantarse fácilmente. Por otra parte, los materiales magnéticos duros se utilizan para aplicaciones que requieran materiales que no se desimanten con facilidad [54].

Dentro de las características que presentan algunos materiales magnéticos se encuentra la histéresis magnética: cuando un material ferromagnético, sobre el cual ha estado actuando un campo magnético, cesa la aplicación de éste, el material no anula completamente su magnetismo, sino que permanece un cierto magnetismo residual. Para desimantarlo será precisa la aplicación de un campo contrario al inicial. La curva o ciclo de histéresis es una gráfica que nos indica los cambios que sufre la densidad del flujo magnético en un cuerpo, cuando éste se encuentra bajo la influencia de un magnetismo imantador en sentido tanto positivo como negativo [55]. El aspecto típico de esta curva se muestra en la Figura 2.4.

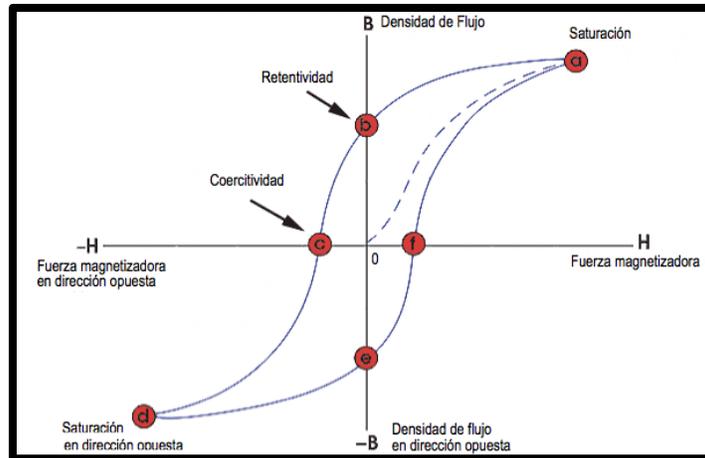


Figura 2.4. Curva de histéresis.

A su vez, también se clasifican los materiales magnéticos en seis tipos: 1) diamagnéticos, 2) paramagnéticos, 3) ferromagnéticos, 4) antiferromagnéticos, 5) ferrimagnéticos, y 6) superparamagnéticos [54]. A continuación, se describirá brevemente cada tipo de material magnético.

- 1) Diamagnetismo: Materiales en los que sus átomos no tienen momento magnético resultante, debido a esto no pueden interactuar magnéticamente con otros materiales. Sus dipolos se oponen al campo magnético, haciendo que la magnetización sea menor que cero. La dirección de la \mathbf{M} es opuesta a la dirección del campo aplicado, \mathbf{H} [54], [56]. En la Figura 2.5 se puede observar su prueba de susceptibilidad magnética.

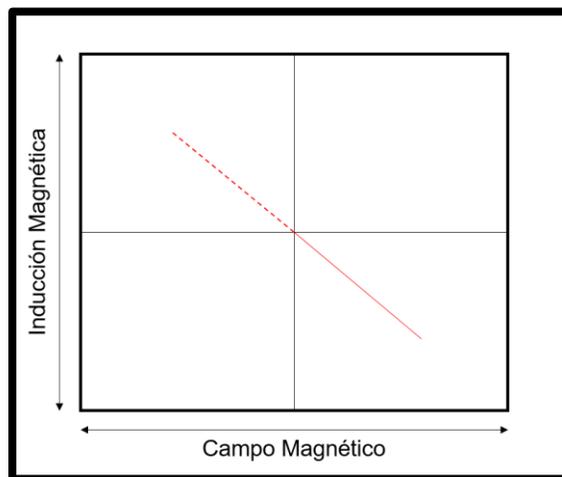


Figura 2.5. Prueba de susceptibilidad magnética para materiales diamagnéticos.

- 2) Paramagnetismo: Materiales en los cuales los átomos si tienen momento magnético. Sin embargo, en ausencia de un campo magnético externo los espines individuales apuntan en direcciones diversas, de manera que sus contribuciones individuales se anulan, y como consecuencia, no se observa un campo magnético resultante. Se requiere de campos magnéticos extremadamente grandes para alinear todos los dipolos [54], [56]. Su susceptibilidad magnética se observa en la Figura 2.6.

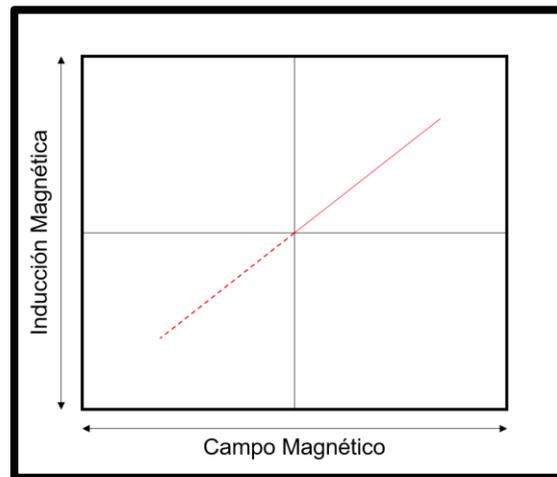


Figura 2.6. Prueba de susceptibilidad magnética para materiales paramagnéticos.

- 3) Ferromagnetismo: Presenta el fenómeno físico en el que se produce un ordenamiento magnético de todos los momentos magnéticos de una muestra, en la misma dirección y sentido. En la Figura 2.7 se observa su curva de histéresis para materiales ferromagnéticos (b).

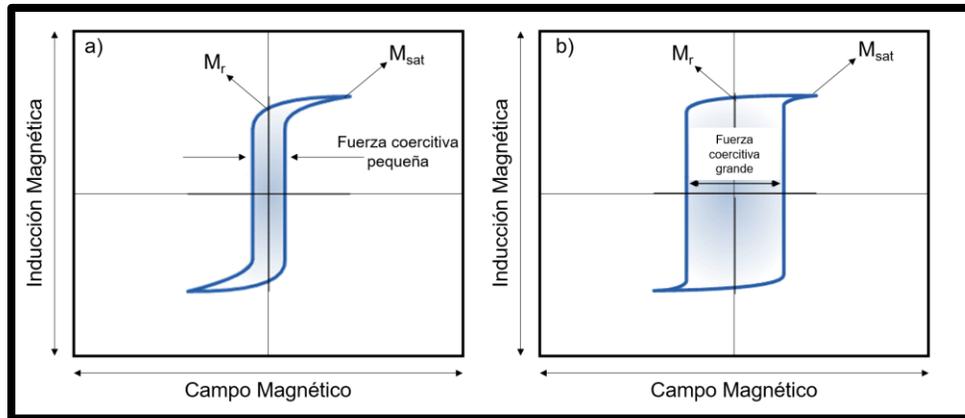


Figura 2.7. Curva de histéresis para materiales ferromagnéticos a) blandos y b) duros.

- 4) Antiferromagnetismo: En este tipo de materiales, los momentos magnéticos producidos en dipolos vecinos se alinean oponiéndose unos a los otros, aun cuando la intensidad de cada dipolo sea muy elevada, por lo cual tienen una magnetización igual a cero [54], [56]. Estos materiales no presentan una curva de histéresis.
- 5) Ferrimagnetismo: Los materiales ferrimagnéticos son similares a los antiferromagnéticos, salvo que las especies de átomos alternados son diferentes (por ejemplo, por la existencia de dos subredes cristalinas entrelazadas) y tienen momentos magnéticos diferentes. Existe entonces una magnetización neta, que puede ser en algunos casos muy intensa [54], [56].
- 6) Superparamagnetismo: Cuando el tamaño del grano de los materiales ferromagnéticos y de los ferrimagnéticos disminuye por debajo de un cierto tamaño, estos materiales se comportan como si fueran paramagnéticos. La energía del dipolo magnético de cada partícula se vuelve comparable a la energía térmica, este pequeño momento magnético cambia su dirección de manera aleatoria (como resultado de la energía térmica). Es por eso que el material se comporta como si no tuviera un momento magnético neto [54]. En la Figura 2.8 se observa el comportamiento de su curva de histéresis.

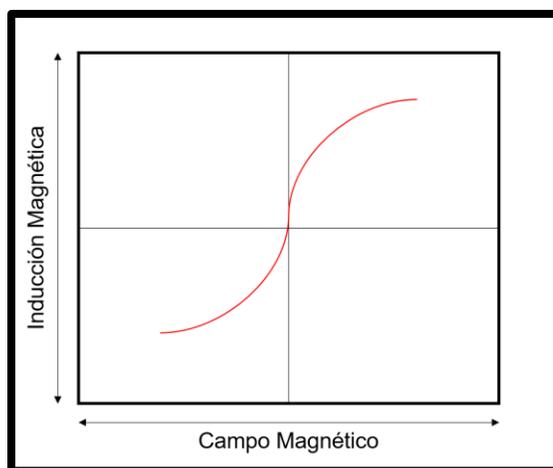


Figura 2.8. Curva de histéresis para materiales superparamagnéticos.

Los efectos de tamaño cuántico y la gran superficie de área de las nanopartículas de óxido de hierro cambian completamente sus propiedades magnéticas, exhibiendo así este tipo de magnetismo.

2.1.2.2 Propiedades biológicas de las nanopartículas de óxido de hierro

El uso de las nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro ha cobrado auge en los últimos años, ya sea como agentes de contraste directo (*in vivo*), para monitorear moléculas específicas (*in vitro* e *in vivo*), o para etiquetar células *ex vivo* y rastrearlas *in vivo* [57].

Las nanopartículas de hierro son ampliamente aplicadas como agentes de contraste en resonancias magnéticas, como vehículos para administración localizada de fármacos, así como en tratamientos basados en hipertermia magnética [57]. Sin embargo, para evitar daños a la salud, estas aplicaciones requieren cierto comportamiento superparamagnético y propiedades biológicas a temperatura ambiente. Por ejemplo, los residuos de nanopartículas (o nanoemulsiones) pueden llevar una aglomeración de partículas y derivar en el bloqueo de vasos sanguíneos, o exhibir efectos tóxicos que pueden dañar fuertemente las células sanas [58]. En este aspecto, las nanopartículas basadas en óxido de hierro son de amplio interés debido a sus propiedades fisicoquímicas y a

su alta y comprobable biocompatibilidad en el cuerpo humano. Dentro de las propiedades biológicas más sobresalientes del óxido de hierro se encuentran [17], [57], [58]:

- La naturaleza superparamagnética de las nanopartículas de óxido de hierro implica que las partículas no se atraen entre ellas disminuyendo así el riesgo de una aglomeración.
- El hierro existe de manera natural en el cuerpo humano, de modo que las nanopartículas que contienen hierro son biocompatibles ya que el cuerpo está adaptado para metabolizar este tipo de partículas. Incluso los “desechos” pueden ser utilizados por el cuerpo en otros procesos metabólicos, por ejemplo, para transportar oxígeno.
- La toxicidad de las nanopartículas basadas en óxido de hierro depende de varios factores, por ejemplo, propiedades estructurales (forma), dosis, y uso. Por ejemplo, las nanopartículas para transporte de fármaco no necesariamente pueden ser aplicadas para contraste y viceversa.

2.1.2.3 Nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza

En trabajos anteriores, se prepararon nanopartículas usando el método de sonosíntesis en la elaboración de sistemas tipo núcleo/coraza [59]. Se encontró que las mejores condiciones para la purificación fueron a 7500 xg, con un diámetro hidrodinámico de 26.83 nm y un bajo índice de polidispersidad de 0.275. Se realizó un cambio de fase de las nanopartículas de hidrofóbica a hidrofílica utilizando tripolifosfato pentasódico (TPP), el cual es un surfactante aniónico. Por medio de microscopía electrónica de transmisión (TEM por sus siglas en inglés), se obtuvieron los diámetros de las nanopartículas, con un tamaño de $7 \text{ nm} \pm 2$. De acuerdo con los resultados obtenidos por las técnicas de caracterización, el óxido de hierro sintetizado es maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Las imágenes obtenidas por medio de HRTEM mostraron las distancias interplanares asociadas a maghemita. También se encontró otra fase en el núcleo de las nanopartículas relacionada a la cementita (Fe_3C). Las imágenes de TEM (Fig. 2.9) mostraron una morfología tipo

núcleo/coraza, la cual surge del resultado de la oxidación de la superficie de las nanopartículas expuestas al aire o durante el proceso de lavado.

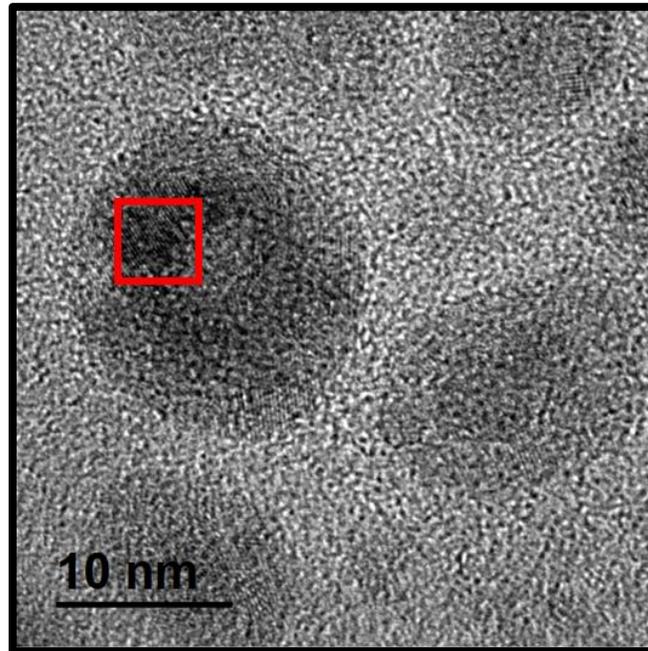


Figura 2.9. Nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.

2.2 Fundamentos de autoensamblaje y autoorganización

Una de las principales características de la nanotecnología es la manipulación de átomos o moléculas individualmente, en la autoorganización y autoensamblaje en estructuras mayores. Se conoce como autoensamblaje, a cualquier proceso por el cual se forma un sistema a partir de sus componentes de manera espontánea. Un proceso de autoensamblaje puede ocurrir en un solo paso o, más posiblemente, en una cantidad de pasos definidos.

Igual que las moléculas en un organismo vivo se reconocen y se unen unas con otras, algunas moléculas y estructuras también se reconocen y pueden ordenarse con ayuda de un trabajo externo, esto es lo que se conoce como autoorganización. El resultado son las nanoestructuras, que son objetos de tamaño nanométrico y que pueden llegar a tener propiedades sumamente interesantes

(emitir luz, efectos cuánticos, efectos magnéticos, entre otros) precisamente a causa de su bajo tamaño.

El autoensamblaje y la autoorganización dependen de las propiedades físicas y químicas de las moléculas y los materiales, los cuales se rigen por la complejidad del sistema termodinámico. El control de tal autoorganización, en particular en la escala nanométrica, se ha convertido en un importante empeño dentro del desarrollo de materiales en busca de nuevas funcionalidades y nuevos dispositivos [60].

El autoensamblaje es el concepto que expresa que las moléculas que son complementarias y se reconocen molecularmente, interaccionan entre sí y forman un sistema organizado. Así, el autoensamblaje implica la asociación supramolecular entre varias especies para formar un agregado de mayor tamaño y, generalmente, de una arquitectura más compleja [61].

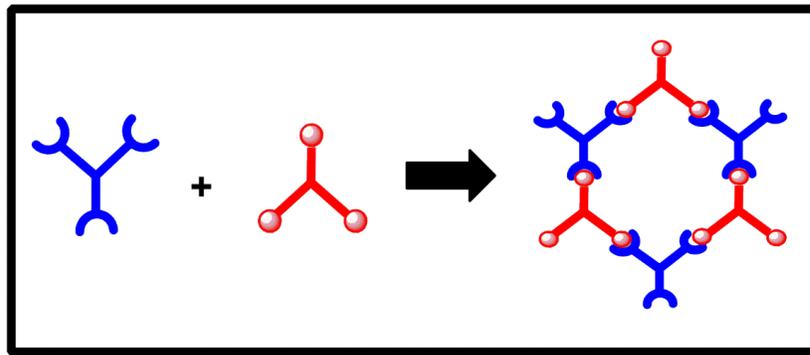


Figura 2.10. Representación esquemática del proceso de autoensamblaje con formación de un agregado mayor.

La autoorganización resulta fundamental, por ejemplo, en la formación de micelas y membranas celulares a partir de los lípidos, en la polimerización de los microtúbulos de las células eucariotas a partir de las proteínas, o en la estructuración de los músculos a partir de fibras proteicas. El apareamiento de bases nitrogenadas para formar ADN o el plegado de proteínas, son otros de los procesos auto-organizativos importantes en la vida.

2.2.1 Surfactantes

Los surfactantes, también llamados tensoactivos, son compuestos generalmente consistentes en una cabeza polar y una larga cadena alquilo apolar que, dependiendo de su afinidad se orientan en una interface. En la síntesis de nanopartículas se alinean y adsorben en su superficie, creando una capa orgánica que permite su estabilización dentro de la suspensión y pueden llegar a controlar la morfología y tamaño de la nanopartícula [62].

Dependiendo de la naturaleza del grupo hidrófilo, los tensoactivos se clasifican en:

Aniónicos: Los surfactantes aniónicos normalmente son sales donde la parte hidrofílica del surfactante posee una carga negativa, balanceada por un catión metálico (ver Figura 2.11). Los grupos hidrofílicos pueden ser, entre otros, carboxilato, sulfonato y sulfato [63].

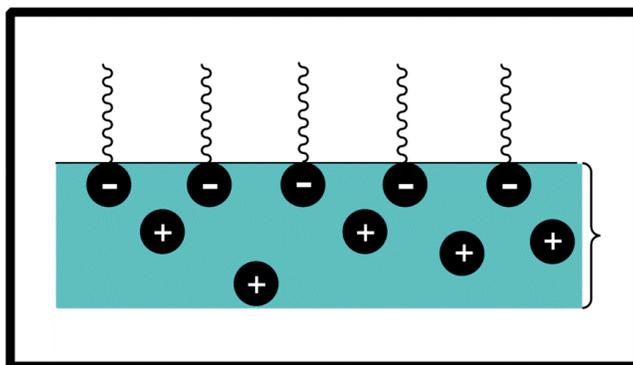


Figura 2.11. Surfactante aniónico.

Catiónicos: En los surfactantes catiónicos, la parte hidrofílica posee una carga positiva (ver Figura 2.12). Dentro de los más comunes se tienen las sales de amonio cuaternario, comúnmente conocidas como haluros [63].

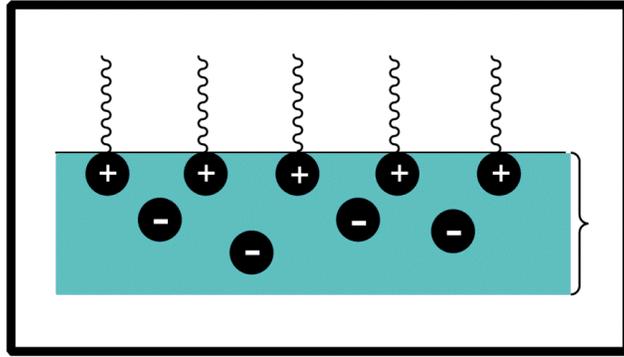


Figura 2.12. Surfactante catiónico.

