



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabajo de Tesis Doctoral

***Desarrollo de Nanopartículas Magnéticas
con Aplicaciones en Medioambiente y
Nanomedicina***

Tesista: Ing. Marcos Emanuel Peralta

Directores: Dr. Luciano Carlos y Dr. Daniel Osvaldo Mártire

Año: 2021



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

El presente trabajo de tesis, para acceder al grado académico de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas - Área Química de la Universidad Nacional de La Plata, se ejecutó principalmente en el Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías Alternativas (PROBIEN, CONICET-UNCo) de la ciudad de Neuquén y en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA, CONICET-UNLP) de la ciudad de La Plata. Asimismo, se realizaron ensayos en el Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC, CONICET-UNCo), en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Comahue y dos estadías en el Departamento de Química de la Universidad de Torino en Italia. El trabajo se realizó bajo la supervisión del Prof. Dr. Luciano Carlos y el Prof. Dr. Daniel O. Mártire.

*Ing. Marcos Emanuel Peralta
marcos.e.per@gmail.com*

“Nada en la vida es para ser temido, solo es para ser entendido. Ahora es el momento de entender más, para que podamos temer menos”

Marie Skłodowska-Curie

RESUMEN

El desarrollo de la nanotecnología ha permitido en los últimos años un gran avance en el diseño de nanomateriales con propiedades excepcionales para aplicaciones en múltiples áreas. Las nanopartículas de ciertos óxidos de hierro, como magnetita, poseen un comportamiento superparamagnético, lo que les permite ser guiadas fácilmente mediante un campo magnético externo. El recubrimiento de estas partículas magnéticas con sílice mesoporosa las protege de la oxidación, proporciona características texturales destacadas y una química superficial versátil. Esta tesis doctoral está enfocada en el desarrollo de nanomateriales magnéticos de óxido de hierro y sílice modificada, para su potencial aplicación como nanotransportadores para la administración controlada de fármacos, por un lado, y como nanoadsorbentes de contaminantes orgánicos de medios acuosos, por el otro.

Los nanomateriales magnéticos están siendo aplicados ampliamente en el desarrollo de nuevas estrategias de diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Una dificultad propia de la terapia farmacológica general es su falta de precisión hacia un sitio patológico específico, lo que puede ocasionar toxicidad, un uso excesivo de fármaco o su degradación prematura. En este trabajo se plantea la administración controlada de fármacos mediante el uso de nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa funcionalizada con un copolímero termosensible. Para esto, se sintetizaron nanopartículas de magnetita recubiertas con sílice mesoporosa con estructura *core-shell* (MMS) y se ancló el polímero poli[N-isopropilacrilamida-co-3-(trimetoxisilil)propilmetacrilato] (PNIPAM-co-MPS) a su superficie. La unión covalente y polimerización sobre las nanopartículas se realizó con un procedimiento en un solo paso. En el nanotransportador híbrido obtenido MMS-PNIPAM-co-MPS, el copolímero fue anclado exitosamente principalmente en superficie de la sílice, dejando los mesoporos libres para poder almacenar sustancias terapéuticas. La caracterización fisicoquímica de MMS-PNIPAM-co-MPS reveló destacados valores de magnetización de saturación, área superficial específica y volumen de poro. Se evaluó la eficiencia de MMS-PNIPAM-co-MPS como sistema de administración de fármacos controlada por la temperatura, mediante ensayos de liberación *in vitro* usando ibuprofeno como fármaco modelo. Estos ensayos se realizaron por debajo (20 °C) y por encima (40 °C) de la temperatura de disolución crítica inferior (LCST) del copolímero. A bajas temperaturas las cadenas del copolímero se encuentran en su forma hidrofílica extendida, bloqueando los poros; mientras que al superar la LCST se contraen a su forma globular hidrofóbica, dejando los mesoporos abiertos y permitiendo la liberación del fármaco almacenado. Efectivamente, los ensayos mostraron una considerable diferencia (80 %) en la liberación de ibuprofeno entre estas dos temperaturas, y una rápida y completa liberación del fármaco a 40 °C. Estos resultados sugieren que el copolímero termosensible actúa efectivamente como “compuerta” de los mesoporos, para la liberación controlada por la temperatura del fármaco almacenado dentro de los mesoporos. Asimismo, ensayos de citotoxicidad *in vitro* con células HepG2, expusieron una baja toxicidad del nanotransportador híbrido.

Por otro lado, la presencia de contaminantes orgánicos en aguas, como hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) y contaminantes emergentes (CECs) como ciertos fármacos, constituyen un riesgo para los humanos y el ecosistema. Muchos de estos contaminantes orgánicos no son removidos eficientemente en las plantas de tratamiento, por lo que aún se necesitan soluciones efectivas. En este trabajo se propone la utilización de nanopartículas

magnéticas recubiertas con una capa híbrida de sílice funcionalizada con grupos orgánicos como adsorbente para la eliminación de contaminantes en aguas. Con este propósito, se recubrieron nanopartículas de magnetita con una capa híbrida de sílice usando tetraetoxisilano (TEOS) como precursor de sílice y cloruro de 3-(trimetoxisilil)propilododecil dimetilamonio (TPODAC) como agente director de estructura. Las micelas de este surfactante permanecen confinadas de modo covalente dentro de los mesoporos de la sílice, confiriéndole carácter hidrofóbico. Este material híbrido (MMST) así preparado se modificó luego con trimetoxifenilsilano, obteniéndose un nanoadsorbente funcionalizado con grupos aromáticos (MMST-Ph). Ambos materiales se caracterizaron exhaustivamente con diversas técnicas fisicoquímicas y se realizaron experimentos de adsorción tipo *batch* en medios acuosos con un contaminante individual y con mezclas de contaminantes. Ambos materiales presentaron características superparamagnéticas y pudieron ser separados del medio acuoso fácilmente con un imán. MMST-Ph demostró ser más eficiente en la remoción de PAHs e hidrocarburos alifáticos. La presencia de las cadenas carbonadas y los restos de fenilo unidos a la red mesoestructurada de sílice resultó ser clave en la obtención de altas capacidades de adsorción de PAHs en medios acuosos. En el caso de CECs se testearon ibuprofeno, diclofenac y carbamazepina. Aquí, el adsorbente MMST logró mayores capacidades de adsorción, aunque MMST-Ph obtuvo elevada remoción para ibuprofeno y diclofenac. Los experimentos de regeneración y reutilización mostraron que MMST-Ph puede ser reutilizado en ocho ciclos sin pérdida de capacidad de retención de antraceno. Para el caso de MMST, se observó una caída del 42% en la capacidad de adsorción de ibuprofeno en el segundo ciclo, mientras que en los siguientes siete ciclos la capacidad de remoción se mantuvo constante. Ambos nanoadsorbentes exhibieron capacidades de remoción superiores o comparables a la bibliografía y pudieron usarse para la adsorción de contaminantes orgánicos de diversas familias.

AGRADECIMIENTOS

“Uno, recuerda mirar hacia arriba a las estrellas y no hacia abajo a tus pies. Dos, nunca dejes de trabajar. El trabajo te da significado y propósito, y la vida está vacía sin ellos. Tres, si eres lo suficientemente afortunado para encontrar el amor, recuerda que está allí y no lo desperdicies”

Stephen Hawking

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar el escrito de esta tesis doctoral, siento de algún modo el cierre de una etapa. El doctorado requirió de un gran trabajo personal, pero no cabe duda que se consiguió por un enorme esfuerzo colectivo. Muchas personas me ayudaron con el desarrollo de este trabajo, ya sea por su contribución académica, humana o ambas. Soy realmente muy afortunado al haber contado con ellas, es por esto que las quiero reconocer y agradecer sinceramente.

En primer lugar, agradecerle a mi director, Luciano Carlos, por su gran calidad humana, generosidad y guía constante. Destaco su visión de la actividad científica, siempre tratando de mejorar, de ver más allá, de ampliar horizontes. Con esa perspectiva, consiguió todos los recursos a su alcance para que logremos hacer el mejor trabajo posible. Aprecio la libertad que me dio para trabajar, para cambiar el rumbo cuando lo consideré necesario y para darle mi impronta a la tesis. Lo que más valoro es que conté siempre con su respaldo y su consejo, priorizando lo humano sobre lo académico. Un director con todas las letras.

A Daniel Mártire, mi director platense, por su trato siempre cálido, su rápida respuesta a pesar de la distancia y su mirada detallista del trabajo. Sus aportes a la tesis fueron precisos y valiosos, donde parecía que no había nada más ver, encontraba algo. Siempre predispuesto a ayudar con una eficiencia impecable. Un verdadero maestro.

A Eugenia Parolo, mi co-directora de beca, por su trato excelente, generosidad y guía. Con ella comencé en la actividad académica, fue la primera que me hizo conocer la investigación como vocación y profesión, es algo que siempre voy a agradecer. Su forma de trabajo siempre organizada, experiencia profesional y su gestión para conseguir los recursos necesarios, fueron enormes contribuciones a este trabajo.

Especialmente a mis compañeros del trabajo y amigos fuera de él: Eugenia Roca Jalil, Florencia Toschi y Ale Koffman. A Eugenia por escucharme, por las charlas sobre literalmente todo, por su sensibilidad, por su nobleza, su integridad y por su aguante siempre que lo necesité. A Flor por las charlas, las risas cómplices, su positividad contagiosa, siempre poniendo la mejor onda. A Ale por las charlas, los juegos de mesa, las caminatas y su mirada analítica que me ayudó a comprender mejor muchas cosas.

A mis compañeras y compañeros de Laboratorio y del Instituto, por generar un ambiente de trabajo alegre y ameno. A Miria, por su calidez, apoyo a las nuevas generaciones y por darnos un lugar como grupo de trabajo. A les chiques del nanogrupo: Santy y Mariana. A las chicas del LAR: Mika, Andre, Vani y Beti. A los compañeros y compañeras de otros grupos: Cele, July, Mili, Pau, Pancho.

Al resto del equipo de cátedra de Química Orgánica, con quienes aprendo constantemente y comparto muchas risas y buenos momentos: Moni, Isra, Gachi, Belu y Luciano.

Al equipo del Laboratorio de Cromatografía, por adoptarme como uno más: mi amiga Flor Onaga, Lore, Mercedes, Monza y Belén. Allí pude realizar diversas síntesis y las medidas en GC.

A las y los docentes de la Facultad de Ingeniería de la UNCo, hoy colegas, por su apoyo desde que fui estudiante y por facilitarme las mediciones de potencial Z y FTIR. En particular a Laura Fernández, Peña Sánchez y el Gringo Santarelli.

A todo el equipo del INIFTA por recibirme de la mejor manera y facilitarme diversos ensayos como propiedades magnéticas. En particular a Andrés y Francisca. Especialmente a Gaby por su ayuda con los ensayos en células. A Juan y Federico por su hospedaje y buena cocina.

A los grupos de la Universidad de Torino, donde me sentí como en casa y me hicieron pasar una experiencia inolvidable. En especial a Giuliana, una directora comprometida, divertida y gran persona. A Dominique por su asistencia en la ciencia de polímeros. En particular a mi amigo Sushil, quien me guió de manera excelente en el trabajo experimental durante estas estadías. Aprendí mucho de su experiencia en la temática, de su inglés y de su modo eficiente de trabajo. A Mayita y Rossana, por su colaboración en las mediciones de TEM, pero sobre todo por su gran afecto. A los chicos y chicas del laboratorio (propios y extranjeros como yo) que me ayudaron y me hicieron sentir parte de él: Razieh, Flavio, Fabio, Boutheina, Eya, Esra, Fabrício, Kate, Luca, Michele, Alessia. A Francesco y su banda: Alfredo, Alessio, Samuele, Gio y a Dani por su amistad.

Al Centro atómico Bariloche por las mediciones de XRD y TEM. En particular a mi amiga Yanet por los ensayos XRD. Al CCT-Bahía Blanca por sus mediciones de TGA y TEM. Al INFAP de San Luis, por su asistencia en las técnicas de adsorción-desorción de nitrógeno.

A las instituciones que permitieron la realización de este trabajo, principalmente CONICET, UNLP, UNCo, PROBIEN, INIFTA, CITAAC, UNITO.

A Alexandra Elbakyan, por promover la ciencia sin barreras, facilitando el acceso a la producción científica a quienes verdaderamente la generan: la comunidad científica.

A la educación pública universitaria de mi país, que promueve una formación de excelencia de libre acceso y permite la movilidad social. Un derecho tan importante, a veces poco valorado, que cuando uno compara con otras latitudes se aprecia aún más. Por este motivo, tengo el compromiso de continuar aportando a la educación pública lo mejor que pueda.

A mis amigos de la vida, ellos saben quiénes son, por ser precisamente eso. La gente “del barrio”: Alé, Maty, Ale A, Marce, Maxy. A los habitués: Ema, Faby, Damo, Seba, Flor, Lali, Vani, Sergy, Mika, Pao. A los ingenieros subversivos: Belu y Tucu. Especialmente a Jere por su aguante, por ser mi compañero y complemento. A todos y todas los que nos encontramos en algún momento y pudimos compartir.

A mi familia y amigos de mi familia por su entusiasmo y palabras de aliento durante estos años.

Y, fundamentalmente, a mi Mamá por animarme en este camino de la ciencia y la docencia, que no fue ni es fácil, pero que me hace feliz. Por su apoyo incondicional, por estar conmigo siempre.

Gracias por compartir conmigo

Marcos

ABREVIATURAS

*“Aprendí muy pronto la diferencia entre saber el nombre
de algo y saber algo”*

Richard Feynman

ABREVIATURAS

AIBN	Azobisisobutironitrilo
ANT	Antraceno
CBZ	Carbamazepina
CECs	Contaminantes emergentes
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
DCF	Diclofenac
DLS	Dispersión de luz dinámica
EG	Etilenglicol
FTIR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
GC	Cromatografía gaseosa
HPLC	Cromatografía líquida de alta performance
IBU	Ibuprofeno
IONPs	Nanopartículas de óxidos de hierro
LCST	Temperatura de disolución crítica inferior
MMS	Nanopartículas magnéticas cubiertas con sílice mesoporosa
MMS-PNIPAM-co-MPS	Nanotransportador híbrido de MMS modificadas con el polímero PNIPAM-co-MPS
MMST	Nanoadsorbente magnético con una capa híbrida de TPODAC-sílice
MMST-Ph	Nanoadsorbente magnético con una capa híbrida de TPODAC-sílice y grupos fenilo
MNPs	Nanopartículas magnéticas
MPS	3-(trimetoxisilil)propil metacrilato
MSNPs	Nanopartículas de sílice mesoporosa
NIPAM	N-isopropilacrilamida
PAHs	Hidrocarburos policíclicos aromáticos
PNIPAM	Poli (N-isopropilacrilamida)
PNIPAM-co-MPS	Poli [N-isopropilacrilamida-co-3-(trimetoxisilil)propilmetacrilato]
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
TEOS	Tetraetoxisilano
TGA	Análisis termogravimétrico
TMPS	Trimetoxifenilsilano
TPODAC	Cloruro de 3-(trimetoxisilil)propil octadecil dimetil amonio
UV-Vis	Ultravioleta – visible
XRD	Difracción de rayos X

ÍNDICES

“La única fuente de conocimiento es la experiencia”

Albert Einstein

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	III
AGRADECIMIENTOS	VI
ABREVIATURAS	IX
ÍNDICE GENERAL	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XIV
ÍNDICE DE TABLAS	XVII
1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS	2
2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS RECUBIERTAS CON SÍLICE MESOPOROSA	7
2.1. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	7
2.1.1. PROPIEDADES MAGNÉTICAS	7
2.1.2. ÓXIDOS DE HIERRO MAGNÉTICOS	12
2.1.3. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE ÓXIDOS DE HIERRO	14
2.2. SÍLICE MESOPOROSA	23
2.2.1. SÍNTESIS, PROPIEDADES Y TIPOS DE SÍLICE MESOPOROSA	23
2.2.2. FUNCIONALIZACIÓN DE SÍLICE MESOPOROSA	26
2.3. INTEGRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS Y SÍLICE MESOPOROSA	29
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS	31
2.4.1. MATERIALES	31
2.4.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS POR POLIOL	31
2.4.3. RECUBRIMIENTO CON SÍLICE	32
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
3. APLICACIÓN EN NANOMEDICINA: ADMINISTRACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS	43
3.1. INTRODUCCIÓN	43
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	48
3.2.1. MATERIALES	48
3.2.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS CON RESPUESTA TÉRMICA Y MAGNÉTICA	49
3.2.3. ENSAYOS <i>IN VITRO</i> PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS	50
3.2.4. TOXICIDAD <i>IN VITRO</i>	51
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
3.3.1. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS CON RESPUESTA TÉRMICA Y MAGNÉTICA	52

3.3.2.	ENSAYOS <i>IN VITRO</i> PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS	60
3.3.3.	TOXICIDAD <i>IN VITRO</i>	63
3.4.	CONCLUSIONES PARCIALES	68
4.	<u>APLICACIÓN EN MEDIOAMBIENTE: REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EN MEDIOS ACUOSOS</u>	70
<hr/>		
4.1.	INTRODUCCIÓN	70
4.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	76
4.2.1.	MATERIALES	76
4.2.2.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS ADSORBENTES	78
4.2.3.	ENSAYOS DE ADSORCIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS	80
4.2.4.	ADSORCIÓN DE UNA ÚNICA SUSTANCIA MODELO	81
4.2.5.	ADSORCIÓN DE UNA MEZCLA DE HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	81
4.2.6.	ADSORCIÓN DE UNA MEZCLA DE HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS	82
4.2.7.	ADSORCIÓN DE UNA MEZCLA DE CONTAMINANTES EMERGENTES	83
4.2.8.	REGENERACIÓN Y REUTILIZACIÓN DE NANOADSORBENTES	83
4.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	84
4.3.1.	CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS ADSORBENTES	84
4.3.2.	ADSORCIÓN DE HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	97
4.3.3.	ADSORCIÓN DE HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS	101
4.3.4.	ADSORCIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES	102
4.3.5.	REGENERACIÓN Y REUTILIZACIÓN DE NANOADSORBENTES	110
4.4.	CONCLUSIONES PARCIALES	111
5.	<u>CONCLUSIONES GENERALES</u>	113
<hr/>		
6.	<u>TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN Y MÉTODOS ANALÍTICOS</u>	115
<hr/>		
6.1.	TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA	115
6.1.1.	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (XRD)	115
6.1.2.	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)	117
6.1.3.	ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA (FTIR)	118
6.1.4.	ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)	121
6.1.5.	PROPIEDADES TEXTURALES POR ADSORCIÓN DE GASES	122
6.1.6.	PROPIEDADES MAGNÉTICAS	124
6.1.7.	DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)	125
6.1.8.	POTENCIAL ZETA (ζ)	126
6.2.	MÉTODOS ANALÍTICOS	129
6.2.1.	ESPECTROSCOPÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-Vis)	129
6.2.2.	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)	131
6.2.3.	CROMATOGRAFÍA GASEOSA (GC)	132
6.2.4.	ESPECTROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA	133

7. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	137
8. BIBLIOGRAFÍA	141

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - CURVA DE MAGNETIZACIÓN H VS M. ADAPTADA DE [20]	8
FIGURA 2 - CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES MAGNÉTICOS SEGÚN SU RESPUESTA AL CAMPO APLICADO	9
FIGURA 3 - ESQUEMA DE LA INTERACCIÓN DE LOS MOMENTOS MAGNÉTICOS CON EL CAMPO EXTERNO (H) Y CURVAS DE MAGNETIZACIÓN M VS H PARA MATERIALES CON DIVERSOS TIPOS DE MAGNETISMO. ADAPTADO DE [10]	10
FIGURA 4 - SUSPENSIONES DE DISTINTOS ÓXIDOS DE HIERRO. ADAPTADO DE [24]	13
FIGURA 5 - ESTRUCTURAS CRISTALINAS DE LOS ÓXIDOS DE HIERRO (EN NEGRO Fe^{2+} , EN VERDE Fe^{3+} Y EN ROJO O^{2-}). ADAPTADO DE [20]	14
FIGURA 6 - DIAGRAMA DE LA MER. ADAPTADO DE [10]	16
FIGURA 7 - ESQUEMA DEL MECANISMO DE FORMACIÓN DE MAGNETITA POR EL MÉTODO DEL POLIOL SIN ESTABILIZADOR ADICIONAL. ADAPTADO DE [38]	20
FIGURA 8 – ESTRUCTURA DE LOS MATERIALES MESOPOROSOS M41S A) MCM-41, B) MCM-48 Y C) MCM-50. DE [58]	23
FIGURA 9 – PROCEDIMIENTO TRADICIONAL DE OBTENCIÓN DE SÍLICE MESOPOROSA. ADAPTADO DE [58]	24
FIGURA 10 - ESQUEMA DE LA FORMACIÓN DE LA SÍLICE SOBRE LAS MICELAS DE SURFACTANTE	25
FIGURA 11 – INTRODUCCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES EN DIFERENTES REGIONES DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICE MESOPOROSA A) EN LA SUPERFICIE EXTERNA B) EN LA ENTRADA DE LOS POROS Y C) DENTRO DE LAS PAREDES DE LOS POROS. [49]	27
FIGURA 12 – FUNCIONALIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA SÍLICE MESOPOROSA MEDIANTE ORGANOSILANOS A) POSTERIOR A LA SÍNTESIS MEDIANTE INJERTO COVALENTE Y B) DURANTE LA SÍNTESIS DE LA SÍLICE POR CO-CONDENSACIÓN. ADAPTADO DE [58]	28
FIGURA 13 - ESQUEMA GENERAL DE LA OBTENCIÓN DE NANOPARTÍCULAS CORE-SHELL MAGNÉTICAS CUBIERTAS CON SÍLICE MESOPOROSA [67].	30
FIGURA 14 – A) RECIPIENTE DE TEFLÓN CON LA MEZCLA DE REACTIVOS PARA OBTENER MAGNETITA POR MÉTODO DEL POLIOL PREVIO AL INICIO DE REACCIÓN B) EL CONTENEDOR DE TEFLÓN DENTRO DE UN REACTOR AUTOCLAVE EN UNA MUFLA PARA SU CALENTAMIENTO C) MAGNETITA OBTENIDA POR EL MÉTODO DEL POLIOL	32
FIGURA 15 – A) DISPERSIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE Fe_3O_4 EN AGUA DESTILADA PARA SU LAVADO B) SEPARACIÓN MAGNÉTICA DE NANOPARTÍCULAS MEDIANTE UN IMÁN DE NEODIMIO C) SÓLIDO MOLIDO UNA VEZ SECO EN ESTUFA	32
FIGURA 16 – EQUIPAMIENTO USADO PARA A) RECUBRIMIENTO DE NANOPARTÍCULAS DE Fe_3O_4 CON SÍLICE NO POROSA Y B) CAPA ADICIONAL DE SÍLICE MESOPOROSA	33
FIGURA 17 - HORNO TUBULAR CARBOLITE PARA LA ELIMINACIÓN DEL SURFACTANTE DE LOS POROS DE LA SÍLICE MESOPOROSA	34
FIGURA 18 - ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS PARA OBTENER LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS CORE-SHELL DE SÍLICE MESOPOROSA DESNUDA (MMS)	34
FIGURA 19 - ESQUEMA DE LA ESTRUCTURA DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS DE HIERRO CUBIERTAS CON SÍLICE NO POROSA	35
FIGURA 20 - FORMACIÓN DE MICELAS DE CTAB	35
FIGURA 21 - OBTENCIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS MMS	36
FIGURA 22 - IMÁGENES TEM EN BAJA MAGNIFICACIÓN DE IONPs OBTENIDAS POR EL MÉTODO DEL POLIOL	37
FIGURA 23 - DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE LAS IONPs	37
FIGURA 24 - A) IMAGEN TEM DE ALTA MAGNIFICACIÓN DE IONPs Y B) TRANSFORMADA DE FOURIER DE LOS PLANOS CRISTALINOS DE LA SECCIÓN DEL RECUADRO	37
FIGURA 25 - IMÁGENES TEM DE LAS NANOPARTÍCULAS MMS EN ALTA (A) Y BAJA (B) MAGNIFICACIÓN	38
FIGURA 26 - ESPECTROS FTIR DE IONPs Y DE MMS	39
FIGURA 27 - DIFRACTOGRAMA DE RAYOS X DE IONPs Y MMS	40
FIGURA 28 – ESPECTROS FTIR DE MMS DESPUÉS DE LOS TRATAMIENTOS DE REMOCIÓN DEL SURFACTANTE CTAB A) REFLUJOS CON ACETONA Y ETANOL Y B) CALCINACIÓN	41

FIGURA 29 - NANOPARTÍCULAS MMS ANTES (A) Y DESPUÉS (B) DE LA CALCINACIÓN EN AIRE PARA LA REMOCIÓN DEL SURFACTANTE CTAB	41
FIGURA 30 - ESQUEMA DEL USO DE NANOPARTÍCULAS COMO DDS	44
FIGURA 31 - EQUIPO PARA LA FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MMS CON PNIPAM-CO-MPS	49
FIGURA 32 - ESQUEMA DE SÍNTESIS DE LAS NANOPARTÍCULAS MMS-PNIPAM-CO-MPS	50
FIGURA 33 - ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO EN UN SOLO PASO DEL ANCLAJE Y FORMACIÓN DEL POLÍMERO TERMOSENSIBLE PNIPAM-CO-MPS SOBRE LAS NANOPARTÍCULAS MMS	52
FIGURA 34 - IMÁGENES TEM EN BAJA RESOLUCIÓN DE MMS-PNIPAM-CO-MPS	53
FIGURA 35- IMÁGENES TEM EN ALTA RESOLUCIÓN DE MMS-PNIPAM-CO-MPS	53
FIGURA 36 - PATRONES DE XRD DE MMS-PNIPAM-CO-MPS Y DE LAS IONPS	54
FIGURA 37 – ESPECTROS FTIR CON PASTILLA DE KBR DE MMS Y MMS-PNIPAM-CO-MPS	55
FIGURA 38 – ESPECTROS ATR-FTIR DE MMS, MMS-PNIPAM-CO-MPS Y EL POLÍMERO DE REFERENCIA PNIPAM-CO-MPS	56
FIGURA 39 - TERMOGRAMAS DE MMS, MMS-PNIPAM-CO-MPS Y EL NANOTRANSPORTADOR HÍBRIDO CARGADO CON IBUPROFENO (MMS-PNIPAM-CO-MPS+IBU)	57
FIGURA 40 - ISOTERMAS DE ADSORCIÓN-DESORCIÓN DE N ₂ DE MMS Y MMS-PNIPAM-CO-MPS	58
FIGURA 41 - DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE POROS DE MMS Y MMS-PNIPAM-CO-MPS MEDIANTE EL MODELO BJH	58
FIGURA 42 - DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULAS PARA MMS (A) Y MMS-PNIPAM-CO-MPS (B) A 20 °C Y 40°C MEDIDAS POR DLS.	59
FIGURA 43 - CURVAS DE MAGNETIZACIÓN A 300 K DE IONPS, MMS Y MMS-PNIPAM-CO-MPS	60
FIGURA 44 - DISTANCIAS ATÓMICAS DE LA MOLÉCULA DE IBUPROFENO EN SU CONFORMACIÓN DE MENOR ENERGÍA	61
FIGURA 45 - LIBERACIÓN (%) DE IBU A 20 °C Y 40 °C PARA MMS	62
FIGURA 46 - LIBERACIÓN (%) DE IBU A 20 °C Y 40 °C PARA MMS-PNIPAM-CO-MPS	62
FIGURA 47 - EFECTO DEL DOSAJE DE NANOTRANSPORTADORES SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS HEPG2 A 20 °C.	64
FIGURA 48 - EFECTO DEL DOSAJE DE NANOTRANSPORTADORES SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS HEPG2 A 37 °C.	65
FIGURA 49 - EFECTO LA CONCENTRACIÓN DE IBUPROFENO LIBRE SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS HEPG2 A 37 °C.	66
FIGURA 50 - EFECTO DEL DOSAJE DE NANOTRANSPORTADORES SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS HEPG2 A 37 °C, CON CONCENTRACIONES CITOTÓXICAS DE IBUPROFENO.	66
FIGURA 51 - ESQUEMA DEL USO DE NANOADSORBENTES MAGNÉTICOS EN UN PROCESO DE ADSORCIÓN DE CONTAMINANTES DE MEDIOS ACUOSOS	74
FIGURA 52 - ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	79
FIGURA 53 - EQUIPAMIENTO USADO EN LA OBTENCIÓN DEL NANOADSORBENTES MMST-PH	79
FIGURA 54 - AGITADOR ORBITAL CON FRASCOS PARA ENSAYOS DE ADSORCIÓN	80
FIGURA 55 - MANIFOLD PARA LA CONCENTRACIÓN DE HIDROCARBUROS	82
FIGURA 56 - FORMACIÓN DE MICELAS DEL SURFACTANTE TPODAC	84
FIGURA 57 – RECUBRIMIENTO DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ CON LA CAPA HÍBRIDA MESO ESTRUCTURADA DE TPODAC Y SÍLICE PARA OBTENER EL NANOADSORBENTE MMST	85
FIGURA 58 – ESQUEMA DE SÍNTESIS Y ESTRUCTURA DEL MATERIAL MMST-PH	85
FIGURA 59 – ESPECTRO FTIR DE LAS BANDAS CORRESPONDIENTES A LOS GRUPOS METILENO PARA LOS MATERIALES OBTENIDOS MEDIANTE DISTINTOS PROCEDIMIENTOS DE SÍNTESIS: MMST-15 Y MMST-30.	86
FIGURA 60 - CURVAS DE TGA DE LOS MATERIALES OBTENIDOS MEDIANTE DISTINTOS PROCEDIMIENTOS DE SÍNTESIS: MMST-15 Y MMST-30.	87
FIGURA 61 A Y B – IMÁGENES TEM DEL MATERIAL MMST-15	87
FIGURA 62 A Y B – IMÁGENES TEM DEL MATERIAL MMST-30 (MMST).	88
FIGURA 63 – MICROGRAFÍAS TEM DEL NANOADSORBENTE MMST-PH EN BAJA (A Y B) Y ALTA RESOLUCIÓN (C)	88
FIGURA 64 - PATRONES DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	89
FIGURA 65 - ESPECTROS DE FTIR DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	90

FIGURA 66 - CURVAS DE TGA DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	91
FIGURA 67 - DERIVADA DE LA MASA EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA PARA EL ANÁLISIS TGA DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	91
FIGURA 68 - A) ANÁLISIS TGA Y B) ESPECTROS FTIR DEL NANOADSORBENTE MMST ANTES Y DESPUÉS DE REFLUJO EN TOLUENO DURANTE 16 H	92
FIGURA 69 - CURVAS DE MAGNETIZACIÓN DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	93
FIGURA 70 - ISOTERMAS DE ADSORCIÓN-DESORCIÓN DE N ₂ A 77 K DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	94
FIGURA 71 - ISOTERMA DE ADSORCIÓN-DESORCIÓN DE N ₂ A 77 K DE MMST LUEGO DE UN PROCESO DE CALCINACIÓN	96
FIGURA 72 - DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE POROS DE MMST LUEGO DE UN PROCESO DE CALCINACIÓN	96
FIGURA 73 - POTENCIAL ZETA EN FUNCIÓN DEL PH PARA MMS, MMST Y MMST-PH	97
FIGURA 74 - CINÉTICA DE ADSORCIÓN DE ANT SOBRE MMST Y MMST-PH. T = 20 °C, C ₀ = 70 MG L ⁻¹ , DOSAJE = 200 MG L ⁻¹ , PH 5.5.	98
FIGURA 75 - ISOTERMAS DE ADSORCIÓN DE ANTRACENO SOBRE LOS NANOADSORBENTES PREPARADOS Y SU MODELO DE FREUNDLICH (A) Y GRAFICO DE LA FORMA LINEALIZADA DEL MODELO DE FREUNDLICH	99
FIGURA 76 - REMOCIÓN DE PAHS DE UNA MEZCLA ACUOSA POR LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH. [PAH] ₀ = 20 µG L ⁻¹ , DOSAJE = 50 MG L ⁻¹ , T = 20 °C, TIEMPO DE CONTACTO = 24 H.	101
FIGURA 77 - REMOCIÓN DE LA FRACCIÓN SOLUBLE DE DIÉSEL EN AGUA POR MMST Y MMST-PH. TPH ₀ = 2010 MG L ⁻¹ , DOSAJE = 50 MG L ⁻¹ , T = 20 °C, TIEMPO DE CONTACTO = 24 H.	102
FIGURA 78 - CINÉTICA DE ADSORCIÓN DE IBUPROFENO SOBRE MMST Y MMST-PH. C ₀ = 10 MG L ⁻¹ , PH 5.5 DOSAJE = 200 MG L ⁻¹ , T = 20 °C.	103
FIGURA 79 - AJUSTE DE LOS DATOS DE CINÉTICA DE ADSORCIÓN DE IBUPROFENO SOBRE MMST Y MMST-PH AL MODELO DE PSEUDO PRIMER ORDEN (A) Y PSEUDO SEGUNDO ORDEN (B)	104
FIGURA 80 - APLICACIÓN DEL MODELO DE DIFUSIÓN INTRAPARTICULAR DE WEBER-MORRIS PARA LA CINÉTICA DE ADSORCIÓN DE IBU SOBRE MMST Y MMST-PH	106
FIGURA 81 - EFECTO DEL PH EN LA ADSORCIÓN DE IBUPROFENO SOBRE MMST Y MMS-PH. T = 20 °C, C ₀ = 10 MG L ⁻¹ , DOSAJE = 200 MG L ⁻¹ . DENTRO, EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE DEL IBUPROFENO	107
FIGURA 82 - ISOTERMAS DE ADSORCIÓN DE IBUPROFENO SOBRE MMST Y MMST-PH A PH 5.5 Y T = 20 °C. LÍNEAS SÓLIDAS PARA EL MODELO DE LANGMUIR Y LÍNEAS RALLADAS PARA EL MODELO DE FREUNDLICH	108
FIGURA 83 - REMOCIÓN DE UNA MEZCLA DE CONTAMINANTES EMERGENTES POR MMST Y MMST-PH. [CEC] ₀ = 10 MG L ⁻¹ , DOSAJE = 200 MG L ⁻¹ , PH = 5.5, T = 20 °C, TIEMPO DE CONTACTO = 24 H.	110
FIGURA 84 - CICLOS DE REUTILIZACIÓN EN LA REMOCIÓN DE IBUPROFENO PARA MMST Y DE ANTRACENO PARA MMST-PH. [IBU] ₀ = 10 MG L ⁻¹ , [ANT] ₀ = 0.070 MG L ⁻¹ , PH 5.5, DOSAJE = 200 MG L ⁻¹ , T = 20 °C, TIEMPO DE CONTACTO = 24 H.	110
FIGURA 85 - DIFRACCIÓN DE RAYOS X EN PLANOS CRISTALINOS. ADAPTADO DE [187]	116
FIGURA 86 - ESQUEMA DE UN DIFRACTÓMETRO DE RAYOS X	116
FIGURA 87 - ESQUEMA DE UN ESPECTROFOTÓMETRO FTIR	119
FIGURA 88 - INSTRUMENTO DSC-TGA	122
FIGURA 89 - ESQUEMA DE UNA SUPERFICIE SÓLIDA CARGADA EN UNA SOLUCIÓN DE ELECTROLITO. ADAPTADO DE [201]	127
FIGURA 90 - ESQUEMA DE LA CELDA DE MEDICIÓN PARA POTENCIAL ZETA. ADAPTADO DE [189]	129
FIGURA 91 - DIAGRAMA DE JABLONSKI. ADAPTADO DE [203].	134

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 - TIPOS DE MAGNETISMO EN MATERIALES MACROSCÓPICOS. ADAPTADA DE [19]	11
TABLA 2 - ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE ALGUNOS OLIGOETILENGLICOLES	17
TABLA 3 - COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE SÍNTESIS DE IONPs	22
TABLA 4 – REACTIVOS PARA LA SÍNTESIS DE IONPs Y SU RECUBRIMIENTO CON SÍLICE	31
TABLA 5 - MATERIALES ADICIONALES PARA LA SÍNTESIS DE NANOTRANSPORTADORES, ENSAYOS DE TOXICIDAD CELULAR Y LIBERACIÓN IN VITRO	48
TABLA 6 - PROPIEDADES TEXTURALES DE MMS Y MMS-PNIPAM-CO-MPS	58
TABLA 7 - PROPIEDADES MAGNÉTICAS DE LOS NANOTRANSPORTADORES SINTETIZADOS	60
TABLA 8 - CARGA DE IBUPROFENO EN MASA DE FÁRMACO POR MASA DE NANOTRANSPORTADORES ESTIMADO POR UV-VIS Y TGA	61
TABLA 9 - DOSAJE DE NANOTRANSPORTADORES UTILIZADO PARA UNA CONCENTRACIÓN FINAL DE IBU DETERMINADA	63
TABLA 10 - DOSAJE MÁXIMO ENSAYADO PARA TOXICIDAD IN VITRO DE DIVERSOS NANOTRANSPORTADORES CUBIERTOS DE SÍLICE MESOPOROSA	67
TABLA 11 - REACTIVOS ADICIONALES PARA SÍNTESIS DE NANOADSORBENTES Y ENSAYOS DE ADSORCIÓN	76
TABLA 12 - ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE CONTAMINANTES EMERGENTES (CECs)	76
TABLA 13 - ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (PAHs)	77
TABLA 14 - PROPIEDADES MAGNÉTICAS DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	93
TABLA 15 - PROPIEDADES TEXTURALES DE LOS NANOADSORBENTES MMST Y MMST-PH	95
TABLA 16 - PARÁMETROS DEL MODELO DE FREUNDLICH DE LAS ISOTERMAS DE ADSORCIÓN DE ANTRACENO MEDIANTE LOS NANOADSORBENTES PREPARADOS	100
TABLA 17 - COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE K_f DE DIVERSOS ADSORBENTES FRENTE A ANTRACENO	100
TABLA 18 - PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS PARA LA ADSORCIÓN DE IBUPROFENO SOBRE MMST Y MMST-PH	105
TABLA 19 – PARÁMETROS DE LOS MODELOS DE FREUNDLICH Y LANGMUIR PARA LAS ISOTERMAS DE ADSORCIÓN DE IBUPROFENO POR MMST Y MMST-PH	108
TABLA 20 - COMPARACIÓN DE LA ADSORCIÓN DE IBUPROFENO DE DIVERSOS ADSORBENTES CON AJUSTE AL MODELO DE LANGMUIR	109
TABLA 21 - CURVA DE CALIBRACIÓN DE IBUPROFENO PARA SU CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROSCOPÍA UV-VIS	130

CAPÍTULO 1.

INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS

“Si quieres tener buenas ideas, debes tener muchas ideas”

Linus Pauling

1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS

La nanotecnología es una ciencia multidisciplinaria que ha atraído un interés exponencial en los últimos años para la comunidad científica y tecnológica. Estudia la síntesis, propiedades y aplicaciones de nanomateriales, es decir, materiales que manifiestan propiedades fisicoquímicas nuevas y mejoradas al reducir su tamaño a la escala nanométrica. Estas propiedades destacadas hacen que sea de interés la aplicación de los nanomateriales en diversas áreas, como ciencia de materiales, química, física, biología, medicina, ingeniería, entre otras.

Las nanopartículas magnéticas (MNPs) son sólidos inorgánicos que presentan la ventaja de poder ser guiadas fácilmente por un campo magnético externo, lo que es muy útil para muchas de sus aplicaciones. Estas nanopartículas están compuestas de elementos con propiedades magnéticas tales como hierro (Fe), níquel (Ni), cobalto (Co), manganeso (Mn), cromo (Cr), ciertos metales de las tierras raras, así como algunos de sus óxidos. Estas sustancias poseen características ferromagnéticas, es decir, que tienen un momento magnético permanente intenso. Cuando el tamaño de estos materiales se reduce hasta el orden de un dominio magnético, como puede ocurrir cuando se trabaja con nanopartículas, adquieren un comportamiento superparamagnético, con alta susceptibilidad magnética y prácticamente nulas remanencia y coercitividad. Esto significa que cuando son expuestas a un campo magnético, los momentos magnéticos de estas partículas se alinean en la dirección del campo y en la ausencia de este, no permanecen magnetizadas. Las MNPs son de gran interés para investigadores en diversos campos incluyendo catálisis, fluidos magnéticos, almacenamiento de datos, remediación ambiental y nanomedicina [1,2].

La investigación sobre el uso de MNPs en nanomedicina ha visto un gran incremento en las últimas dos décadas. Estas incluyen su uso para diagnóstico mediante imagen por resonancia magnética, o bien tratamientos como hipertermia y administración controlada de fármacos [3,4]. En administración controlada, el concepto es ingresar en el organismo MNPs a las que están unidas moléculas de fármacos, guiar esas partículas a un sitio patológico específico mediante los gradientes de un campo magnético y promover la liberación de la droga mediante un estímulo. De esta manera, se logra administrar sustancias terapéuticas a un sitio específico del organismo reduciendo efectos de toxicidad sistémica, controlar la cinética de liberación y proteger a los fármacos de ser metabolizados o excretados prematuramente del organismo. Las nanopartículas encargadas de transportar sustancias terapéuticas reciben el nombre de nanotransportadores.

Asimismo, el deterioro de la calidad del agua por contaminantes orgánicos es actualmente un problema global que aún requiere soluciones efectivas. Estudios respecto de la calidad del agua superficiales en Europa [5], América Latina [6] y Argentina en particular [7,8] evidencian la presencia de contaminantes orgánicos. En general estos contaminantes que incluyen colorantes, hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs), plaguicidas y contaminantes emergentes (CECs), son tóxicos y algunos resistentes a tratamientos convencionales. La adsorción se presenta como una alternativa interesante para tratar contaminantes orgánicos en medios acuosos debido a su facilidad de operación, bajo costo y efectividad [9]. Consiste en poner en contacto un sólido adsorbente con agua contaminada un tiempo suficiente hasta que las moléculas orgánicas se retengan mayormente en el sólido por afinidad química. Luego, el complejo adsorbente-contaminante es separado y la muestra de agua queda con una menor concentración de

contaminante. Por su elevada área específica, química superficial simple y la posibilidad de separarse fácilmente una vez agotadas mediante un campo magnético externo, las nanopartículas magnéticas son potencialmente aplicables como adsorbentes.

Las MNPs desarrolladas para adsorción de contaminantes y liberación controlada de fármacos deben, además de poseer propiedades magnéticas y superficiales destacadas, fundamentalmente no ser tóxicas para el ambiente y el ser humano. Esto limita el uso de MNPs a base de metales pesados y coloca a los sistemas basados en nanopartículas de óxidos de hierro (IONPs), principalmente magnetita (Fe_3O_4), como los preferidos para estas aplicaciones. Además, es posible sintetizar IONPs con una morfología y distribución de tamaño controlado, muy necesario para su uso en nanomedicina. Sin embargo, partículas muy pequeñas tienden a aglomerarse para reducir su elevada energía superficial, disminuyendo su área efectiva expuesta. Si las partículas tuvieran magnetización remanente, esto también favorecería su aglomeración. Además, las IONPs desnudas son susceptibles a la oxidación en aire, lo que en general resulta en una pérdida de magnetismo y dispersabilidad [1]. Por esto, es crucial desarrollar estrategias de protección para estabilizar a las IONPs durante o después de su síntesis. Un gran número de sustancias tanto orgánicas como inorgánicas han sido estudiadas para recubrir IONPs. Entre ellos, la sílice mesoporosa es uno de los materiales inorgánicos preferidos para modificación superficial de MNPs para su uso ya sea como adsorbentes o como transportadores de fármacos [10]. Dada su característica dieléctrica, el recubrimiento con sílice puede prevenir aglomeración apantallando las interacciones dipolo-dipolo entre IONPs. Además, los grupos funcionales silanol (Si-OH) de la superficie de la sílice ayudan a las nanopartículas recubiertas a mejorar su dispersabilidad y estabilidad en agua. Más importante aún, estos grupos Si-OH pueden ser modificados por otros grupos funcionales para obtener cierta afinidad química o propiedades adicionales. Además, la sílice mesoporosa provee una gran área superficial específica, estructura ajustable, química superficial versátil, tiene un costo de producción bajo y su procedimiento de síntesis es relativamente sencillo. Las nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro recubiertas con sílice mesoporosa (MMS) combinan las características de ambos materiales, lo que las hace interesantes para muchas aplicaciones.

El recubrimiento de nanopartículas magnéticas con sílice mesoporosa ha dado lugar a nanomateriales con propiedades particulares y con estructuras jerárquicas conocidas como de núcleo-cubierta o *core-shell* [11]. Estas nanopartículas poseen características destacables para su uso como sistemas de administración controlada de fármacos. Una importante cantidad de fármaco puede almacenarse dentro de los mesoporos de la sílice, dado su gran volumen de poros, y por su comportamiento magnético pueden ser transportadas mediante un campo magnético a un sitio específico del organismo con la patología a tratar. Además, la estructura *core-shell* de estos materiales disminuye los efectos de agregación. Más importante aún, diversos estudios han mostrado la baja citotoxicidad y hemocompatibilidad de la sílice [12]. Sin embargo, la sílice mesoporosa por sí sola no posee un buen control de la farmacocinética. La habilidad de controlar con precisión la liberación puede lograrse modificando la superficie de la sílice con sustancias que actúan como “compuerta” de los mesoporos [13]. Estas sustancias deben reaccionar específicamente en respuesta a estímulos endógenos (pH, agentes químicos, gradientes redox) u exógenos (temperatura, campo magnético, luz) [14]. Los polímeros termosensibles experimentan una transición de conformación de cadenas extendidas a globular a cierta temperatura, llamada

temperatura de disolución inferior crítica (LCST). La copolimerización del organosilano 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato (MPS) con N-isopropilacril amida (NIPAM) produce un polímero termosensible (PNIPAM-co-MPS), con una LCST de más de 36°C y que puede ser anclado a la superficie de las MMS [15]. Esta transición térmica reversible del polímero puede usarse para aplicar un mecanismo de compuerta a las nanopartículas porosas que contienen fármacos en su interior. Por debajo de la LCST, las cadenas del polímero permanecen en su forma hidrofílica extendida, bloqueando los poros e impidiendo la salida del fármaco. Cuando la temperatura se encuentra por encima de la LCST, el polímero experimenta una transición a su conformación hidrofóbica globular, las cadenas se enrollan sobre la superficie de la sílice dejando los poros abiertos y permitiendo la salida de las moléculas de su interior. De esta manera, se puede lograr un sistema de administración controlada de fármacos con respuesta a estímulos térmicos y magnéticos y con un eficiente control de la distribución de las sustancias terapéuticas tanto espacial como temporal.

Se han aplicado MMS en la remoción de contaminantes orgánicos combinando la capacidad adsorbente de la sílice y la facilidad de separación magnética. Sin embargo, una funcionalización adicional de la cubierta de sílice, durante o después de la síntesis, suele realizarse con el fin de mejorar la capacidad de adsorción y la selectividad por un contaminante objetivo. Por su versatilidad y química sencilla, los organosilanos son ampliamente usados en la modificación de estos materiales para la remoción de colorantes, metales pesados, antibióticos, PAHs, entre otros [16]. Los organosilanos poseen en general un grupo funcional particular (amino, tiol, aromático, etc.) y tres grupos alcoxi que al hidrolizarse pueden enlazarse a una superficie hidroxilada (como óxidos de hierro y sílice). Un enfoque interesante es el uso del surfactante con un grupo silano llamado cloruro de 3-(trimetoxisilil)propil octadecildimetilamonio (TPODAC) [17]. Las micelas de este surfactante pueden dirigir la polimerización de un precursor de sílice, para formar una capa híbrida mesoestructurada de sílice-TPODAC sobre nanopartículas magnéticas. Estas micelas de surfactante confinadas de modo covalente a la sílice y a las nanopartículas magnéticas, le confieren carácter hidrofóbico al material. Así, esta funcionalización en un solo paso permite obtener nanoadsorbentes magnéticos con una alta afinidad y capacidad de remoción de ciertos contaminantes orgánicos hidrofóbicos. Sin embargo, la superficie externa de la sílice aún posee grupos Si-OH, lo que permite anclar grupos funcionales orgánicos adicionales. De esta manera, es esperable obtener un nanoadsorbente magnético que resulte más versátil para la remoción de diversas familias de contaminantes orgánicos, como PAHs y ciertos CECs.

El objetivo general de este trabajo de tesis es diseñar nanomateriales basados en nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro recubiertas con sílice funcionalizada para su potencial aplicación como sistemas de administración controlada de fármacos, por un lado, y como, adsorbentes de contaminantes orgánicos en medios acuosos por el otro.

Como objetivos específicos se plantean:

1. Preparar y caracterizar nanotransportadores de fármacos a partir de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro recubiertas con sílice mesoporosa funcionalizada con un copolímero termosensible.
2. Evaluar la eficiencia de los nanotransportadores obtenidos como sistemas de administración de fármacos controlada por la temperatura mediante ensayos de liberación *in vitro*.

3. Sintetizar y caracterizar nanoadsorbentes a partir de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro recubiertas con una capa híbrida de sílice, TPODAC y grupos aromáticos.
4. Estudiar la capacidad de adsorción de los nanoadsorbentes preparados para compuestos orgánicos hidrofóbicos, en particular hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) y contaminantes emergentes (CECs) en medios acuosos.

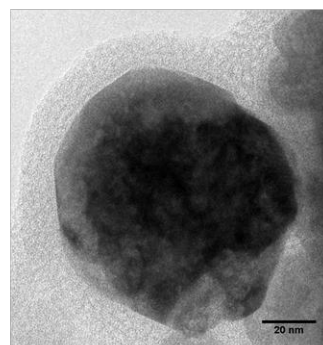
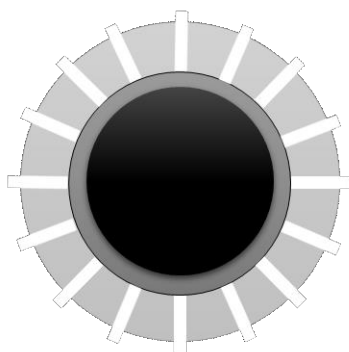
A fin de abordar cada uno de los objetivos planteados, este trabajo de tesis doctoral está organizado en los siguientes capítulos principales:

- El capítulo 2 tratará sobre nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa (MMS). Se explicarán las propiedades, síntesis y estructura de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro; las propiedades, síntesis y métodos de funcionalización de sílice mesoporosa y la integración de estos materiales en estructuras *core-shell*. Se mostrarán los resultados de la síntesis y caracterización de los materiales de este tipo obtenidos en esta tesis.
- El capítulo 3 detallará la síntesis de nanotransportadores con respuesta a la temperatura y al campo magnético a partir de nanopartículas MMS *core-shell* funcionalizadas con el polímero PNIPAM-co-MPS. Además, se exhibirán los resultados de la evaluación de su comportamiento como sistema de administración controlada de fármacos.
- En el capítulo 4 se desarrollará la preparación de nanoadsorbentes magnéticos a partir de nanopartículas de óxidos de hierro recubiertas con estructuras híbridas de sílice, cadenas carbonadas y grupos aromáticos. Asimismo, se expondrán los resultados de su desempeño en la adsorción de contaminantes orgánicos en medios acuosos.
- El capítulo 5 ofrecerá conclusiones generales respecto a los objetivos planteados y perspectivas futuras
- En el capítulo 6 se detallará el instrumental y metodología empleados para la caracterización fisicoquímica de los nanomateriales y para la cuantificación de los analitos. Además, se describirán brevemente los fundamentos de estas técnicas.

Finalmente, se expondrán los trabajos publicados a partir del desarrollo de esta tesis y la bibliografía utilizada.

CAPÍTULO 2.

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS RECUBIERTAS CON SÍLICE MESOPOROSA



“La ciencia, muchacho, está hecha de errores, pero son errores que conviene cometer, porque poco a poco conducen a la verdad”

Julio Verne

2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS RECUBIERTAS CON SÍLICE MESOPOROSA

En el presente capítulo se desarrollará el estado del arte sobre la síntesis y propiedades de nanopartículas magnéticas, de nanopartículas de sílice mesoporosa y de la integración de estos materiales en estructuras del tipo *core-shell*.

La primera parte se centrará en nanopartículas magnéticas. Se explicarán las propiedades magnéticas más relevantes para las aplicaciones propuestas, en particular el comportamiento superparamagnético. Se describirá la estructura y características principales de nanopartículas de óxidos de hierro, que son las más apropiadas para aplicaciones ambientales y medicinales. Se hará un repaso de los métodos de síntesis de nanopartículas de óxidos de hierro, haciendo especial hincapié en el método del polirol, que fue el utilizado en todo este trabajo de tesis.

En una segunda sección, se describirán las características y tipos de sílice mesoporosa. Se hará énfasis en las nanopartículas del tipo MCM-41 y su preparación mediante el método sol-gel de Stöber. Luego se detallarán las estrategias de funcionalización de sílice mesoporosa para otorgarle propiedades convenientes según su uso, especialmente mediante reacción con organosilanos.

La siguiente sección se enfocará en la integración de nanopartículas magnéticas y sílice mesoporosa en estructuras del tipo *core-shell*. Se explicarán las ventajas que ofrecen estos materiales compuestos respecto a sus constituyentes individuales para las aplicaciones propuestas en este trabajo, así como el procedimiento de síntesis de química húmeda para obtenerlos.

Finalmente, se expondrán las metodologías y los resultados obtenidos en la síntesis de nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa desnuda. Estas nanopartículas se utilizarán como material de referencia para evaluar el efecto de la funcionalización para su aplicación como nanotransportadores de fármacos (Capítulo 3) y como nanoadsorbentes de contaminantes (Capítulo 4).

2.1. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

2.1.1. Propiedades Magnéticas

El magnetismo es una propiedad intrínseca de la materia. No obstante, algunos materiales son más magnéticos que otros. La aparición de fenómenos magnéticos plausibles se debe a la presencia de elementos químicos con una configuración electrónica particular. Estos elementos incluyen al hierro (Fe), níquel (Ni), cobalto (Co), manganeso (Mn), cromo (Cr) y algunos metales de las tierras raras. El origen microscópico de estas propiedades radica en el momento magnético o momento dipolar magnético de los electrones, que se comportan como si fueran pequeños imanes. Este momento magnético depende de su número cuántico de *spin* y su momento angular orbital, siendo el *spin* el de mayor contribución al momento magnético [18]. Debido a su naturaleza cuántica, el *spin* puede presentar dos valores: $+1/2$ y $-1/2$. Cuando estos *spines* en un material están alineados, es decir poseen el mismo valor, sus pequeños campos magnéticos crean juntos un campo macroscópico mucho mayor. La magnetización (M) es una medida de los momentos magnéticos por unidad de volumen. Puede expresarse en unidades de emu cm^{-3} en el sistema cegesimal (CGS) de unidades, también como magnetización total (másica) y como magnetización por unidad de masa (emu g^{-1}). Otra propiedad es la inducción magnética (B),

que expresa la densidad de flujo magnético en la muestra. Estas magnitudes están relacionadas por la ecuación:

$$B = \mu_0(H + M) \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde H es el campo magnético aplicado y μ_0 es la permeabilidad del vacío. En el Sistema Internacional de Unidades (SI), la inducción magnética (B) se expresa en unidades de Tesla (T) = Weber (W) m⁻² y el campo magnético (H) en ampere por metro (A m⁻¹) equivalente a Newton (N) W⁻¹. Mientras que, en el CGS, B posee unidades de Gauss (G) y H unidades de Oersted (Oe). Estas últimas dos unidades son dimensionalmente iguales (cm^{-1/2} g^{1/2} s⁻¹), por lo que en ocasiones se las usa de modo indistinto.

La forma experimental más común de evaluar la respuesta magnética de los materiales es la determinación de las curvas de magnetización (histéresis) por medio de un magnetómetro [19]. Existen varias configuraciones de magnetómetros disponibles, sin embargo, la más común es el magnetómetro de muestra vibrante (*vibrating sample mode* VSM). En un magnetómetro VSM, la muestra es sometida a un proceso de bucle de magnetización-desmagnetización variando el campo magnético externo aplicado. La magnetización del material, entendida como el campo vector que indica la densidad de momentos magnéticos, es medida indirectamente como la variación de la corriente eléctrica de las bobinas inductivas que rodean el porta-muestra. Esta medición es posible pues los campos eléctricos y magnéticos están estrictamente relacionados entre ellos por ser ortogonales. De las curvas de magnetización (Figura 1) obtenidas experimentalmente (M vs H) en un magnetómetro, se pueden obtener importantes magnitudes físicas. Específicamente, la magnetización de saturación (M_s) es el máximo momento magnético inducido por un campo magnético aplicado, la coercitividad (H_c) es el campo inverso requerido para llevar la magnetización a cero y la remanencia (M_r) es la magnetización residual en la muestra a un campo magnético externo de cero ($H = 0$).

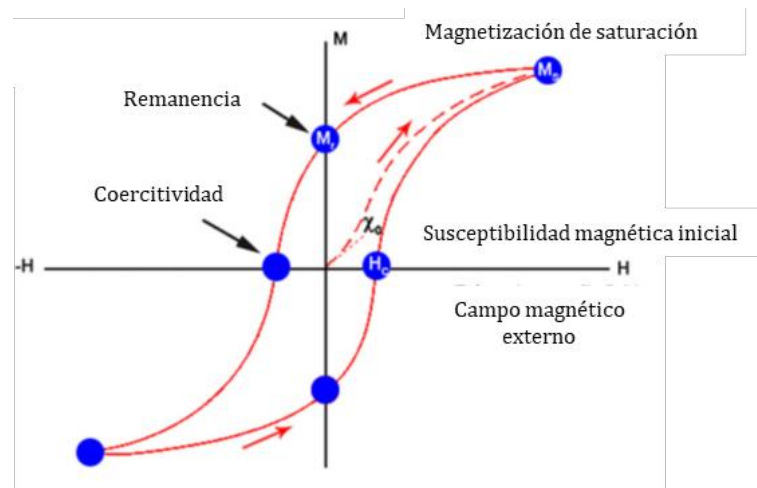


Figura 1 - Curva de magnetización H vs M. Adaptada de [20]

Por otro lado, la susceptibilidad magnética (χ_m) es una medida cuantitativa de la cantidad que puede magnetizarse un material al aplicar un campo externo, definida como:

$$\chi_m = M/H \quad \text{Ecuación 2}$$

En base a su respuesta a un campo magnético externo se puede clasificar a los materiales (Figura 2) en tres grandes grupos: diamagnéticos, paramagnéticos y ferromagnéticos. Antiferromagnetismo y ferrimagnetismo son subclases de ferromagnetismo. El superparamagnetismo es un fenómeno que puede darse en nanopartículas de materiales ferromagnéticos y ferrimagnéticos. La Figura 3 muestra distintos posibles perfiles de curvas de magnetización dependiendo de las formas de magnetismo. El ferromagnetismo y el ferrimagnetismo son fenómenos más intensos, mientras que diamagnetismo, paramagnetismo y antiferromagnetismo son formas más débiles de magnetismo.

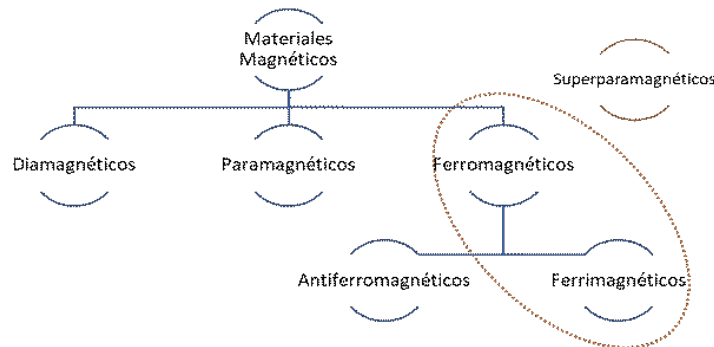


Figura 2 - Clasificación de los materiales magnéticos según su respuesta al campo aplicado

El diamagnetismo (Figura 3A) es la capacidad de oponerse a un campo magnético externo aplicado debido a la ausencia de pares de electrones desapareados, lo que resulta en valores pequeños y negativos de magnetización y susceptibilidad. Este es el caso del bismuto. Este fenómeno es aprovechado en superconductores que son materiales diamagnéticos perfectos para “levitación” de cuerpos, como en el famoso tren *Maglev*. Por el contrario, si las capas de electrones de valencia están incompletas los momentos magnéticos desapareados puede alinearse en presencia de un campo magnético y dar un momento magnético neto, este fenómeno es el paramagnetismo. Solo algunos sistemas son paramagnéticos, ciertos metales como el platino y aislantes, que poseen momentos localizados. Estos dan curvas de magnetización (Figura 3B) en las que se observan magnetización y susceptibilidad pequeñas y positivas.