No-iónicos: En estos casos, no existen grupos cargados en la parte hidrofílica, sin embargo, la solubilidad en agua se deriva de grupos muy polares como los polioxietilenos o polialcoholes (Figura 2.13) [63].

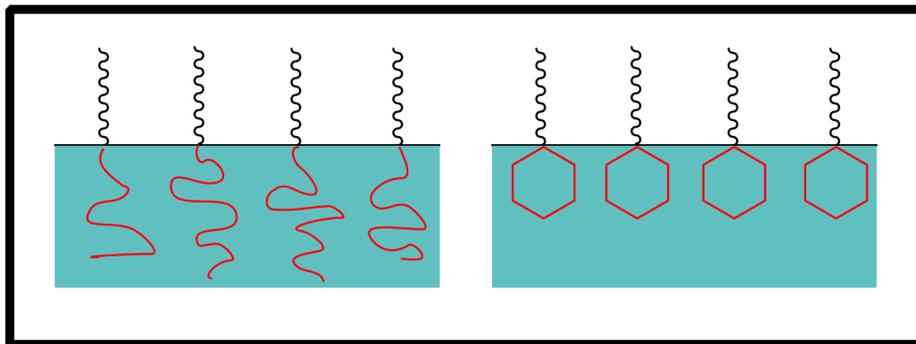


Figura 2.13. Surfactante no-iónico.

Anfóteros: Estos surfactantes contienen cargas positivas y negativas al mismo tiempo, dependiendo del pH en el que se encuentre la disolución (Figura 2.14). En este grupo se encuentran derivados de aminoácidos [63].

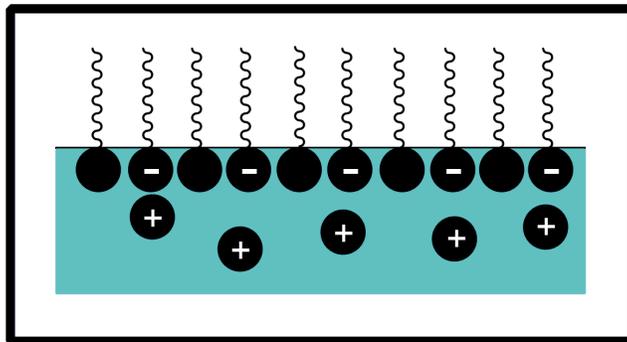


Figura 2.14. Surfactante anfótero.

Dado que los surfactantes poseen una parte hidrofílica y una hidrofóbica, es de esperarse que cuando las moléculas del surfactante se encuentran en un medio completamente acuoso, tenderán a reducir la superficie de contacto del agua con las partes hidrofóbicas. Muchas veces esto se logra agregando las moléculas en forma de una gota, con las colas hidrofóbicas hacia adentro, de modo que la gota tiene un interior muy parecido a un hidrocarburo, mientras que la superficie es rica en grupos cargados con gran afinidad por el agua.

La agregación para formar micelas se presenta a partir de una cierta concentración de surfactante (ver Figura 2.15), conocida como concentración micelar crítica (CMC) [61]. Las moléculas del soluto se comienzan a agrupar en micelas, convirtiendo al sistema en un coloide. La CMC marca por lo tanto la frontera entre disolución verdadera y coloide; por debajo de la CMC el sistema se comporta como disolución y por encima de la CMC como coloide.

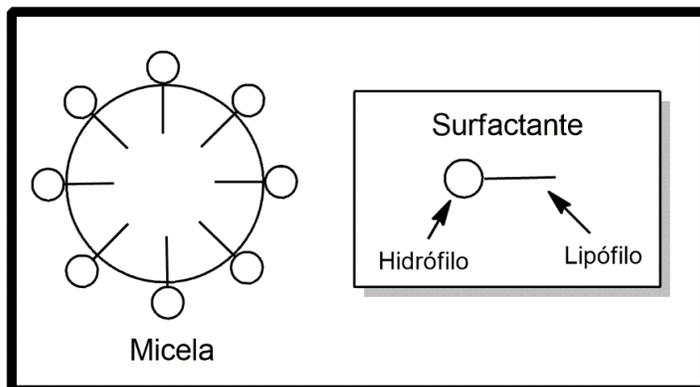


Figura 2.15. Micela y grupos que conforman al surfactante.

2.2.2 Vesículas

Los sistemas vesiculares han ganado una gran importancia recientemente, esto debido a su capacidad para actuar como un medio de liberación sostenida de fármacos. Estos sistemas presentan varias ventajas: pueden encapsular partes hidrofílicas y lipofílicas, prolongar la vida media de los fármacos mediante el aumento de la duración de la circulación sistémica debido a la encapsulación, biodegradabilidad, y la ausencia de toxicidad [64]–[70].

Las vesículas tienen una estructura única que es capaz de atrapar fármacos hidrófilos, lipófilos y anfifílicos. Las vesículas son partículas coloidales que tienen un núcleo lleno de agua rodeada por un muro de lípidos y tensoactivos organizada en bicapa (ver Figura 2.16). Si se aumenta la proporción de agua, estos anfífilos pueden formar una o más bicapas concéntricas. Los fármacos hidrofílicos pueden encontrar un lugar en el núcleo acuoso, mientras que los fármacos lipofílicos anfifílicos quedan atrapados en la pared de dos capas por medio de electrostática y/o fuerzas hidrofóbicas [70].

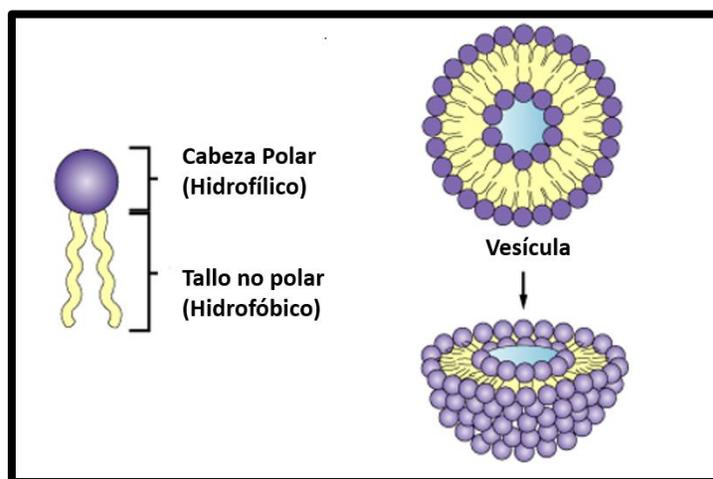


Figura 2.16. Estructura de una vesícula.

2.2.3 Micelas

Las micelas son un auto-ensamblaje de moléculas de surfactante que conducen a la formación de partículas coloidales de tamaño nanométrico, con un núcleo hidrófobo y una superficie hidrófila (ver Figura 2.17). Actualmente las micelas están siendo utilizadas con éxito como vehículos farmacéuticos para drogas insolubles en agua, demostrando una serie de propiedades atractivas como portadoras de drogas.

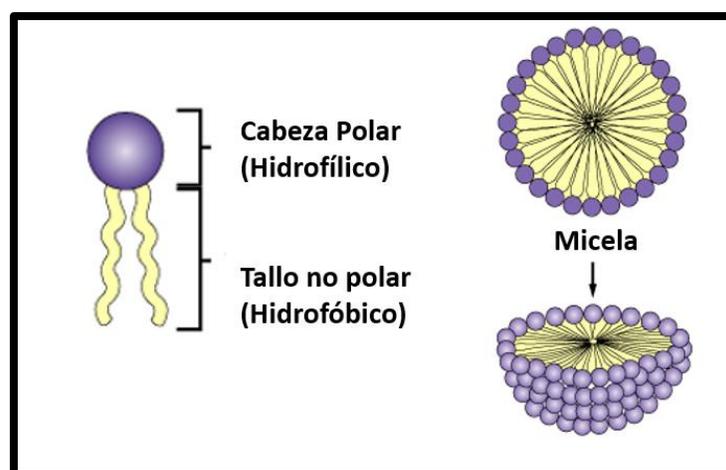


Figura 2.17. Estructura de una micela.

2.2.3.1 Nanoemulsión

Una nanoemulsión, es un sistema de partículas dispersas constituidas por dos o más componentes inmiscibles entre sí, uno de ellos disperso dentro del otro en forma de gotas estabilizadas por un surfactante. Estas partículas dispersas se utilizan para ayudar en el encapsulamiento y dispersión de partículas o moléculas no miscibles en un solvente específico (ver Figura 2.18).

Las nanoemulsiones se pueden definir como agua en aceite (W/O, por sus siglas en inglés) y aceite en agua (O/W, por sus siglas en inglés); son emulsiones con gotas de diámetros que van de 50 a 1000 nm. Por lo general, el tamaño medio de la gota es de entre 100 y 500 nm. Las partículas pueden existir en forma de agua en aceite y aceite en agua, donde el núcleo de la partícula es o bien agua o aceite,

respectivamente. Las nanoemulsiones en este trabajo están hechas de surfactantes aprobados para el consumo humano y sustancias de los alimentos comunes que son generalmente reconocidos como seguros.

La formación de una nanoemulsión se debe a una emulsificación espontánea donde con la ayuda de un surfactante se facilita la formación de la emulsión. El uso de surfactantes presenta algunas ventajas como son: estabilidad termodinámica, la facilidad de purificación, tamaño de gota y alta área superficial, lo que ayuda a un mejor apego a la superficie y al transporte de fármacos [71], [72].

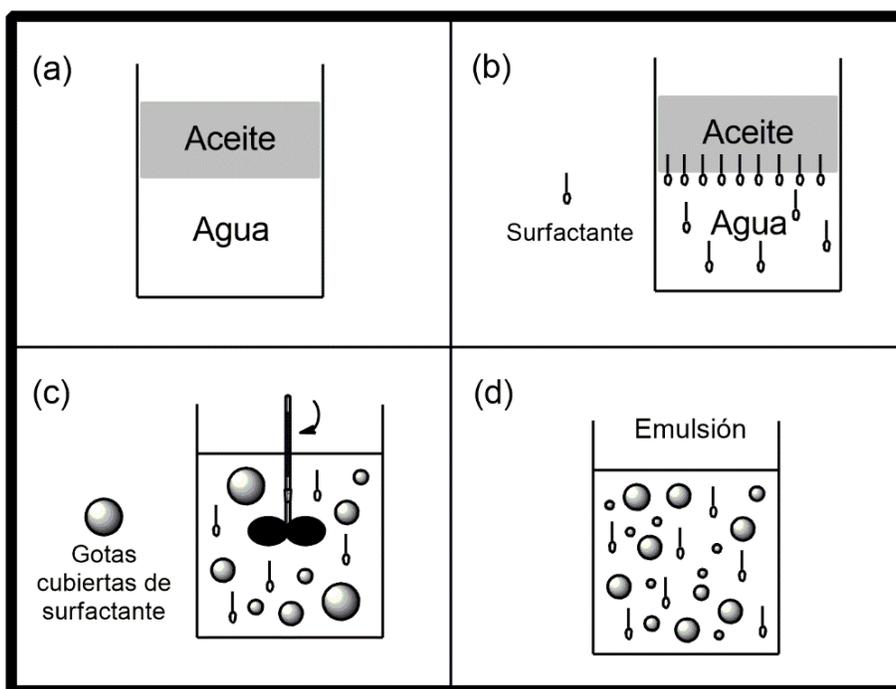


Figura 2.18. Formación de una emulsión. (a) Dos líquidos inmiscibles formando una separación de fases, (b) La agregación de un surfactante rompe la tensión superficial, (c) Se forman pequeñas gotas cubiertas de surfactante, (d) Finalmente se tiene una sola fase dispersa.

2.3 Nanocápsulas

Las nanocápsulas (ver figura 2.19) son sistemas nano-vesiculares utilizados en una gran variedad de aplicaciones, por ejemplo, en medicina para la liberación controlada de fármacos, en la conserva de alimentos, en materiales auto-curativos, etcétera. Las nanocápsulas se pueden definir como una pequeña porción de una

sustancia activa rodeada por un agente de encapsulación con dimensiones en el régimen nanométrico, aislando así esta sustancia del medio externo. Esta protección sirve para aislar a la sustancia activa del ambiente hostil y puede ser permanente o temporal, en cuyo caso el núcleo generalmente se libera por difusión o en respuesta a un disparador físico (ej., calor), químico (ej. ácido), o biológico (ej., la acción de una enzima), lo cual permite que la administración del fármaco sea controlada [73].

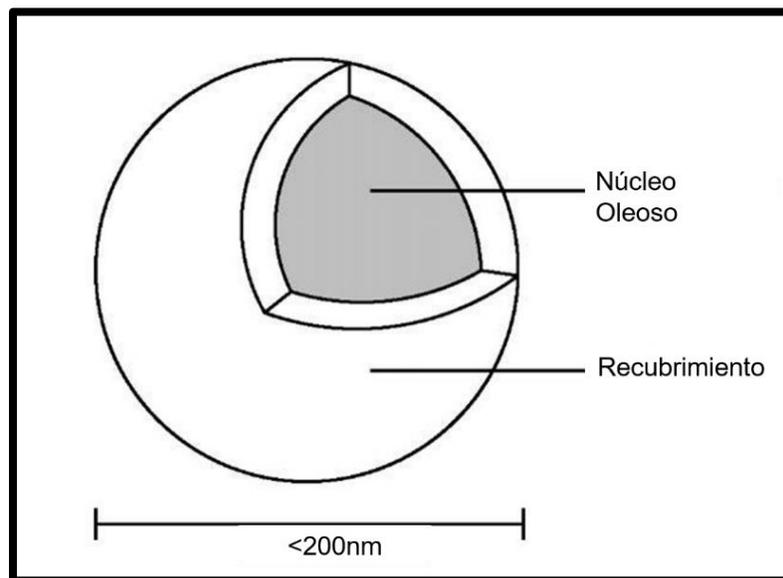
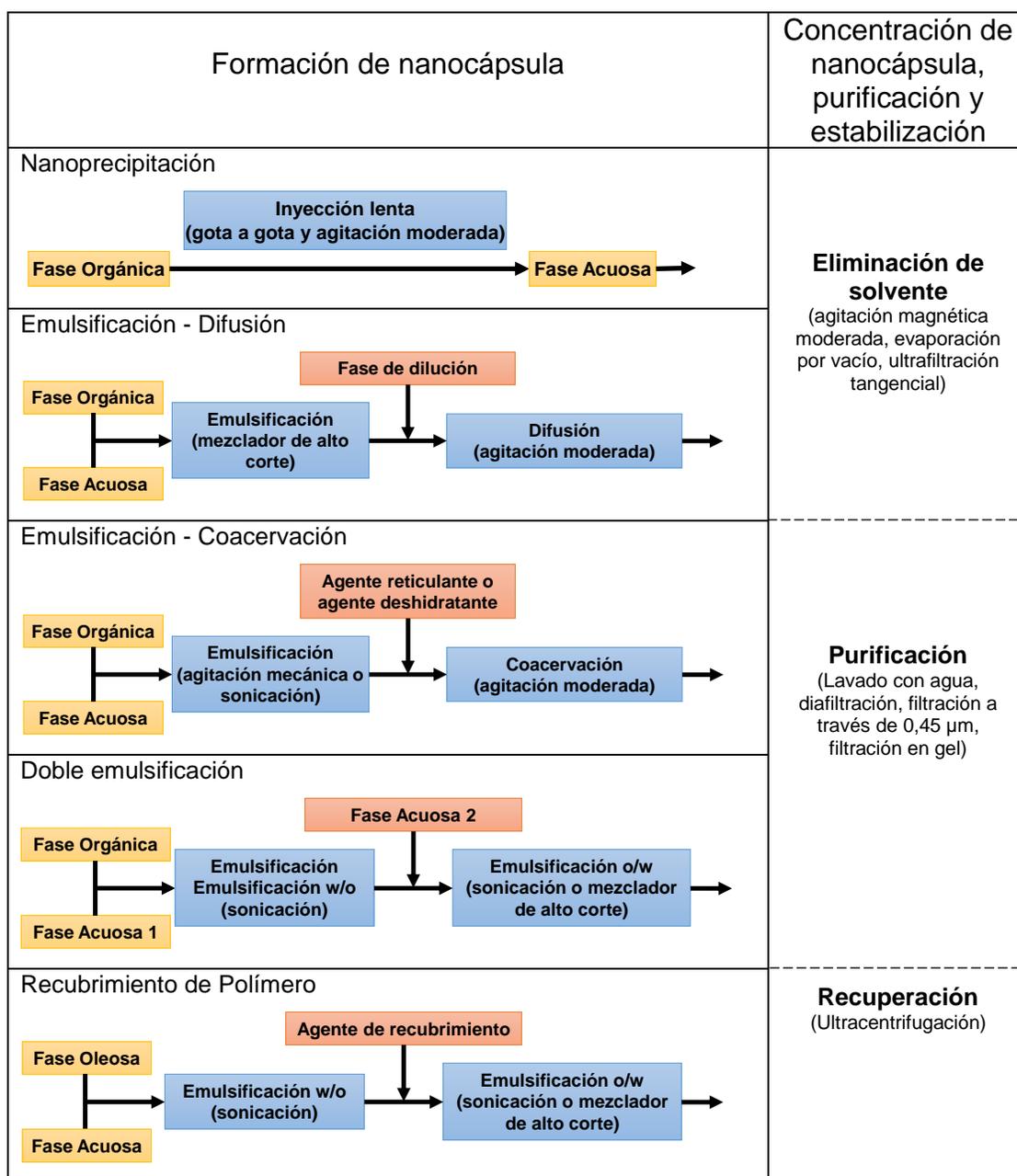


Figura 2.19. Estructura de una nanocápsula.

El tamaño de las nanocápsulas puede oscilar entre los 10 a los 1000 nm de tamaño en al menos una de sus dimensiones, sin embargo, para propósitos especiales, las dimensiones pueden ser más específicas. Las nanocápsulas tienen una multitud de formas diferentes dependiendo de los materiales y métodos utilizados para prepararlas. Su estructura depende en gran medida del material de corteza seleccionado y del método de encapsulación utilizado [73].

2.3.1 Encapsulación

Existen varios métodos de encapsulación, entre los más comunes se encuentran: 1) nanoprecipitación, 2) emulsión-difusión, 3) doble emulsificación, 4) emulsión-conservación, 5) polímero-encapsulado, y 6) capa por capa. La Figura 2.20 muestra el procedimiento general para los diferentes métodos de preparación de nanocápsulas.