En algunas sustancias los momentos magnéticos tienden a alinearse espontáneamente incluso sin un campo magnético externo, este fenómeno se conoce como ferromagnetismo. Esto es generado por un alineamiento de los electrones desapareados, con el mismo spin, que componen el material. Los materiales ferromagnéticos incluyen los “imanes” de la vida cotidiana, cuyas propiedades magnéticas pueden ser detectadas de manera macroscópica por los humanos, a diferencia de los otros dos fenómenos anteriores. Algunas aleaciones de tierras raras con metales de transición magnéticos son ampliamente adoptadas como imanes permanentes. Entre los lantánidos, los imanes basados en neodimio son los más utilizados. Los materiales macroscópicos (*bulk materials*) ferromagnéticos están compuestos de regiones, llamadas dominios magnéticos dentro de los cuales hay una alineación de momentos magnéticos. Llamativamente, el Fe, Ni y Co (metales con subniveles 3d incompletos) son los únicos tres elementos puros con propiedades ferromagnéticas a temperatura ambiente [19]. Estos materiales se caracterizan por presentar una magnetización de saturación definida, una alta coercitividad

y remanencia y la presencia de histéresis en una curva M vs H (Figura 3C). La formación de esta histéresis se atribuye a cierta anisotropía magnética. La anisotropía magnética es la dependencia direccional de las propiedades magnéticas del material. En la ausencia de un campo magnético externo, un material magnéticamente isotrópico no tiene una dirección preferencial de sus momentos magnéticos, mientras que un material magnéticamente anisotrópico alineará sus momentos en un eje preferencial. Este eje es una dirección energéticamente favorable de magnetización espontánea. La anisotropía magnética es debida a parámetros estructurales, tales como estructura cristalina, forma y dimensiones de granos o partículas, tensiones del material, etc. Adicionalmente, los materiales ferromagnéticos pueden clasificarse como “duros” (imanes permanentes, con elevada H_c) y “blandos” (fácilmente desmagnetizables, con baja H_c). Los materiales ferromagnéticos duros presentan una histéresis mayor que los blandos. Si se incrementa la temperatura por encima de un valor crítico, llamado Temperatura de Curie, los materiales ferromagnéticos comienzan a comportarse como paramagnéticos, con la formación de dominios aleatorios, debido al incremento de la entropía del sistema.

El ferrimagnetismo es una forma muy particular de magnetismo. Este ocurre en materiales organizados en dos estructuras interpenetrantes localizadas en diferentes subredes que muestran un antialineamiento de spines con momentos magnéticos no equivalentes, resultando en un momento magnético total debajo de la temperatura de Curie [19]. Los materiales ferrimagnéticos exhiben magnetización espontánea e histéresis, de manera análoga a los materiales ferromagnéticos. Algunos sistemas típicamente ferrimagnéticos son la magnetita (Fe_3O_4) y otras ferritas (óxidos de hierros mixtos con estructura cristalina del tipo espinela MFe_2O_4 , con M = metal bivalente). Análogo al ferrimagnetismo, el antiferromagnetismo consiste en un fenómeno magnético generado por la presencia de dos estructuras inter-penetrantes que se caracterizan por poseer un antialineamiento de spines de electrones, y en consecuencia una magnetización neta de cero. La Tabla 1 resume las características de los tipos de magnetismo asociado a materiales macroscópicos con algunos ejemplos

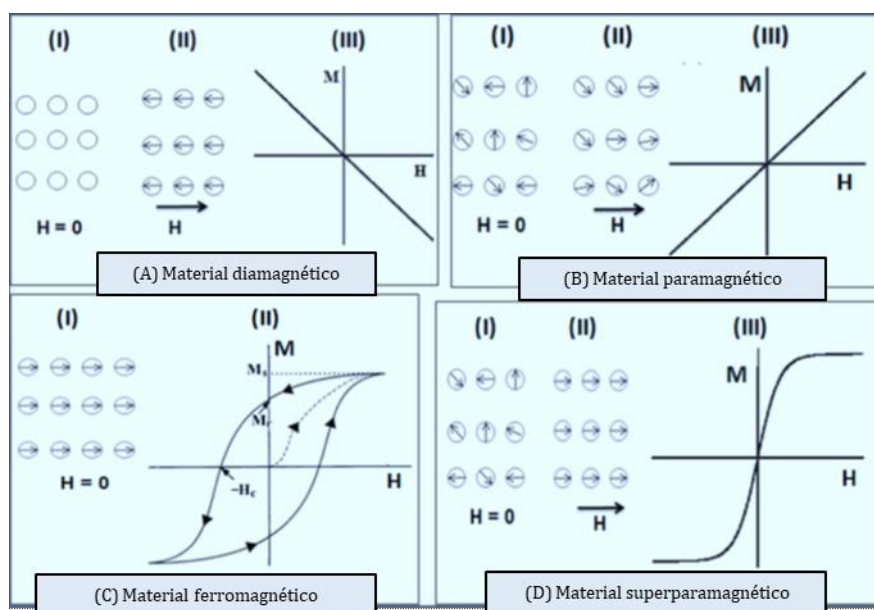


Figura 3 - Esquema de la interacción de los momentos magnéticos con el campo externo (H) y curvas de magnetización M vs H para materiales con diversos tipos de magnetismo. Adaptado de [10]

Tabla 1 - Tipos de magnetismo en materiales macroscópicos. Adaptada de [19]

Tipo de Magnetismo	Comportamiento Magnético	Susceptibilidad Magnética	Ejemplos
Diamagnetismo	Los átomos no poseen momentos magnéticos	χ pequeña y negativa ($\sim 10^{-6}$ - 10^{-5})	Bi, Si, Cu, gases inertes
Paramagnetismo	Los átomos poseen momentos magnéticos orientados aleatoriamente	χ pequeña y positiva ($\sim 10^{-5}$ - 10^{-3})	Al, O ₂
Ferromagnetismo	Los átomos están organizados en dominios que poseen momentos magnéticos alineados paralelamente	χ grande (>100)	Fe, Ni, Co, Gd
Ferrimagnetismo	Los átomos están organizados en dominios que poseen una mezcla desigual de momentos alineados de forma antiparalela	χ grande (>100)	Fe ₃ O ₄ , MnFe ₂ O ₄ , NiFe ₂ O ₄
Antiferromagnetismo	Los átomos están organizados en dominios que poseen momentos magnéticos alineados antiparalelamente	χ pequeña y positiva ($\sim 10^{-5}$ - 10^{-3})	Cr, MnO, FeO

Los materiales ferro y ferrimagnéticos en estado macroscópico (*bulk*) presentan una estructura con múltiples dominios magnéticos. Si el volumen de estos materiales es reducido, como en el caso de las nanopartículas, ocurre una situación en la cual se alcanza un solo dominio y las propiedades magnéticas ya no son similares a los materiales macroscópicos [21]. El tamaño de partícula para obtener un único dominio magnético varía para diferentes sustancias. Por ejemplo, para partículas esféricas puede ser de 15 nm (Fe), 55 nm (Ni), 128 nm (Fe₃O₄) [1]. De esta manera, las nanopartículas magnéticas (MNPs) usualmente presentan un comportamiento superparamagnético. Esto quiere decir que los momentos magnéticos de cada MNP pueden rotar espontáneamente, en referencia a la orientación de la nanopartícula, de manera aleatoria con la temperatura. Por este motivo, en ausencia de un campo magnético externo, el momento magnético neto de un sistema de MNPs será nulo a temperaturas lo suficientemente elevadas. Sin embargo, en presencia de un campo magnético, habrá una alineación estadística neta de momentos magnéticos, análogo a lo que sucede con los materiales paramagnéticos, excepto que en este caso el momento no es el de un único átomo, sino el de nanopartículas que contienen varios átomos, lo que puede hacer este efecto 10,000 veces mayor que el de un material paramagnético [18]. Este fenómeno hace que nanopartículas superparamagnéticas exhiban una coercitividad y remanencia prácticamente inexistentes, así como una histéresis casi nula

(Figura 3D). Esta falta de magnetización remanente después de la eliminación de campos externos, permite a las MNPs mantener su estabilidad coloidal y evitar su aglomeración, lo que es muy importante para muchas aplicaciones [18].

En los materiales macroscópicos la composición, estructura cristalina, defectos, vacancias y anisotropía magnética son los principales parámetros para caracterizar las propiedades magnéticas [18]. Adicionalmente, la distribución de tamaños y la morfología son esenciales para definir el comportamiento magnético de las nanopartículas [21]. La energía de anisotropía magnética es la energía asociada con la orientación de los momentos magnéticos en el cristal y depende de la morfología y el tamaño de las partículas. Mientras más pequeño el monodominio de la partícula, mayor es la energía de anisotropía. Por otro lado, la energía de la anisotropía debido a la morfología se incrementa con la relación de aspecto, así las nanopartículas esféricas no presentan anisotropía morfológica [21]. El volumen también es relevante para la fuerza de interacción de las nanopartículas con un campo magnético externo, así como también con el campo generado por otras nanopartículas. Por otro lado, mientras menor sea el tamaño de nanopartículas más baja resulta la temperatura de transición de comportamiento ferromagnético a superparamagnético. La reducción de tamaño también puede afectar la magnetización de saturación; los materiales ferro o ferrimagnéticos poseen menor magnetización de saturación como nanopartículas que en su forma macroscópica debido a desorden de los spines superficiales y del núcleo del material [21]. Este desorden de spines puede originarse por estructuras amorfas o policristalinas como consecuencia de un procedimiento de síntesis o una cobertura de la superficie de las nanopartículas. Por ejemplo, la reducción en tamaño de maghemita de 12 a 5 nm puede disminuir la magnetización de saturación a un cuarto de su valor teórico [18].

2.1.2. Óxidos de hierro magnéticos

Debido a sus propiedades magnéticas y superficiales, las nanopartículas magnéticas son de gran interés para investigadores de una amplia variedad de disciplinas. Como ya se adelantó, para su aplicación como adsorbentes y transportadores de fármacos se busca una alta magnetización y área superficial, pero también su baja toxicidad. Aunque nanopartículas magnéticas de metales pesados (como Co o FePt) poseen altos valores de magnetización de saturación, son tóxicas lo que limita mucho su uso en la mayoría de las aplicaciones biomédicas y ambientales [21]; asimismo su elevado costo y complejos procedimientos de síntesis también restringe su interés como adsorbentes magnéticos. Las nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro (IONPs, *iron oxide nanoparticles*) son preferidas ampliamente en estos y otros campos de aplicación. Para las aplicaciones en nanomedicina representan el mejor compromiso entre buenas propiedades magnéticas y una muy baja toxicidad evidenciada por extensivos ensayos *in vivo* e *in vitro* [22]. Además, la *US Food and Drug Administration* y la *European Medicines Agency* ya han aprobado el uso medicinal de IONPs [18]. En general el tamaño ideal para IONPs en aplicaciones biomédicas es entre el umbral superparamagnético (~ 10 nm) y el tamaño crítico de dominio único (~ 70 nm) [18].

Los óxidos de hierro se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza (ya sea en aguas, suelo, rocas e incluso en los seres vivos) y son fácilmente sintetizados en el laboratorio. Hay 16 óxidos de hierro conocidos, estos pueden ser tantos óxidos, hidróxidos

u oxi-hidróxidos, llamados por simplicidad de manera general como óxidos de hierro [23]. Ente ellos, la magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) son los únicos con propiedades magnéticas destacables (ferrimagnéticas, $M_s > 92 \text{ emu g}^{-1}$) y, por lo tanto, de interés para aplicaciones que requieran estas características. La hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) posee un ferromagnetismo muy débil ($M_s < 1 \text{ emu g}^{-1}$), pero puede usarse como material de partida para la síntesis de magnetita y maghemita [20]. La Figura 4 muestra suspensiones acuosas de distintos óxidos de hierro.

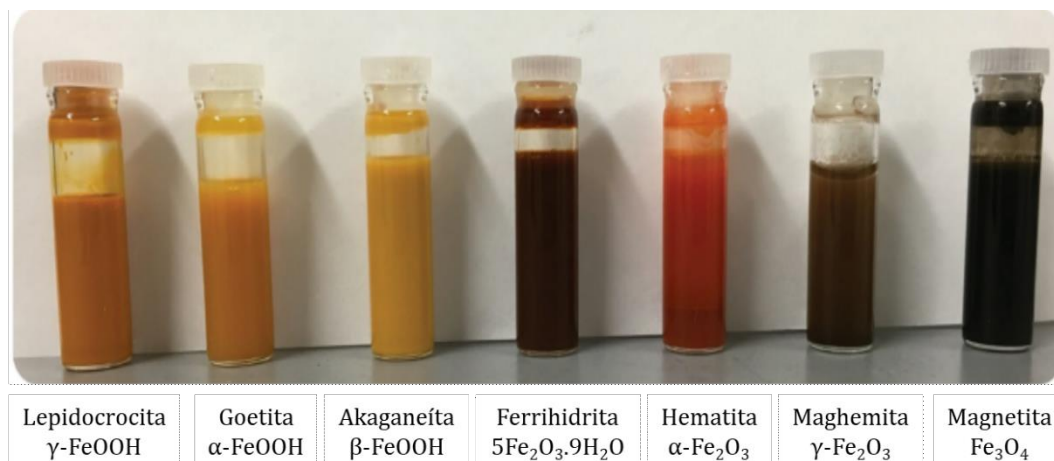


Figura 4 - Suspensiones de distintos óxidos de hierro. Adaptado de [24]

La hematita es mineral de óxido de hierro más conocido desde la antigüedad y está ampliamente distribuido en rocas y suelos. Es de color rojo si está finamente dividido, extremadamente estable y es frecuentemente la fase final de las transformaciones de otros óxidos de hierro [23]. Es un semiconductor tipo n ampliamente usado en catálisis, pigmentos y sensores de gases por su bajo costo y alta resistencia a la corrosión. Como se presenta en la Figura 5A, posee una estructura hexagonal compacta donde los iones Fe^{3+} ocupan dos tercios de los sitios octaédricos [20].

La magnetita es un mineral ferrimagnético de color negro que posee tanto iones Fe^{3+} como Fe^{2+} y posee una estructura de espinela inversa cubica centrada en las caras [23]. En esta estructura de celda unidad (Figura 5B) 32 aniones O^{2-} se encuentran compactados en la dirección $[1\ 1\ 1]$; los iones Fe^{2+} , responsables del comportamiento magnético del material [25], ocupan la mitad de los intersticios octaédricos; mientras que los iones Fe^{3+} se dividen uniformemente en los sitios octaédricos restantes y los sitios tetraédricos. En una magnetita estequiométrica la relación $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+} = 2$, y los iones ferroso pueden ser total o parcialmente reemplazados por otros iones divalentes, como Co, Mn, Zn, etc. De esta manera la magnetita puede ser un semiconductor tipo n o de tipo p [20].

La maghemita es un mineral ferrimagnético de color marrón rojizo que es isoestructural a la magnetita pero con sitios deficientes de cationes [23]. La estructura de la maghemita es cúbica (Figura 5C). Cada celda unidad de maghemita contiene 32 aniones O^{2-} , $21\ 1/3$ cationes Fe^{3+} y $2\ 1/3$ de vacancias. Los aniones oxígeno dan lugar a un arreglo de empaquetamiento cúbico, mientras que los cationes férricos están distribuidos sobre los sitios tetraédricos (ocho por celda unidad) y octaédricos (los cationes restantes y las vacancias) [20]. Por lo tanto, la maghemita puede considerarse como una forma totalmente oxidada de magnetita.

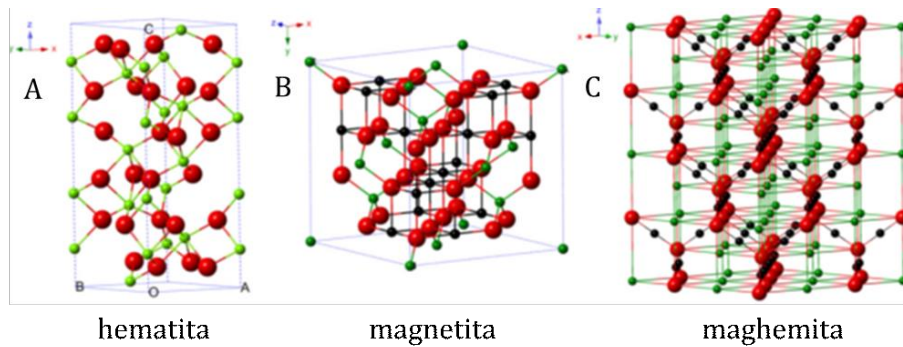


Figura 5 - Estructuras cristalinas de los óxidos de hierro (en negro Fe^{2+} , en verde Fe^{3+} y en rojo O^{2-}). Adaptado de [20]

2.1.3. Métodos de Síntesis de Nanopartículas Magnéticas de Óxidos de Hierro

Dada la gran cantidad de aplicaciones de las IONPs, se ha estudiado un amplio número de métodos de síntesis. Estos procedimientos tienen el desafío de producir nanopartículas monodispersas con un alto momento magnético y tamaño y morfología adecuados. Hay dos enfoques diferentes para lograr este propósito i) la reducción del tamaño de óxidos de hierro al rango nanométrico y ii) la condensación de precursores de hierro de una fase líquida o gaseosa, conocidos en la bibliografía como *top-down* y *bottom up* respectivamente. Según su naturaleza, las vías de síntesis pueden ser físicas, químicas o biológicas, siendo el método químico el más citado para la producción de IONPs. Estas vías de síntesis han sido recopiladas de manera excelente en muchos trabajos [1,10,18,20,21,26].

Los métodos físicos de producción de IONPs son de un enfoque *top-down*, que implican la ruptura de partículas grandes en partículas de tamaño nanométrico. Entre los métodos físicos reportados se incluyen la molienda de polvo con bolas [27], litografía con haz de electrones o la evaporación de láser. A pesar de que los métodos físicos son adecuados para una producción a gran escala, el tamaño de las partículas no puede ser controlado fácilmente [10].

Los métodos químicos de síntesis de IONPs corresponden al enfoque *bottom up*. Implican la condensación de átomos o moléculas de sustancias contenidas en una solución líquida o fase gaseosa. Según el medio de reacción podemos clasificar los métodos químicos en métodos húmedos (*wet chemical*) o métodos en fase gaseosa (*gas phase method*). Los métodos húmedos, que consisten en reacciones químicas en solventes, son los más ampliamente usados para sintetizar IONPs. Una gran cantidad de métodos de química húmeda han sido reportados, incluyendo coprecipitación, sol-gel, microemulsión, hidrotérmico, solvotérmico, poliol, sonoquímico, descomposición térmica y electroquímico [10].

Las IONPs sintetizadas por estas vías están en forma coloidal y es posible obtenerlas en escala nanométrica controlando diferentes parámetros de síntesis durante el período de nucleación y crecimiento. La síntesis de IONPs en fase gaseosa involucra la evaporación de partículas de gran tamaño de un precursor granulado de hierro en un reactor de llama, láser o plasma para descomponerlas en partículas de tamaño nanométrico. En este tipo de síntesis, cuando hay un grado de sobresaturación suficiente de productos condensables en la fase vapor, comienza la formación de las nanopartículas. Se pueden distinguir tres etapas

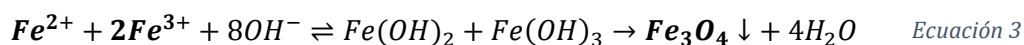
en la formación de las IONPs: nucleación homogénea en la fase gaseosa, condensación y coagulación [10].

Los métodos biológicos constituyen un tipo de enfoque *bottom-up* donde la reacción principal que sucede es reducción/oxidación. Usualmente enzimas microbianas o plantas con propiedades antioxidantes o reductoras son las responsables de la reducción de sales de hierro para obtener nanopartículas de óxidos. En una síntesis convencional biológica, se emplean bacterias hierro-reductoras como *Geobacter metallireducens* y *M. gryphiswaldense* [20], y *Actinobacter sp* en condiciones aerobias [28]. En general la biosíntesis es un método verde, amigable con el medioambiente y los productos obtenidos exhiben una buena biocompatibilidad. Sin embargo, el control del tamaño y la forma de las IONPs durante la síntesis no es bueno, ya que no se conoce el mecanismo de formación de IONPs mediado por estos organismos.

Se describirán con más detalle los métodos químicos de coprecipitación y del poliol. El primero es el método más simple y convencional. Por su parte, el método del poliol permite obtener IONPs con tamaño más controlado. En este trabajo se adoptó el método del poliol para sintetizar los nanomateriales.

2.1.3.1. Coprecipitación

La coprecipitación es la técnica más convencional y posiblemente el método químico más simple y efectivo para obtener nanopartículas magnéticas. Consiste en la mezcla de iones férrico y ferroso en una relación molar 1:2 en un medio altamente alcalino a temperatura ambiente o temperaturas elevadas. La reacción simplificada de formación de magnetita por este método es la siguiente:



De acuerdo con la termodinámica de esta reacción, la precipitación completa de la magnetita debería suceder a pH entre 8 y 14 en un ambiente no oxidante [26]. El tamaño, la forma y la composición de las IONPs preparadas depende de parámetros experimentales, como el tipo de sales de hierro (cloruros, percloratos, sulfatos, etc.), la relación $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, el pH y la fuerza iónica del medio [20]. Por ejemplo, cuando se usan bases fuertes como NaOH, KOH o LiOH pueden aparecer impurezas como goetita que reducen el momento magnético de las partículas; pero esto casi no ocurre cuando la base es amoníaco [10]. También es posible preparar IONPs en presencia de aire, con una relación $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ menor que 2:1 [29], como 1.5:1 [30].

Desde su primer reporte en la década de los 80 [31], el método de coprecipitación ha sido estudiado exhaustivamente en la preparación de IONPs por su simplicidad y capacidad de producción a gran escala. Sin embargo, los problemas de aglomeración y biocompatibilidad limitan su aplicación.

Para esto se han propuesto recubrimientos con surfactantes [32] y biomoléculas [33]. Además, estos recubrimientos con sustancias orgánicas protegen a la magnetita de la oxidación, dado a que esta no es muy estable y puede transformarse en maghemita. La transformación de magnetita a maghemita puede ocurrir por la presencia de oxígeno en el aire, en medio ácido y condiciones anaeróbicas, o incluso en condiciones básicas donde se produce una oxidación-reducción de la superficie de magnetita [26].

No obstante, el control sobre el tamaño de partícula, morfología y composición por la vía de coprecipitación es limitado, dado que el crecimiento de las partículas es controlado

por su cinética. En el proceso de coprecipitación hay dos etapas involucradas que pueden visualizarse en un diagrama de La Mer (Figura 6): una rápida formación de núcleos de partículas cuando la concentración de especies alcanza la supersaturación crítica (nucleación) y luego, un lento crecimiento de los núcleos formado por difusión de los solutos hacia la superficie del cristal [26]. Para producir IONPs monodispersas, estas dos etapas deben ser separadas, es decir, la nucleación debe ser evitada durante el período de crecimiento. Algunos autores realizaron la síntesis de IONPs monodispersas en presencia de polímeros [34]. En este caso, las cadenas recubren las partículas e inhiben su crecimiento luego del proceso de nucleación. Además, el polímero mitiga la aglomeración de IONPs mediante repulsión estérica.

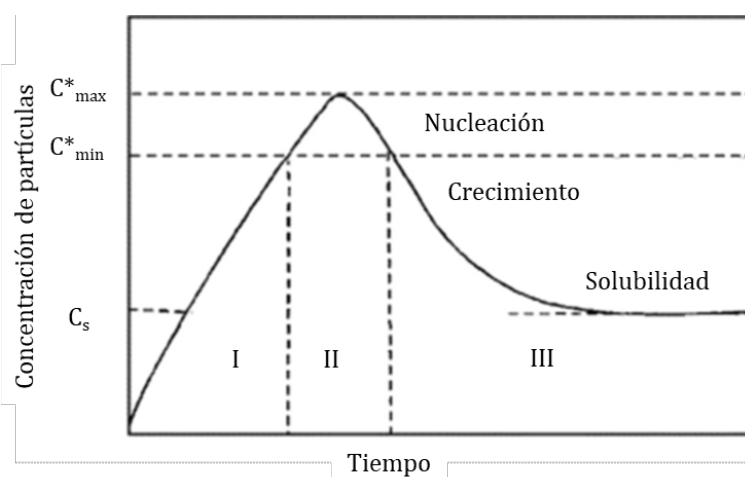


Figura 6 - Diagrama de La Mer. Adaptado de [10]

2.1.3.2. Poliol

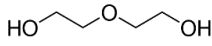
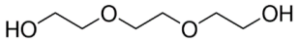
El método de poliol es un procedimiento adecuado para sintetizar IONPs con diversas formas y tamaños con una distribución de tamaños estrecha. Este método puede entenderse como un método de sol-gel invertido, en el sentido de que el método del poliol utiliza una reacción de reducción, mientras que el sol-gel procede una oxidación [20]. Algunos autores también lo incluyen dentro de los métodos solvotérmicos. En un procedimiento típico, un precursor de hierro (comúnmente una sal férrica) se dispersa junto a una base (generalmente acetato de sodio) en un poliol líquido, la mezcla es agitada y calentada a una temperatura determinada que usualmente alcanza la temperatura de ebullición del poliol. En muchas ocasiones se adiciona un estabilizante (aunque no es estrictamente necesario) que en general es un surfactante. Algunos autores han propuesto incluso el agregado de otras sustancias, como agua [35] o urea [36]. El método se basa en la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} por el poliol y al alcanzar la supersaturación comienza la nucleación de partículas, que luego se van aglomerando en forma de agregados o *clusters* a alta temperatura. El producto final es principalmente magnetita altamente cristalina con un tamaño de partícula controlado. El mecanismo de esta síntesis será discutido más adelante.

Varios trabajos se han dedicado a estudiar el efecto de los diferentes parámetros en la síntesis: Concentración del precursor de hierro, tipo de glicol, mezcla de glicoles, concentración del estabilizador, tipo de estabilizador, agregado de otras sustancias, temperatura, tiempo e incluso efecto de escalado, agitación y tipo de horno de calentamiento. En general distintos trabajos coinciden en el efecto de estos parámetros,

aunque no siempre y el mecanismo propuesto difiere según la variación del procedimiento. El trabajo de Deng [37] fue pionero en reportar la síntesis de microesferas de ferrita (MFe_2O_3 , $M = Fe, Mn, Co, Zn$) cristalinas magnéticas. Prácticamente todos los trabajos posteriores se basan en este trabajo. Como se discutirá más adelante, Fan y colaboradores [38] propusieron un mecanismo de reacción para el método del polirol sin el uso de un estabilizante/surfactante adicional, es decir, la mezcla de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, acetato de sodio (trihidrato en este caso) y EG en un autoclave a $200^\circ C$. Este último procedimiento es el que fue adoptado en este trabajo de tesis.

Los polioles son alcoholes con más de un grupo hidroxilo en su estructura. En particular los glicoles (o dioles) poseen dos grupos hidroxilos no necesariamente adyacentes. Los etilenglicoles provienen de la reacción de óxido de etileno con agua, los más comunes son etilenglicol (EG) también llamado monoetilenglicol, dietilenglicol (DEG) y trietilenglicol (TEG). La Tabla 2 resume la estructura y algunas propiedades de estos oligoetilenglicoles. El polietilenglicol (PEG) es un polímero de estructura $HO-(CH_2-CH_2-O)_n-H$ que también puede usarse como solvente en muchas reacciones, pero en este método de obtención de IONPs generalmente cumple el rol de estabilizante. Estos solventes ofrecen algunas propiedades interesantes para la preparación de nanopartículas magnéticas. Debido a sus elevadas constantes dieléctricas, los polioles son capaces de disolver sustancias inorgánicas y gracias a sus puntos de ebullición relativamente elevados brindan un amplio rango de temperaturas de operación (desde $25^\circ C$ hasta su punto de ebullición) para preparar sustancias inorgánicas.

Tabla 2 - Estructura y propiedades de algunos oligoetilenglicoles

Nombre y acrónimo	Estructura	Peso Molecular ($mol\ g^{-1}$) ^a	Viscosidad a $25^\circ C$ (cp) ^a	Punto de ebullición normal ($^\circ C$) ^a
Etilenglicol (EG)	$HOCH_2CH_2OH$	62	16.9	197
Dietilenglicol (DEG)		106	35.7	245
Trietilenglicol (TEG)		150	49.0	288

^a Datos de fichas técnicas de *Carolina International Sales, Inc. (CISCO)*

Los polioles en este método cumplen diversas funciones: como solventes de alto punto de ebullición, agentes reductores y también como estabilizadores para controlar el crecimiento de partículas y prevenir su agregación [26]. Debido a sus propiedades, el tipo de polirol también juega un rol importante en la determinación de tamaño y las propiedades magnéticas de las IONPs sintetizadas, dado que distintos polioles generaran partículas y

agregados de tamaños diferentes. Se debe tener en cuenta la viscosidad, el poder reductor y la capacidad de complejación de los polioles. El efecto de la viscosidad se evidencia en el uso de mezclas de glicoles, por ejemplo, EG y DEG. El tamaño del agregado resulta inversamente proporcional a la relación volumétrica $V_{\text{DEG}}/V_{\text{EG}}$ [39]. Dado a que el DEG es más viscoso y forma un complejo de coordinación más estable con los iones hierro que el EG, la energía superficial de los nanocristales disminuye cuando el DEG se introduce en la mezcla de solventes. Esta disminución de la energía de barrera entre nanocristales resulta en más centros de aglomeración, lo que genera una reducción del tamaño de los agregados de Fe_3O_4 con el incremento de la relación $V_{\text{DEG}}/V_{\text{EG}}$. Por otro lado, el poder reductor de los oligoetilenglicoles generalmente se reduce con el aumento de la cadena carbonada. Así que es factible que el EG asuma el rol de agente reductor en estas mezclas, más que el DEG. De hecho, al utilizar DEG puro se formaron nanopartículas no simétricas en lugar de agregados esféricos [39], lo que sugiere un mecanismo de formación diferente. Así, el propilenglicol (1,2-propanodiol) con un mayor poder reductor que el EG y DEG genera agregados más grandes cuando los sustituye, a pesar de ser más viscoso [40]. Sin embargo, cuando se utiliza glicerol (1,2,3-propanotriol) que debería poseer un mayor poder reductor que EG por tener más grupos hidroxilos libres, pero es más viscoso, no se forma un producto magnético [40]. Esto sugiere que tanto la viscosidad como el poder reductor influyen en la reacción y dependiendo de ambas, la reducción del poliol puede ser promovida o limitada. Usando una mezcla de TEG/EG en lugar de DEG/EG, se obtuvieron agregados de mayor tamaño, a pesar de que el TEG posee un menor poder reductor y mayor viscosidad que el DEG [40]. Este fenómeno se atribuye a un poder de complejación mucho mayor del TEG por los iones férrico, que hace que cuando la reacción comienza haya una solución con más cantidad de iones disponibles, acelerando la formación de partículas. Así, una mayor cantidad de partículas más pequeñas se forman para luego aglomerarse en agregados más grandes. También se probaron procesos de poliol con cuatro tipos de polioles diferentes (EG, DEG, TEG y tetraetilenglicol) y acetilacetonato férrico $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$ como precursor [41,42]. En este caso, solo la reacción con TEG produjo nanopartículas de magnetita no aglomeradas con una forma esférica uniforme y una distribución de tamaño estrecha.

El precursor de hierro más difundido es el $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, el cual claramente provee los iones férricos, que deben ser reducidos parcialmente para la formación de la magnetita. Aumentando la concentración de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ mientras se mantiene constante la relación molar $[\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]/[\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ incrementa el tamaño de agregados, tanto en presencia [43] como en ausencia [38] de un estabilizador adicional. Además, las partículas de Fe_3O_4 exhiben un aumento gradual de los valores de M_s , M_r y H_c con el incremento del tamaño de nanocrystal y de la cristalinidad. Asimismo, la distribución de tamaño de partícula se hace más angosta conforme aumenta la concentración del precursor.