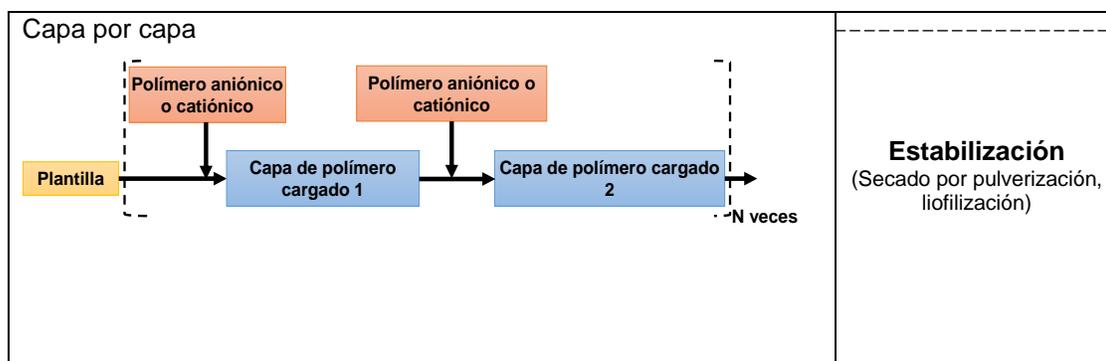


Figura 2.20. Procedimiento general para los distintos métodos de preparación de nanocápsulas [24].

En la presente investigación se utiliza el método de encapsulado por nanoprecipitación. Esta técnica presenta numerosas ventajas, por ejemplo, la formación de nanopartículas es instantánea y todo el proceso se realiza en un solo paso. El polímero que recubre y la sustancia activa se deben disolver en un solvente. Posteriormente la nanoprecipitación ocurre mediante la desolvación del polímero al ser añadido a un no-solvente. De hecho, tan pronto como el polímero conteniendo solvente se vierte en el medio dispersor (no solvente), el polímero se precipita atrapando el principio activo de manera inmediata. La formación de nanopartículas en este método está gobernada por el efecto Marangoni, el cual se debe a las turbulencias que ocurren cuando el solvente y el no solvente entran en contacto. La nanoprecipitación permite la creación de nanopartículas de entre 100 y 300 nm, con una distribución unimodal muy precisa.

Este método no requiere grandes velocidades de agitación, sonicación o muy altas temperaturas para llevarse a cabo, y se caracteriza por la ausencia de interfaces oleo-acuosas, condiciones que podrían dañar alguna estructura proteica. Más aún, los surfactantes no siempre son requeridos y generalmente los solventes orgánicos tóxicos son excluidos en este procedimiento [74].

2.3.2 Interacción coloidal

La interacción entre un par de las partículas coloidales es el resultado de interacciones entre todas las moléculas dentro de ellas, así como aquéllos en el

medio que intervienen. Es por esto que muchas de las interacciones entre las partículas coloidales parecen a primera vista similares a las existentes entre moléculas, por ejemplo, Van der Waals, electrostáticas y estéricas.

Sin embargo, la característica de estas interacciones coloidales es a menudo diferente de sus homólogos moléculas, a causa de las características adicionales que se presentan debido al tamaño relativamente grande de partículas coloidales y el número relativamente grande de diferentes tipos de moléculas implicadas.

Para obtener una disolución coloidal estable generalmente es necesaria la modificación o funcionalización de la superficie de las nanopartículas con el objetivo de crear una barrera de energía que evite que se aglomeren. Esto puede ser modificando la carga de la superficie o cubriéndola con otro material. Para esto último suelen utilizarse compuestos orgánicos que actúan como surfactantes o polímeros que se adsorben a su superficie [61].

La nano-interfaz comprende componentes que interactúan dinámicamente: (i) la superficie de las nanopartículas, cuyas características están determinadas por su composición fisicoquímica; (ii) la interfaz sólido-líquido y los cambios que ocurren cuando la partícula interactúa con los componentes del medio circundante; (iii) la zona de contacto de la interfaz sólido-líquido con sustratos biológicos. En un medio dado, las características más importantes de las nanopartículas que determinan las propiedades de la superficie son la composición química del material, la funcionalización de la superficie, la forma y el ángulo de curvatura, la porosidad y la cristalinidad superficial, la heterogeneidad, la rugosidad y la hidrofobia o hidrofilia [75]–[77]. Otras características cuantificables, como la carga superficial efectiva (potencial zeta), la agregación de partículas, el estado de dispersión, la estabilidad/biodegradabilidad, las características de disolución, la hidratación y la valencia de la capa superficial, están determinadas por las características de los medios de suspensión [75], incluida la fuerza iónica, pH, temperatura y la presencia de moléculas orgánicas grandes (por ejemplo, proteínas) o detergentes [78]. Las características de las partículas contribuyen activamente a las interacciones con el medio a través de: (i) promover la adsorción de iones, proteínas, materiales orgánicos naturales y detergentes; (ii) formación de doble capa; (iii) disolución; o (iv)

minimizar la energía de la superficie libre mediante reestructuración superficial [79], [80]. Muchas de éstas recién adquiridas propiedades de partículas o estados transformados determinan las fuerzas que operan en la interfaz partículas-medio con longitudes de caída características [80] (Fig. 2.21).

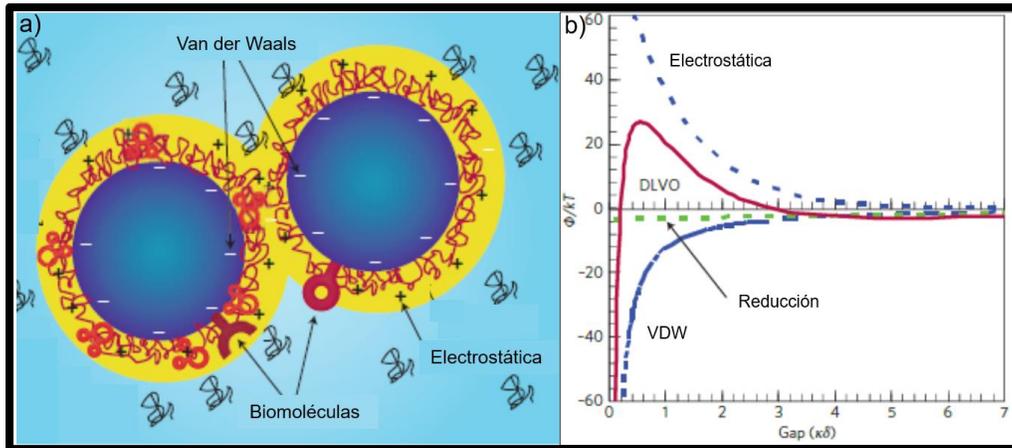


Figura 2.21. Interacciones entre nanopartículas [81]. a) Fuerzas tradicionales para la fabricación coloidal y otras interacciones importantes. b) VDW y las fuerzas de reducción son atractivas, mientras que las fuerzas electrostáticas son repulsivas en una escala de longitud típica.

2.3.3 Aplicaciones

Las diversas propiedades de las nanocápsulas las convierten en una herramienta útil en varias aplicaciones. Los polímeros y sus derivados son utilizados como biomateriales en la industria farmacéutica, cosméticos, medicina, alimentos, etcétera. La tabla 2.2 resume algunos de los usos de las nanocápsulas de acuerdo con el área de aplicación [82].

Tabla 2.2. Aplicaciones de las nanocápsulas

Área	Aplicación
Farmacéutica	<ul style="list-style-type: none"> - Geles e hidrogeles para liberación prolongada y controlada de fármacos - Emulsiones para liberación sostenida de fármacos, muco-adhesión, etcétera - Terapias contra el cáncer principalmente como agentes de contraste, detección y eliminación de tumores
Medicina y bio-medicina	<ul style="list-style-type: none"> - Tratamiento de heridas, cobertura de heridas y vendaje - Suturas e implantes quirúrgicos - Hemodiálisis - Hemostática y anticoagulantes
Tejidos	<ul style="list-style-type: none"> - Piel artificial - Regeneración de tejidos
Otros	<ul style="list-style-type: none"> - Agricultura - Industria alimentaria - Industria textil - Tratamiento de aguas de desecho - Materiales auto-regenerativos

2.4 Nanomedicina

La nanomedicina es la aplicación médica de la nanotecnología. Ésta abarca desde la aplicación médica de nanomateriales, biosensores, hasta máquinas biológicas. Los problemas actuales que enfrenta la nanomedicina se pueden resumir en el estudio de la toxicidad de nanomateriales para el cuerpo humano y el impacto ambiental de materiales a nanoescala [24].

Debido a su tamaño (y en menor medida a su forma), la estructura de los nanomateriales es parecida a muchas de las moléculas y estructuras biológicas, de allí que los nanomateriales pueden ser utilizados en aplicaciones *médicas in vivo* e

in vitro, así como para la creación de herramientas y materiales que pueden ser utilizados en la medicina moderna [74].

2.4.1 Biomaterial

Un biomaterial se puede definir como cualquier material utilizado para fabricar dispositivos que puedan reemplazar una parte o una función de un organismo vivo de una manera segura y fisiológicamente aceptable.

Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivos y sus funciones, lo que implica que están expuestos de modo temporal o permanente a fluidos del cuerpo con capacidades corrosivas, aunque en realidad pueden estar localizados fuera del propio cuerpo.

Debido a que los biomateriales restablecen funciones de tejidos vivos y órganos en el cuerpo, es esencial entender las relaciones existentes entre las propiedades, funciones y estructuras de los materiales biológicos.

El éxito de un biomaterial o de un implante depende de tres factores principales: biocompatibilidad del implante, condiciones de salud del receptor y habilidad del cirujano que realiza el implante [83].

Los requisitos que debe cumplir un biomaterial son:

- Ser biocompatible, es decir, debe ser aceptado por el organismo, no provocar que éste desarrolle sistemas de rechazo ante la presencia del biomaterial;
- No ser tóxico, ni carcinógeno;
- Ser químicamente estable (no presentar degradación en el tiempo) e inerte;
- Tener una resistencia mecánica adecuada;
- Tener tiempo de fatiga apto;
- Tener densidad y peso adecuados;
- Tener un diseño de ingeniería conveniente; esto es, el tamaño y la forma del implante deben ser los apropiados; y
- Ser relativamente barato, reproducible, fácil de fabricar y procesar para su producción en gran escala.

2.4.1.1 Ácido oleico

El AO (ver Figura 2.22) es un ácido graso que se produce naturalmente en diversas grasas y aceites animales y vegetales. Es un aceite inodoro, incoloro, aunque algunas muestras comerciales pueden ser de un color amarillento. El AO se clasifica como un ácido graso monoinsaturado de la serie omega-9. Tiene la fórmula química $C_{18}H_{34}O_2$. El término “oleico” significa relacionado con, o derivado de aceite de oliva, que está compuesto principalmente de AO [84].

El principal uso del AO es como componente en muchos alimentos, es parte de la dieta humana normal como parte de grasas animales y aceites vegetales. También es utilizado como agente emulsionante o emoliente; en pequeñas cantidades como excipiente en productos farmacéuticos y como agente emulsionante o solubilizante en productos en aerosol [84].

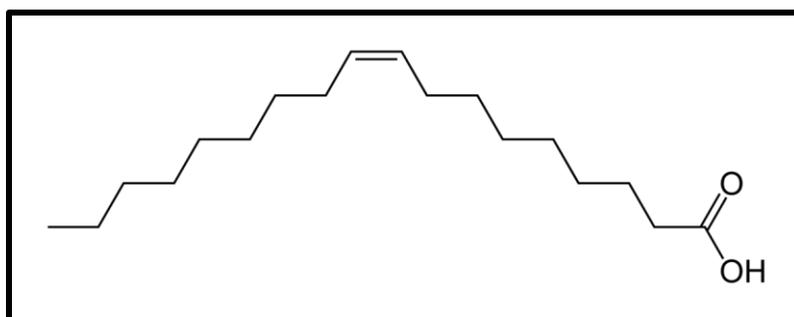


Figura 2.22. Estructura del AO.

2.4.1.2 Dodecilsulfato de sodio (SDS)

El SDS (por sus siglas en inglés) es un compuesto orgánico sintético con la fórmula $CH_3(CH_2)_{11}SO_4Na$ (ver Figura 2.23). Es un tensioactivo aniónico, usualmente una mezcla de alquil sulfatos de sodio, principalmente el lauril; que se utiliza para disminuir la tensión superficial de soluciones acuosas; también es utilizado como emulsionante graso, agente humectante, detergente en cosmética, productos farmacéuticos y pastas dentífricas o como herramienta de investigación

en bioquímica de proteínas. Sus propiedades anfílicas lo convierten en un detergente ideal. [85].

Es un surfactante natural que se deriva naturalmente del aceite de coco y de palma. Se obtiene en forma de cristales, escamas o polvo de color blanco o crema. Tiene un olor ligero y característico de sustancias grasas.

El SDS es fácilmente degradable, con baja toxicidad, y no genera preocupaciones con respecto a la salud humana [86].

Al igual que otros tensioactivos, el SDS es anfílico. Por lo tanto, migra a la superficie de los líquidos, donde su alineación y agregación con otras moléculas de SDS disminuyen la tensión superficial. Esto permite una dispersión y mezcla más fácil del líquido.

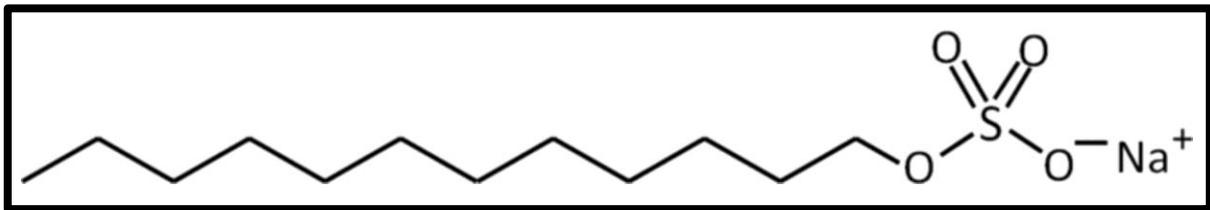


Figura 2.23. Estructura del SDS.

2.4.1.3 Quitosana

La quitosana es un polímero biosintético que se obtiene a partir de la quitina, uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza. La quitina forma parte de la estructura de soporte de numerosos organismos vivos, tales como artrópodos (crustáceos e insectos), moluscos y hongos. La quitina y la quitosana son biopolímeros que han encontrado una gran cantidad de aplicaciones en los últimos años, especialmente en la industria alimentaria y en la biotecnológica [87].

La quitina está formada por unidades de 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucosa unidas por enlaces β -(1 \rightarrow 4). La obtención de quitosana a partir de la quitina se realiza por medio de la desacetilación de la misma, dejando libre el grupo amino del carbono 2 (aunque este proceso nunca llega al 100%) [88]. Es por ello por lo que la

quitosana es un copolímero de 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucosa y 2-amino-2-deoxy- β -D-glucosa (Fig. 2.24).

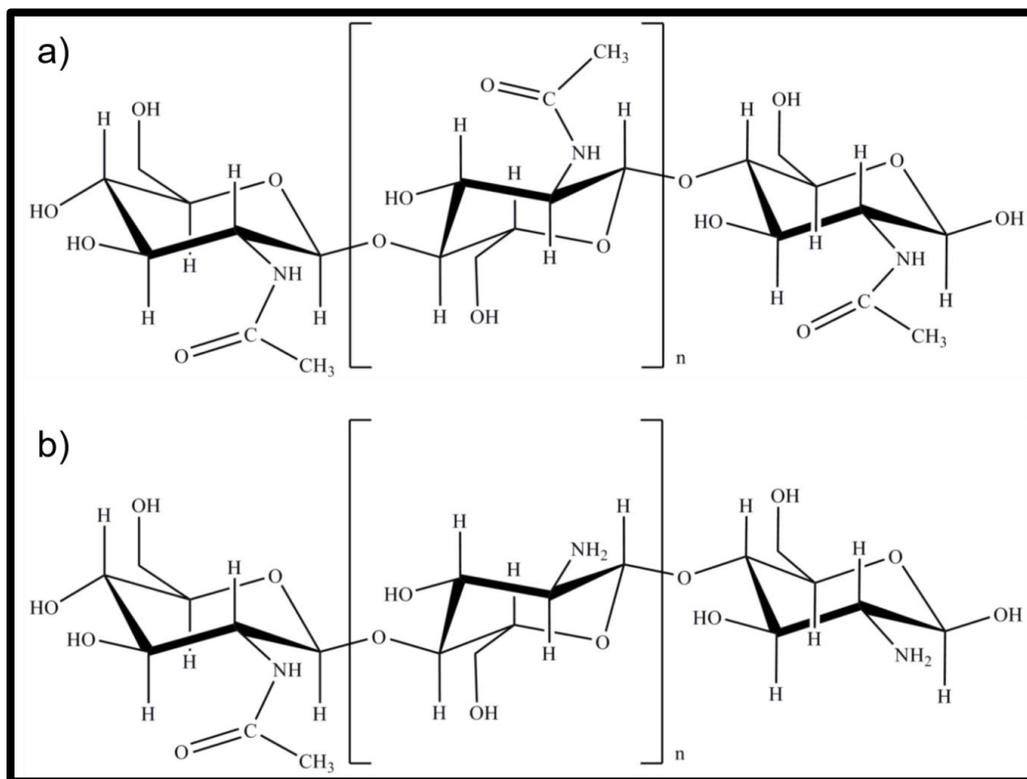


Figura 2.24. Estructura de la quitina (a) y de la quitosana (b).

La fuente y el método de obtención determinan la composición de las cadenas de quitosana y su tamaño. Por lo cual, el peso molecular promedio y el grado de desacetilación son dos parámetros de obligado conocimiento para la caracterización de este polímero, así como también son sus principales propiedades fisicoquímicas que determinan sus propiedades funcionales.

El porcentaje de grupos amino que quedan libres en la molécula de quitosana es lo que se denomina grado de desacetilación y está estrechamente vinculado con su solubilidad. Como consecuencia de la hidrólisis del grupo N-aceto, aumenta la capacidad hidrofílica de la quitosana y pasa a ser soluble en soluciones ácidas diluidas (acético, fórmico, clorhídrico, entre otros) [89]. La protonación de los grupos amino de la quitosana en medio ácido le confiere un carácter altamente reactivo.

Algunas de las propiedades funcionales de la quitosana son: biodegradabilidad, biocompatibilidad, baja toxicidad, antioxidante, entre otras [90]. Estas propiedades funcionales han promovido su utilización en diferentes campos como son industria, agricultura y medicina. Ha sido altamente utilizado en el campo de la biomedicina debido a su actividad inmunoestimuladora, propiedades anticoagulantes, acción antibacteriana, antifúngica y por su acción como promotor de la cicatrización de heridas [91]. Debido a su carácter catiónico y a sus propiedades gelificantes y filmogénicas, la quitosana ha sido estudiada en la industria farmacéutica por su potencial en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos.

La quitosana puede ser empleada para la elaboración de vehículos para la encapsulación del fármaco, protegiéndolo y liberándolo de forma controlada. Así mismo, la quitosana presenta propiedades necesarias para su uso en la industria farmacéutica, como son su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad. La toxicidad de la quitosana por vía oral es baja; se ha descrito una LD50 (dosis letal para el 50% de un conjunto de animales de prueba) de 16 g/Kg en ratas [92]–[94].

2.5 Caracterización

2.5.1 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Debido a las técnicas accesibles que se encuentran hoy en día, es posible medir la intensidad de luz dispersada en tiempos muy breves (en el margen del microsegundo), de tal forma que puede detectarse el movimiento caótico (browniano) de las partículas emisoras, como consecuencia de su energía térmica. La información obtenida se puede utilizar para determinar el coeficiente de difusión de las partículas y de su diámetro hidrodinámico [95].

La luz dispersada es medida en intervalos de tiempo, t , donde es posible observar que la intensidad fluctúa alrededor de un valor medio, debido al movimiento aleatorio de las partículas [96].

El dispersor de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés “Dynamic Light Scattering”) mide el tiempo dependiente de la dispersión de luz a un ángulo

particular de dispersión, analizando y calculando la función de autocorrelación de la intensidad de luz dispersada. La ecuación que define la función de autocorrelación normalizada en el tiempo que depende de la intensidad de la luz dispersada, $g^{(2)}(\tau)$, por un tiempo, (t) , dado, es:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t + \tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (2.1)$$

Esto es la función que mide el DLS, la correlación en el tiempo de la intensidad de la luz dispersada.

La velocidad de movimiento depende directamente del tamaño de las partículas. La fórmula de Stokes-Einstein describe esta correlación, el coeficiente de difusión con el diámetro hidrodinámico R_h de las partículas:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (2.2)$$

Donde k_B es la constante de Boltzmann, T la temperatura absoluta en K y η la viscosidad del medio [96].

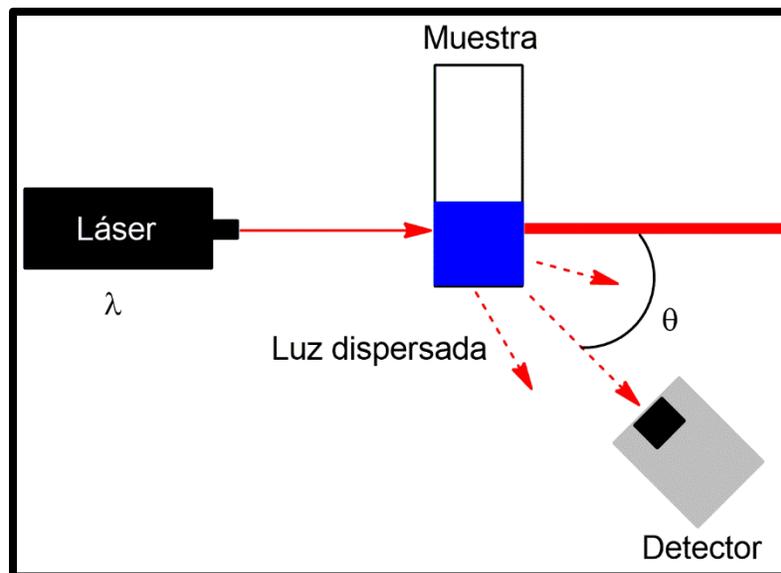


Figura 2.25. Esquema básico del funcionamiento de un dispersor de luz dinámica.

2.5.2 Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z)

El problema con las nanosuspensiones es su estabilidad, la cual se puede clasificar en física y química. La sedimentación es un problema de estabilidad física que se rige por la ley de Stokes que a su vez nos indica la importancia del tamaño de la partícula, viscosidad del medio y la diferencia de densidad entre el medio y la fase dispersada [97].

Las partículas tienden a aglomerarse para reducir al mínimo la energía de superficie, es por ello por lo que se introduce un estabilizador; existen dos mecanismos para estabilizar: la repulsión electrostática, que se describe por la teoría Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO); y la estabilización estérica, que se rige por la ley de Gibbs. La teoría de DLVO asume que las fuerzas que actúan sobre las partículas coloidales en un medio incluyen fuerzas electrostáticas repulsivas y fuerzas de atracción Van der Waals [97].

En el caso de las fuerzas de repulsión se origina a partir de la superposición de una doble capa eléctrica (EDL) que rodea la partícula en el medio y evitando así la aglomeración coloidal. Se usa el modelo de la doble capa (Stern y difusa) para visualizar la atmósfera iónica en la proximidad del coloide cargado y para explicar cómo actúan las fuerzas eléctricas de repulsión (ver Figura 2.26) [97].

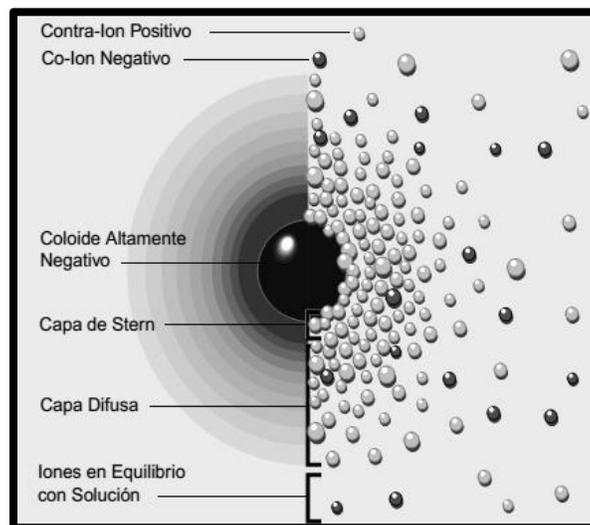


Figura 2.26. Visualización de la doble capa [98].

El potencial Zeta (ζ) es un potencial eléctrico en el plano de corte que es límite de la capa líquida circundante unido a las partículas que se mueven en el medio [97], dicho de otra manera: es el potencial donde se unen la capa difusa y la capa de Stern.

El ζ es importante ya que puede ser medido de una manera muy simple, mientras que la carga de la superficie y su potencial no pueden medirse. El ζ puede ser una manera efectiva de controlar el comportamiento del coloide puesto que indica cambios en el potencial de la superficie y en las fuerzas de repulsión entre los coloides. El ζ es ampliamente utilizado para predecir qué tan estable es una suspensión. Entre más grande es el ζ , se dice que es la suspensión es más estable [98].

La electroforesis con láser Doppler es una técnica utilizada para medir el movimiento de partículas cargadas en un campo eléctrico que utiliza el efecto Doppler. La luz dispersada de una partícula en movimiento experimenta un cambio de frecuencia, dado que esta frecuencia de la luz es muy alta, el cambio de frecuencia solo puede medirse por medio de un arreglo óptico o técnica interferométrica [99].

2.5.3 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectrómetros infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés “Fourier Transform Infrared Spectroscopy”) se han convertido en una de las herramientas más importantes para observar espectros vibracionales en diversos materiales. Si dos moléculas están constituidas por átomos distintos, o tienen distinta distribución isotópica o configuración, o se encuentran en ambientes distintos, se espera que sus espectros infrarrojos sean distintos. Los átomos que constituyen a una molécula están unidos entre sí por un enlace molecular covalente, que semejan uniones elásticas y, en consecuencia, sus movimientos son periódicos o cuasiperiódicos. Dichos movimientos relativos de los átomos en una molécula son

llamados modos normales de vibración, los cuales definen el espectro vibracional de cada molécula. Estos movimientos pueden ser rotacional o vibracional [100].

Una sustancia definida puede identificarse por su espectro infrarrojo, ya que éste se puede interpretar como la huella digital de dicha sustancia; los espectros a su vez muestran bandas que son típicas de grupos funcionales particulares y que tienen localizaciones e intensidades específicas dentro de los espectros infrarrojos; a partir de los espectros se pueden inferir las estructuras moleculares [101].

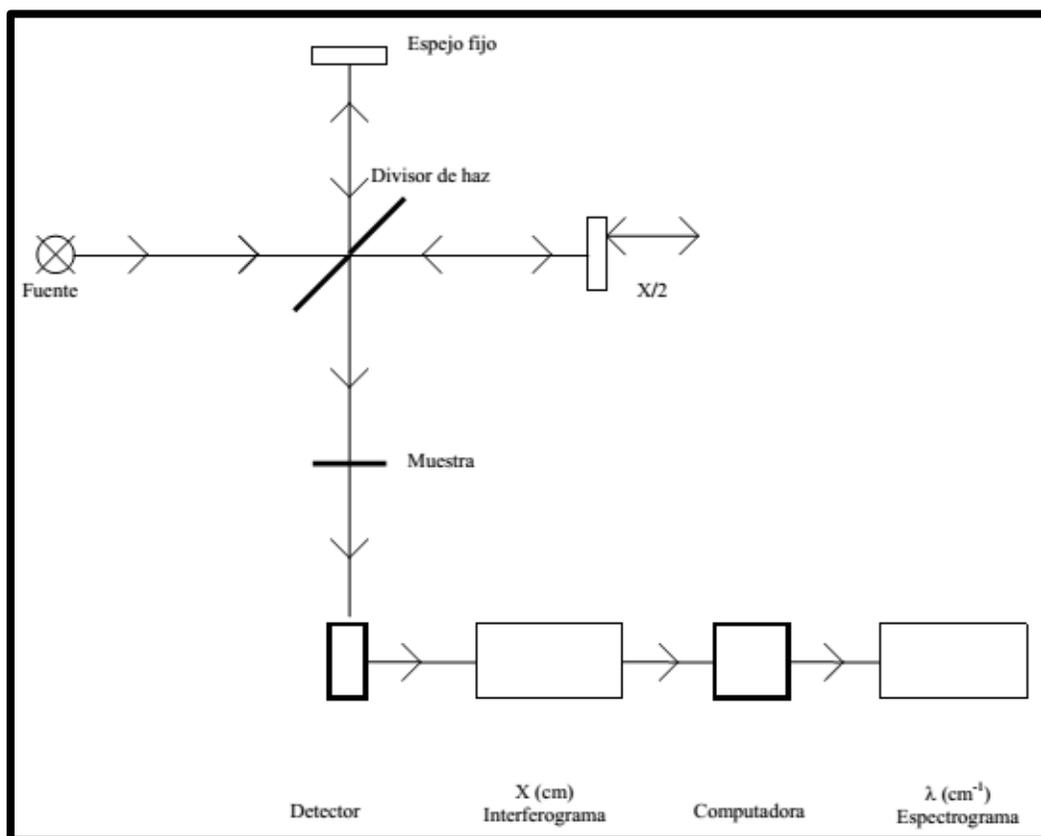


Figura 2.27. Diagrama simplificado de un espectrómetro por transformada de Fourier [100].

En la Figura 2.27 se observa un esquema simplificado de un FT-IR. Su funcionamiento comienza de la siguiente manera: un haz colimado, proveniente de una fuente que emite en toda la región infrarroja, un láser de He-Ne, incidiendo sobre un divisor de haz, el cual consiste en una película muy delgada de germanio. El haz incidente se divide en dos haces perpendiculares de igual energía, uno de los cuales incide sobre el espejo móvil y el otro sobre el espejo fijo. Los haces son

reflejados por ambos espejos y se recombinan al llegar al divisor de haz. Esto da lugar a una interferencia, la cual puede ser constructiva o destructiva dependiendo de la posición relativa del espejo móvil con respecto del espejo fijo. El haz resultante pasa a través de la muestra, en donde sucede una absorción selectiva de longitudes de onda llegando al detector. Finalmente, la señal resultante es procesada por la técnica de transformada de Fourier dando como resultado un espectro, el cual se interpreta [100].

2.5.4 Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM)

Existen dos clases genéricas de microscopía electrónica, SEM (microscopía electrónica de barrido, por sus siglas en inglés) y TEM (microscopía electrónica de transmisión, por sus siglas en inglés), dependiendo del tipo de microscopio utilizado. La Figura 2.28 muestra esquemáticamente los principios de diseño fundamentales de los microscopios SEM y TEM [102].

Los microscopios SEM y TEM generan un haz altamente concentrado de electrones, que impactan la muestra dentro de una cámara de vacío. Sin embargo, los microscopios SEM están diseñados principalmente para examinar la superficie del material (como los microscopios de reflexión de luz), mientras que los microscopios TEM son diseñados principalmente para examinar la estructura interna de la muestra (como los microscopios de transmisión de luz) [102].

SEM: En el SEM, el haz de electrones se enfoca a un punto, y escanea secuencialmente la superficie de la muestra (Fig. 2.28 (a)). En cada ubicación, se emiten señales de la muestra y se recogen mediante detectores. La señal del detector es sincronizada con la ubicación conocida del haz en la muestra, y la intensidad de la señal es utilizada para modular el pixel de la imagen correspondiente. Las señales recogidas en series son combinadas para formar una imagen cuyas dimensiones/distribución de pixeles dependen del patrón de escaneo elegido. Las energías típicas de los electrones van de 1 a 30 keV [102].

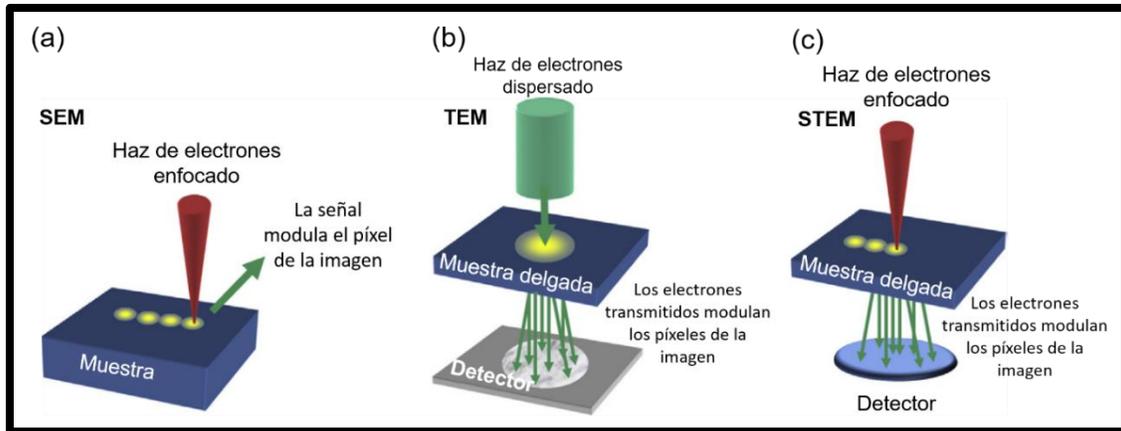


Figura 2.28. Esquema de la metodología para imagen mediante SEM, TEM y STEM. (a) Colección en serie de puntos de datos en SEM. (b) Adquisición de imágenes en paralelo en TEM. (c) Colección en serie de electrones transmitidos en STEM [102].

TEM: En el TEM, el haz de electrones es incidente sobre una zona definida de la muestra (Fig. 2.28 (b)). Los electrones transmitidos a través del espécimen son enfocados mediante lentes y colectados por un detector paralelo para formar una imagen. La energía de los electrones en TEM es mucho más grande que en SEM, típicamente de 80-300 keV, para permitirles penetrar a través del material [102]. Dentro del TEM, es posible obtener imágenes de alta resolución (HRTEM).

STEM: Versiones híbridas de SEM y TEM también son posibles en máquinas modernas. Los microscopios SEM pueden ser equipados con detectores para recoger electrones transmitidos a través de especímenes delgados (Fig. 2.28 (c)). Esta metodología de escaneo con la recolección de señales transmitidas se denomina generalmente microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM por sus siglas en inglés). Los TEMs modernos equipados con instrumentos de exploración adicionales también pueden escanear un haz altamente enfocado, permitiendo la implementación de STEM a energías electrónicas más altas [102].

2.5.5 Espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS)

La técnica de espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS por sus siglas en inglés) detecta los rayos-X emitidos desde la muestra durante el

bombardeo por un haz de electrones para caracterizar la composición elemental del volumen analizado [28]. Cuando la muestra es bombardeada por un haz de electrones, los electrones son expulsados de los átomos que comprenden la muestra (superficie). Las vacantes de electrones resultantes son llenadas por electrones de un estado más alto, y un rayo-X es emitido para balancear la diferencia de energía entre los dos estados de electrones (Fig. 2.29).

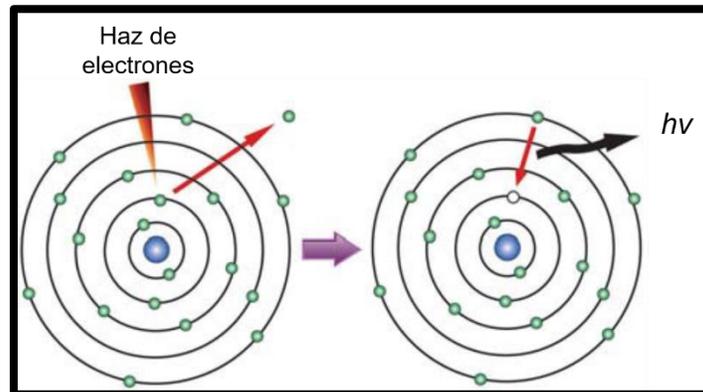


Figura 2.29. Mecanismo de trabajo de la espectroscopía de energía dispersiva.

La energía de los rayos-X es característica del elemento del que se emite. El detector EDS de rayos-X compara la abundancia relativa de los rayos-X emitidos contra sus energías [28].

El análisis por medio de EDS está disponible en los microscopios TEM, SEM y STEM, para identificar especies desconocidas o para obtener información de la distribución espacial de ciertas especies de interés. Dependiendo de la capacidad de enfoque del haz de electrones, las propiedades del material, y el tamaño de la muestra, se pueden analizar características o fases tan pequeñas como 1 nm.

Para análisis cualitativos con EDS, los valores de energía de los rayos-X del espectro de EDS son comparados con valores de energía de rayos-X característicos conocidos para determinar la presencia de un elemento en la muestra. Los resultados cuantitativos pueden obtenerse a partir de los recuentos relativos de rayos-X a los niveles de energía característicos para los constituyentes de la muestra [28]. Para el mapeo elemental, la intensidad característica de los rayos-X se mide con relación a la posición lateral en la muestra. Las variaciones en la

intensidad de los rayos-X a un valor de energía característico indican cambios de concentración del elemento examinado a través de la superficie. Mapeos de múltiples elementos pueden ser grabados simultáneamente. En el modo de exploración de línea, se evalúa un haz de electrones a lo largo de una línea preseleccionada a través de la muestra mientras que los rayos-X son detectados para posiciones discretas a lo largo de la línea. El análisis del espectro de energía de rayos-X en cada posición proporciona gráficos de la concentración elemental de cada elemento frente a la posición a lo largo de la línea [28].

EDS es fácil de usar, sensible a elementos pesados, excelente para la identificación de composiciones atómicas, y fácilmente disponible en la mayoría de microscopios electrónicos (TEM, SEM y STEM). Debido a que el análisis EDS requiere estándares, es mejor utilizarlo junto con otras técnicas de caracterización más precisas para interpretar cuantitativamente los datos [28].

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales (materiales no purificados)

En el desarrollo de este proyecto se utilizaron los siguientes reactivos: pentacarbonilo de hierro ($\text{Fe}(\text{CO})_5$), AO, octil éter, alcohol absoluto, tolueno, SDS, agua desionizada, acetona, quitosana de bajo peso molecular, ácido acético al 2%.

3.2 Métodos

3.2.1 Síntesis de nanopartículas

Para la síntesis de las nanopartículas se prepara una disolución con una relación de 0.001 mol $\text{Fe}(\text{CO})_5$ y 0.003 mol de AO con 5 mL de octiléter. El $\text{Fe}(\text{CO})_5$ ocupa el papel de fuente metálica, el AO de surfactante y el octiléter como solvente. La disolución final se coloca en un tubo tipo falcón de 15 mL. Se manejan volúmenes pequeños para evitar la descomposición de la disolución, debido a la sensibilidad del $\text{Fe}(\text{CO})_5$. El baño ultrasónico se prepara con tiempo, con agua desionizada a temperatura ambiente. La disolución se agita bien y se coloca en el baño ultrasónico durante 30 minutos. El equipo utilizado es un baño ultrasónico Branson modelo 3510 capaz de alcanzar una frecuencia de 40 KHz. Durante la sonicación se debe apreciar el cambio de color de la disolución, de un amarillo claro a un tono negro, aumentando el tinte durante el tiempo.