El acetato de sodio o de amonio funciona también como estabilizante electrostático para prevenir la aglomeración. Además, puede asistir al poliol en la reducción del Fe^{3+} y favorecer la alcalinidad del medio de reacción. Esta última promueve la obtención de $\text{Fe}(\text{OH})_3$, que se transforma parcialmente en $\text{Fe}(\text{OH})_2$ en el medio reductor, y estos al combinarse forman partículas de Fe_3O_4 [44]. En algunos casos se ha reemplazado el acetato de sodio por hidróxido de sodio (NaOH), usando un estabilizante adicional [45]. El agregado de NaOH a la mezcla inicial de reacción genera además moléculas de agua que favorecen la

hidrólisis del FeCl_3 . En consecuencia, el tamaño de los agregados se incrementa con la concentración de NaOH .

Además del precursor de hierro, el poliol y la base, es muy frecuente el uso de una sustancia adicional que actúa de estabilizador. Este cumple el rol de recubrir a los agregados para impedir su agregación mediante efectos electrostáticos o estéricos. Más importante aún, puede regular el tamaño de las cristalitas constituyentes de los agregados y de los agregados mismos. Diversas sustancias han sido propuestas como estabilizadores, incluyendo citrato de sodio [36,39,43], PEG [37], ácido poliacrílico (PAA) [35,45], polivinilpirrolidona (PVP) [44], CTAB [46] y dodecilbenceno sulfato de sodio (SDBS) [47], entre otros. El efecto general es que al aumentar la concentración del estabilizador, disminuye el tamaño de las cristalitas y de los agregados, pero este comportamiento no puede ser extendido para todos los estabilizadores. En particular, para aplicaciones biomédicas el citrato de sodio es destacable pues es ampliamente usado en la industria alimenticia y farmacéutica y es parte de los procesos metabólicos del ser humano [43]. Por el contrario, el PAA no es biodegradable ni biocompatible, mientras que el CTAB y el SDBS son tóxicos, lo que limita sus aplicaciones en este sentido. Cuando no se utiliza un estabilizador adicional, se han encontrado submicropartículas de hasta 420 nm de Fe_3O_4 de un único cristal y no agregados de partículas más pequeñas [38].

En algunas ocasiones se agregan otras sustancias para favorecer de algún modo la formación de las IONPs. Por ejemplo, la urea acelera la formación de agregados de magnetita, al descomponerse e hidratarse para formar grupos oxhidrilo, que producen la condición alcalina para promover la hidrólisis de los iones férrico en solución [36]. Por otro lado, la presencia de agua (ya sea adicionada al glicol, como parte del precursor de hierro o por humedad ambiental) tiene una gran influencia en el resultado de la reacción. El tamaño de las partículas, del agregado y de M_s disminuyen drásticamente en ciertos rangos de concentración de agua [35]. Esto implica que algunos de los efectos de una mayor concentración del precursor de hierro pueden derivarse al menos en parte de un incremento en la concentración de agua, pues el precursor contiene agua en la mayoría de los casos. Además, la reproducibilidad de los resultados depende mucho de los reactivos a utilizar y de las condiciones de pretratamiento. Por ejemplo, el hecho de que el acetato de sodio se presente hidratado, o que el EG sea higroscópico, o bien el tiempo de agitación previo a la mezcla, pueden modificar el contenido de agua de la mezcla de reacción.

El tiempo de reacción parece tener un pequeño efecto sobre el tamaño medio de las partículas hasta 12 h [38,43], aunque sí se vuelven más uniformes en tamaño y forma conforme incrementa el tiempo de reacción. Recién con largos tiempos de reacción de 48 h o 72 h se observan cambios importantes en el tamaño de los agregados [37], aunque el tamaño de las cristalitas no se modifica en general [40]. Sin embargo, esto resulta poco práctico y como se expuso antes hay formas más simples y eficaces de regular el tamaño medio de las IONPs. La temperatura posee un efecto importante en el proceso. Al disminuir la temperatura, la cinética de formación de las partículas y la aglomeración para obtener agregados se ralentiza, así el efecto global es el mismo que disminuir el tiempo de reacción. Para reacciones a temperaturas de 150°C en una mezcla EG/DEG se ha observado la formación de maghemita y agregados más pequeños e incluso partículas no cristalinas [40]. Por otro lado, usando EG y citrato de sodio, se ha reportado que el producto obtenido a 190

°C no muestra respuesta magnética [43], lo que indica que 200 °C es la temperatura umbral de formación de magnetita cuando se trabaja con EG.

Existen otros factores importantes que se plantean en la tarea de fabricar IONPs en el laboratorio, que no son usualmente considerados en la bibliografía. Entre ellos el escalado, la temperatura del horno, cambiar el autoclave por un sistema con agitación magnética, entre otros [40]. Por ejemplo, se observó que al usar el mismo reactor autoclave con la mitad de los reactivos o un reactor autoclave más grande con el doble de reactivos, el tamaño de los agregados disminuyó en ambas situaciones. En el caso del reactor más grande puede explicarse porque tarda más en alcanzarse la temperatura de reacción, mientras que, en el caso del reactor medio lleno, hay diferente presión. Usar un horno diferente también trae como resultado partículas de tamaño distinto, por su diferente capacidad de retener energía térmica y velocidad de calentamiento. También se ha observado que la introducción de un buzo magnético en la mezcla de reacción fue en detrimento del tamaño de los agregados. Por otro lado, el lavado final de las partículas puede generar pérdida de materia orgánica (estabilizador o poliol) de la superficie de las IONPs

Varias modificaciones del método del poliol y por lo tanto mecanismos de reacción han sido propuestos. En general estos métodos solo varían en el estabilizador utilizado y los cambios en los parámetros de reacción tienden a producir los mismos efectos en la mayoría de los casos. Sin embargo, las características de las IONPs producidas con y sin un estabilizador adicional, y por ende sus mecanismos de formación, son diferentes. En el trabajo de Fan y colaboradores [38] se monitoreó la morfología y estructura cristalina en una síntesis de magnetita por el método del poliol usando $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y EG y se propuso un mecanismo de reacción. Este mecanismo cuenta con cuatro etapas: complejación, agregación, transformación de fase y reducción (Figura 7).

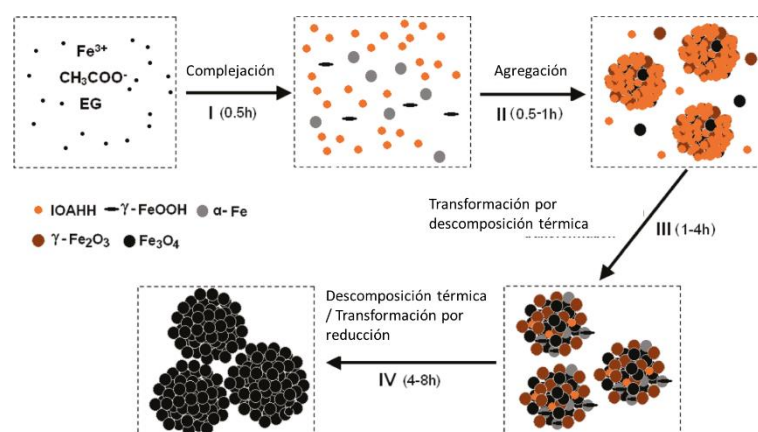
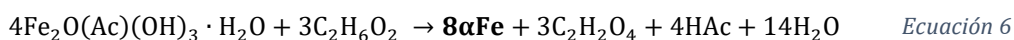
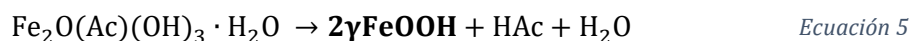
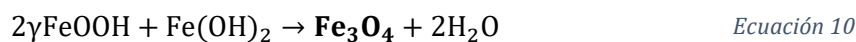


Figura 7 - Esquema del mecanismo de formación de magnetita por el método del poliol sin estabilizador adicional. Adaptado de [38]

En los primeros 30 minutos, durante la etapa de complejación, el acetato (Ac^-) sirve como ligando y forma una fase intermedia llamada hidrato hidróxido acetato de óxido de hierro (IOAHH) que corresponde a la fórmula $\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})(\text{OH})_3\text{H}_2\text{O}$ (Ecuación 4). Asimismo, ocurre la descomposición parcial de este intermediario para formar lepidocrocita ($\gamma\text{-FeOOH}$) (Ecuación 5) y su reducción parcial mediante EG para obtener $\alpha\text{-Fe}$ (Ecuación 6) y $\text{Fe}(\text{OH})_2$ (Ecuación 7).



Durante la etapa 2, entre 30 min y 1 hora de comenzada la reacción, comienza la agregación de pequeños granos de complejos para dar partículas esféricas rugosas, incluyendo maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) mediante deshidratación térmica de $\gamma\text{-FeOOH}$ (Ecuación 8) y magnetita (Fe_3O_4) recientemente formada mediante reacción redox entre maghemita y hierro alfa (Ecuación 9) o bien por reacción entre $\gamma\text{-FeOOH}$ y $\text{Fe}(\text{OH})_2$ (Ecuación 10).



En la etapa 3, entre 1 y 4 h, junto con los intermediarios $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y $\gamma\text{-FeOOH}$ en los complejos, la transformación del IOAHH parece realizarse preferentemente por la vía reductiva con EG (Ecuación 6 y Ecuación 7). En realidad, mediante observaciones experimentales, puede concluirse que la formación y transformación de la fase intermedia IOAHH ocurre simultáneamente durante todo el proceso de crecimiento de las partículas y que al inicio la velocidad de formación parece ser mayor que la de transformación, mientras que esto se invierte al llegar a la etapa 3.

En la etapa 4, entre 4 y 8 h, el proceso de descomposición térmica es comparable al de reducción térmica y una gran cantidad de magnetita es obtenida mediante deshidratación térmica (Ecuación 8) y reacciones de oxidación (Ecuación 9) y reducción (Ecuación 10). Finalmente, luego de 8 h de reacción, se obtienen nanopartículas de magnetita pura con una alta cristalinidad. Por otro lado, durante todo el proceso puede generarse una gran cantidad de gases ácidos como ácido clorhídrico y ácido acético.

Como puede verse, hay muchos factores para tener en cuenta al utilizar el método del poliol para producir IONPs, incluso condiciones que son muchas veces ignoradas. Sin embargo, este procedimiento da generalmente resultados muy reproducibles bajo las mismas condiciones. En comparación con otros procedimientos químicos (Tabla 3), el método del poliol presenta grandes ventajas en la preparación de IONPs. Primero, la superficie de las nanopartículas queda cubierta por ligandos de poliol hidrofílicos, por ende, estas nanopartículas pueden dispersarse fácilmente en agua y otros solventes polares. Segundo, la temperatura de reacción relativamente alta favorece la formación de IONPs con una alta cristalinidad y por lo tanto, mayor magnetización de saturación [20]. Finalmente, la distribución de tamaño de las nanopartículas es mucho más angosta que la que se obtiene por otros métodos [26]. Esto hace que estas IONPs sean adecuadas para aplicaciones biomédicas o de tratamiento de aguas, o bien como intermediarias para una posterior modificación en un medio de reacción acuoso o polar.

Tabla 3 - Comparación de métodos de síntesis de IONPs

Método	Síntesis	Temperatura (°C)	Tiempo	Solvente	Distribución de tamaño	Control de la morfología
Coprecipitación	Muy simple, Condiciones ambientales	25-90	Minutos	Agua	Relativamente estrecha	Regular
Poliol	Simple, alta presión	200	Horas	Poliol	Muy estrecha	Muy buena

2.2. SÍLICE MESOPOROSA

2.2.1. Síntesis, Propiedades y Tipos de Sílice Mesoporosa

La sílice, químicamente SiO_2 , es un sólido inorgánico cuya estructura consiste en una red tridimensional de tetraedros de SiO_4 interconectados mediante enlaces siloxanos (Si-O-Si). La sílice puede ser porosa o no porosa. La IUPAC clasifica a los materiales porosos según su diámetro de poro (D_p) en microporosos ($2 \text{ nm} > D_p$), mesoporosos ($2 \text{ nm} < D_p < 50 \text{ nm}$) y macroporosos ($50 \text{ nm} < D_p$) [48]. La sílice mesoporosa ($m\text{SiO}_2$ o MS, *mesoporous silica*) es una clase única de material poroso con poros de un tamaño entre 2 y 50 nm, una elevada área superficial específica (200–1500 $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$) y un gran volumen de poros (hasta 1 $\text{cm}^3 \text{ g}^{-1}$) [49]. Otras características destacadas son su química superficial versátil, estructura ajustable, baja toxicidad, estabilidad química y bajo costo de producción. Los silicatos muestran diversas morfologías, como películas delgadas, esferas, monolitos y fibras, entre otras, siendo las esferas las más estudiadas [50]. En estos silicatos, la red de sílice es una fase amorfa y los mesoporos se organizan periódicamente dentro de la estructura.

Los primeros reportes de síntesis de sílice mesoporosa *bulk* fueron realizados por investigadores de la Universidad Waseda [51] y de la *Mobile Oil Company* a principios de los años 90 [52,53]. Los silicatos producidos por los investigadores de la *Mobil Oil Company*, conocidos como fase M41S, constituyen la familia de las MCM (*Mobile Composite of Matter*) con tamaños de poros entre 2 y 8 nm. Los representantes más conocidos de esta clase incluyen MCM-41 (con un arreglo hexagonal de poros), MCM-48 (con un arreglo cubico de poros) y MCM-50 (con estructura laminar) (Figura 8). Los materiales KIT-5 y KIT-6, similares a MCM-41 en área superficial específica y tamaño de poros uniformes pero con estabilidad térmica mejorada, fueron fabricados en 1997 [54]. En 1998, el grupo de Galen Stucky de la Universidad de California desarrolló la familia de las SBA (*Santa Barbara Amorphous*) (SBA-1, SBA-2, SBA-6, SBA-8, SBA-11, SBA-12, SBA-15 y SBA-16) con poros de mayor tamaño (7.5-32 nm) y paredes más gruesas [55,56]. Las excepcionales propiedades de la sílice mesoporosa *bulk* (del orden de micrones) y sus potenciales aplicaciones inspiraron su traslación a la escala nanométrica (50-300 nm). De esta manera, unos años más tarde varios grupos desarrollaron e investigaron nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNPs, *mesoporous silica nanoparticles*) [57]. Las nanopartículas de sílice mesoporosa han encontrado usos en diversos campos, como catálisis, tamices moleculares, dispositivos de transferencia de energía, sensores, cromatografía, remediación ambiental y nanomedicina. Estas últimas dos son de interés en este trabajo de tesis y por lo tanto se hará énfasis en los tipos de sílice mesoporosa para estas aplicaciones.

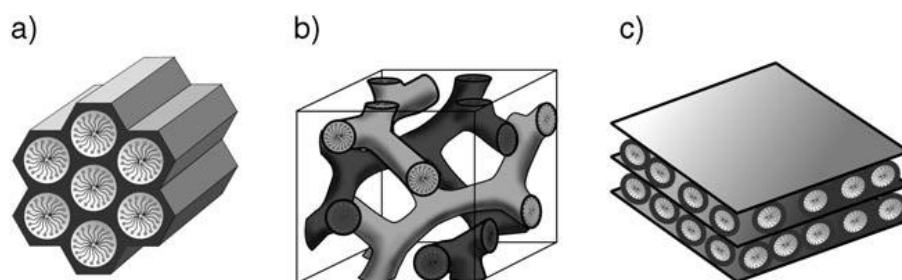


Figura 8 – Estructura de los materiales mesoporosos M41S a) MCM-41, b) MCM-48 y c) MCM-50. De [58]

El procedimiento de síntesis más común de sílice mesoporosa se basa en el método sol-gel de Stöber [59] que involucra un agente director de estructura (SDA, *structure directing agent*) típicamente un surfactante (catiónico, aniónico o no iónico) que se organiza en forma de micelas en solución acuosa y dirige la polimerización de un precursor de sílice, usualmente un alcóxido de silicio como tetraetilortosilicato (TEOS) también llamado tetraetoxisilano (Figura 9). Para entender el procedimiento, consideremos como ejemplo la síntesis de la sílice mesoporosa MCM-41 donde se emplea el surfactante catiónico bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) en un medio básico de reacción. Primero, se obtiene una solución homogénea disolviendo el surfactante en un solvente, siendo el agua el más común, aunque también se usan mezclas de etanol y agua. Allí las moléculas del surfactante se acomodan orientando sus colas hidrofóbicas hacia adentro de la micela y dejando sus cabezas polares expuestas al medio. Luego, se produce una organización espacial de micelas, como el arreglo hexagonal de la Figura 9. Más tarde se agrega el precursor de sílice a la solución y comienza a reaccionar con el agua, catalizado por una base en este caso, transformando sus grupos alcóxido (Si-OR , $\text{R} = \text{CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3$) en silanoles (Si-OH) (Figura 10) y formándose un sol de oligómeros de silicato. El medio básico favorece la desprotonación de las moléculas de TEOS que, por atracción electrostática, se orientan sobre las micelas de surfactante positivas. Allí se produce la reacción de entrecruzamiento entre las moléculas de TEOS por condensación de grupos silanoles, para quedar unidas de forma covalente mediante enlaces siloxano (Si-O-Si). Así se forma una red amorfa de tetraedros de SiO_4 interconectados, que constituyen las paredes del sólido, sobre las micelas de surfactante que actúan como una plantilla o *template* para el crecimiento de la sílice. Como resultado de esta interacción entre oligómeros y micelas de surfactante, la agregación y el ensamblado cooperativo producen la precipitación de un gel. En el espacio ocupado por las micelas estarán los mesoporos, una vez removido el surfactante del compuesto que forma con la sílice.

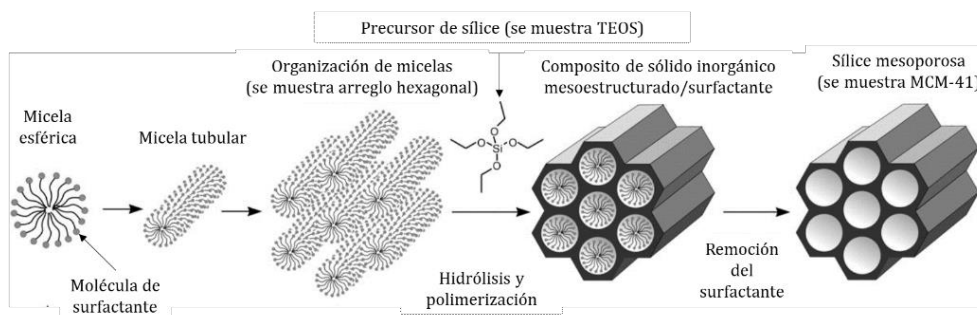


Figura 9 – Procedimiento tradicional de obtención de sílice mesoporosa. Adaptado de [58]

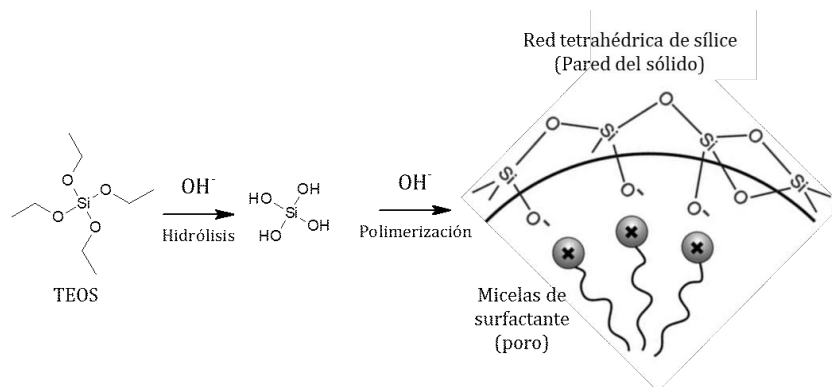


Figura 10 - Esquema de la formación de la sílice sobre las micelas de surfactante

Según la bibliografía, hay dos mecanismos propuestos para la formación de estos compositos de sílice-surfactante [50,58]. El explicado previamente, es un mecanismo de plantilla de cristal líquido verdadera (*true liquid-crystal templating*, TLCT) que ocurre cuando la concentración de surfactante es tan alta que se forma una fase líquida cristalina liotrópica (como el arreglo hexagonal de la Figura 9), sin requerir la presencia del precursor de sílice. En el otro mecanismo posible, llamado autoensamblaje cooperativo, esta fase puede formarse con bajas concentraciones de surfactante cuando ya están presentes en el medio las especies inorgánicas.

Este procedimiento original ha sido extendido a un gran número de variantes para obtener diversos tipos de sílices mesoporosas. El tamaño de poro, el tamaño de partícula y la morfología pueden ser ajustados seleccionando diferentes surfactantes, controlando el pH y usando aditivos [49]. La adición de un cosolvente, como trimetilbenceno (TMB), que expanda las micelas de surfactante es otra forma de obtener poros más grandes [60–62]. También es posible incrementar el tamaño de poros por un tratamiento hidrotérmico posterior a la síntesis [63,64]. La estructura de los poros depende fundamentalmente de las cantidades relativas del surfactante y el precursor de sílice, así como de la capacidad de empaquetamiento del surfactante [65]. Para materiales con poros entre 2-5 nm las estructuras más comunes son hexagonal (MCM-41), cúbica (MCM-48) y laminar (MCM-50); mientras que para mayores tamaños (entre 6 y 20 nm) la estructura más usual es 2D hexagonal (SBA-15) [58]. Al agregar el precursor de sílice a una solución diluida y precalentada del surfactante se consiguen nanopartículas de sílice mesoporosa de morfología esférica [57]. Por otro lado, la síntesis puede llevarse a cabo en medio ácido o básico y de forma menos frecuente en medio neutro. Condiciones fuertemente alcalinas (pH > 12) generan condensaciones rápidas que llevan a mesofases laminares (MCM-50), mientras que moderadamente básicas (10 < pH < 12) producen preferentemente estructuras hexagonales (MCM-41). Por otro lado, SBA-15, KIT-5 y KIT-6 son preparadas en condiciones ácidas [50], mientras que otros tipos de sílice mesoporosa, como HMS (*hexagonal mesoporous silica*) [66] son sintetizadas a pH neutro.

La temperatura de reacción en la solución de síntesis suele ser relativamente baja, entre -10 °C y 130 °C. Para esto debe considerarse la temperatura micelar crítica del surfactante (*Critical micelle temperature*, CMT), es decir, la temperatura umbral inferior para que un surfactante forme micelas; y el punto de enturbiamiento (*cloud-point*, CP), que es la temperatura por encima de la cual la mezcla experimenta una separación de fases y se enturbia [50]. De esta manera, la temperatura de reacción debe estar entre la CMT y el CP.

Para síntesis de nanopartículas esféricas tipo MCM-41 de alrededor de 500 nm de diámetro puede usarse temperatura ambiente y varias horas (6 – 24 h) de contacto [67]. También es posible obtener MCM-41 en 2 h a 80°C, en este caso las partículas obtenidas son de menor tamaño, entre 100-150 nm de diámetro [68]. Ocasionalmente se somete al composito formado después de esta reacción a un tratamiento hidrotérmico adicional, aunque esto no parece ser estrictamente necesario. Con este tratamiento se espera que mediante reorganización, crecimiento y cristalización se pueda mejorar la regularidad de las mesoestructuras obtenidas [50]. Para esto se lleva a la solución de reacción a un reactor autoclave entre 80 y 150°C durante 1 a 7 días. Esto permite, por ejemplo, la transición de fase de MCM-41 para obtener MCM-48.

La porosidad de los silicatos se obtiene una vez que se haya removido el surfactante de los compositos. Se han aplicado diversos métodos de remoción que influyen en las características finales de los materiales mesoporosos. La calcinación es el método más común, debido a su simplicidad de operación y a que logra la remoción total del surfactante. La temperatura aplicada debe ser suficientemente alta para calcinar la materia orgánica, pero no demasiado elevada como para hacer colapsar la estructura por sobrecalentamiento. El método original propuesto por los investigadores de la *Mobil Oil Company* inicia con una 1 h de atmósfera de N₂ para descomponer los surfactantes seguido de 5 h en aire para calcinarlos. El primer paso con N₂ puede ser reemplazado por calentamiento en aire a baja velocidad (2° min⁻¹ hasta 550 °C) [50]. Los inconvenientes de la calcinación pueden ser la no recuperación del surfactante y el hecho de que los grupos hidroxilo de la superficie se condensan entre ellos, obteniéndose un material con menos grupos superficiales reactivos. Por otro lado, la extracción con solventes es un método suave para remover los surfactantes de los poros. Se han propuesto diversos solventes como acetona [67] y etanol en medio ácido [69]. Con este método se pueden mantener muchos más grupos hidroxilo, mejorando las características hidrofílicas del material. Sin embargo, en muchos casos la eliminación de surfactante no es completa. También se han propuesto otros métodos de remoción más sofisticados, como el uso de fluidos supercríticos, irradiación con microondas, digestión de microondas y el uso de luz ultravioleta de alta energía; que, si bien son efectivos en la remoción de la sustancia de plantilla, resultan demasiado costosos y complejos de aplicar [50].

2.2.2. Funcionalización de Sílice Mesoporosa

Una de las características más ventajosas de la sílice mesoporosa es la facilidad con la que puede funcionalizarse con una gran variedad de grupos en diferentes regiones de la partícula. Esto es posible gracias a la presencia de grupos silanoles en su superficie. La introducción de estos grupos funcionales hace muy versátil a la sílice mesoporosa y permite obtener materiales híbridos que pueden desempeñar tareas específicas. El término materiales híbridos hace referencia a un material que posee enlaces covalentes entre sus componentes orgánicos e inorgánicos. Esto es diferente de un composito, como el que de la Figura 9, que es un sistema de dos o más componentes diferentes que poseen una interface y que están unidos mediante interacciones atractivas del tipo Van Der Waals (electrostáticas, hidrofóbicas, puente hidrógeno, π - π , etcétera). Es posible incorporar grupos funcionales en la superficie externa o interna de las partículas, en la entrada de los poros y en el interior de las paredes de los poros (Figura 11).

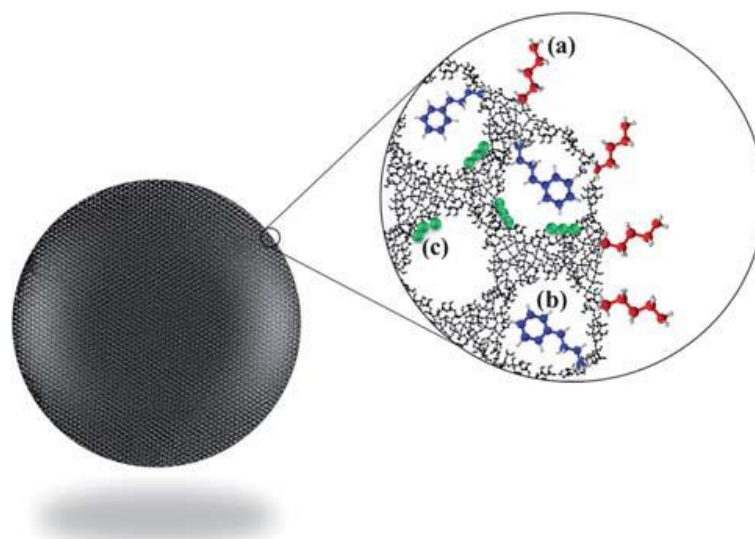


Figura 11 – Introducción de grupos funcionales en diferentes regiones de nanopartículas de sílice mesoporosa a) en la superficie externa b) en la entrada de los poros y c) dentro de las paredes de los poros [49].

La forma más frecuente de funcionalizar la superficie de la MS es utilizando trialcoxisilanos con sustituyentes orgánicos. Estos organosilanos $[(R'O)_3Si-R]$ poseen un átomo central de silicio enlazado a tres grupos alcóxido ($R'O^-$) y a un grupo (R^-) con funciones orgánicas como alquil, amino, tiol, vinil, fenil, entre otras. Los alcoxis son típicamente metoxi ($R'=CH_3$) o etoxi ($R'=CH_2CH_3$); no suelen utilizarse de mayor peso molecular por su bajo grado de hidrólisis. Los organosilanos pueden incorporarse a la superficie de la MS mediante dos enfoques diferentes: post-síntesis por anclaje covalente, injerto covalente o *grafting* o bien durante la síntesis del material por co-condensación.

En un procedimiento de anclaje o injerto covalente se cataliza la hidrólisis, en medio ácido o básico, de los grupos alcoxi del organosilano transformándolos en hidroxilos para que se condensen con los grupos silanoles de la superficie de la sílice mesoporosa (Figura 12A). De este modo, el grupo R permanece unido de modo covalente a la superficie. Este método tiene la ventaja de que, dependiendo de las condiciones de reacción, se conserva la estructura de partida de la sílice mesoporosa. Además, ocurre una disminución de la porosidad del material híbrido obtenido, según el tamaño y el grado de anclaje del organosilano. Dependiendo de la naturaleza del organosilano y de las condiciones de síntesis, este puede enlazarse a la superficie externa de la sílice o bien a la superficie interna de los mesoporos. Esto hace que los materiales híbridos obtenidos mediante injerto covalente no posean siempre una distribución homogénea de grupos anclados. Una alternativa interesante es realizar el anclaje del compuesto con el surfactante dentro de los poros, para poder funcionalizar la superficie externa de la sílice [70]. Una vez removido el surfactante puede dejarse libre la superficie interna o bien anclar algún grupo deseado. Sin embargo, hay evidencia de organosilanos que difunden y se enlazan a las paredes de los poros incluso con el surfactante en su interior, lo que puede evitarse con sustituyentes voluminosos [49].

Por otro lado, es posible preparar materiales híbridos mediante funcionalización durante la síntesis. Esto consiste en la co-condensación de tetraalcoxisilanos, como el TEOS, con trialcoxisilanos sustituidos en presencia del agente director de estructura (Figura 12B). De esta manera se obtienen materiales con restos orgánicos anclados a la pared de los poros. La subsiguiente remoción del agente director de estructura debe hacerse por extracción

pues la calcinación eliminaría también los grupos orgánicos anclados. Este método tiene la ventaja de poder realizar la síntesis y funcionalización de la sílice en un solo paso, además de obtener materiales híbridos con restos orgánicos distribuidos más homogéneamente en comparación con el método de injerto covalente. Sin embargo, la co-condensación también presenta varias desventajas. Las concentraciones elevadas de organosilano pueden llevar a condensación entre sus moléculas, lo que produce materiales con estructuras desordenadas y también reducción en el tamaño de poro, volumen de poro y área superficial específica. Las nanopartículas de sílice mesoporosa diseñadas como adsorbentes son funcionalizadas comúnmente mediante anclaje covalente o co-condensación.

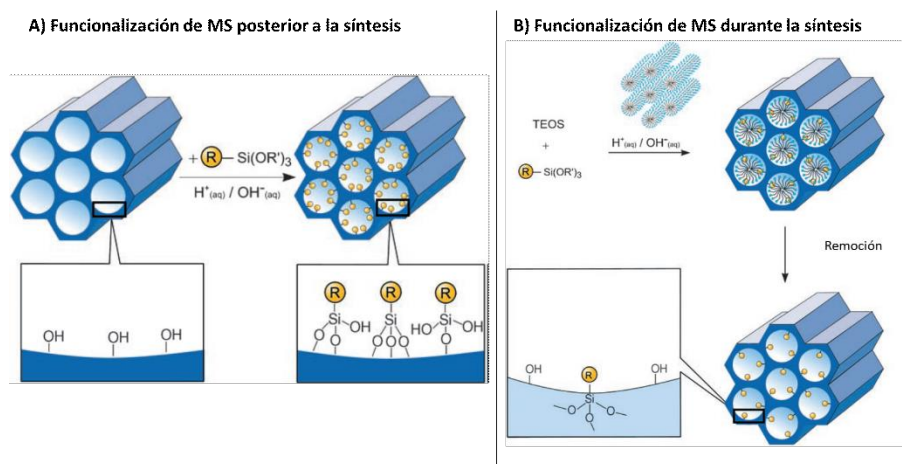


Figura 12 – Funcionalización de la superficie de la sílice mesoporosa mediante organosilanos A) Posterior a la síntesis mediante injerto covalente y B) durante la síntesis de la sílice por co-condensación. Adaptado de [58]

Para ciertas aplicaciones, como liberación controlada de fármacos, es útil poder anclar organosilanos en la entrada de los mesoporos. Los poros vacíos pueden emplearse como reservorio para almacenar moléculas con ciertas funciones. Los organosilanos anclados pueden proveer grupos que actúan como compuertas de los poros. De esta manera es posible retener las moléculas almacenadas dentro de los poros y permitir su liberación de forma controlada. Mediante una reacción de anclaje durante un tiempo corto en sílice mesoporosa que aún contiene el surfactante es posible lograr la funcionalización fundamentalmente en la entrada de los poros, como fue propuesto por el grupo de Tanaka [71]. Dependiendo del tamaño del organosilano y controlando las condiciones de reacción puede obtenerse el anclaje principalmente en la entrada de los poros, incluso sin la remoción previa del surfactante [15].

2.3. INTEGRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS Y SÍLICE MESOPOROSA

Debido a las excelentes propiedades de las IONPs y de la MSNPs, muchos investigadores han hecho grandes esfuerzos en los últimos años para poder integrar estos materiales. El recubrimiento de IONPs con sílice mesoporosa permite obtener nanopartículas con estructuras jerárquicas conocidas como de núcleo-cubierta o *core-shell* [11]. El núcleo magnético les permite a estas partículas ser guiadas fácilmente mediante un campo magnético externo, mientras que la capa mesoporosa protege el núcleo de oxidación y provee al material de gran área superficial y volumen de poro para retener moléculas. Estas nanopartículas se denominarán como MMS (*magnetic mesoporous silica nanoparticles*). Dentro de las diversas morfologías posibles, las nanopartículas *core-shell* esféricas son las más estudiadas.

El procedimiento usual de preparación de estas nanopartículas *core-shell* involucra los siguientes pasos. Primero se preparan IONPs mediante alguno de los métodos explicados. Luego, se dispersan estas IONPs en una solución acuosa o mezcla etanol/agua del surfactante y se dejan en agitación durante un tiempo. Más tarde se agrega la base (o ácido) junto con el precursor de sílice lentamente. De esta manera, las nanopartículas magnéticas actúan como semillas para la nucleación heterogénea de la sílice, que se ensambla sobre los núcleos alrededor del surfactante. La posterior remoción del surfactante otorga la porosidad a la cubierta. Finalmente, la cubierta de sílice mesoporosa puede ser funcionalizada según la aplicación deseada.

Las IONPs más comúnmente usadas en las síntesis de MMS *core-shell* son de Fe_3O_4 obtenidas mediante coprecipitación o poliol. Estas últimas pueden fabricarse con tamaños de decenas a cientos de nanómetros y por ende poseer valores elevados de magnetización de saturación, lo que facilita su respuesta magnética para diversas aplicaciones. En muchos casos, se recubren los núcleos magnéticos con una capa densa protectora, como sílice no porosa, carbón o polímeros para mejorar su estabilidad antes de la deposición de la capa de sílice mesoporosa. Una capa fina de sílice no porosa protege a las IONPs de la oxidación, previene su aglomeración y mantiene el carácter hidrofílico de la superficie. Esto se logra mediante el método sol-gel desarrollado por Werner Stöber [59]. El procedimiento consiste en dispersar las IONPs en una mezcla alcalina de etanol/agua y agregar el precursor de sílice, como TEOS [72]. La interacción interfacial, como electrostática o puente hidrogeno, entre las IONPs y los oligómeros de sílice pueden inducir la deposición de sílice en la interfaz de los materiales, lo que resulta en la nucleación heterogénea preferencial sobre las nanopartículas para formar una cubierta de sílice densa.

El concepto de sintetizar partículas magnéticas cubiertas de sílice mesoporosa fue introducido en 2004 por Wu y colaboradores [73]. En su trabajo, emplearon cloruro de cetiltrimetilamonio como formador de poros en la cubierta de sílice mesoporosa sobre Fe_3O_4 comercial en una solución de alcohol y agua. Sin embargo, los materiales obtenidos presentaron gran tamaño, por encima de 3 μm , y morfología irregular. Más tarde, Zhao y colaboradores obtuvieron nanopartículas de morfología *core-shell* con poros desordenados por medio de un método un poco más complejo [74]. Primero, utilizaron nanopartículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ como núcleos y las recubrieron mediante una polimerización con TEOS y trimetoxi(octadecil)silano (C_{18}TMS) como director de estructura. Con la posterior

calcinación de la fracción orgánica del organosilano se obtuvieron los poros y mediante reducción en hidrógeno se transformó el núcleo en Fe_3O_4 . El grupo de Yonghui Deng, pionero en el estudio de estos materiales, desarrolló en 2008 un método de ensamblado dirigido por un surfactante, general y versátil para obtener nanopartículas *core-shell* bien definidas [67]. Para ello se utilizó CTAB como agente director de estructura junto con TEOS como precursor de sílice y se depositó esta capa híbrida sobre esferas de magnetita cubierta de sílice no porosa ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$) mediante la interacción electrostática del surfactante catiónico y la superficie con carga negativa de la sílice (Figura 13). Luego de la remoción del CTAB por extracción con solvente, las MMS obtenidas mostraron buena dispersabilidad en agua, mesoporos ordenados (2.3 nm), elevada área superficial específica ($365 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), gran volumen de poros ($0.29 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) y alta magnetización de saturación (53.3 emu g^{-1}).

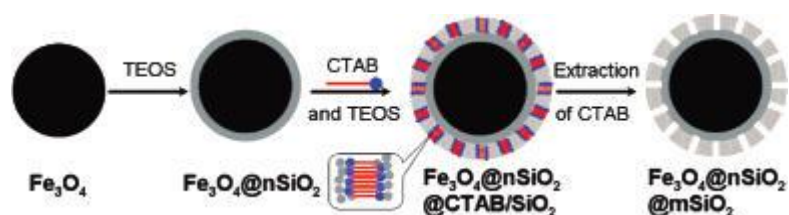


Figura 13 - Esquema general de la obtención de nanopartículas *core-shell* magnéticas cubiertas con sílice mesoporosa [67].

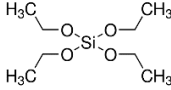
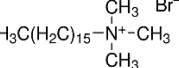
El paso final de la síntesis de estas nanopartículas es la funcionalización de la capa exterior de la sílice según sea su aplicación. Para aplicar estos materiales como nanotransportadores de fármacos, se desea un tamaño de mesoporos adecuado para el ingreso de sustancias terapéuticas y un gran volumen de poros para una buena capacidad de almacenamiento. En este caso es conveniente la funcionalización de la entrada de los mesoporos, para poder anclar sustancias que actúen como compuertas y regular tanto el ingreso hacia los mesoporos como la posterior liberación de las moléculas que se encuentran almacenadas en su interior. Por otro lado, para su uso como nanoadsorbentes, lo más común es incorporar grupos funcionales en la superficie externa o interna de los poros mediante anclaje covalente o co-condensación, para que mejore su afinidad por algún contaminante objetivo.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1. Materiales

A continuación, se resumen en la Tabla 4 los reactivos utilizados en la síntesis de las IONPs y su posterior recubrimiento con sílice mesoporosa.

Tabla 4 – Reactivos para la síntesis de IONPs y su recubrimiento con sílice

Nombre	Abreviatura	Fórmula	M (mol g ⁻¹)	Marca y pureza
Cloruro férrico hexahidratado	-	FeCl ₃ .6H ₂ O	270.3	Anedra
Acetato de sodio trihidratado	AcNa	CH ₃ COONa.3H ₂ O	136.08	Cicarelli
Etilenglicol	EG	HOCH ₂ CH ₂ OH	-	Dorwill
Tetraetoxisilano	TEOS		208.33	Sigma-Aldrich, 98%
Bromuro de cetiltrimetilamonio	CTAB		364.45	Merk, 98%
Hidróxido de amonio	-	NH ₄ OH		Anedra, 30%
Etanol	-	CH ₃ CH ₂ OH		Comercial, 96%

2.4.2. Síntesis de nanopartículas magnéticas por poliol

Se prepararon IONPs mediante el método del poliol siguiendo el protocolo de Deng con modificaciones [67]. Para esto se disolvieron 1.35 g de FeCl₃.6H₂O y 6 g de acetato de sodio trihidratado, mediante agitación magnética durante 15 min, en 50 mL de EG en un reactor de teflón de 100 mL de capacidad. La mezcla tomó un color marrón-amarillo (Figura 14A). Inmediatamente, este contenedor de teflón se colocó en un reactor autoclave y se llevó a una mufla, donde se calentó a 200°C durante 8 h (Figura 14B). Luego el reactor se retiró de la mufla y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Más tarde se trasvasó el sólido negro obtenido en suspensión (Figura 14C) a un vaso de precipitados y se realizó una primera separación magnética de 1 h con un imán de Neodimio. Las partículas difundieron lentamente por la alta viscosidad del EG. A continuación, se retiró el líquido con una pipeta y se procedió a lavar las partículas con etanol (3 veces) y luego con agua (3 veces) (Figura 15A). En todos los pasos de lavado, el sólido negro se separó magnéticamente del sobrenadante con un imán de Neodimio (Figura 15B). Para su posterior caracterización, las IONPs lavadas se secaron en estufa a 70°C durante 12h y posteriormente se molieron con mortero (Figura 15C). Cuando fue necesario realizar un recubrimiento posterior, el sólido lavado se trasvasó aún húmedo al reactor con el solvente de reacción. Las IONPs no

utilizadas para una funcionalización posterior se almacenaron en frascos color caramelo dentro de un desecador, para prevenir su oxidación.

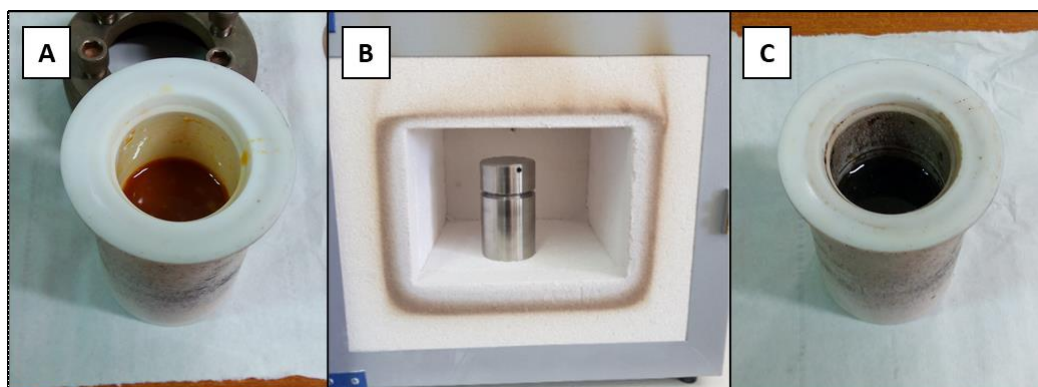


Figura 14 – A) Recipiente de teflón con la mezcla de reactivos para obtener magnetita por método del poliol previo al inicio de reacción B) El contenedor de teflón dentro de un reactor autoclave en una mufla para su calentamiento C) Magnetita obtenida por el método del poliol

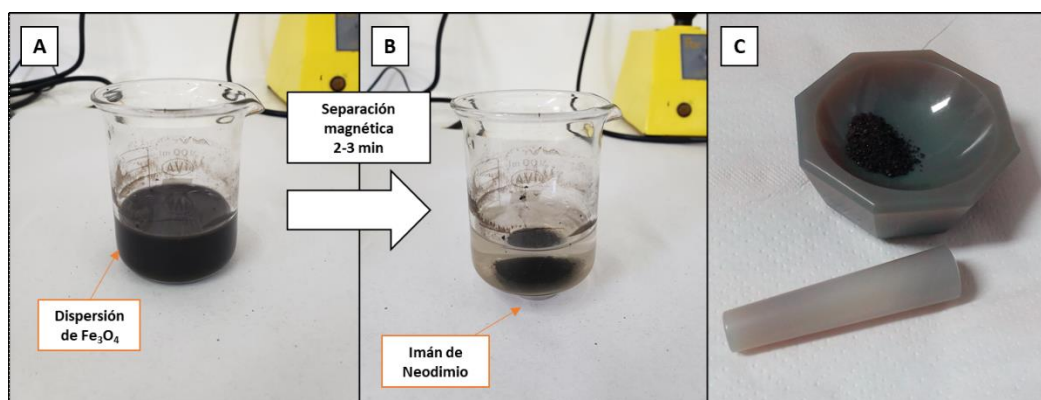


Figura 15 – A) Dispersión de nanopartículas de Fe_3O_4 en agua destilada para su lavado B) separación magnética de nanopartículas mediante un imán de Neodimio C) Sólido molido una vez seco en estufa

2.4.3. Recubrimiento con sílice

2.4.3.1. Recubrimiento con sílice no porosa

A las IONPs obtenidas por el método del poliol sin aditivos se las recubrió primero con una capa fina de sílice no porosa (Figura 16A) antes de ser funcionalizadas para cada aplicación. Para esto, se trasvararon con el solvente de reacción a las IONPs recién lavadas y aún húmedas. Aproximadamente 500 mg de nanopartículas se dispersaron en un vaso de precipitados de 250 mL que contenía 125 mL de una solución mezcla de etanol/agua 4:1. Se dispersó el sólido mediante ultrasonido durante 10 min. Luego, se situó el vaso de precipitados dentro de un baño de glicerina sobre un agitador magnético con calentamiento y controlador de temperatura (Velp Científica). A continuación, se colocó un buzo magnético en el vaso y se comenzó a agitar a 200 rpm mientras se calentaba el baño con la placa calefactora. Cuando el sistema alcanzó los 65 °C, se adicionaron rápidamente 1.25 mL de hidróxido de amonio concentrado seguido de 1 mL de TEOS gota a gota mediante una bureta. La mezcla se dejó en agitación a 65 °C durante 5 h. El sólido gris obtenido se separó magnéticamente, se lavó con el solvente de reacción (etanol/agua 4:1) 3 veces y con agua destilada 2 veces. Estas partículas, llamadas $Fe_3O_4@SiO_2$, se secaron en estufa a 70 °C

durante 12 h. Nuevamente, para una posterior funcionalización se utilizaron las partículas lavadas aún húmedas.

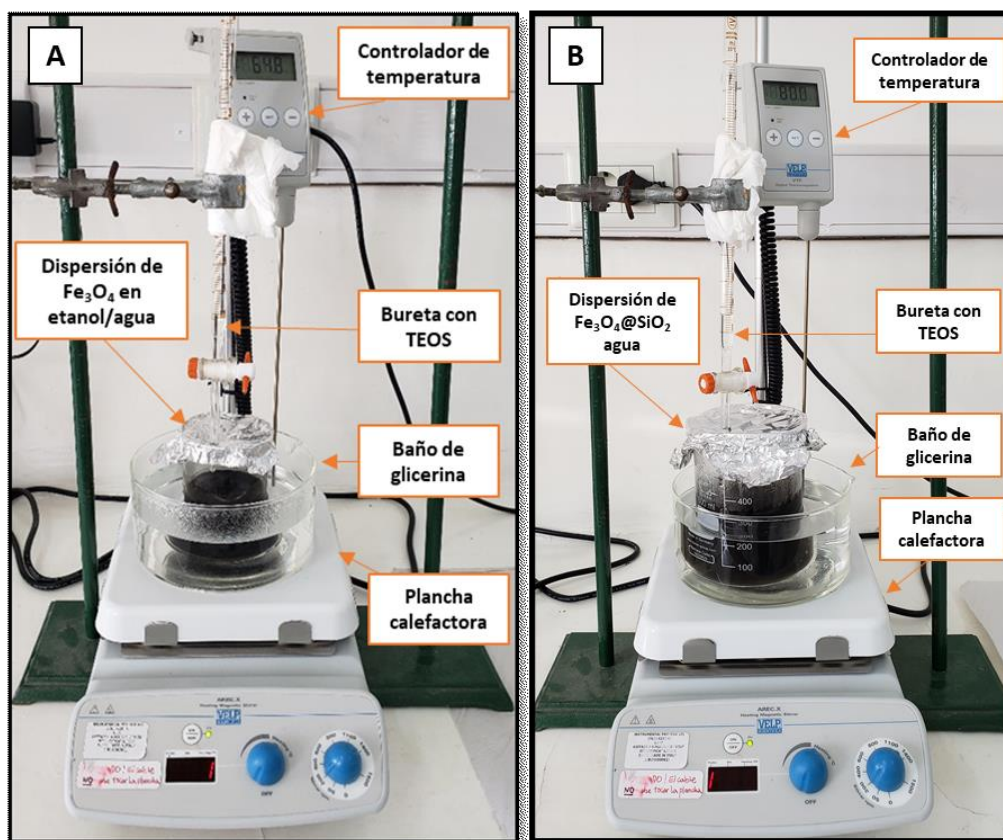


Figura 16 – Equipamiento usado para A) Recubrimiento de nanopartículas de Fe_3O_4 con sílice no porosa B) Capa adicional de sílice mesoporosa

2.4.3.2. Recubrimiento con sílice mesoporosa

Se recubrieron las partículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$ preparadas con sílice mesoporosa, adaptando el protocolo de Ugazio y colaboradores para la síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa [68]. Con este fin, alrededor de 500 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$ se dispersaron en un vaso de precipitados de 500 mL que contenía 250 mL de agua Milli-Q™ (Figura 16B). A continuación, se agregaron 500 mg de CTAB y la suspensión se mantuvo bajo agitación vigorosa y calentamiento cerca de 30 min hasta alcanzar los 80 °C. Durante este tiempo las moléculas de CTAB cargadas positivamente se ordenan en forma de micelas alrededor de las nanopartículas con carga superficial negativa. Cuando la temperatura alcanzó los 80 °C, se añadieron 1.75 mL de solución de hidróxido de amonio concentrado e inmediatamente, 2.5 mL de TEOS gota a gota y la reacción continuó durante 2 h. Más tarde, se retiró el vaso de precipitados de la plancha calefactora y se lo dejó enfriar a temperatura ambiente. El sólido gris obtenido se separó magnéticamente, se lavó con agua destilada 3 veces y se secó en estufa a 70 °C por 12 h. El paso final fue eliminar el surfactante de los poros, para esto se ensayaron diferentes métodos propuestos en bibliografía:

- A. Reflujo con acetona durante 48 h. Para esto se dispersaron las nanopartículas obtenidas en acetona dentro de un balón de destilación sobre una plancha calefactora con agitación. Se colocó un condensador en la base para evitar pérdida de volumen y se calentó a temperatura de ebullición del solvente (56 °C) durante 48 h [67].

- B. Reflujo con etanol a pH 3 durante 6 h. El procedimiento fue análogo al anterior, pero calentando a la temperatura de ebullición del etanol (78 °C) [75].
- C. Calcinación en un horno tubular [68]. Para esto se colocó la muestra en un contenedor cerámico y se dejó dentro de un horno tubular (Carbolite). Se aplicó una rampa de 2 °C min⁻¹ hasta 500 °C en atmósfera de nitrógeno y luego se mantuvo la temperatura en flujo de aire durante 2 h (Figura 17).
- D. Calcinación en mufla. El sólido se colocó en una cápsula de porcelana dentro de una mufla, se calentó en atmósfera de aire desde temperatura ambiente a 2 °C min⁻¹ hasta llegar a 500 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 5 h.



Figura 17 - Horno tubular Carbolite para la eliminación del surfactante de los poros de la sílice mesoporosa

Para evaluar la efectividad de los métodos se hicieron análisis de FTIR de la muestra antes y después del procedimiento. Se utilizaron las bandas de los grupos metileno correspondientes a la cadena carbonada como indicativo de la presencia del CTAB en los poros. Al material obtenido luego de la eliminación del surfactante de los poros se lo denominó Fe₃O₄@SiO₂@mSiO₂ o bien MMS (*magnetic mesoporous silica*). Un esquema de los pasos de síntesis para obtener este material se muestra en la Figura 18. Estas nanopartículas se usaron como referencia, tanto para su rol como nanoadsorbente como de nanotransportadores.

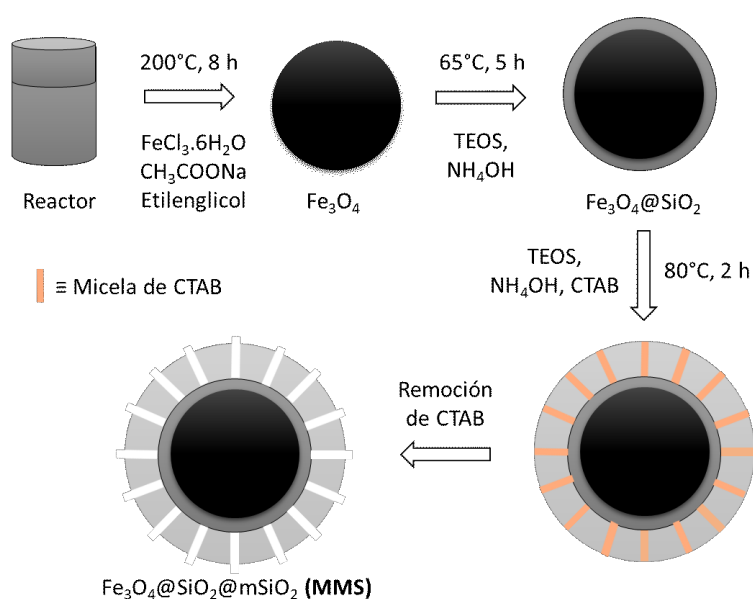


Figura 18 - Esquema del procedimiento de síntesis para obtener las nanopartículas magnéticas core-shell de sílice mesoporosa desnuda (MMS)

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la obtención de nanopartículas magnéticas *core-shell* recubiertas con sílice mesoporosa desnuda (MMS), se sintetizaron en primer lugar nanopartículas de óxido de hierro (IONPs) mediante el método del poliol, como se muestra en la Figura 18. Con este método es esperable la obtención de magnetita (Fe_3O_4) de alta cristalinidad como principal fase de hierro [38]. El siguiente paso es la cobertura de estas IONPs con una capa fina de sílice no porosa. El medio básico promueve la desprotonación de los grupos Fe-OH de la superficie de las IONPs y la reacción con el agua de los grupos metoxi del TEOS para generar Si-OH. La reacción de condensación entre el Fe-OH y los Si-OH, permite que el TEOS permanezca anclado a las IONPs mediante enlaces Fe-O-Si. Al mismo tiempo, se inicia la reacción de polimerización entre moléculas de TEOS, generando la red tetraédrica de silanos cubriendo a las IONPs (Figura 19). Las nanopartículas así obtenidas son llamadas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$.

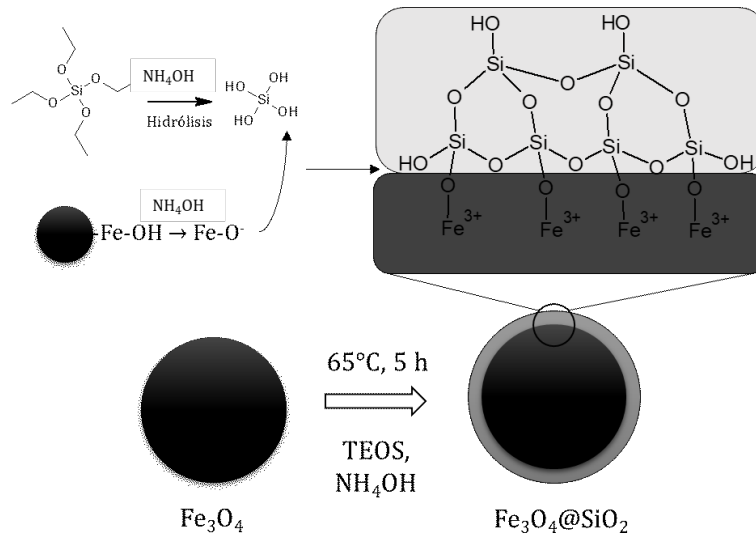


Figura 19 - Esquema de la estructura de las nanopartículas de óxidos de hierro cubiertas con sílice no porosa

Estas nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ luego se dispersaron en una solución con CTAB en agitación. Las moléculas del surfactante se organizan en forma de micelas, orientando sus cadenas carbonadas hidrofóbicas hacia dentro y exponiendo sus grupos amonio cuaternario hidrofílicos al medio acuoso (Figura 20).

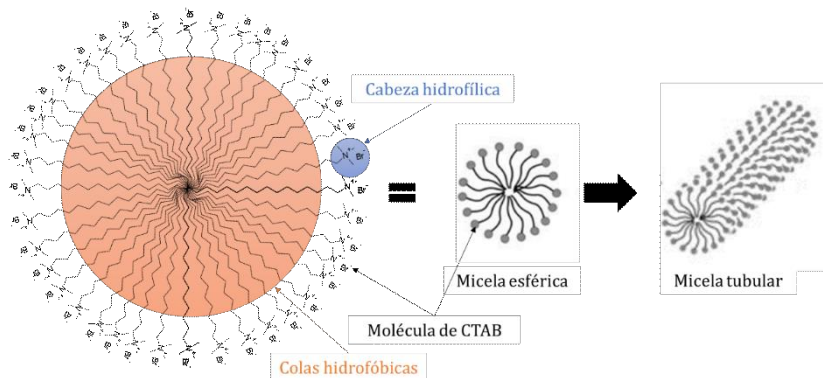


Figura 20 - Formación de micelas de CTAB

Estas micelas esféricas se agrupan en micelas tubulares, que por sus cargas positivas se orientan alrededor de las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ con carga superficial negativa por sus grupos silanol desprotonados. Luego, con el agregado de la base y el precursor de silicio (TEOS), comienza la reacción de entrecruzamiento. Las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ actúan como semillas para la nucleación heterogénea de la sílice, que se ensambla sobre los núcleos alrededor de las micelas del surfactante formando una red tetraédrica. La posterior remoción del surfactante permite obtener los mesoporos libres. De esta manera se obtienen las nanopartículas magnéticas *core-shell* de sílice mesoporosa desnuda MMS (Figura 21). Estas nanopartículas son usadas como referencia de nanotransportadores y nanoadsorbentes en los capítulos 3 y 4.

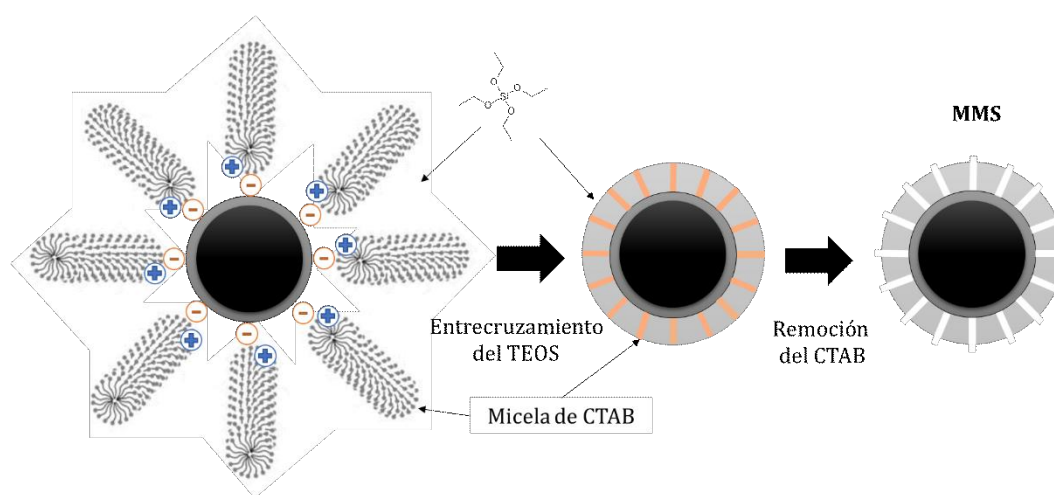


Figura 21 - Obtención de las nanopartículas MMS

Las nanopartículas IONPs y MMS fueron caracterizadas mediante diversas técnicas fisicoquímicas. La morfología y el tamaño medio se estudiaron con imágenes TEM. La Figura 22 muestra las imágenes TEM de las IONPs obtenidas con el método del poliol sin aditivos. Se observan partículas prácticamente esféricas que se distinguen por una alta densidad óptica. Mediante el programa *Image J*® se realizó el conteo del diámetro de varias partículas de distintas imágenes TEM. La distribución de tamaños de las IONPs muestra un diámetro medio de 76 nm (Figura 23). Las imágenes en alta magnificación (Figura 24A) revelan los patrones de líneas producto de la difracción generada por los planos cristalinos de los óxidos de hierro. El plano cristalino $d_{hkl} = 3.7$ nm fue medido aplicando la transformada de Fourier (Figura 24B) usando el programa *Digital Micrograph*® de Gatan. Este plano puede asignarse al plano (2 1 0) de la maghemita (Número de tarjeta 00-039-1346 base de datos PDF2 del *International Centre for Diffraction Data*, ICDD). Las IONPs obtenidas por este método solvotérmico sin estabilizador adicional parecen constituidas por un único sólido que ha crecido, como se observó en trabajos previos [38,43], en contraste con aquellos métodos con citrato de sodio donde se obtuvieron agregados de nanopartículas más pequeñas.