3.2.1.1 Procedimiento para la purificación o lavado

Para la purificación las muestras se lavan. Primeramente, se toman alícuotas de 2 mL y se les agregan 3 mL de alcohol etílico absoluto, el cual actuará como agente precipitante. Después de homogenizar la muestra se centrifuga a 7500 xg por 15 minutos con el objetivo de descartar el sobrenadante consistente en un exceso de aceite y octiléter. El sedimento de nanopartículas se suspende de nuevo con 0.171 mL de AO y 1.353 mL de tolueno, para después ser centrifugado

nuevamente a 7500 xg por 10 minutos. El sobrenadante obtenido se transfiere a otro tubo con el objetivo de aislar las partículas más pequeñas que la centrifugación no sedimentó. A este nuevo sobrenadante se le agregan 2 mL de alcohol absoluto, se agita en vórtex durante un minuto y se repite el lavado con el objetivo de eliminar el exceso de aceite. Se descarta con cuidado el sobrenadante y al fino sedimento obtenido se le agrega 2 mL de tolueno y se homogeniza para obtener la suspensión coloidal. Las nanopartículas se almacenan bajo refrigeración para su posterior caracterización y encapsulamiento.

3.2.2 Nanopartículas y ácido oleico

Una vez obtenidas las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza resuspendidas en 2 mL de tolueno, se realiza una disolución 50% - 50% con el AO, es decir, se combina 1 mL de nanopartículas en tolueno con 1 mL de AO. Ya realizada la mezcla se procede a evaporar por medio de rotavapor para eliminar el solvente (tolueno) y obtener las nanopartículas recubiertas con AO, esto con el fin de evitar la oxidación de las mismas y posibles aglomeraciones.

3.2.3 Síntesis de nanoemulsión

El método utilizado para la síntesis de la nanoemulsión fue el de nanoprecipitación, en este método la nanoemulsión se obtiene como una suspensión coloidal que se forma cuando la fase orgánica es agregada de forma lenta y con moderada agitación a la fase acuosa. Se procede primeramente a preparar la fase orgánica, que consiste en 9.5 mL de acetona y 88 μ L de AO con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza. La fase acuosa consiste en 0.0201 gr de SDS y 20 mL de agua desionizada. La fase orgánica es depositada de forma lenta en la fase acuosa y la disolución obtenida se pone en agitación magnética por unos segundos. Al poner las dos fases en contacto se forma inmediatamente una disolución con un aspecto blanquecino, indicativo de una nanoemulsión. Una vez obtenida la nanoemulsión, se pone a evaporar por medio

de un rotavapor, a una temperatura entre 40°C y 60°C a 80 RPM, en un tiempo aproximado de 30 minutos o hasta que se obtenga una tercera parte del volumen inicial (10 mL aproximadamente).

3.2.4 Síntesis de nanocápsulas

Para proceder con la síntesis de nanocápsulas, es necesario que primero se prepare la disolución de quitosana. Se utilizaron 0.5 mg de quitosana por mililitro de ácido acético al 2% (0.1 mL de ácido acético en 4.9 mL de agua). Para este proyecto se utilizaron 0.0025 gr de quitosana de bajo peso molecular para 5 mL de ácido acético al 2%, la disolución obtenida se pone en agitación por 24 horas.

La nanoemulsión resultante se diluye para que sea más probable el recubrimiento con quitosana. Se diluyen 100 µL de nanoemulsión en 9.9 mL de agua. Se toman 2 mL de nanoemulsión diluida y se le agregan 50 µL de disolución de quitosana, la disolución se pone a sonicar por 5 minutos y se deja reposar para proceder a la caracterización de las nanocápsulas obtenidas.

3.3 Técnicas de caracterización

3.3.1 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Para medir el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas, nanoemulsiones y nanocápsulas se utiliza el equipo Zen5600 nanoserries, de Malvern Instruments con una fuente de luz He-Ne a 633 nm. Para el caso de las nanopartículas, el dispersante a utilizar es tolueno, mientras que para las nanoemulsiones y nanocápsulas el dispersante es agua. En cuanto al índice de refracción a utilizar dependerá del material a medir; para las muestras de nanopartículas se utiliza el índice de refracción del óxido de hierro, para las nanoemulsiones se utiliza el índice de refracción del SDS y para las nanocápsulas el de quitosana. Se vierte 1 mL de la disolución a medir en una celda de plástico o vidrio (según el dispersante que se utilice) y se coloca dentro del equipo; después se procede a establecer los parámetros de la medición, la cual se realiza por triplicado.

3.3.2 Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z)

La carga de la disolución se determina con el equipo utilizado para medir DLS. El primer paso consiste en seleccionar la opción de Potencial Z (ζ), después se selecciona la configuración de parámetros necesarios para la medición, que incluyen el tipo de celda que se utilizará; al igual que en DLS, la medición se realiza por triplicado. Para preparar la celda, la muestra a medir es tomada con una jeringa (la cual se acopla a la celda) y se inyecta con mucho cuidado la muestra, esto para evitar la formación de burbujas dentro de la celda, las cuales pueden afectar la lectura. Como paso final, se coloca la celda dentro del equipo y se realiza la medición.

3.3.3 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

La técnica de FTIR ayuda a caracterizar las nanopartículas, nanoemulsiones y nanocápsulas, por medio de los espectros de IR, utilizando el espectrofotómetro Thermo Scientific Nicolet iS50 y su estación de muestreo ATR de diamante. Para comenzar la medición, primeramente, se debe realizar un blanco al equipo para que no afecte algunos parámetros que se encuentran en el ambiente. Después se coloca la muestra en la ventana de diamante, para una muestra en líquido sólo se coloca un poco de muestra en la ventana, mientras que para una muestra sólida se hace uso del brazo de presión ajustando la muestra a la ventana. Para finalizar, se procede a realizar la lectura a 36 barridos y una resolución de 4 cm^{-1} para muestras sólidas, y para muestras líquidas se utiliza una resolución de 1 cm^{-1} .

3.3.4 Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM)

Por medio del microscopio electrónico de barrido y transmisión (JEOL JSM-7800F disponible en el Departamento de Física de la Universidad de Sonora), se analizan las características morfológicas de las nanopartículas y nanocápsulas preparadas. El microscopio electrónico cuenta con una fuente de haz de electrones

a 30 kV. Las muestras son preparadas para su inmovilización sobre rejillas de cobre de 400 mallas recubiertas de carbono (Ted Pella Inc.).

3.3.5 Espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS)

Cuando se incide un haz de electrones con la suficiente energía sobre una muestra es posible que éste acceda a capas internas del átomo liberando electrones de su órbita. Para reestablecer su estabilidad los electrones de capas superiores tienden a saltar de nivel, liberando energía en forma de rayos X. Estos rayos X emitidos tienen una cantidad de energía única para cada elemento por lo cual son aprovechados para la caracterización. Se usó un equipo de EDS acoplado al STEM (disponible en el Departamento de Física de la Universidad de Sonora), con el cual se analizan las muestras de nanocápsulas.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Nanopartículas

4.1.1 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Con el fin de obtener información relacionada al diámetro hidrodinámico que presenta la nanopartícula, se realizó la caracterización de la misma mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS). En la Figura 4.1 podemos observar que se obtuvo como resultado un tamaño promedio de 19.71 nm con un índice de polidispersidad de 0.134 para las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza realizadas por el método de sonosíntesis, la cual se logró con un tiempo de reacción de 30 minutos y una purificación en la centrifugadora de alrededor de 7500 xg. El tamaño obtenido se debe principalmente al método de síntesis utilizado ya que este método se caracteriza por tener un tamaño promedio de 20 nm de nanopartícula. No fue posible medir su carga superficial debido a que no se contó con una celda apropiada para el solvente (tolueno) en que se encuentran suspendidas.

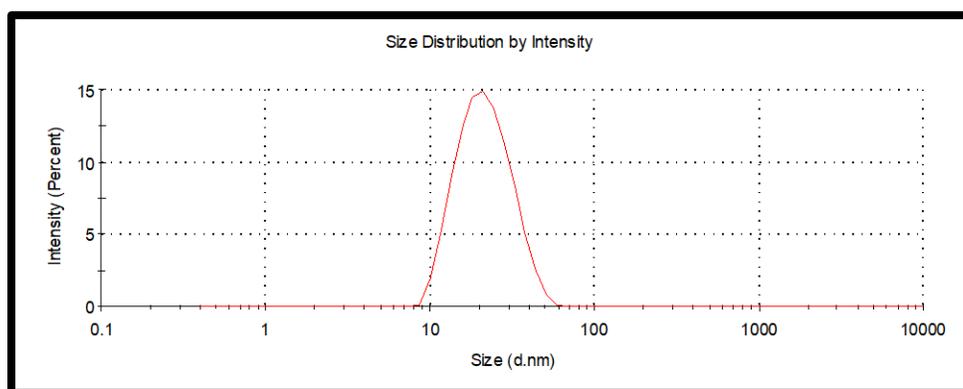


Figura 4.1. DLS de nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.

Las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza fueron recubiertas con AO, esto con el fin de evitar que la nanopartícula continúe con el proceso de oxidación y que se generen aglomeraciones entre las mismas.

4.1.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Con el fin de obtener información relacionada a la estructura y composición química de la nanopartícula, se realizó una técnica de caracterización a las mismas mediante espectroscopía infrarroja (Figura 4.2). Los espectros de FTIR arrojan la funcionalización del óxido de hierro con el AO, donde se pudo distinguir la conversión del grupo carboxilo en una sal de carboxilato y su interacción con el óxido de hierro.

En el ácido oleico, se observan bandas en 2923 y 2852 cm^{-1} , las cuales se atribuyen al estiramiento asimétrico y simétrico, respectivamente, del grupo metileno, pertenecientes a la cadena alifática del ácido oleico, mientras que en la muestra de nanopartículas se encuentran desplazados en 2920 y 2849 cm^{-1} , respectivamente, y con menor intensidad. El pico intenso en 1706 cm^{-1} corresponde al estiramiento $\text{C}=\text{O}$ del grupo carboxilo, el cual presenta menos intensidad en la muestra de nanopartículas.

Para el caso del $\text{Fe}(\text{CO})_5$, la banda en 1976 cm^{-1} se atribuye al estiramiento asimétrico $\text{Fe}-\text{C}=\text{O}$, mientras que las bandas presentes en 634 y 612 cm^{-1} corresponden a la vibración dentro y fuera del plano del enlace $\text{Fe}-\text{C}=\text{O}$, respectivamente.

La banda que aparece a 1538 cm^{-1} corresponde a la vibración $\text{C}-\text{O}$, derivada de la conversión del grupo carboxilo en el ácido oleico al complejo COO^- con el cual se une al hierro.

Tabla 4.1. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanopartículas de óxido de hierro y sus precursores.

Fe(CO) ₅ (cm ⁻¹)	Ácido Oleico (cm ⁻¹)	NP's (cm ⁻¹)	Asignación
	2923	2920	Estiramiento asimétrico CH ₂
	2852	2849	Estiramiento simétrico CH ₂
1976			Estiramiento asimétrico Fe-C=O
	1706	1706	Estiramiento C=O
		1538	Vibración C-O
	1462		Deformación dentro del plano -O-H
	1411	1431	Doblamiento simétrico -CH ₃
	1282		Estiramiento C-O
	931		Estiramiento fuera del plano -O-H
	718		Balanceo -CH ₂ -
634			Vibración dentro del plano Fe-C=O
612			Vibración fuera del plano Fe-C=O

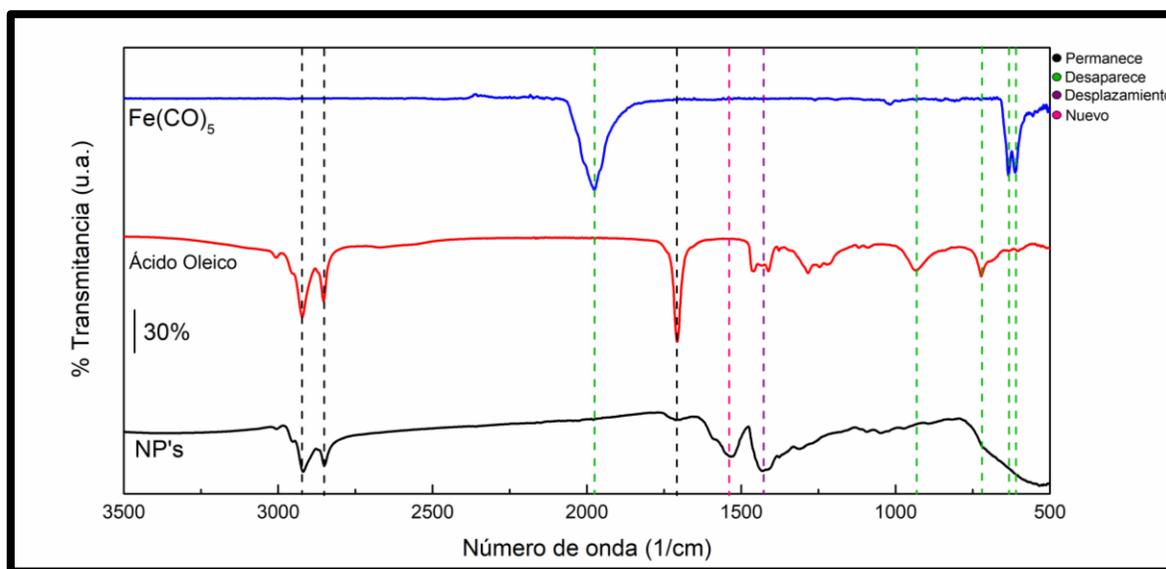


Figura 4.2. Comparación de espectros FT-IR para nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.

4.1.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las imágenes obtenidas por medio de microscopía electrónica de transmisión nos muestran una morfología tipo núcleo/coraza (Fig. 4.3), la cual probablemente sea resultado de la oxidación de la superficie de las nanopartículas

expuestas a oxígeno durante el proceso de lavado. Otra explicación a esta morfología pueda que se deba al gradiente de temperatura durante la reacción [59].

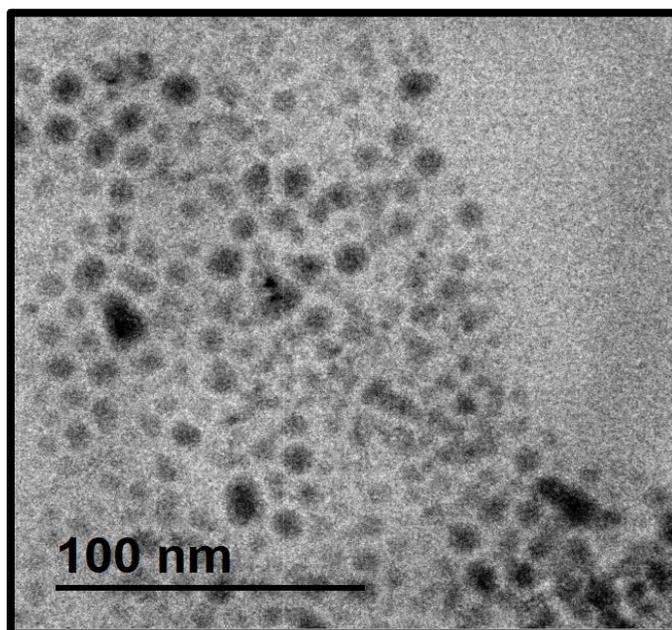


Figura 4.3. Nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.

4.2 Nanoemulsión

4.2.1 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Con el fin de obtener información relacionada al diámetro hidrodinámico que presenta la nanoemulsión, se realizó la caracterización de la misma mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS). Primeramente, se realizaron pruebas de concentración de surfactante, para conocer la cantidad apropiada a utilizar en las nanoemulsiones. Como se puede apreciar en la Figura 4.4, el tamaño adecuado se obtiene con una concentración final de SDS de 7 mM.

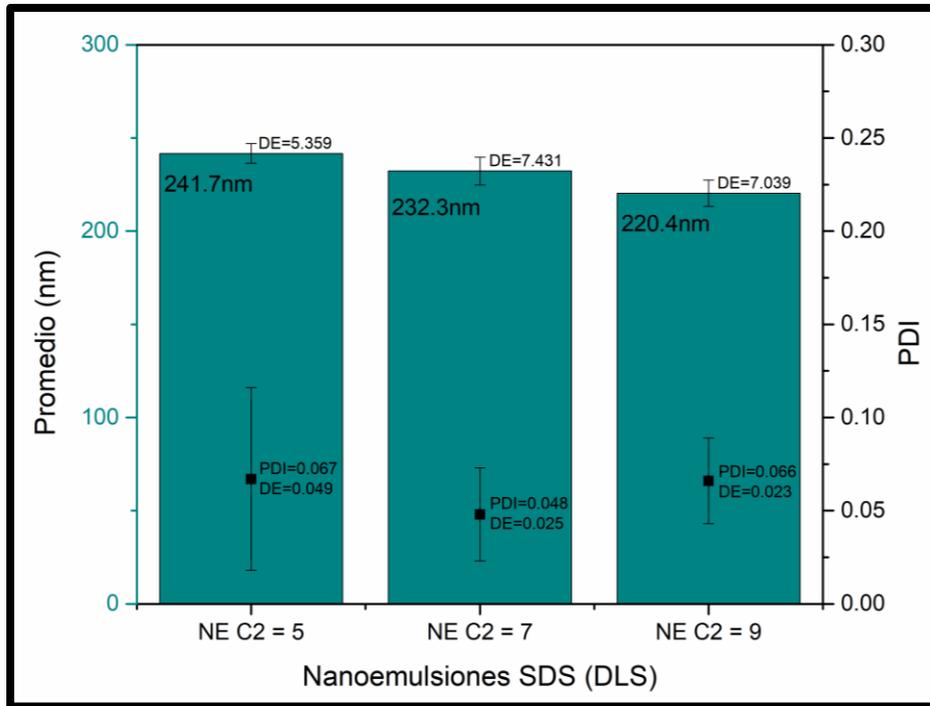


Figura 4.4. Tamaños de nanoemulsiones a diferentes concentraciones de SDS.

Así mismo, se realizaron mediciones de DLS para muestras que contenían o no nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza. En la Figura 4.5 podemos observar la comparativa en la que se obtuvieron como resultado tamaños promedio de 229.9 nm para las muestras sin nanopartículas, con un índice de polidispersidad de 0.146, mientras que las muestras con nanopartículas presentan un tamaño promedio de 223.6 nm con un índice de polidispersidad de 0.216.