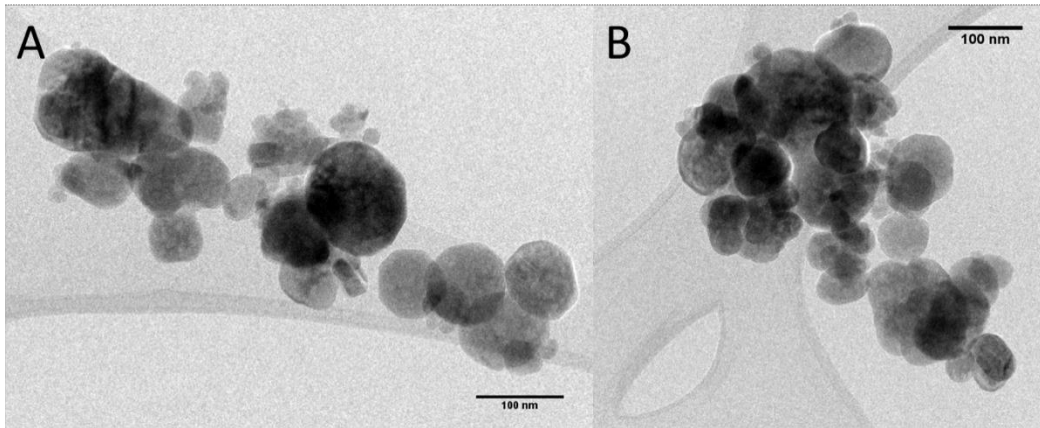


Figura 22 - Imágenes TEM en baja magnificación de IONPs obtenidas por el método del poliol

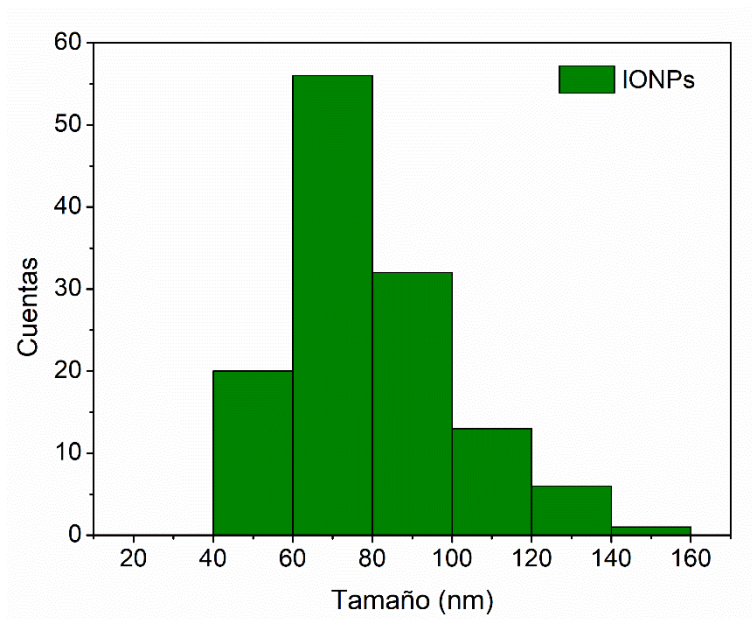


Figura 23 - Distribución de tamaño de las IONPs

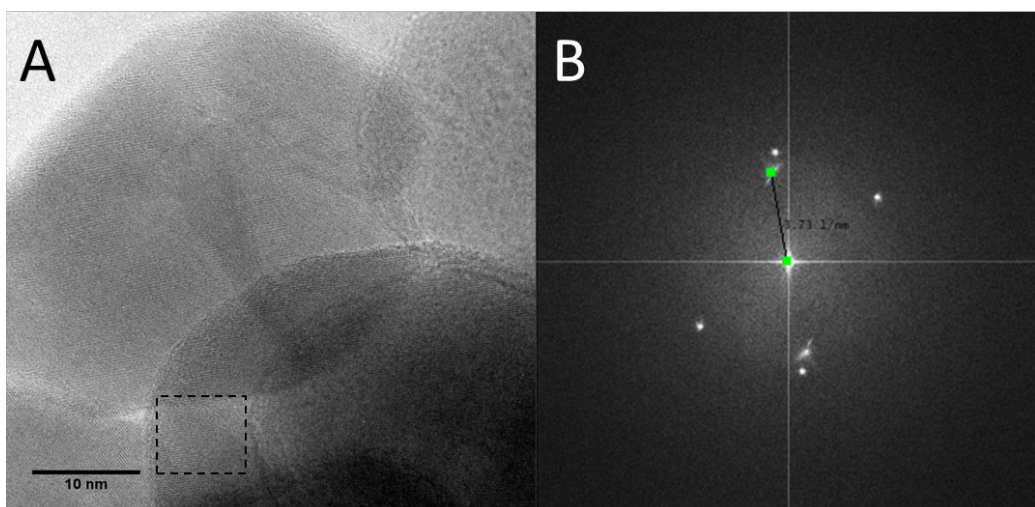


Figura 24 - A) Imagen TEM de alta magnificación de IONPs y B) transformada de Fourier de los planos cristalinos de la sección del recuadro

Por otro lado, la Figura 25A presenta las imágenes TEM de MMS, donde se aprecian partículas de morfología prácticamente esférica, con un centro oscuro rodeado de una cubierta más clara. El núcleo de mayor densidad óptica, debido a una mayor cantidad de electrones, se corresponde con las IONPs, mientras que la cubierta más clara muestra una estructura porosa se asocia a la sílice (Figura 25B). El espesor del recubrimiento es bastante uniforme y presenta un valor medio de aproximadamente 15 nm. Considerando la distribución de tamaños de las IONPs desnudas, con un diámetro medio de 76 nm, el tamaño medio de MMS resulta de alrededor de 91 nm.

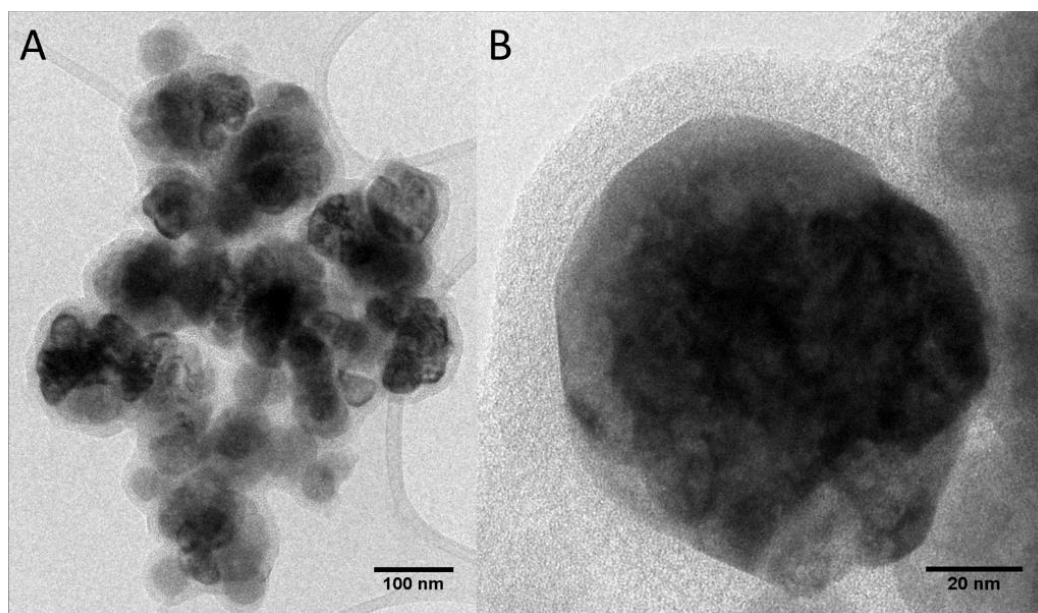


Figura 25 - Imágenes TEM de las nanopartículas MMS en alta (A) y baja (B) magnificación

Los espectros FTIR de IONPs y MMS obtenidos en el modo transmitancia en pastilla de KBr se presentan en la Figura 26. Ambas muestras presentan la deformación de grupo O-H (δ_{O-H}) entre de 1600 cm^{-1} y 1630 cm^{-1} , posiblemente por la presencia de agua fisisorbida. También se observan en ambos espectros bandas anchas centradas en aproximadamente 3400 cm^{-1} , asociadas a la tensión del enlace O-H (ν_{O-H}) de moléculas de agua fisisorbida y al modo de vibración axial del enlace Si-OH para el caso de MMS [76]. La presencia de óxidos de hierro en las muestras fue confirmada por la absorción a 570 cm^{-1} , que corresponde a la vibración de tensión Fe-O [77,78]. En el espectro de MMS, la cubierta de sílice se pone de manifiesto por la banda a 455 cm^{-1} y la banda ancha e intensa centrada en 1100 cm^{-1} , asociadas a la vibración de flexión del enlace Si-O-Si ($\delta_{Si-O-Si}$) y a la vibración de tensión de los enlaces Si-O-Si ($\nu_{Si-O-Si}$) y Si-O-H [77].

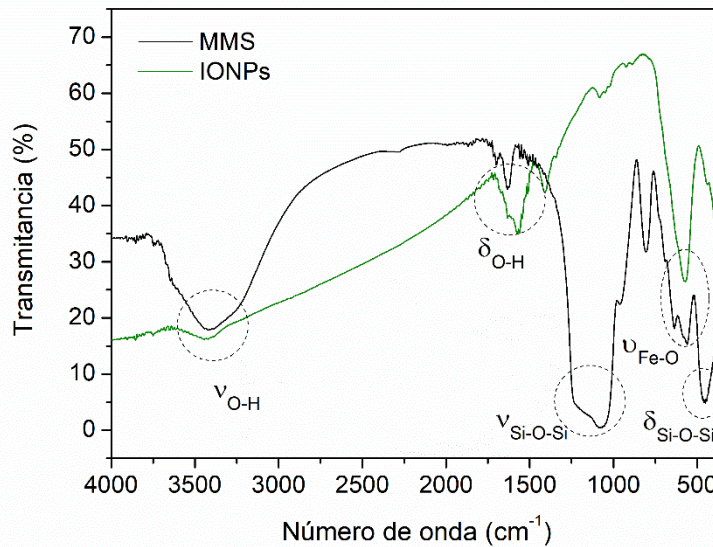


Figura 26 - Espectros FTIR de IONPs y de MMS

La Figura 27, presenta los difractogramas obtenidos para IONPs y MMS. A fin de evaluar cualitativamente las fases cristalinas presentes, se compararon los patrones de XRD obtenidos con la base de datos PDF2 de la ICDD utilizando el software X'Pert HighScore de PANalytical®. Las posiciones de los picos a $2\theta = 18.3^\circ$, 30.1° , 35.4° , 37.1° , 43.0° , 53.4° , 56.9° y 62.9° pueden ser asociarse con los planos de difracción de rayos X (1 1 1), (2 2 9), (3 1 1), (2 2 2), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1) y (4 4 0) de la fase cúbica de magnetita (Número de tarjeta 01-077-1545). La banda de difracción ancha centrada cerca de $2\theta = 23.5^\circ$ en el patrones de difracción de MMS puede asociarse a la cubierta de sílice mesoporosa que es un material amorfo [25,79]. La presencia de maghemita no puede descartarse dado que estas dos fases no pueden distinguirse efectivamente por XRD, pues sus patrones de difracción de rayos X son muy similares [24]. A pesar de esto, es muy factible que la principal fase de hierro sea magnetita. Estudios previos han demostrado mediante espectroscopía Raman que, efectivamente este método de poliol permite obtener magnetita, aunque puede haber una pequeña cubierta de maghemita sobre la superficie de las nanopartículas de magnetita como producto de oxidación debido a la temperatura de reacción [38]. Además, las IONPs obtenidas presentaron un color negro brillante típico de magnetita cristalina (Figura 15C).

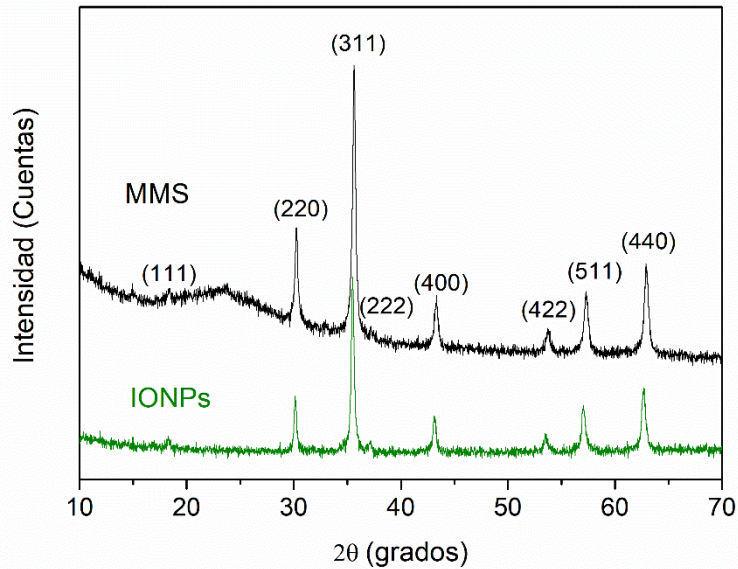


Figura 27 - Difractograma de rayos X de IONPs y MMS

Se analizaron las características magnéticas de IONPs y de MMS midiendo sus curvas de magnetización a 300 K y se obtuvieron las características texturales de MMS a partir de isothermas de adsorción-desorción de N₂. Como las nanopartículas MMS se usaron de base para obtener el nanotransportador MMS-PNIPAM-co-MPS, estos resultados se discuten en la sección 3.3.1.

La efectividad de los métodos para la remoción del CTAB de los poros de las nanopartículas MMS se evaluó mediante FTIR, utilizando las bandas de los grupos metileno (vibración de tensión C-H) correspondientes a la cadena carbonada como indicativo de la presencia del surfactante. La Figura 28 presenta los espectros FTIR de las muestras de MMS antes y después del tratamiento. Luego de aplicar reflujos con acetona (líneas verdes Figura 28A) a las partículas MMS con CTAB, se observa una disminución en la intensidad de las bandas de los grupos metileno luego de 48 h y 84 h de tratamiento, sin embargo, la remoción fue muy baja. El reflujos con etanol en medio ácido (líneas rojas Figura 28A) fue mucho más efectivo, con 6 h de tratamiento las bandas a 2850 cm⁻¹ y 2920 cm⁻¹ disminuyeron significativamente. Esta diferencia puede deberse a que los protones del medio ácido, a diferencia de las moléculas de acetona, son capaces de realizar intercambio iónico con las moléculas de CTAB cargadas positivamente gracias a sus grupos amonio cuaternario. Por otro lado, en los espectros de MMS que fueron sometidas a 500 °C en atmósfera oxidante (línea rosada Figura 28B) prácticamente no se observan las bandas de los grupos metileno de cadena carbonada. Mediante este método toda la materia orgánica fue calcinada y removida de los mesoporos. La calcinación con calentamiento previo en atmósfera de N₂ y posterior ingreso de aire, si bien resulta en una eliminación de CTAB importante, sigue siendo menor que la calcinación solo con aire. De esta manera, se seleccionó la calcinación en mufla a 500°C en aire durante 5 h como procedimiento de remoción del surfactante de los poros en todo el trabajo de tesis. Las partículas MMS cambiaron de color gris oscuro a rojizo luego de este tratamiento (Figura 29). Una posible explicación a esto es que algunas IONPs del material no fueron completamente recubiertas, quedando expuestas a la oxidación por oxígeno, con lo que se produjo la transformación de una fracción de la superficie de magnetita a maghemita.

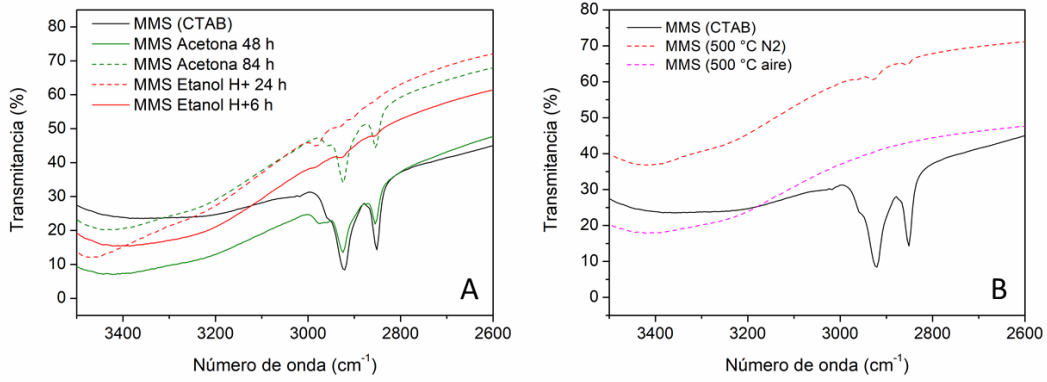


Figura 28 - Espectros FTIR de MMS después de los tratamientos de remoción del surfactante CTAB A) reflujos con acetona y etanol y B) calcinación

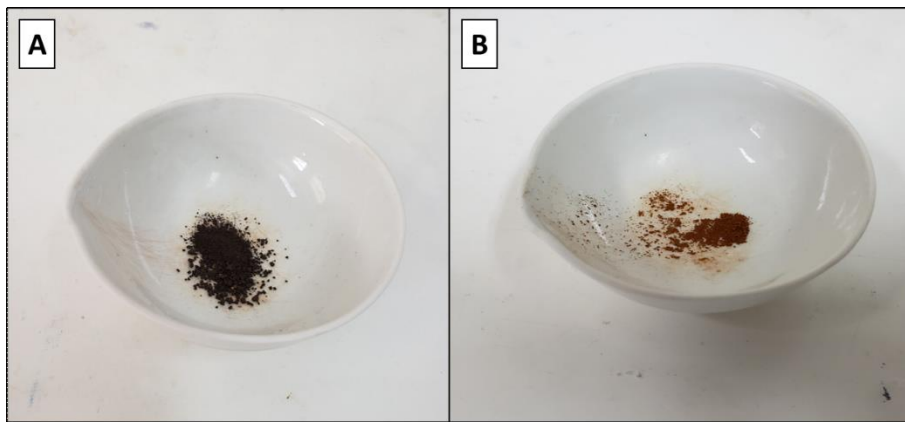
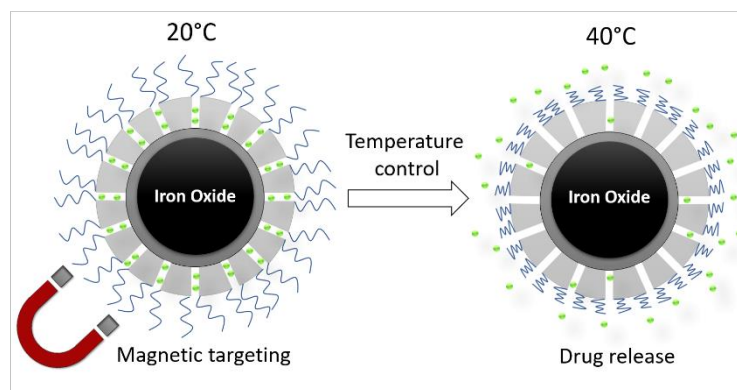


Figura 29 - Nanopartículas MMS antes (A) y después (B) de la calcinación en aire para la remoción del surfactante CTAB

CAPÍTULO 3.

APLICACIÓN EN NANOMEDICINA: ADMINISTRACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS



“Todo trabajo sobresaliente, tanto en el arte como en la ciencia, es el resultado de un inmenso entusiasmo aplicado a una gran idea”

Santiago Ramón y Cajal

3. APLICACIÓN EN NANOMEDICINA: ADMINISTRACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

En este capítulo se expondrá el uso de nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa como un sistema de administración controlada de fármacos. Se detallarán los materiales y métodos usados en la síntesis de estos nanotransportadores, en los ensayos de liberación controlada y en los ensayos de toxicidad en células. Asimismo, se discutirán los resultados obtenidos. Finalmente, se darán conclusiones parciales del presente capítulo y perspectivas sobre la aplicación de los nanotransportadores preparados en administración controlada de fármacos.

3.1. INTRODUCCIÓN

La nanomedicina, surgida de convergencia entre la nanotecnología y la medicina, es uno de los campos de estudio más prometedores en ciencia y tecnología que, haciendo uso de las propiedades únicas de los nanomateriales, desarrolla nuevas y mejoradas estrategias terapéuticas y de diagnóstico para enfermedades [4]. Los mayores avances de la nanomedicina se han realizado en principio para el tratamiento del cáncer, pero se ha expandido su aplicación a neurociencias, enfermedades óseas e infecciones. Una gran dificultad asociada a la terapia farmacológica general es que, cuando los fármacos ingresan al cuerpo por cualquier medio de administración, se esparcen a través del sistema circulatorio a todos los órganos y tejidos. Esta falta de precisión para alcanzar un sitio específico puede causar toxicidad por una concentración excesiva de fármaco en ciertos órganos, y al mismo tiempo hacer que el dosaje sea insuficiente en otras áreas. Así, puede requerirse la administración de una gran cantidad de medicamento por una distribución ineficiente. Asimismo, los fármacos pueden degradarse prematuramente o ser excretados antes de alcanzar el organismo o tejido deseado. Por otro lado, la baja solubilidad de muchos fármacos limita su uso por vía intravenosa. En este sentido, el desarrollo de nanotransportadores de fármacos (*nanocarriers*) que entreguen sustancias terapéuticas a los órganos objetivo de tratamiento, controlen la cinética de liberación y protejan las drogas de ser metabolizadas o excretadas prematuramente del cuerpo se ha convertido en un tópico importante [80]. La Figura 30 esquematiza el uso de un nanotransportador con respuesta a la temperatura y al campo magnético como un sistema de administración controlada de fármacos a un sitio patológico específico. Un nanotransportador ideal para ser usado como sistema de administración controlada de fármacos (*drug delivery system*, DDS) debe además ser biocompatible, altamente estable frente a diversas interacciones coloidales y evitar el sistema fagocítico mononuclear [81]. Diversos nanomateriales han sido propuestos para este propósito, que pueden ser clasificados como orgánicos o inorgánicos. Dentro de los nanotransportadores orgánicos están incluidos los liposomas, micelas poliméricas, dendrímeros y nanogeles, mientras que ejemplos de nanotransportadores inorgánicos son nanopartículas de metales, óxidos de hierro, carbón y sílice mesoporosa [82]. Los liposomas fueron los primeros materiales en ser testeados como sistemas de liberación controlada de fármacos en los 70 [83], son aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos y usados clínicamente [84]. Para DDS avanzados son preferidas típicamente nanopartículas inorgánicas, por sus propiedades fisicoquímicas, versatilidad, estabilidad química superior, posibilidad de ser

multifuncionales y costo relativamente menor en comparación con nanotransportadores orgánicos [84]. Desde el primer reporte como DDS, propuesta en 2001 por el grupo de María Vallet-Regí [85], las nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNPs) han sido ampliamente estudiadas para su aplicación en nanomedicina para el tratamiento de un gran número de enfermedades incluyendo cáncer, diabetes, infecciones, osteoporosis, enfermedades cardíacas y oftalmológicas, entre otras [4,14,82,84,86,87].

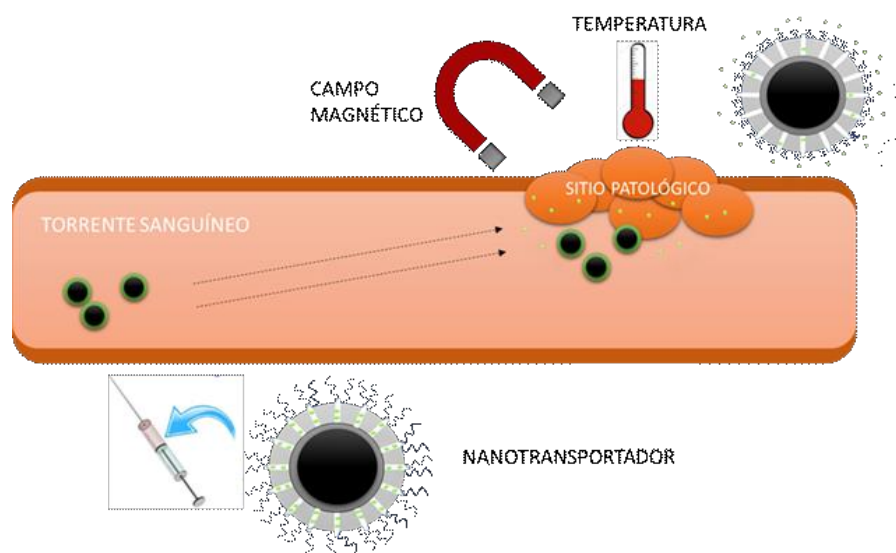


Figura 30 - Esquema del uso de nanopartículas como DDS

Las excelentes propiedades texturales de las nanopartículas de sílice mesoporosa las hacen candidatas ideales para su aplicación como DDS. Su arquitectura porosa única les provee una gran área superficial específica y volumen de poro, que posibilita cargar una gran cantidad de fármaco dentro de su estructura, superando incluso el 30 % en peso [14]. Además, su diámetro de poro puede ser regulado (2-30 nm) durante la síntesis, lo que permite a las MSNPs introducir agentes terapéuticos de diversos tamaños. Además, las MSNPs pueden proteger más eficazmente a los fármacos cargados en soluciones fisiológicas comparadas con nanotransportadores orgánicos [84]. Por otro lado, pueden prepararse MSNPs monodispersas con tamaños adecuados (10-300 nm) para aplicaciones biomédicas y con morfologías diversas [14]. Asimismo, su superficie puede ser fácilmente modificada mediante funcionalización de los grupos silanol con numerosos grupos funcionales, con lo que las interacciones entre el nanotransportadores y el fármaco son ajustables.

La sílice es reconocida “generalmente como segura” por la *US Food and Drug Administration* y es usada frecuentemente como suplemento dietario y excipiente [82]. Las rutas de administración de MNPs más comunes como DDS son intravenosa, subcutánea e inyecciones intratumorales. Las MNPs han mostrado una buena biocompatibilidad con glóbulos rojos [49]. Una vez en el organismo las nanopartículas (amorfos) de sílice mesoporosa y también no porosas son degradadas con el tiempo a ácido silícico, soluble en agua y biocompatible, que es eventualmente excretado en la orina [82]. En general, las MSNPs han mostrado una gran biocompatibilidad [12], con toxicidad observada solamente a valores de concentración muy elevadas, como cientos de $\mu\text{g mL}^{-1}$ en ensayos *in vitro* y dosajes por encima de cientos de mg kg^{-1} *in vivo* en ratones [84]. Adicionalmente, las nanopartículas tienen la capacidad de aglomerarse espontáneamente en algunos sitios

patológicos como los tumores. Los tumores presentan vasos sanguíneos deteriorados y drenaje linfático deficiente por su rápido crecimiento y, en consecuencia, las nanopartículas tienden a escaparse de los vasos tumorales y acumularse en los tejidos de los tumores. Este fenómeno, llamado efecto de mejora de permeabilidad y retención (*enhanced permeability and retention effect*, EPR), es una de las maneras por las cuales las nanopartículas pueden alcanzar un sitio patológico objetivo de manera pasiva (*passive targeting*) y es la base de algunas nanomedicinas comerciales [81,82].

Si bien las MNPs pueden adsorber físicamente grandes cantidades de sustancias terapéuticas, los fármacos almacenados en su interior pueden difundir prematuramente antes de alcanzar el órgano objetivo. La modificación superficial de las MNPs permite alterar tanto la capacidad de carga como la cinética de liberación. Una primera aproximación consiste en introducir grupos funcionales, por ejemplo, amino, tiol, fenil, etc. con afinidad por ciertas drogas. Una mejora a esto, consiste en introducir sustancias que actúen como “compuertas” (*gatekeepers*) de los mesoporos y que respondan a un estímulo específico [13,88]. Cuando estas compuertas bloquean a los mesoporos, las moléculas del fármaco no pueden filtrarse, y se evita la liberación prematura e incontrolada. La apertura de las compuertas ocurre únicamente cuando está presente un estímulo específico, lo que posibilita la difusión del medicamento fuera de los poros. Esto da origen a sistemas de administración controlada “inteligentes” que pueden lograr un fino control de la administración temporal y espacial de las sustancias terapéuticas [84,89]. Los estímulos que disparan la liberación del fármaco pueden ser endógenos, es decir, propios del cuerpo, o bien exógenos o aplicados externamente con un equipamiento específico. Los estímulos endógenos incluyen el pH, el potencial redox y ciertos agentes químicos. Los *gatekeepers* diseñados para responder a estímulos endógenos aprovechan cambios microambientales específicos asociados con las enfermedades que buscan tratarse. Por ejemplo, se han desarrollado DDS que aprovechan la ligera diferencia de pH entre los tejidos sanos (~7.4) y el entorno extracelular de los tumores (6.5–7.2) en el tratamiento de cáncer o la alteración de enzimas específicas debido a inflamaciones [80]. Sin embargo, los pacientes reaccionan de manera diferente frente a las mismas enfermedades, con los que estos cambios microambientales no son idénticos. De esta manera, los DDS que responden solo a estímulos endógenos pueden no ser muy precisos en el control de liberación de los agentes terapéuticos. Los estímulos exógenos en cambio, pueden activarse de manera remota en el momento deseado, permitiendo un mejor control de la farmacocinética. Se han diseñado DDS que responden a diversos estímulos exógenos como la temperatura [90], campos magnéticos [91], ultrasonido [92] y luz [93,94]. Entre ellos, la temperatura puede ser fácilmente aplicada o inducida de una fuente externa como un campo magnético externo o luz del infrarrojo cercano. Al mismo tiempo, los cambios de temperatura son en ocasiones una huella digital en algunas enfermedades, como inflamación, infección o incluso tejidos tumorales [88]. Además, este estímulo es interesante en la destrucción de células cancerígenas con calor moderado (40-43 °C), tratamiento conocido como hipertermia.

Los polímeros termosensibles experimentan una transición de una conformación extendida a una conformación globular (*coil-to-globule transition*) que ocurre a la temperatura de disolución crítica inferior (*lower critical solution temperature*, LCST) del polímero [95]. La poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) está entre los polímeros termosensibles más investigados [96] y posee su LCST alrededor de 30-32 °C, lo que la hace

interesante para aplicaciones en liberación controlada [97]. Las cadenas del PNIPAM contienen partes hidrofílicas (grupo amida) así como hidrofóbicas (grupo isopropilo). En solución acuosa y por debajo de su LCST, este polímero termosensible exhibe una naturaleza hidrofílica y sus cadenas se encuentran en su conformación hidratada extendida. Por el contrario, por encima de su LCST las cadenas del polímero se vuelven hidrofóbicas y colapsan en una conformación globular compacta. Este cambio conformacional puede ser aprovechado para diseñar DDS con un control térmico de la liberación, modificando la entrada de los mesoporos de MSNPs con estos polímeros. La carga del medicamento puede realizarse mediante dos aproximaciones diferentes. Se puede cargar el fármaco dentro de las MSNPs y luego funcionalizar la entrada de los poros; o bien pueden cargarse el fármaco en MSNPs ya modificadas con el polímero en condiciones de poros abiertos. Una vez en el organismo, estos DDS liberan la carga de fármaco a temperaturas superiores a la LCST cuando el polímero se encuentra en su estado deshidratado compacto que deja a los poros abiertos. En cambio, a temperaturas inferiores a la LCST, el polímero permanece en su forma hidratada extendida bloqueando los poros e inhibiendo la salida del fármaco. No obstante, para la mayoría de las aplicaciones en administración controlada el PNIPAM puro no es adecuado, pues la temperatura del cuerpo humano es mayor que su LCST. Por lo tanto, la LCST de PNIPAM es comúnmente ajustada modificando la concentración inicial del monómero, la temperatura, el tiempo de reacción, agregando agentes de entrecruzamiento, sales, surfactantes o realizando una copolimerización con comonómeros [88,98]. En particular, los monómeros hidrofóbicos disminuyen la LCST mientras que los monómeros hidrofílicos ayudan a incrementarla. Por ejemplo, hay estudios reportados que han demostrado un aumento en la LCST de PNIPAM después de lograr su copolimerización con ácido metacrílico [99]. La copolimerización de 3-(trimetoxisilil)propilmetacrilato (MPS) con N-isopropilacrilamida (NIPAM) produce un copolímero termosensible que puede ser anclado de modo covalente a la superficie de MSNPs con una LCST de 36 °C [15]. Aunque los DDS basados en PNIPAM son el foco de investigación de varios estudios, muchos de ellos presentan una indeseable y significativa fuga de la carga de fármacos a temperaturas inferiores a la LCST [88]. Por este motivo, es importante mejorar el funcionamiento como compuertas de estos sistemas para aplicaciones en nanomedicina.

Se han reportado aplicaciones de nanopartículas superparamagnéticas basadas en óxidos de hierro (IONPs) en nanomedicina, principalmente en: diagnóstico mediante resonancia magnética (*magnetic resonance imaging, MRI*), tratamientos como hipertermia, transporte de agentes terapéuticos o ingeniería de tejidos [100]. En particular, el uso de nanotransportadores magnéticos para la administración de doxorrubicina por la empresa FeRx ha pasado la fase clínica II en Estados Unidos [100,101], mientras que tratamiento de glioblastomas mediante hipertermia con IONPs por la empresa NanoTherm ha sido aprobado por la Unión Europea superando las fases clínicas [80]. El recubrimiento de IONPs con sílice mesoporosa para obtener nanopartículas con estructura *core-shell* (MMS), ha emergido como tópico de investigación relevante en administración controlada de medicamentos [3,4,102]. Particularmente, las cubiertas de sílice mesoporosa modificadas con polímeros termosensibles como compuertas de los mesoporos permiten cargar una gran cantidad de fármaco y controlar su liberación a través de la temperatura. Mediante un campo magnético externo es posible guiar a estos nanotransportadores, debido a su elevada magnetización de saturación, a un sitio patológico específico y además inducir calor como

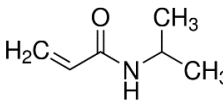
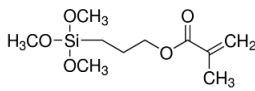
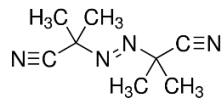
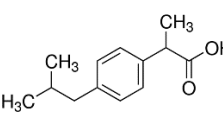
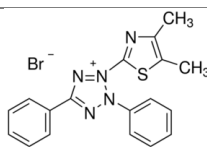
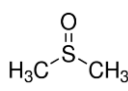
estímulo para la cubierta de polímero termosensible [100,102]. De esta manera, estas nanopartículas híbridas constituyen un eficiente DDS con respuesta a estímulos térmicos y magnéticos con un fino control tanto temporal como espacial de la administración de los fármacos [89]. Hegazy y colaboradores [103] prepararon MMS de estructura *core-shell* con un núcleo de magnetita y un cubierta de sílice mesoporosa funcionalizada con un copolímero de PNIPAM con enlaces disulfuro mediante un procedimiento en múltiples pasos, y lo testearon para la liberación controlada de doxorubicina. En el mismo sentido, un copolímero termosensible de NIPAM y ácido metacrílico fue enlazado por un procedimiento en dos pasos sobre MMS por Tian y colaboradores [104], y las nanopartículas híbridas se usaron como DDS controlado mediante temperatura. Las características magnéticas de estas nanopartículas hacen que sean capaces de realizar tratamientos adicionales como hipertermia. También son utilizadas en MRI para integrar diagnóstico y tratamiento en un solo sistema [75,105,106]. Como varios ensayos *in vivo* e *in vitro* han mostrado en general una buena biocompatibilidad y baja toxicidad tanto las IONPs [22] como de las MSNPs [12], es esperable que las nanopartículas con estructura *core-shell* MMS se comporten en el mismo sentido. Aunque algunos estudios que han utilizado específicamente nanopartículas MMS *core-shell* obtuvieron resultados favorables para sus aplicaciones en nanomedicina [107-109], la toxicidad y biocompatibilidad para MMS funcionalizadas debe ser preferentemente evaluada en cada caso [106].

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Materiales

A partir de las nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa, se obtuvieron nanotransportadores como sistema de administración controlada de fármacos utilizando los materiales que se muestran en la Tabla 4 y en la Tabla 5.

Tabla 5 - Materiales adicionales para la síntesis de nanotransportadores, ensayos de toxicidad celular y liberación *in vitro*

Nombre	Abreviatura	Fórmula	M (mol g ⁻¹)	Marca y pureza
N-isopropilacrilamida	NIPAM		113.16	Sigma-Aldrich, 99%
3-(trimetoxisilil) propilmetacrilato	MPS		248.35	Sigma-Aldrich, 97%
Azobisisobutironitrilo	AIBN		164.21	Sigma-Aldrich, 12% m/V acetona
Ibuprofeno	IBU		206.28	Sigma-Aldrich, 98%
Etanol absoluto seco	-	CH ₃ CH ₂ OH	78	Fluka
Solución fisiológica salina	PSS	NaCl en agua ultra pura	-	0.5 M
Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol	MTT		414.32	Sigma
Dimetilsulfóxido	DMSO		78.13	Merck
Solución salina de buffer fosfato	PBS	-	-	

Además, para los ensayos de citotoxicidad *in vitro* se utilizaron células HepG2, medio de cultivo DMEM, suero fetal bovino (FBS) y penicilina-estreptomicina.

3.2.2. Síntesis de Nanopartículas con Respuesta Térmica y Magnética

Se procedió a la funcionalización de las nanopartículas *core-shell* de óxidos de hierro recubiertas con sílice mesoporosa (MMS, sección 2.4.3) con un polímero termosensible. La inserción del polímero termosensible sobre este material de partida, se realizó mediante un procedimiento de síntesis en un solo paso reportado por Brunella y colaboradores para un sistema de nanopartículas de sílice mesoporosa [15]. Para esto, 500 mg de MMS se colocaron en un balón de vidrio de dos bocas con 125 mg de NIPAM sólido y 18 mL de etanol seco. El etanol seco se obtuvo de un matraz Erlenmeyer con etanol absoluto en contacto con piedras de sílica gel para adsorber humedad. El balón de vidrio se colocó dentro de un baño calefactor ubicado sobre un agitador magnético con controlador de temperatura. Luego se conectó el balón a un condensador equipado con un globo con nitrógeno y la suspensión se agitó bajo atmósfera de nitrógeno (Figura 31). Después, se agregaron en secuencia 13 μL de MPS y 2 mL de solución de AIBN en etanol (0.3 % m/V) por la boca lateral del balón. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a 70°C durante 16 h. En este paso, ocurre en simultáneo una polimerización radicalaria entre los comonómeros y el anclaje covalente sobre la superficie de sílice mesoporosa de las partículas MMS. Al finalizar la reacción, las nanopartículas se lavaron 3 veces con etanol, se separaron magnéticamente y se secaron a 70°C durante 12 h. El producto obtenido se llamó MMS-PNIPAM-co-MPS. Un esquema completo de los pasos de síntesis se muestra en la Figura 32.

Los nanotransportadores híbridos obtenidos se caracterizaron empelando diversas técnicas fisicoquímicas: XRD, FTIR, TGA, TEM, DLS, adsorción-desorción de N_2 y curvas de magnetización (ver detalle instrumental en la Sección 6.1).



Figura 31 - Equipo para la funcionalización de nanopartículas MMS con PNIPAM-co-MPS

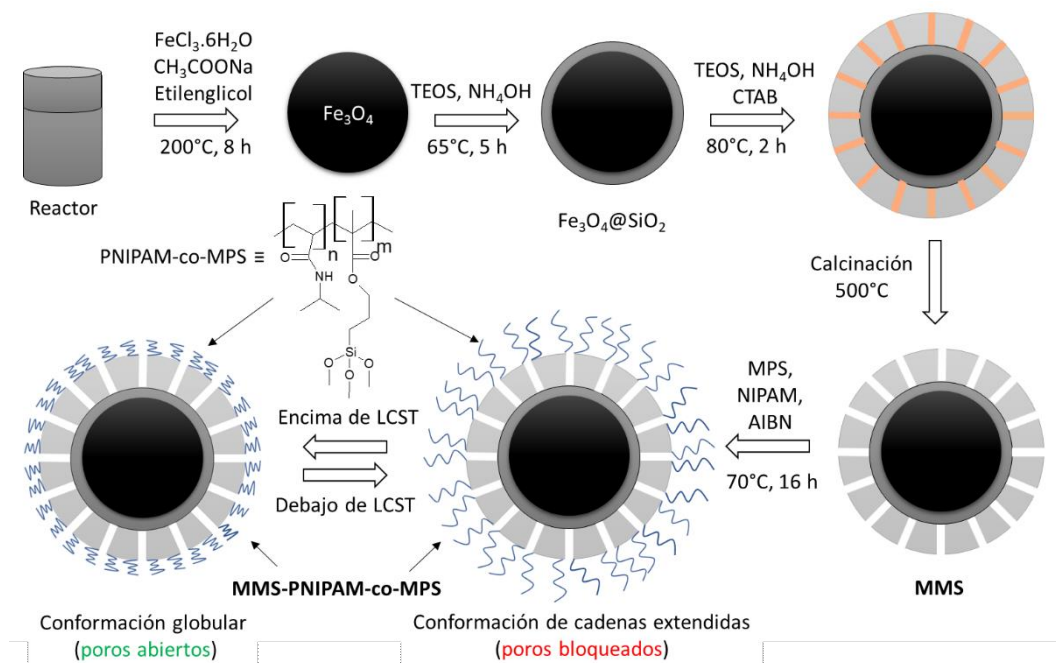


Figura 32 - Esquema de síntesis de las nanopartículas MMS-PNIPAM-co-MPS

3.2.3. Ensayos *in vitro* para Liberación Controlada de Fármacos

Con el fin de evaluar la respuesta de los nanotransportadores preparados al estímulo de la temperatura se realizaron ensayos de liberación *in vitro* a distintas temperaturas utilizando ibuprofeno como fármaco modelo. Estos ensayos se dividen en carga dentro de las nanopartículas y posterior liberación. Para analizar el efecto del polímero termosensible, estos experimentos se realizaron para las nanopartículas MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS. En los ensayos de carga de fármaco, se dispersaron 25 mg de nanopartículas en 40 mL solución 0.16 M de ibuprofeno en hexano dentro de un matraz Erlenmeyer de 100 mL con tapa. Luego, se ubicó este matraz Erlenmeyer sobre un agitador orbital dentro de una cámara a 40°C y se agitó la dispersión durante 24 h. Más tarde, las nanopartículas se separaron magnéticamente retirando el sobrenadante, se lavaron con hexano una vez y con agua destilada a 5°C una vez y se dejaron secar a temperatura ambiente. La carga de ibuprofeno se cuantificó mediante TGA y espectroscopía UV-Visible. Por TGA la carga se calculó analizando los termogramas. Se restó a la pérdida de masa total del termograma de MMS-PNIPAM-co-MPS cargado con IBU, las pérdidas atribuidas al polímero, al agua fisisorbida y al proceso de dehidroxilación. Un procedimiento análogo se realizó para calcular la carga de IBU en las nanopartículas MMS. La cantidad de medicamento almacenada también se estimó por espectroscopía UV-Visible. Para esto se consideró la cantidad total de IBU liberado por una dispersión de nanopartículas cargadas en solución fisiológica salina (PSS, *physiological saline solution*) a 40°C luego de 24 h. La cuantificación de ibuprofeno por análisis UV-Visible se realizó usando un espectrofotómetro UV T60 (PG Instruments). Para esto se midieron los valores de absorbancia a $\lambda = 221\text{ nm}$ y se compararon con una curva de calibración en PSS. Si todo el fármaco almacenado es liberado, la carga estimada por UV-Vis debería ser prácticamente idéntica a la calculada por TGA. Si, por el contrario, parte del fármaco permanece dentro de los nanotransportadores, UV-Vis proporcionaría menores valores de carga que TGA.

Los ensayos de liberación *in vitro* del fármaco se efectuaron en PSS. Se agregaron 40 mL de PSS a las nanopartículas cargadas con ibuprofeno secas dentro del matraz Erlenmeyer. Inmediatamente, el sistema se llevó a agitación dentro de la cámara a temperatura controlada. A ciertos intervalos de tiempo, las nanopartículas fueron separadas magnéticamente con un imán de Neodimio, se tomó una alícuota (3 mL) de sobrenadante y se midió su absorbancia en espectrofotómetro. La alícuota, una vez medida, fue devuelta rápidamente al matraz Erlenmeyer para no alterar el dosaje de sólido en PSS. Estos ensayos se realizaron por triplicado a 20 °C (por debajo de la LCST) y a 40°C (por encima de LCST) para las nanopartículas MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS.

3.2.4. Toxicidad *in vitro*

Para poder evaluar la citotoxicidad de los nanotransportadores sintetizados, se realizaron ensayos de citotoxicidad *in vitro*, midiendo la actividad enzimática mitocondrial de células HepG2 mediante la prueba con MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol). Las células HepG2 son células no tumorigénicas de hepatoma humano que se utilizan con frecuencia en estudios de metabolismo y hepatotoxicidad de fármacos [110]. El ensayo MTT proporciona información sobre viabilidad celular, una célula activa metabólicamente reduce MTT a un derivado de color azul, formazán, cuya concentración puede cuantificarse espectrofotométricamente [111].

Se trataron células HepG2 con diferentes dosis de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS, con y sin ibuprofeno, y a temperaturas de 20 °C y 37 °C. También se realizaron pruebas con diferentes concentraciones de ibuprofeno. Las células HepG2 se hicieron crecer en medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) y 1% penicilina-estreptomina. Se sembraron 25000 células/pocillo (2 placas de 96 pocillos) y se incubaron durante 24 h a 37°C. La incorporación de las nanopartículas a las células se realizó agregando una dispersión de las mismas en el medio de cultivo a ambas placas. Las placas se incubaron durante toda la noche (06:00 PM a 8:00 AM) a una temperatura entre 20 y 26°C. Luego de la incubación, se descartó el medio, se lavaron las células que permanecen adheridas con PBS y se volvió a colocar medio de cultivo fresco. Para promover la liberación del IBU encapsulado, se colocó una de las placas a 37°C durante 2 h. Para la metabolización del IBU, ambas placas volvieron a 20-26°C durante toda la noche (06:00 PM a 8:00 AM). Más tarde, se lavaron las placas con PBS y se añadió medio fresco con el reactivo MTT a una concentración final de 1 mg mL⁻¹. Después de 3 h de incubación, las células se lavaron nuevamente con PBS. Luego, las células se lisaron y los cristales de formazán se disolvieron mediante la adición de 100 µL sulfóxido de dimetilo (DMSO) a cada pocillo. Las placas se agitaron durante 10 min y se midió la absorbancia a 545 nm utilizando un lector de placa de ELISA automático Solver (7530 Lector de Microplacas Cambridge Technology, Inc. St. Watertown, MA, EE.UU). La viabilidad se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$Viabilidad (\%) = \frac{A_{muestra} - A_{control}}{A_{control} - A_{medio}} \quad \text{Ecuación 11}$$

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Caracterización de Nanopartículas con Respuesta Térmica y Magnética

Una vez obtenidas las nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa (MMS) se procedió a anclar sobre su superficie el polímero termosensible. Experimentalmente esto se realizó en un solo paso, donde ocurren en simultáneo el anclaje y polimerización del organosilano MPS. Las moléculas pequeñas de MPS difunden fácilmente dentro de los mesoporos de la sílice. Allí, los grupos silanoles de la pared de los mesoporos reaccionan mediante sustitución nucleofílica con los grupos metoxi de las moléculas de MPS, permaneciendo anclado mediante enlaces covalentes Si-O-Si. Las moléculas de AIBN, adicionadas al medio casi en simultáneo, se descomponen generando radicales libres y nitrógeno (Ecuación 12). Estos radicales atacan a los dobles enlaces C = C de los grupos acriloxi del MPS anclado a las nanopartículas, por un lado, y de las moléculas del comonomero (NIPAM) presente en el medio por el otro. De esta manera, se inicia la reacción de polimerización radicalaria entre los dos comonomeros NIPAM y MPS. En consecuencia, se forman cadenas del copolímero termosensible PNIPAM-co-MPS. Como la reacción de inmovilización en la superficie de la sílice y polimerización se realizan de modo sincrónico, las moléculas de MPS no poseen demasiado tiempo para difundir hacia el interior de los poros. Así, es factible que las cadenas del polímero se formen principalmente en la entrada de los poros. Este material así obtenido es el nanotransportador híbrido denominado MMS-PNIPAM-co-MPS. Un esquema de este procedimiento se presenta en la Figura 33.

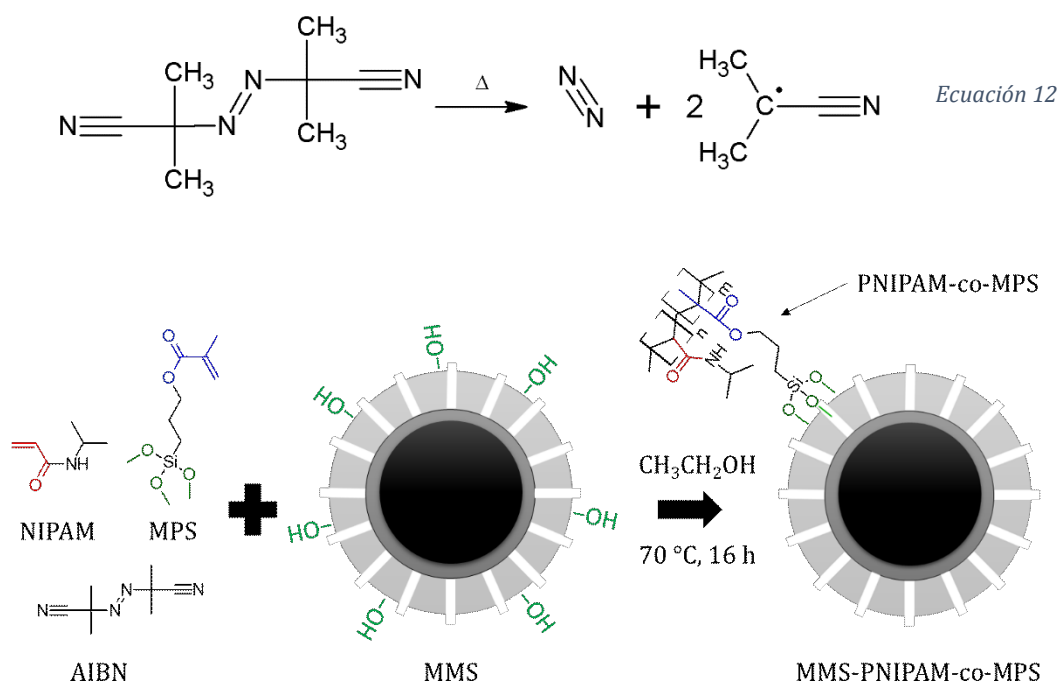


Figura 33 - Esquema del procedimiento en un solo paso del anclaje y formación del polímero termosensible PNIPAM-co-MPS sobre las nanopartículas MMS

La morfología de los materiales preparados se estudió mediante imágenes TEM en baja y alta resolución. Las Figura 34 y Figura 35 muestran las imágenes TEM de MMS-PNIPAM-co-MPS, las imágenes de MMS ya se presentaron previamente (Sección 2.5). No se encontraron diferencias significativas entre MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS, lo que sugiere que el anclaje del polímero no afecta la estructura primaria de las nanopartículas de MMS. Análogo a MMS, los nanotransportadores híbridos presentan una forma casi esférica de estructura *core-shell*, un núcleo cristalino de óxido de hierro visible por una mayor densidad óptica, y una cubierta más clara de sílice porosa. Por otro lado, el análisis del patrón de líneas de difracción en el núcleo de óxido de hierro revela la presencia del plano cristalino $d_{hkl} = 2.7$ nm correspondiente al plano (3 1 0) de la maghemita (Figura 35B). Similar a lo analizado para MMS (Sección 2.5), el tamaño medio de MMS-PNIPAM-co-MPS resultó de aproximadamente 91 nm.

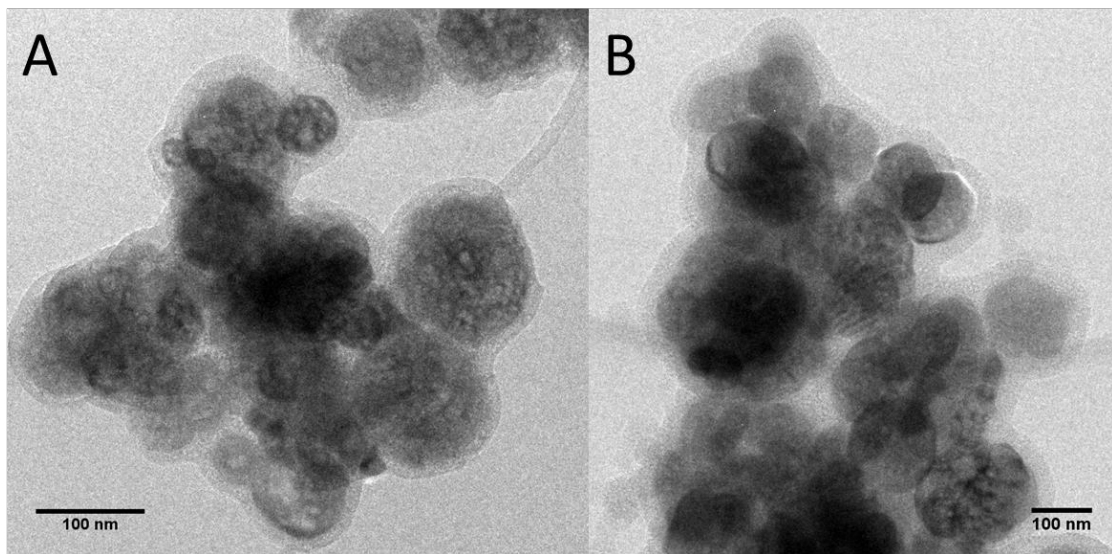


Figura 34 - Imágenes TEM en baja resolución de MMS-PNIPAM-co-MPS

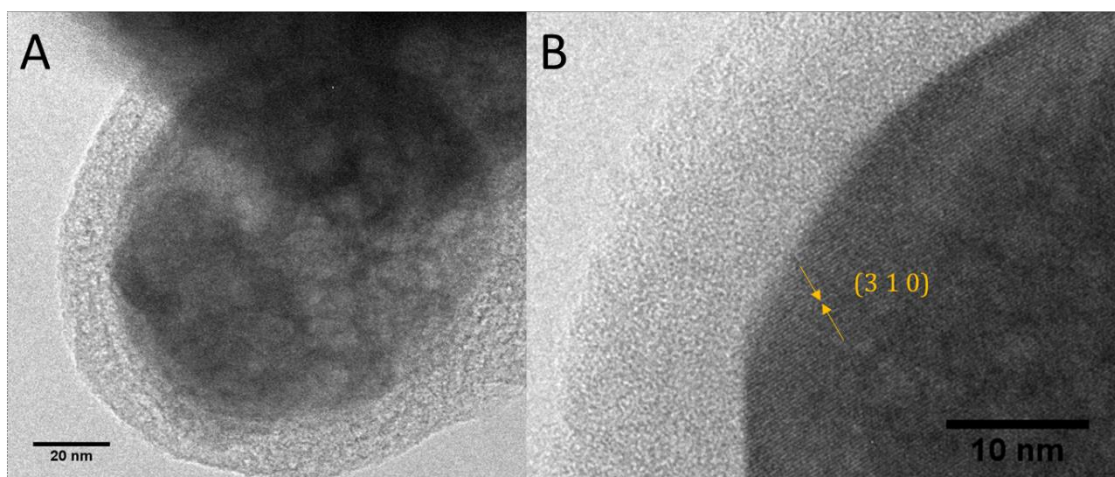


Figura 35- Imágenes TEM en alta resolución de MMS-PNIPAM-co-MPS

Con el fin de confirmar la presencia de óxidos de hierro e identificar las fases cristalinas formadas, se registraron patrones de difracción de rayos X de MMS-PNIPAM-co-MPS. El patrón de difracción del nanotransportador híbrido (Figura 36) resultó prácticamente idéntico al de las nanopartículas sin polímero MMS (Figura 27), todos los planos de reflexión están indexados en correspondencia en la figura. Como era esperable, los procedimientos de inmovilización covalente de MPS y polimerización no modificaron las características cristalográficas de los núcleos de IONPs.

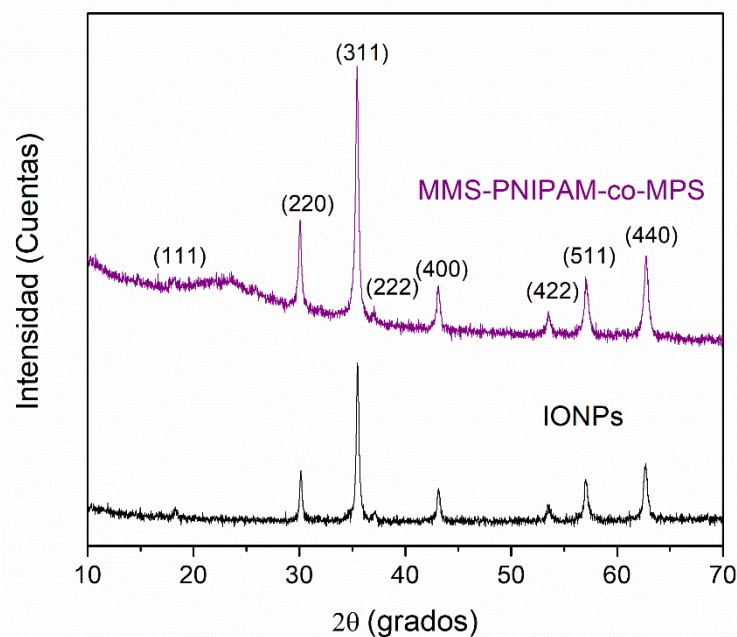


Figura 36 - Patrones de XRD de MMS-PNIPAM-co-MPS y de las IONPs

La presencia de la cubierta de sílice mesoporosa y del polímero termosensible en el nanotransportador híbrido fue confirmada por estudios FTIR. Se realizaron ensayos en dos modalidades: con el método de la pastilla de KBr y en reflexión total atenuada (ATR). En el espectro obtenido con pastillas (Figura 37) se aprecia una banda de absorción intensa entre 800 y 1300 cm^{-1} debido a los modos vibracionales de la red tetraédrica de la sílice [79], confirmando lo observado en imágenes TEM. Sin embargo, con esta modalidad no fue posible evidenciar bandas asociadas al polímero termosensible. La posición de las bandas en un espectro infrarrojo depende de las masas relativas de los átomos que constituyen el enlace que interacciona con la energía radiante del espectro infrarrojo y de la constante de unión de estos enlaces. Asimismo, la intensidad relativa de bandas de diferentes enlaces químicos está asociada con la cantidad relativa por unidad de volumen de cada enlace y con la polaridad del mismo. Dado que es muy probable que la proporción de sílice mesoporosa sea muy superior a la de PNIPAM-co-MPS en MMS-PNIPAM-co-MPS, las bandas de polímero pueden quedar enmascaradas. Para evadir este efecto se registraron espectros IR en modalidad de reflexión total atenuada (ATR).

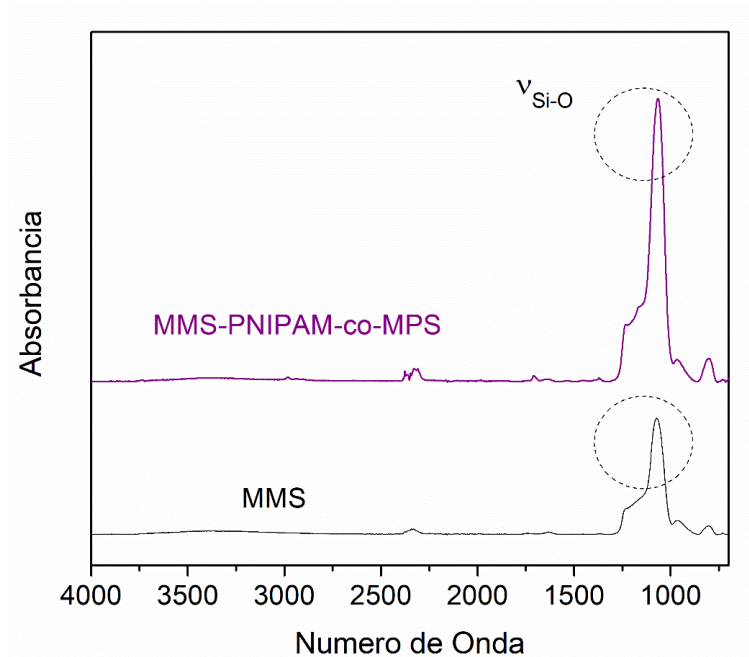


Figura 37 – Espectros FTIR con pastilla de KBr de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS

Se preparó una muestra de copolímero de NIPAM y MPS puro con fines comparativos siguiendo el mismo procedimiento que en la sección 3.2.2, pero sin el agregado de nanopartículas, y se registró su espectro con FTIR-ATR. Las bandas características del polímero termosensible a 1710 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ grupo propilmetacrilato), 1638 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ amida), 1536 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-N}}$), 1458 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ de Csp^2), 1370 cm^{-1} y 1390 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ deformación y balanceo) [112,113] se observaron en los espectros del polímero puro PNIPAM-co-MPS y de los nanotransportadores MMSNP-PNIPAM-co-MPS (Figura 38). Vale la pena destacar que la señal a 1710 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ grupo propilmetacrilato), más intensa para el material híbrido que para el PNIPAM-co-MPS puro, indica que la composición del polímero libre y enlazado puede no ser exactamente la misma debido al diferente ambiente de reacción, es decir, la presencia de nanopartículas. Posiblemente, durante la reacción algunas de las fracciones de MPS unidos a la superficie de las MMS no polimerizaron con NIPAM. Como es de esperar, las bandas correspondientes a los modos vibracionales del polímero no se encuentran en MMS.