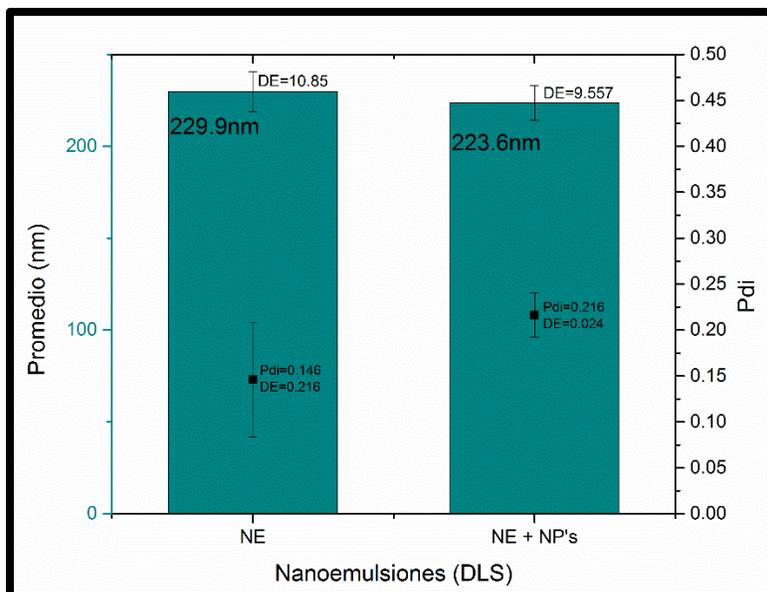


Figura 4.5. Comparativa de tamaños de nanoemulsiones.

4.2.2 Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z)

Para obtener información relacionada con la carga superficial que presenta la nanoemulsión, se realizó la técnica de caracterización de electroforesis con láser Doppler (potencial Z), donde se analizaron inicialmente las nanoemulsiones a diferentes concentraciones, prevaleciendo con mejores resultados la nanoemulsión con concentración final de 7 mM, presentando una carga de -45.4 mV (Figura 4.6). Es importante subrayar que las muestras que se utilizaron para realizar las pruebas de concentración no contenían nanopartículas. Después se procedió a analizar las muestras que contenían o no nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza, donde se obtuvieron resultados de -41.5 mV para ambos casos, dicha carga se cree que está relacionada al surfactante SDS, que recubre la superficie de nuestra nanoemulsión y que presenta una carga negativa. En la Figura 4.7 podemos observar el espectro de potencial Z que se obtuvo para las mismas.

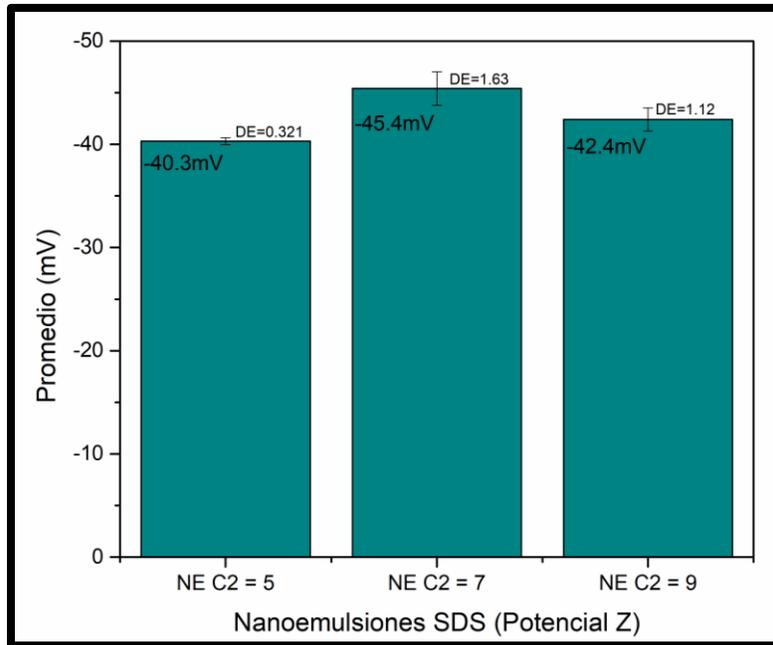


Figura 4.6. Cargas de nanoemulsiones a diferentes concentraciones.

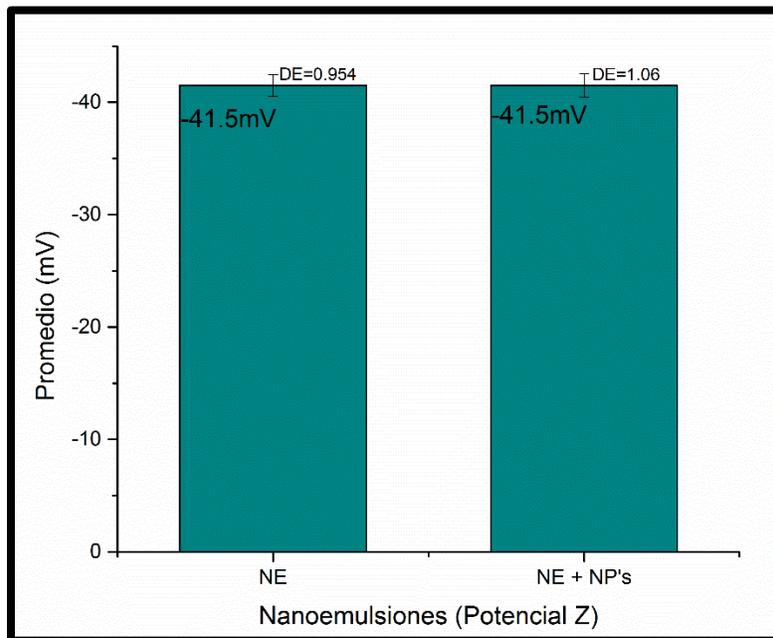


Figura 4.7. Comparativa de cargas en nanoemulsiones.

4.2.3 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Para obtener información relacionada a la estructura y composición química de la nanoemulsión con y sin nanopartículas, se realizó una técnica de caracterización a las mismas mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (Figura 4.7).

Para el caso del SDS, la banda observada en 3465 cm^{-1} corresponde al estiramiento O-H, mientras que en la muestra de nanoemulsión se observa una banda ancha alrededor de 3298 cm^{-1} . A 2956 cm^{-1} se localiza otro pico indicando la vibración de estiramiento asimétrico del metileno, y los picos asignados a los estiramientos asimétrico y simétrico de la cadena $-\text{CH}_2-$ se encontraron en 2916 y 2849 cm^{-1} , respectivamente, para el caso de la nanoemulsión, se encontraron los picos en 2919 y 2851 cm^{-1} . Las vibraciones de deformación asimétrica y simétrica del metileno fueron localizadas en 1468 y 1376 cm^{-1} , respectivamente. Los picos para el estiramiento asimétrico y simétrico del S=O del SDS se encontraron a 1215 y 1079 cm^{-1} respectivamente, a su vez, en la nanoemulsión los picos se encontraron desplazados en 1235 y 1067 cm^{-1} , respectivamente. El pico localizado en 993 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento asimétrico del enlace C-O-S, el cual para la nanoemulsión aparece desplazado a 986 cm^{-1} .

En el espectro del ácido oleico se presenta un pico en 931 cm^{-1} , mientras que en la nanoemulsión aparece desplazado a 906 cm^{-1} , el cual se asigna al estiramiento O-H fuera del plano. El pico localizado en 718 cm^{-1} en el ácido oleico corresponde al balanceo CH_2 , en la nanoemulsión se encuentra desplazado a 730 cm^{-1} .

Tabla 4.2. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanoemulsiones y sus precursores.

Ácido Oleico (cm^{-1})	SDS (cm^{-1})	NE (cm^{-1})	Asignación
	3465	3298	-O-H
2923	2956	2919	Estiramiento asimétrico CH_3
	2916		Estiramiento asimétrico CH_2
2852	2849	2851	Estiramiento simétrico CH_3
1706			Estiramiento C=O
	1468		Deformación asimétrica CH_3
1462			Deformación dentro del plano -O-H
1411			Doblamiento simétrico CH_3
1282			Estiramiento C-O
	1376		Deformación simétrica CH_3
	1215	1235	Estiramiento asimétrico S=O
	1079	1067	Estiramiento simétrico S=O
	993	986	Estiramiento asimétrico C-O-S
931		906	Estiramiento fuera del plano O-H
718		730	Balanceo CH_2

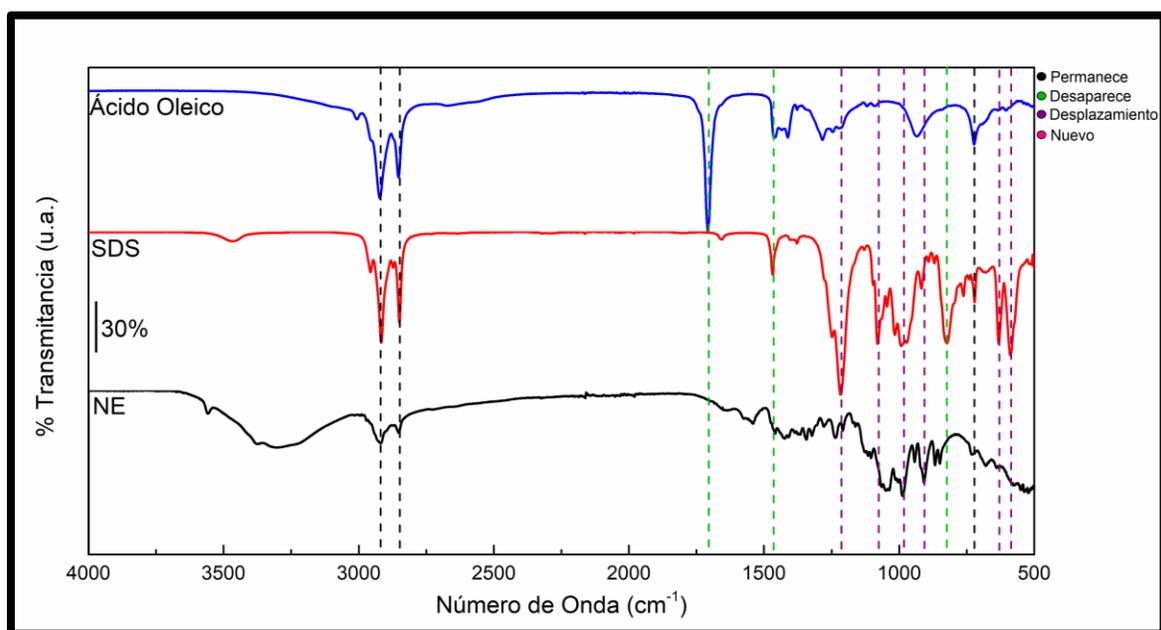


Figura 4.8. Espectro de FT-IR de nanoemulsión sin nanopartículas.

Así mismo, se analizó la muestra de nanoemulsión con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza, en donde se observamos los picos asignados a los estiramientos asimétrico y simétricos de los metiles en 2920 y 2852 cm^{-1} respectivamente. En 1006 cm^{-1} se encuentra el pico correspondiente al estiramiento C=O del grupo carboxilo de las nanopartículas. Se observaron desplazamientos en

los picos de los estiramientos asimétricos y simétricos S=O de la nanoemulsión con nanopartículas en 1215 y 1082 cm^{-1} respectivamente. Por último, se observó un desplazamiento del pico asignado al balanceo CH_2 en 721 cm^{-1} .

Tabla 4.3. . Asignación de espectroscopía FT-IR de nanoemulsiones con nanopartículas y sus precursores.

NP's (cm^{-1})	NE (cm^{-1})	NE + NP's (cm^{-1})	Asignación
	3298		-O-H
2920		2920	Estiramiento asimétrico CH_3
	2919		Estiramiento asimétrico CH_2
2849	2851	2852	Estiramiento simétrico CH_3
1706		1706	Estiramiento -C=O
1538			Vibración C-O
1431			Doblamiento simétrico - CH_3
	1235	1215	Estiramiento asimétrico -S=O
	1067	1082	Estiramiento simétrico -S=O
	986		Estiramiento asimétrico C-O-S
	906		Estiramiento fuera del plano O-H
	730	721	Balanceo - CH_2

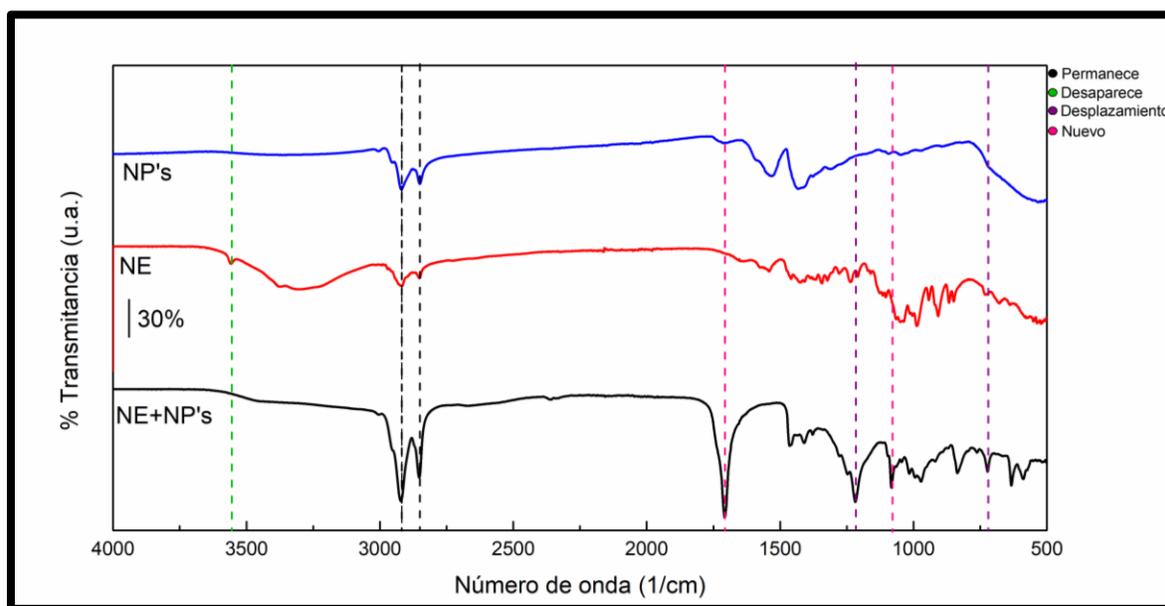


Figura 4.9. Espectro de FT-IR de nanoemulsión con nanopartículas.

4.3 Nanocápsulas

4.3.1 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Con el fin de obtener información relacionada al diámetro hidrodinámico que presenta la nanocápsula, se realizó la caracterización de la misma mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS). En la Figura 4.10 podemos observar la comparativa de resultados entre nanocápsulas que contenían o no nanopartículas, donde se obtuvo como resultado un tamaño promedio de 225.3 nm para las nanocápsulas sin nanopartículas, con un índice de polidispersidad de 0.222, mientras que las muestras que contenían nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza presentan un tamaño significativamente menor, de 185.3 nm, con un índice de polidispersidad de 0.150. La disminución de tamaño en las muestras que contienen nanopartículas es debido a las interacciones entre los elementos que componen la nanocápsula.

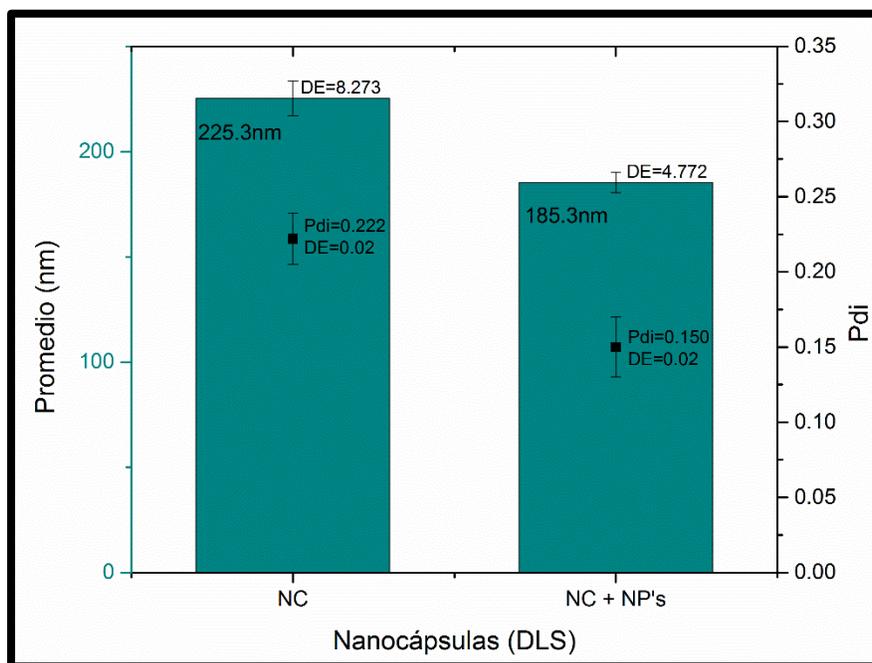


Figura 4.10. Comparativa de tamaños de nanocápsulas.

4.3.2 Electroforesis con láser Doppler (Potencial Z)

Para obtener información relacionada con la carga superficial que presenta la nanocápsula, se realizó una técnica de caracterización de electroforesis con láser Doppler (potencial Z), en donde obtuvimos resultados de 36.7 mV para las nanocápsulas sin nanopartículas, mientras que las nanocápsulas con nanopartículas presentan una carga de 36.2 mV. En la Figura 4.11 podemos observar las gráficas obtenidas, donde se tiene una carga positiva en ambos casos, esto debido a que las nanocápsulas se recubrieron con quitosana, la cual presenta una carga positiva.

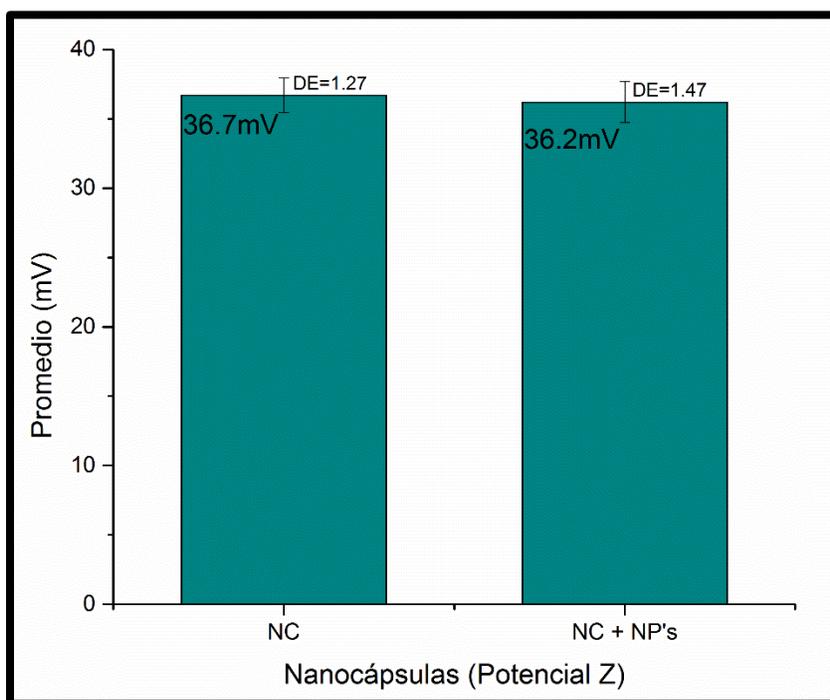


Figura 4.11. Comparativa de cargas de nanocápsulas.

4.3.3 Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM)

Con el fin de obtener información relacionada a la morfología que presenta la nanocápsula (con y sin nanopartículas) se realizó la caracterización de la misma mediante el método de microscopía electrónica de barrido y transmisión, en donde

se pudo observar que las nanocápsulas presentan una morfología principalmente esférica, con un tamaño promedio de 220 nm para las nanocápsulas sin nanopartículas, resultado que se adecúa a lo obtenido por medio de la técnica de DLS. Mientras que las nanocápsulas que contienen nanopartículas presentan un tamaño promedio de 290 nm, presumiblemente por el método de preparación de muestras para poder observarse en el microscopio. En las Figuras 4.12 y 4.13 se puede observar la morfología de las nanocápsulas.

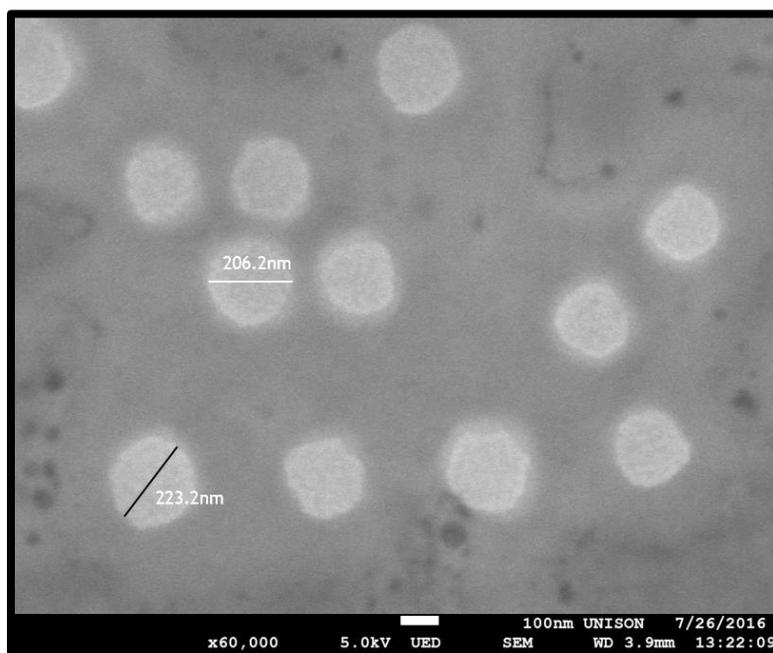


Figura 4.12. Micrografía de nanocápsulas sin nanopartículas.

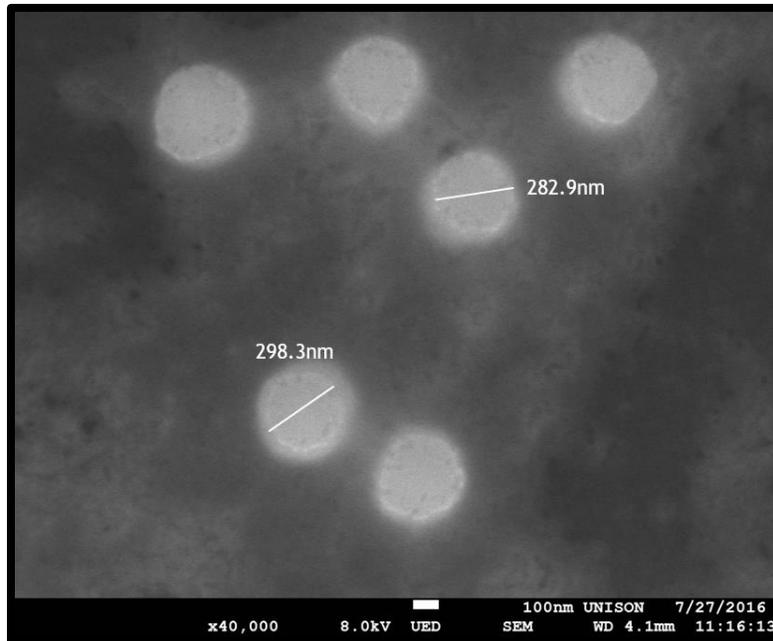


Figura 4.13. Micrografía de nanocápsulas con nanopartículas.

Por medio de microscopía electrónica de transmisión se pueden observar características que proponen la presencia de nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza dentro de la nanocápsula. Como se puede observar en la Figura 4.14, el área delimitada por el círculo muestra el posible encapsulamiento de las nanopartículas.

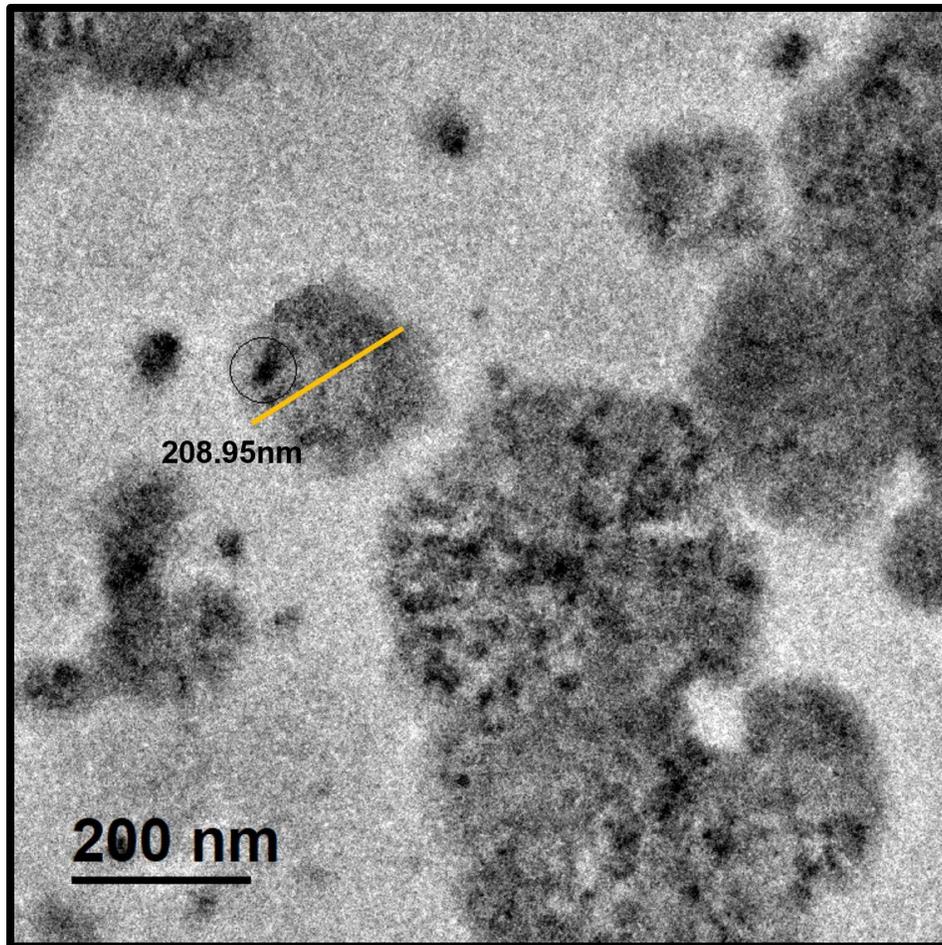


Figura 4.14. Micrografía de nanocápsulas con nanopartículas tipo núcleo/coraza.

4.3.4 Espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS)

El análisis de dispersión de energía del SEM demostró la composición química para la muestra de nanocápsulas con nanopartículas. En la Figura 4.15 se puede observar el espectro obtenido. Conteniendo oxígeno y hierro, pertenecientes al óxido de hierro y al carbono, correspondiente a la nanopartícula y al ambiente. El silicio, pertenece al porta muestras utilizado en el microscopio. En cuanto al cromo, puede deberse posiblemente a contaminación transferida por manipulación o generado por el detector del equipo.

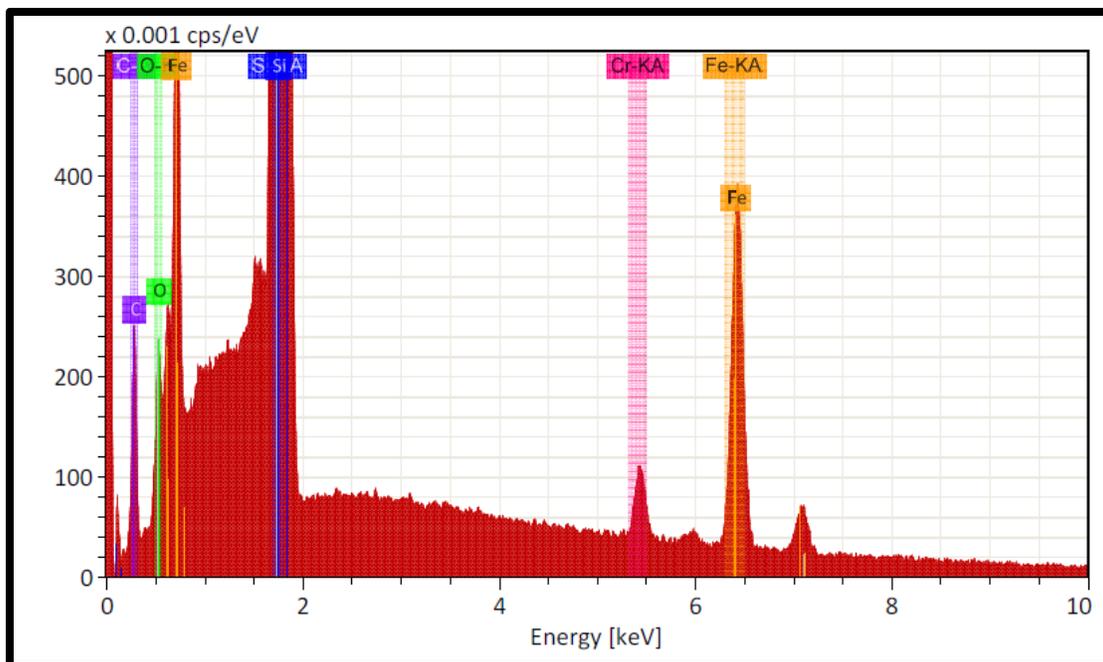


Figura 4.15. Espectro EDS para nanocápsulas con nanopartículas.

4.3.5 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Con el propósito de obtener información relacionada a la estructura y composición química de las nanocápsulas, se realizó una técnica de caracterización a las mismas por medio de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.

El espectro de FTIR de la quitosana de bajo peso molecular (Fig. 4.16) muestra sus picos característicos: estiramientos O-H alrededor de 3315 cm^{-1} , estiramientos asimétricos y simétricos del grupo metileno en 2916 y 2872 cm^{-1} respectivamente, estiramiento C-O de la amida I en 1652 cm^{-1} , estiramiento C=O en 1581 cm^{-1} al igual que en nuestra muestra y el estiramiento del enlace glucosídico C-O-C en 1026 cm^{-1} , el cual se encuentra desplazado en la muestra de nanocápsulas en 1023 cm^{-1} .

La muestra de nanocápsulas presenta una banda ancha alrededor de 3407 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones O-H, los estiramientos asimétricos y simétricos del grupo metileno se encuentran en la misma posición que los presentes en la nanoemulsión.

Tabla 4.4. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanocápsulas y sus precursores.

NE (cm^{-1})	Quitosana (cm^{-1})	NC (cm^{-1})	Asignación
3298	3315	3407	-O-H
2919		2920	Estiramiento asimétrico CH_3
	2916		Estiramiento asimétrico $-\text{C}-\text{H}_2-$
	2872		Estiramiento simétrico $-\text{CH}_2-$
2851		2851	Estiramiento simétrico $-\text{CH}_3$
		1706	Estiramiento grupo $-\text{C}=\text{O}$
	1652		Estiramiento C-O
	1581	1580	Estiramiento $\text{C}=\text{O}$
		1464	Vibración de tijera $-\text{CH}_2-$
1235		1216	Estiramiento asimétrico $-\text{S}=\text{O}$
	1147		Estiramiento C-O-C
1067			Estiramiento simétrico $-\text{S}=\text{O}$
	1026	1023	Estiramiento C-O-C
986			Estiramiento asimétrico C-O-S
906			Estiramiento fuera del plano -O-H
730			Balanceo $-\text{CH}_2-$

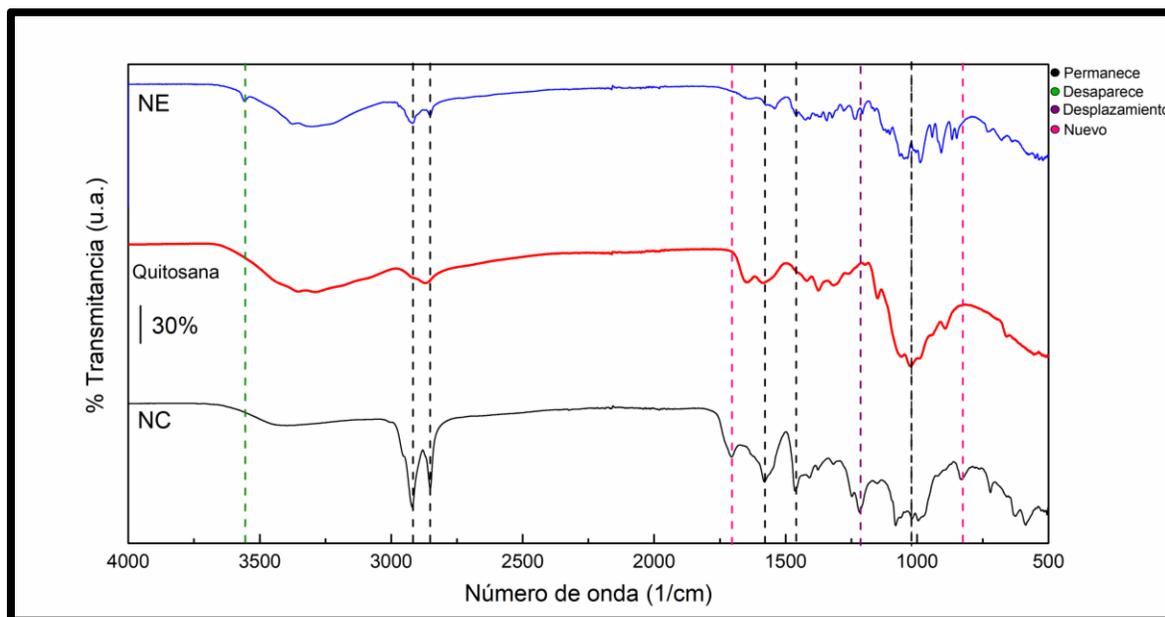


Figura 4.16. Espectro de FT-IR de nanocápsulas de SDS.

El espectro de nanocápsulas con nanopartículas (Fig. 4.17) muestra una banda ancha alrededor de 3305 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones -O-H. Los estiramientos asimétricos y simétricos del grupo metileno se localizan en 2920 y 2851 cm^{-1} respectivamente.

Tabla 4.5. Asignación de espectroscopía FT-IR de nanocápsulas con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza y sus precursores.

NP's (cm ⁻¹)	Quitosana (cm ⁻¹)	NC + NP's (cm ⁻¹)	Asignación
	3315	3305	O-H
2920		2920	Estiramiento asimétrico -CH ₃
	2916		Estiramiento asimétrico -CH ₂ -
	2872		Estiramiento simétrico -CH ₂ -
2849		2851	Estiramiento simétrico -CH ₃
			Estiramiento asimétrico Fe-C=O
1706			Estiramiento -C=O
1538		1550	Vibración C-O
			Deformación dentro del plano -O-H
1431			Doblamiento simétrico CH ₃
	1652		Estiramiento C-O
	1581		Estiramiento -C=O
	1147		Estiramiento C-O-C
	1066	1066	Estiramiento C-O
	1026		Estiramiento C-O-C

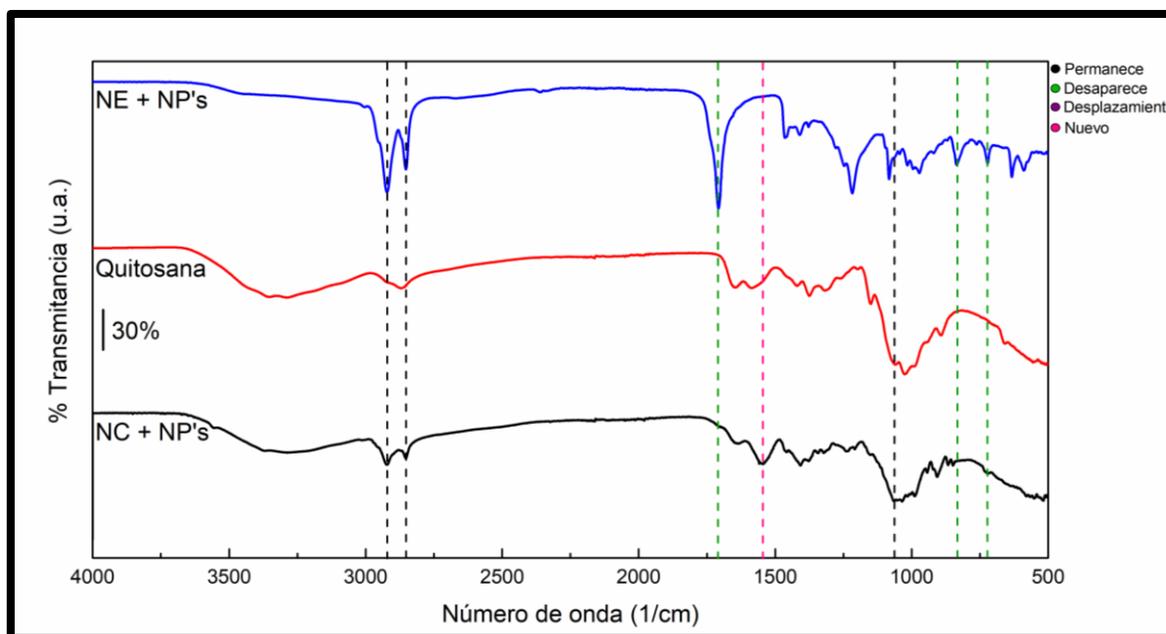


Figura 4.17. Espectro de FT-IR de nanocápsulas con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.4 Conclusiones

- Se sintetizaron nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza recubiertas con AO a partir de pentacarbonilo de hierro, aplicando sonicación de baja potencia.
- Se sintetizaron nanocápsulas de núcleo oleoso con AO y SDS como surfactante, utilizando la técnica de nanoprecipitación.
- Mediante la técnica de caracterización de potencial zeta, se encontró que las nanocápsulas son capaces de ser recubiertas con quitosana, ya que presentan una carga positiva después de añadir la disolución de quitosana a la emulsión de carga negativa.
- A través de la caracterización en el microscopio electrónico de barrido (SEM), se encontró la existencia de nanocápsulas y el posible encapsulamiento de las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.
- La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier nos indica que las nanopartículas fueron recubiertas por el AO, las nanoemulsiones están compuestas por SDS y AO, y las nanocápsulas contienen a su vez nanoemulsión y quitosana.
- Por medio de la caracterización en el microscopio electrónico de transmisión (TEM), se comprobó el encapsulamiento de las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza lo cual se corroboró mediante espectroscopía de energía dispersa de rayos-X (EDS).

En base a estos resultados, podemos concluir que la metodología experimental nos permite obtener una nanocápsula compuesta por un núcleo oleoso con nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza, así como un recubrimiento polimérico de quitosana. Lo cual es comprobable por medio de las caracterizaciones antes mencionadas.

4.5 Recomendaciones

- Realizar estudios en equipo de RMN (Resonancia Magnética Nuclear) para corroborar su potencial como medio de contraste y agente hipertérmico.
- Realizar estudios de toxicidad en las nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo/coraza.
- Medir la propiedad magnética de las nanopartículas con el magnetómetro SQUID (Superconducting Quantum Interference Devices).

REFERENCIAS

- [1] M. Faraji, Y. Yamini, and M. Razaee, *Magnetic Nanoparticles*, vol. 46, no. 1. 2010.
- [2] Y. Kotsuchibashi and Y. Nakagawa, *Biomaterials Nanoarchitectonics*. 2016.
- [3] H. N. Banerjee and M. Verma, "Application of Nanotechnology in Cancer," *Res. J. Pharm. Technol.*, vol. 5, no. 9, pp. 1161–1167, 2012.
- [4] E. L. Wolf, E. L. Wolf, and E. L. Wolf, *Nanophysics and Nanotechnology An Introduction to Modern Concepts in Nanoscience Second , Updated and Enlarged Edition*. 2006.
- [5] J. Hormes and C. Leuschner, *Nanofabrication Towards Biomedical Applications*. 2005.
- [6] A. P. F. Tiwari, Ashutosh and Turner, *Biosensors Nanotechnology*. 2014.
- [7] J. Melorose, R. Perroy, and S. Careas, *Advanced Biomaterials and Biodevices*, vol. 1. 2015.
- [8] D. Shi, Z. Guo, and N. Bedford, "Nanomaterials and Devices," *Nanomater. Devices*, pp. 49–82, 2015.
- [9] *NANOPARTICULATE MATERIALS Synthesis, Characterization, and Processing* KATHY. .
- [10] C. A. Mirkin, *Single Molecule Detection in Solution Biomineralization – From Biology to Biotechnology and Medical Application*. 2004.
- [11] A. K. Mishra, *Nanomedicine for Drug Delivery and Therapeutics*. 2013.
- [12] A. S. Hoffman and D. Sc, *Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine*. .
- [13] E. M. Múzquiz-Ramos, V. Guerrero-Chávez, B. I. Macías-Martínez, C. M. López-Badillo, and L. A. García-Cerda, "Synthesis and characterization of maghemite nanoparticles for hyperthermia applications," *Ceram. Int.*, vol. 41, no. 1, pp. 397–402, 2014.
- [14] C. J. Serna and M. P. Morales, *Maghemite (γ -Fe₂O₃): A Versatile Magnetic Colloidal Material*, vol. 27, no. 11. 1988.
- [15] R. Y. Hong *et al.*, "Preparation, characterization and application of Fe₃O₄/ZnO core/shell magnetic nanoparticles," *Mater. Res. Bull.*, vol. 43, no. 8–9, pp. 2457–2468, 2008.
- [16] J. Sun *et al.*, "Synthesis and characterization of biocompatible Fe₃O₄ nanoparticles," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 80, no. 2, pp. 333–341, 2007.

- [17] A. Lindemann, R. Pries, K. Ludtke-Buzug, and B. Wollenberg, "Biological Properties of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 51, no. 2, pp. 1–4, 2015.
- [18] X. Ren, H. Chen, V. Yang, and D. Sun, "Iron oxide nanoparticle-based theranostics for cancer imaging and therapy," vol. 8, no. 3, pp. 253–264, 2014.
- [19] S. Laurent *et al.*, "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications (vol 108, pg 2064, 2008)," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 6, pp. 2064–2110, 2008.
- [20] *Nanomaterials in Drug Delivery, Imaging, and Tissue Engineering*. 2013.
- [21] J. Park *et al.*, "Polymer–iron oxide composite nanoparticles for EPR-independent drug delivery," *Biomaterials*, vol. 101, pp. 285–295, 2016.
- [22] P. Kothamasu, H. Kanumur, N. Ravur, C. Maddu, R. Parasuramrajam, and S. Thangavel, "Nanocapsules: the weapons for novel drug delivery systems.," *Bioimpacts*, vol. 2, no. 2, pp. 71–81, 2012.
- [23] Y. Wang, R. N. Dave, and R. Pfeffer, "Polymer coating/encapsulation of nanoparticles using a supercritical anti-solvent process," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 28, no. 1, pp. 85–99, 2004.
- [24] C. E. Mora-Huertas, H. Fessi, and A. Elaissari, "Polymer-based nanocapsules for drug delivery," *Int. J. Pharm.*, vol. 385, no. 1–2, pp. 113–142, 2010.
- [25] L. Spornath and S. Magdassi, "Polyurea nanocapsules obtained from nano-emulsions prepared by the phase inversion temperature method.," *Polym. Adv. Technol.*, vol. 22, no. 12, pp. 2469–2473, 2011.
- [26] M. V. Suyetin and A. V. Vakhrushev, "Temperature-sensitive nanocapsule for drug delivery," *Micro Nano Lett.*, vol. 6, no. 1, p. 39, 2011.
- [27] S. D. Kong, C. Choi, J. Khamwannah, and S. Jin, "Magnetically Vectored Delivery of Cancer Drug Using Remotely On–Off Switchable NanoCapsules," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 49, no. 1, pp. 349–352, 2013.
- [28] K. Lu, *Nanoparticulate Materials: Synthesis, Characterization, and Processing*. 2013.
- [29] V. Santhanam, "Metallic nanoparticles : Building blocks for nanotechnology," pp. 2–14, 2011.
- [30] F. Acs, S. Series, and A. C. Society, "Nanoparticles : Synthesis , Stabilization , Passivation , and Functionalization," 2008.
- [31] S. F. Hasany, I. Ahmed, R. J, and A. Rehman, "Systematic Review of the

- Preparation Techniques of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles,” *Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 2, no. 6, pp. 148–158, 2012.
- [32] H. C. Zeng, H. Meier, M. Lehmann, and J. Urban, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 10, no. 1. 2007.
- [33] D. Chen and R. Xu, “Hydrothermal synthesis and characterization of nanocrystalline Fe₃O₄ powders,” *Mater. Res. Bull.*, vol. 33, no. 7, pp. 1015–1021, 1998.
- [34] H. Zhu, A. D. Yang, and A. L. Zhu, “A facile two-step hydrothermal route for the synthesis of γ -Fe₂O₃ nanocrystals and their magnetic properties,” pp. 9205–9209, 2007.
- [35] T. Hyeon, Su Seong Lee, J. Park, Y. Chung, and Hyon Bin Na, “Synthesis of highly crystalline and monodisperse maghemite nanocrystallites without a size-selection process,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 123, no. 51, pp. 12798–12801, 2001.
- [36] K. Woo, J. Hong, and J. P. Ahn, “Synthesis and surface modification of hydrophobic magnetite to processible magnetite@silica-propylamine,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 293, no. 1, pp. 177–181, 2005.
- [37] J.-G. J.-H. J.-G. J. J.-H. Park *et al.*, “One-Nanometer-Scale Size-Controlled Synthesis of Monodisperse Magnetic Iron Oxide Nanoparticles,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 117, no. 19, pp. 2932–2937, 2005.
- [38] R. Abu-Much, U. Meridor, A. Frydman, and A. Gedanken, “Formation of a three-dimensional microstructure of Fe₃O₄-Poly(vinyl alcohol) composite by evaporating the hydrosol under a magnetic field,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 16, pp. 8194–8203, 2006.
- [39] Bayer Corporation, “Operator’s Manual,” no. 96400, 2015.
- [40] N. W. Bolden, V. K. Rangari, S. Jeelani, S. Boyoglu, and S. R. Singh, “Synthesis and Evaluation of Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications,” *J. Nanoparticles*, vol. 2013, pp. 1–9, 2013.
- [41] J. Pinkas, V. Reichlova, R. Zboril, Z. Moravec, P. Bezdicka, and J. Matejkova, “Sonochemical synthesis of amorphous nanoscopic iron(III) oxide from Fe(acac)₃,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 15, no. 3, pp. 257–264, 2008.
- [42] G. Y. Y. S P Gubin, Yu A Koksharov, G B Khomutov, “Magnetic nanoparticles: preparation, structure and properties,” *Russ. Chem. Rev.*, no. August 2017, 2005.
- [43] M. M. Rahman, S. B. Khan, M. F. Aslam Jamal, and A. M. Aisiri, “Iron Oxide Nanoparticles,” *Nanomaterials*, no. December, pp. 41–66, 2011.
- [44] R. M. Cornell and U. Schwertmann, “Introduction to the Iron Oxides,” *Iron Oxides*,

pp. 1–7, 2004.

- [45] R. C. Monserrat, “Óxidos De Metales Dúctiles Impregnados Sobre Magnetita: Nuevos Catalizadores En Síntesis Orgánica,” pp. 1–309, 2013.
- [46] L. Blaney, “Magnetite (Fe₃O₄): Properties, Synthesis, and Applications,” *Lehigh Rev.*, vol. 3, no. 3, pp. 208–211, 2007.
- [47] G. Bate, “Magnetic recording materials since 1975,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 100, no. 1–3, pp. 413–424, 1991.
- [48] R. Weissleder, G. Elizondo, J. Wittenberg, C. A. Rabito, H. H. Bengel, and L. Josephson, “Ultrasml superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging.,” *Radiology*, vol. 175, no. 2, pp. 489–493, 1990.
- [49] L. B. Bangs, “New developments in particle-based immunoassays: introduction,” vol. 68, no. 10, pp. 1873–1879, 1996.
- [50] L. L. Beecroft and C. K. Ober, “Nanocomposite Materials for Optical Applications,” *Chem. Mater.*, vol. 9, no. 6, pp. 1302–1317, 1997.
- [51] M. A. López-Quintela and J. Rivas, “Nanoscale magnetic particles: Synthesis, structure and dynamics,” *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 1, no. 6, pp. 806–819, 1996.
- [52] A. K. Gupta and M. Gupta, “Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 18, pp. 3995–4021, 2005.
- [53] R. a Petros and J. M. DeSimone, “Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 9, no. 8, pp. 615–627, 2010.
- [54] D. R. Askeland, “Ciencia e Ingeniería de los Materiales,” vol. 4ta Edició, 2004.
- [55] A. Zetina M. and A. Zetina C., *Electrónica básica*. 2004.
- [56] D. William and J. Callister, “Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales,” *Reverté*,. p. 804, 1995.
- [57] Jasmin *et al.*, “Optimized labeling of bone marrow mesenchymal cells with superparamagnetic iron oxide nanoparticles and in vivo visualization by magnetic resonance imaging.,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 9, no. 1, p. 4, 2011.
- [58] H. S. Kim, S. Y. Oh, H. J. Joo, K.-R. Son, I.-C. Song, and W. K. Moon, “The effects of clinically used MRI contrast agents on the biological properties of human mesenchymal stem cells.,” *NMR Biomed.*, vol. 23, no. 5, pp. 514–522, 2010.
- [59] N. M. Dieguez-Armenta and P. Zavala-Rivera, “NANOCOMPÓSITOS DE

CEMENTITA/ÓXIDO DE HIERRO TIPO NÚCLEO/CORAZA PREPARADOS POR SONOSÍNTESIS CON POTENCIALES APLICACIONES BIOMÉDICAS,” 2016.

- [60] S. Kauffman, “The ensemble approach to understand genetic regulatory networks,” *Phys. A Stat. Mech. its Appl.*, vol. 340, no. 4 SPEC. ISS., pp. 733–740, 2004.
- [61] J. W. Steed, J. L. Atwood, and P. A. Gale, *Definition and Emergence of Supramolecular Chemistry*. 2012.
- [62] R. W. Kelsall, I. W. Hamley, and M. Geoghegan, *Nanoscale Science and Technology*. 2005.
- [63] N. D. Denkov and S. Tcholakova, “Surfactants – classification , Surfactants features and and applications applications features,” pp. 12–13, 2010.
- [64] A. Bhatia, R. Kumar, and O. P. Katare, “Tamoxifen in topical liposomes: Development, characterization and in-vitro evaluation,” *J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 7, no. 2, pp. 252–259, 2004.
- [65] H. E. Hofland, J. A. Bouwstra, H. E. Boddé, F. Spies, and H. E. Junginger, “Interactions between liposomes and human stratum corneum in vitro: freeze fracture electron microscopical visualization and small angle X-ray scattering studies.,” *Br. J. Dermatol.*, vol. 132, no. 6, pp. 853–66, 1995.
- [66] S. Jain, D. Mishra, A. Kuksal, and A. K. Tiwary, “Vesicular Approach for Drug Delivery into or Across the Skin,” pp. 1–29, 2014.
- [67] C. D. Pirvu, C. Hlevca, A. Ortan, and R. Prisada, “Elastic vesicles as drugs carriers through the skin,” *Farmacía*, vol. 58, no. 2, pp. 128–135, 2010.
- [68] A. S. Porfire, A. E. Pârvu, D. Daicoviciu, and S. E. Leucuța, “Evaluation of antiinflammatory activity of liposome encapsulated superoxide dismutase in rats peritonitis,” *Farmacía*, vol. 57, no. 4, pp. 412–423, 2009.
- [69] S. Jain, R. Sapre, A. K. Tiwary, and N. K. Jain, “Proultraflexible lipid vesicles for effective transdermal delivery of levonorgestrel: development, characterization, and performance evaluation.,” *AAPS PharmSciTech*, vol. 6, no. 3, pp. E513-22, 2005.
- [70] Y. D. Reddy, A. B. Sravani, V. Ravisankar, P. R. Prakash, and Y. S. R. Reddy, “Transferosomes a novel vesicular carrier for transdermal drug delivery system,” *J. Innov. Pharm. Biol. Sci.*, vol. 2, no. 2, pp. 193–208, 2015.
- [71] P. Sudheer, K. Kar, and C. Saha, “Microemulsion—a Versatile Dimension of Novel Drug Delivery System,” *RGUHS J. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 21–31, 2015.
- [72] C. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, “Nano-emulsions,” *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 10, no. 3–4, pp. 102–110, 2005.

- [73] B. V. N. Nagavarma, H. K. S. Yadav, A. Ayaz, L. S. Vasudha, and H. G. Shivakumar, "Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles- A review," *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 5, no. SUPPL. 3, pp. 16–23, 2012.
- [74] U. Bilati, E. Allémann, and E. Doelker, "Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 24, no. 1, pp. 67–75, 2005.
- [75] A. Nel, "Toxic Potential of Materials at the Nanolevel," *Science (80-.)*, vol. 311, no. 5761, pp. 622–627, 2006.
- [76] G. Oberdörster *et al.*, "Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy.," *Part. Fibre Toxicol.*, vol. 2, no. 1, p. 8, 2005.
- [77] A. A. Vertegel, R. W. Siegel, and J. S. Dordick, "Silica nanoparticle size influences the structure and enzymatic activity of adsorbed lysozyme," *Langmuir*, vol. 20, no. 16, pp. 6800–6807, 2004.
- [78] B. I. Lee, *Chemical Processing Ceramics*. 2005.
- [79] B. Gilbert, "Nanoparticles: Strained and Stiff," *Science (80-.)*, vol. 305, no. 5684, pp. 651–654, 2004.
- [80] Y. Min, M. Akbulut, K. Kristiansen, Y. Golan, and J. Israelachvili, "The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly," *Nat. Mater.*, vol. 7, no. 7, pp. 527–538, 2008.
- [81] A. E. Nel *et al.*, "Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface," *Nat. Mater.*, vol. 8, no. 7, pp. 543–557, 2009.
- [82] A. Regiel, A. Kyzioł, and M. Arruebo, "Chitosan-silver nanocomposites – modern antibacterial materials," *Chemik*, vol. 67, no. 8, pp. 683–692, 2013.
- [83] J. B. Park and R. S. Lakes, *Biomaterials: An Introduction*. 1992.
- [84] L. Whelan, *Oleic Acid: Production, uses and potential health effects*. 2014.
- [85] D. E. Garrett, "Sodium sulfate handbook of deposits, processing, properties, and use ," p. 365, 2001.
- [86] DrugBank, "Sodium Dodecyl Sulfate," no. 1, pp. 1–8, 2014.
- [87] K. Okuyama, K. Noguchi, M. Kanenari, T. Egawa, K. Osawa, and K. Ogawa, "Structural diversity of chitosan and its complexes," *Carbohydr. Polym.*, vol. 41, no. 3, pp. 237–248, 2000.
- [88] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: Properties and applications," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 31, no. 7, pp. 603–632, 2006.

- [89] N. Acosta, C. Jitinezt, V. Boraut, and A. Heras, "Extraction and Characterization of Chitin From Crustaceans," *Biomass and Bioenergy*, vol. 5, no. 2, pp. 145–153, 1993.
- [90] I. Aranaz *et al.*, "Functional Characterization of Chitin and Chitosan," *Curr. Chem. Biol.*, vol. 3, no. May, pp. 203–230, 2009.
- [91] M. N. V. R. KUMAR, R. A. A. MUZZARELLI, C. MUZZARELLI, H. SASHIWA, and A. J. DOMB, "Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives," vol. 296, no. 2004, p. 6084, 2005.
- [92] L. Illum, "Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient," *Pharm. Res.*, vol. 15, no. 9, pp. 1326–1331, 1998.
- [93] S. Hirano, H. Seino, Y. Akiyama, and I. Nonaka, "Chitosan: A Biocompatible Material for Oral and Intravenous Administrations," *Prog. Biomed. Polym.*, pp. 283–290, 1990.
- [94] E. Agulló, R. Mato, and F. Goycoolea, "Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones.," *Programa CYTED, CIAD, AC, Fondo Editor. la Pontif. Univ. Católica del Perú, Perú.*, no. January 2016, pp. 101–154, 2004.
- [95] C. López Dora and A. C. Rodríguez, "Química Coloidal," p. 78, 2014.
- [96] Malvern Instruments, "Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes," [Http://Www.Malvern.Com/En/Products/Technology/Dynamic-Light-Scattering/](http://www.malvern.com/en/products/technology/dynamic-light-scattering/), pp. 1–8, 2000.
- [97] L. Wu, J. Zhang, and W. Watanabe, "Physical and chemical stability of drug nanoparticles," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 63, no. 6, pp. 456–469, 2011.
- [98] O. Ersen *et al.*, "Potencial Zeta: Un Curso Completo en 5 Minutos," *J. Magn. Reson.*, vol. 9, no. 12, pp. 1088–1098, 2013.
- [99] Iesmat, "Iesmat Malvern Laser Doppler Velocimetry," p. 5, 2011.
- [100] R. Gómez and R. Murillo, "ESPECTROSCOPIA INFRARROJA," pp. 1–14, 2000.
- [101] B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy-Methods and Applications*. 1994.
- [102] B. J. Inkson, *Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization*. Elsevier Ltd, 2016.