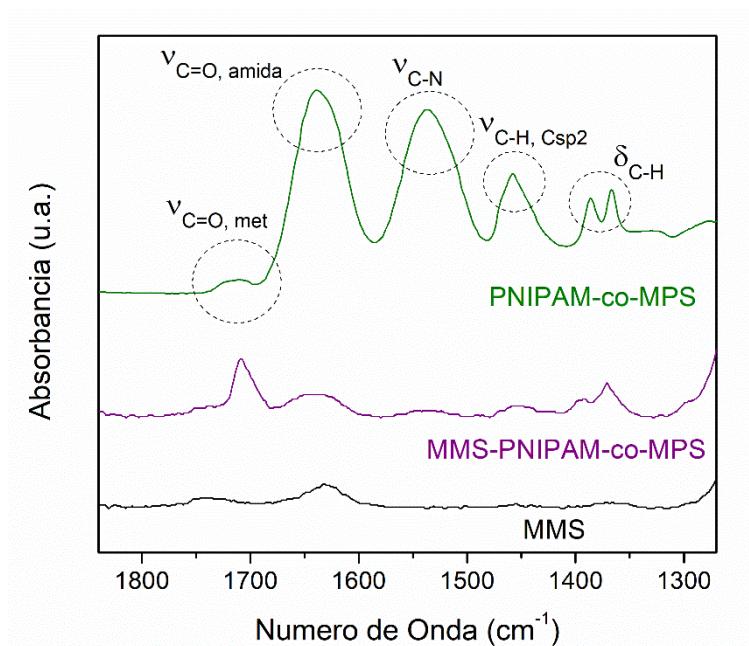


Figura 38 – Espectros ATR-FTIR de MMS, MMS-PNIPAM-co-MPS y el polímero de referencia PNIPAM-co-MPS

El análisis termogravimétrico se utilizó para cuantificar la cantidad de polímero termosensible enlazado a MMS-PNIPAM-co-MPS (Figura 39). La curva TGA de las nanopartículas magnéticas de sílice mesoporosa desnudas (Figura 39 línea negra sólida) presenta una primera pérdida de masa entre temperatura ambiente y 100 °C por la desorción de moléculas de agua, luego se mantiene constante hasta aproximadamente 600 °C. A partir de 600 °C ocurre una pérdida de masa suave probablemente relacionada a la dehidroxilación de la superficie de sílice mesoporosa, es decir, la condensación entre grupos Si-OH para dar Si-O-Si [15]. Además, el pequeño cambio de pendiente cerca de 570 °C, puede deberse a que parte del núcleo magnético sufre una transición de fase de magnetita a hematita en estas condiciones [25]. En el caso de las nanopartículas recubiertas con polímero (Figura 39 línea discontinua violeta), se observan en adición a las dos pérdidas anteriores, una pérdida entre 100 °C y 600 °C aproximadamente, atribuida a la descomposición y combustión de la materia orgánica asociada a las cadenas del polímero. La pérdida total de masa de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS hasta 700 °C resultó de 2.7 % y 8.5 % respectivamente. De esta manera, la cantidad de polímero termosensible enlazado resultó ser aproximadamente 5.8 %. La Figura 39 presenta también la curva TGA del nanotransportador híbrido cargado con ibuprofeno (línea verde de puntos y guiones). La región atribuida a la descomposición de la materia orgánica, entre 100 °C y 600 °C, muestra dos cambios de pendiente, posiblemente debido a las diferentes temperaturas de descomposición de las cadenas de polímero y las moléculas del fármaco. En este caso, la pérdida de masa total resultó de 12.5 %. Considerando la curva de MMS-PNIPAM-co-MPS sin carga (8.5 %), la cantidad total de ibuprofeno cargado en el nanotransportador híbrido resultó de alrededor del 4 % en peso.

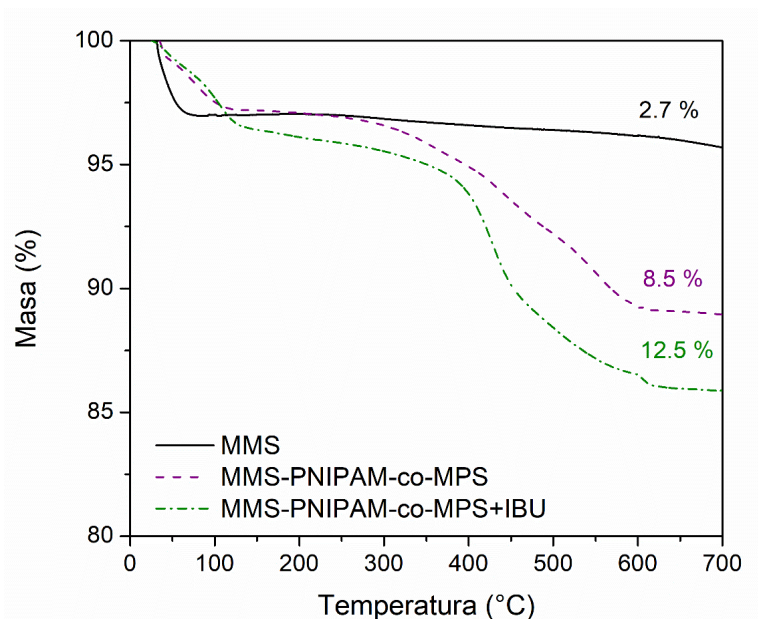


Figura 39 - Termogramas de MMS, MMS-PNIPAM-co-MPS y el nanotransportador híbrido cargado con ibuprofeno (MMS-PNIPAM-co-MPS+IBU)

Las isotermas de adsorción-desorción de N_2 registradas a 77 K de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS (Figura 40) son de tipo IVa y con un ciclo de histéresis tipo H1 de acuerdo a la clasificación de la IUPAC, típicas de materiales mesoporosos [48]. Por otro lado, las isotermas no muestran una meseta final, lo que puede asociarse a macroporos debido a la aglomeración de nanopartículas del material sólido en polvo. Ambos materiales presentan una baja adsorción de N_2 a presiones relativas pequeñas, con lo que se descarta la presencia de microporos. Por otro lado, ambos materiales poseen una distribución estrecha de poro dentro del rango de los mesoporos (Figura 41), en concordancia con una curva de histéresis H1 estrecha. Luego de la inmovilización y subsecuente polimerización de MPS, no se observaron diferencias significativas en las propiedades texturales (Tabla 6). El área superficial específica se redujo de $521 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ a $505 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, el volumen de poros de $0.33 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ a $0.29 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ y el tamaño medio de poros de 29 \AA a 27 \AA . Estos resultados pueden deberse a la presencia de una pequeña fracción de cadenas de polímero dentro de los mesoporos y sugiere que la capa de PNIPAM-co-MPS se formó principalmente en la entrada de los mesoporos. En contraste, resultados previos de procedimientos en dos pasos de anclaje y polimerización han mostrado una cantidad significativa de PNIPAM dentro de los poros de la sílice [62,113].

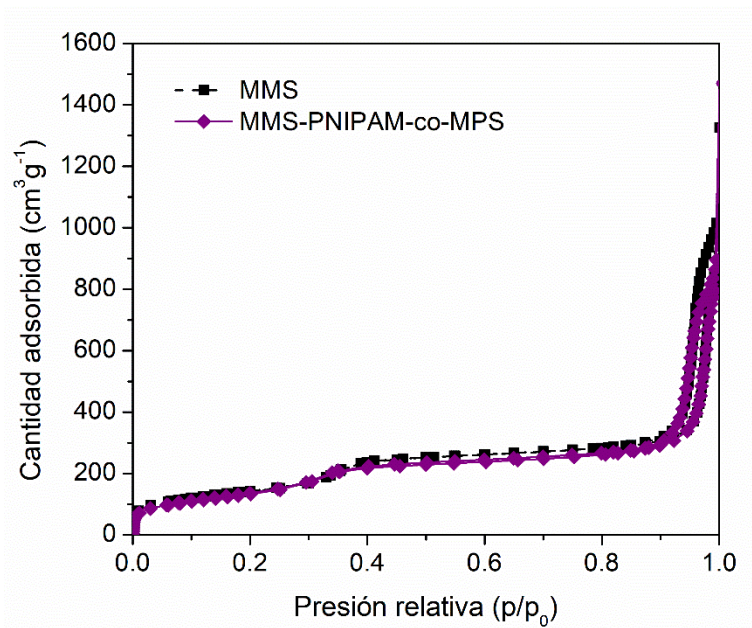


Figura 40 - Isothermas de adsorción-desorción de N₂ de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS

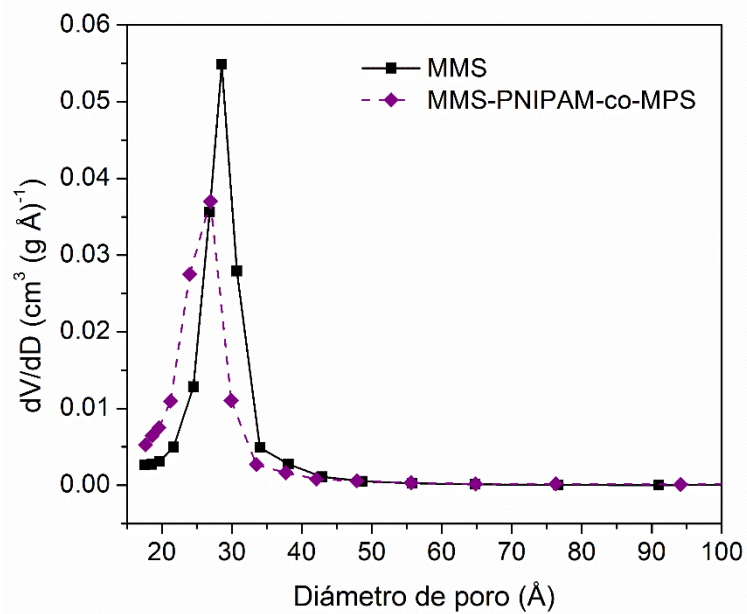


Figura 41 - Distribución de tamaño de poros de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS mediante el modelo BJH

Tabla 6 - Propiedades texturales de MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS

Muestra	S _{BET} (m ² g ⁻¹)	V _t poros (cm ³ g ⁻¹)	D _{poro} (nm)
MMS	521	0.33	2.9
MMS-PNIPAM-co-MPS	505	0.29	2.7

El comportamiento termosensible del polímero anclado fue verificado por DLS. Los resultados muestran que el diámetro hidrodinámico (D_h) promedio de las nanopartículas desnudas MMS resultó de 92 nm (Figura 42A). Este D_h no cambió con la temperatura. La distribución estrecha del D_h con un valor promedio similar al diámetro medio de las nanopartículas MMS estimado por imágenes TEM (91 nm), indica que las nanopartículas se encuentran razonablemente monodispersas en medios acuosos, lo que es muy importante para su potencial uso como nanotransportadores. La Figura 42B muestra una dependencia con la temperatura del D_h de las nanopartículas MMS-PNIPAM-co-MPS. El D_h promedio disminuyó desde 125 nm a 20°C hasta 105 nm a 40 °C, evidenciando el comportamiento termosensible del polímero anclado a las nanopartículas. A temperaturas por debajo de la LCST, las cadenas del polímero están en su forma extendida hidrofílica, con sus grupos polares (amida) interactuando con las moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno. Mientras que, a temperatura por encima de la LCST, los fragmentos hidrofóbicos de polímero (isopropilo) comienzan a incrementar sus interacciones recíprocamente cambiando su conformación a una forma globular hidrofóbica, colapsando sobre la superficie de las nanopartículas. Esta transición resulta en una reducción del D_h en las nanopartículas MMS-PNIPAM-co-MPS. Asimismo, el tamaño de estos nanotransportadores híbridos entre 106 y 125 nm, resultada adecuado para potenciales aplicaciones vasculares donde son inyectados sistémicamente [100].

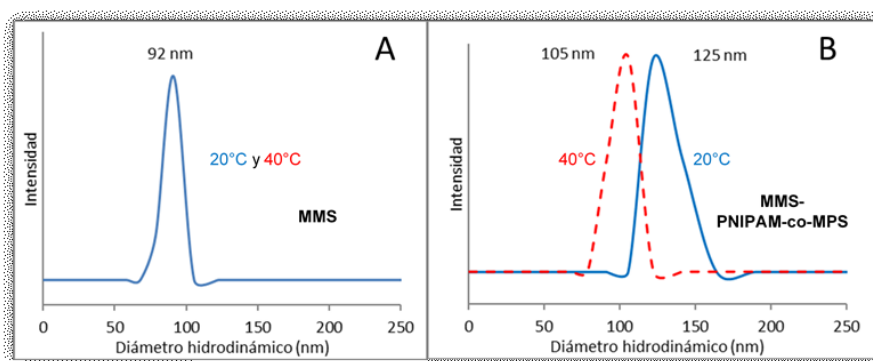


Figura 42 - Distribución de tamaño de partículas para MMS (A) y MMS-PNIPAM-co-MPS (B) a 20 °C y 40°C medidas por DLS.

La Figura 43 reporta las curvas de magnetización obtenidas para nanopartículas de óxido de hierro y los nanotransportadores. A 300 K todas las muestras exhiben un comportamiento ferromagnético suave con una baja coercitividad y remanencia (Tabla 7). Los valores de magnetización de saturación (M_s) para IONPs, MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS fueron 79.5 emu g⁻¹, 26.5 emu g⁻¹ y 19.5 emu g⁻¹, respectivamente. Los valores menores de M_s observados para los nanotransportadores en comparación con IONPs puras pueden atribuirse primero a la menor proporción de magnetita por gramo de material total. Además, una cancelación parcial de momentos magnéticos causados por el recubrimiento con sílice mesoporosa diamagnética y subsecuente revestimiento con polímero termosensible puede contribuir a esta reducción en M_s [79,114]. El nanotransportador híbrido presenta valores de coercitividad y remanencia muy pequeños y una curva de histéresis muy estrecha, es decir, un comportamiento superparamagnético, con características magnéticas más que satisfactorias para su potencial uso como

nanotransportador de fármacos dirigidos magnéticamente. El valor de M_s de MMS-PNIPAM-co-MPS (19.5 emu g^{-1}) es apto para poder ser guiada por un campo magnético externo [3,100] y bastante superior al de nanotransportadores de características similares reportados previamente ($M_s \sim 2.1 - 2.6 \text{ emu g}^{-1}$) [103,115]. Al mismo tiempo, su distribución monodispersa en medios acuosos evidenciada en DLS muestra que no hay una aglomeración importante por magnetización remanente.

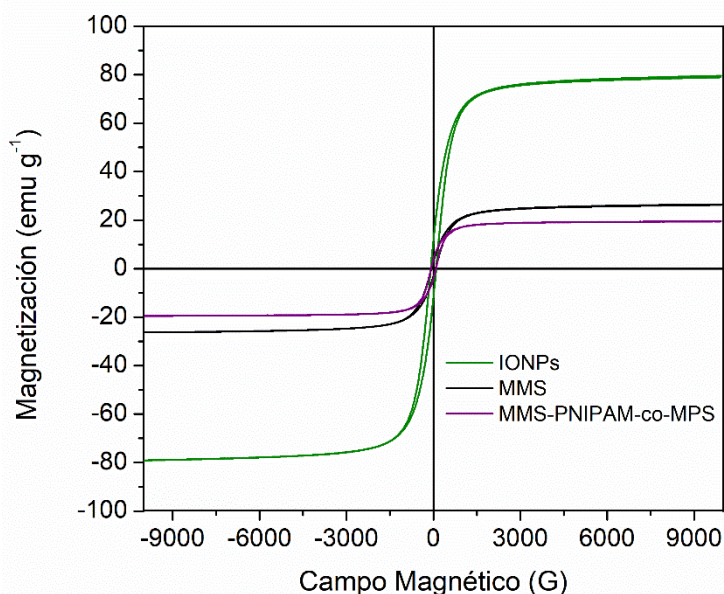


Figura 43 - Curvas de magnetización a 300 K de IONPs, MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS

Tabla 7 - Propiedades magnéticas de los nanotransportadores sintetizados

Muestra	M_s (emu g^{-1})	M_r (emu g^{-1})	H_c (G)
IONPs	80.0	11.5	96
MMS	26.5	3.0	76
MMS-PNIPAM-co-MPS	19.5	4.0	90

3.3.2. Ensayos *in vitro* para Liberación Controlada de Fármacos

Los ensayos de liberación *in vitro* se realizaron utilizando ibuprofeno como molécula modelo. El ibuprofeno es un conocido fármaco antiinflamatorio no esteroideo utilizado como antipirético, analgésico y antiinflamatorio. La Figura 44 muestra las distancias atómicas de su estructura con conformación de menor energía [85]. Su tamaño aproximado de $1 \text{ nm} \times 0.5 \text{ nm}$ es adecuado para ingresar a los poros de los nanotransportadores ($D_p > 2.7 \text{ nm}$).

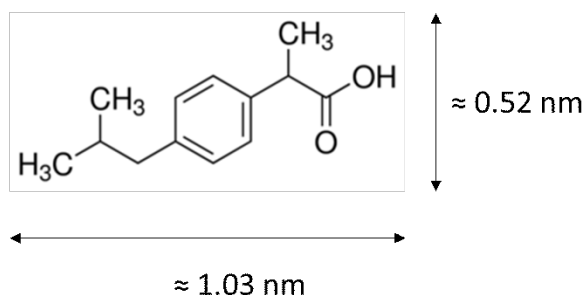


Figura 44 - Distancias atómicas de la molécula de ibuprofeno en su conformación de menor energía

Primero se realizó la carga del fármaco en los nanotransportadores, dispersándolos en una solución concentrada de ibuprofeno en hexano. La cuantificación de la masa de ibuprofeno por unidad de masa de nanopartícula se estimó por espectroscopía UV-Vis y TGA, como se describió en la sección 3.2.3. De ambos análisis se obtuvieron resultados similares (Tabla 8). Esto indica que efectivamente la totalidad del fármaco cargado se liberó en 24 h para MMS-PNIPAM-co-MPS a 40 °C. A pesar que la presencia del polímero no afecta significativamente las propiedades texturales de las nanopartículas (es decir, área superficial específica, volumen de poro y tamaño de poro), la menor carga de fármaco en MMS-PNIPAM-co-MPS con respecto a la muestra de MMS no funcionalizada, puede indicar que las cadenas del polímero en el borde de los mesoporos obstaculizan en cierta medida la difusión del ibuprofeno.

Tabla 8 - Carga de ibuprofeno en masa de fármaco por masa de nanotransportadores estimado por UV-Vis y TGA

Muestra	Carga IBU (% m/m)	Carga IBU (% m/m)
	UV-Visible	TGA
MMS	24.0	21.0
MMS-PNIPAM-co-MPS	6.20	4.0

Los ensayos de liberación del fármaco se realizaron por debajo (20 °C) y por encima (40 °C) de la LCST del polímero termosensible anclado. No se observó un efecto de la temperatura para las nanopartículas MMS desnudas (Figura 45). Todo el fármaco cargado se liberó rápidamente luego de 16 h, con aproximadamente el 90 % en las primeras 4 h, tanto a 20 °C como a 40 °C. Por el contrario, luego de la funcionalización con PNIPAM-co-MPS el perfil de liberación se vuelve dependiente de la temperatura (Figura 46). Por debajo de la LCST (20 °C, Figura 46 línea azul) las cadenas de polímero se encuentran en su forma hidrofílica totalmente extendidas y cubriendo los poros, dificultando así la salida del IBU hacia la solución salina. Se observó solamente un 20 % de liberación de la carga luego de 16 h, lo que es un resultado excelente considerando estudios previos de otros nanotransportadores basados en PNIPAM que reportan mayores porcentajes de liberación a temperaturas inferiores a la LCST: 30 % [116], 40 % [15], 45 % [117], 80 % [118], 80 % [119]. Por encima de la LCST (40 °C, Figura 46 línea roja), se observa una liberación completa del fármaco en menos de 24 h. El 80 % de la carga total se libera al medio en los primeros 30 min, con lo que este sistema resulta adecuado para aquellas terapias que

requieran una administración rápida y localizada del medicamento. Las diferencias observadas en la liberación de IBU entre las temperaturas ensayadas a 16 h (cerca del 80 %) indican que el nanotransportador híbrido presenta un muy buen control de la liberación mediante la temperatura. En comparación, otros estudios de nanotransportadores magnéticos modificados con PNIPAM han mostrado una liberación lenta o incompleta de las sustancias terapéuticas [103,115].

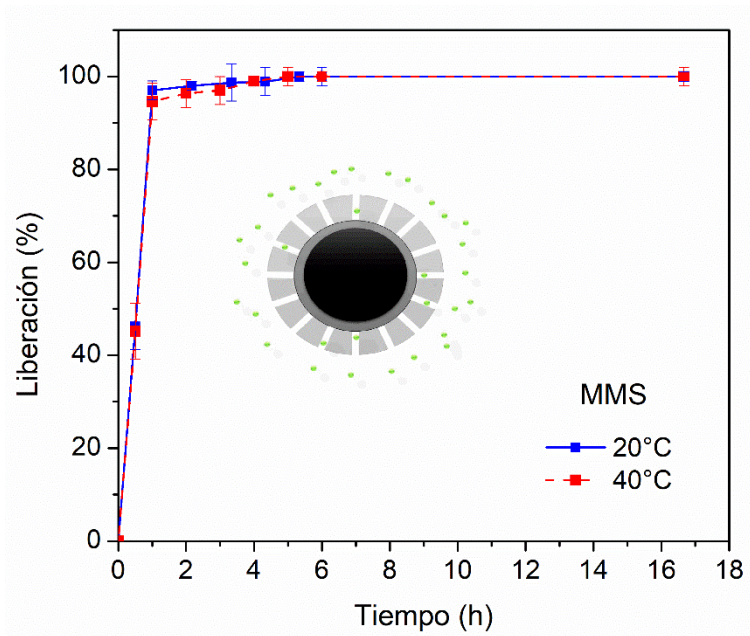


Figura 45 - Liberación (%) de IBU a 20 °C y 40 °C para MMS

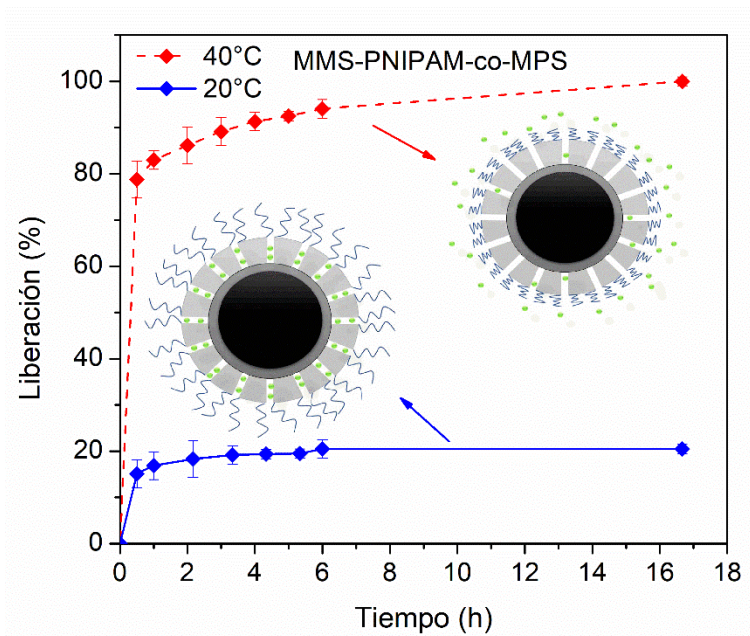


Figura 46 - Liberación (%) de IBU a 20 °C y 40 °C para MMS-PNIPAM-co-MPS

3.3.3. Toxicidad *in vitro*

La viabilidad celular se define como el número de células sanas en una muestra, determina la cantidad de células que están vivas o muertas basándose en la muestra total. Las células crecen en el medio de cultivo, que es un líquido que proporciona los nutrientes necesarios para su desarrollo en condiciones determinadas. El medio de cultivo utilizado DMEM, contiene una alta concentración de aminoácidos y vitaminas, pero no contiene proteínas, lípidos o factores de crecimiento por lo que requiere de ser suplementado comúnmente con suero fetal bovino (SFB) al 10% y con antibiótico al 1% [120], tal como se realizó el ensayo. El método MTT, desarrollado por Mosmann en 1983, es utilizado para determinar el efecto citotóxico de un compuesto determinado, como los nanomateriales, sobre cultivos de células normales [120]. Se basa en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) llevada a cabo por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en formazán, que es un compuesto de color azul, permitiendo determinar la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido que resulta en su actividad metabólica. No existe un estándar o una norma establecida para el estudio de la citotoxicidad de nanopartículas como tal, aunque todos los estudios toman como base la norma ISO 10993 que describe métodos de prueba para evaluar la citotoxicidad *in vitro* de dispositivos médicos (*Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*) [121]. Esta norma ofrece una clasificación de citotoxicidad con base a el porcentaje de viabilidad celular: 100-75%: No citotóxico, 74-50%: Ligeramente citotóxico, 49-25%: Moderadamente citotóxicos, 24-0%: Extremadamente citotóxico.

Los ensayos con MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS (por simplicidad MMS-P en los gráficos) se realizaron con un dosaje tal que permita lograr la misma concentración final de IBU considerando la capacidad de carga estimada por TGA, es decir, 21 % y 4 % respectivamente. La Tabla 9 muestra la equivalencia entre la concentración final de IBU y el dosaje de nanopartículas utilizado. De esta manera, "MMS-P 250 μM " corresponde a un dosaje de 1266 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de MMS-PNIPAM-co-MPS sin estar cargadas con ibuprofeno.

Tabla 9 - Dosaje de nanotransportadores utilizado para una concentración final de IBU determinada

Concentración de IBU (μM)	Dosaje MMS ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Dosaje MMS-PNIPAM-co-MPS ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
100	98	506
250	245	1266
750	737	3800
1500	1470	7600

La Figura 47 muestra los ensayos a 20 °C, las líneas sobre las barras corresponden al desvío estándar. Puede apreciarse que, dentro del error, la viabilidad de las células no disminuye en ninguno de los casos. Lo que significa que, a 20 °C los nanotransportadores no generan citotoxicidad a dosajes de 245 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (250 μM) para MMS y 1266 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (250 μM) para MMS-PNIPAM-co-MPS. A esta temperatura, las cadenas de polímero en el nanotransportador híbrido estarían bloqueando los poros, impidiendo la salida de IBU en

las nanopartículas cargadas con la droga. El mismo ensayo se repitió, pero esta vez incubando a 37 °C (Figura 48). A dosajes de 245 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (250 μM) parece haber una ligera toxicidad con la presencia de MMS. Estas nanopartículas cargadas con IBU muestran una viabilidad promedio mayor, sin embargo, esta diferencia está dentro del desvío estándar. Para el caso de las nanopartículas híbridas, no se observa toxicidad para dosajes más elevados 1266 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (250 μM), sin embargo, la viabilidad cae un 35 % con la presencia de ibuprofeno, que a 37 °C estaría disponible para las células.

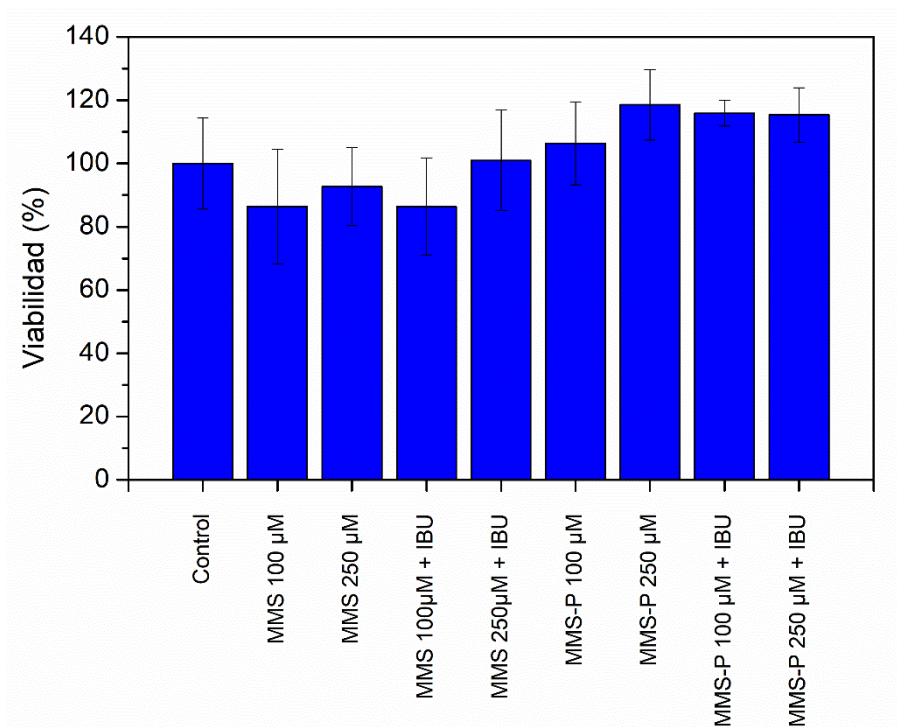


Figura 47 - Efecto del dosaje de nanotransportadores sobre la viabilidad de células HepG2 a 20 °C.

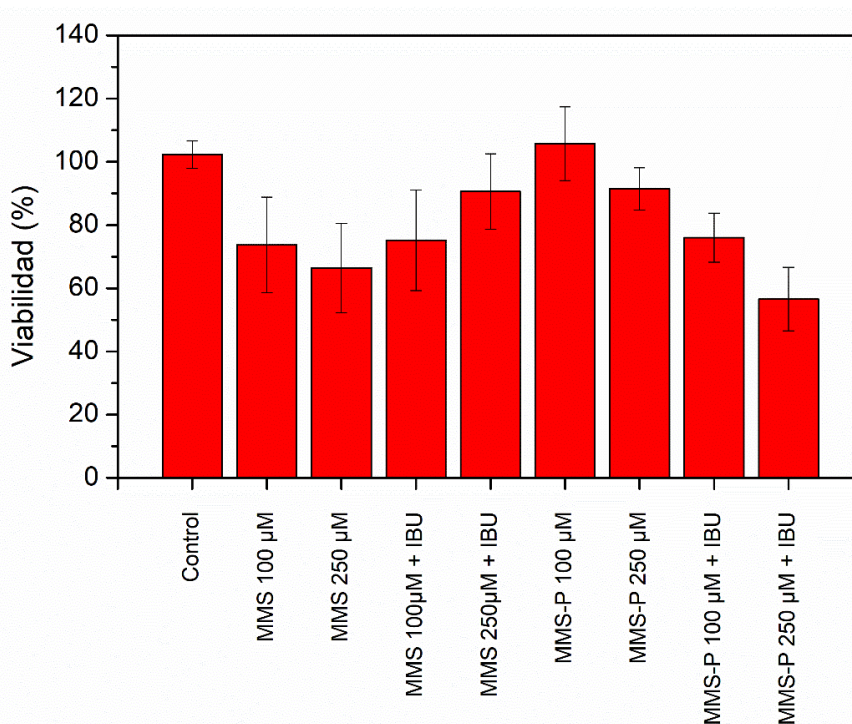


Figura 48 - Efecto del dosaje de nanotransportadores sobre la viabilidad de células HepG2 a 37 °C.

Para evaluar efectivamente si la caída de la viabilidad es atribuible al ibuprofeno, se realizó un ensayo de toxicidad con el fármaco solo, bajo las mismas condiciones y usando el mismo control. Como es esperable, el fármaco no es tóxico en las células hepáticas hasta concentraciones elevadas, 1250 µM (Figura 49). Así, se repitió el ensayo a 37 °C pero usando dosajes de nanopartículas que liberen cargas de fármacos que sean tóxicas, la Figura 50 presenta estos resultados. Las partículas MMS no muestran toxicidad a dosajes de 1470 µg mL⁻¹ (1500 µM) con y sin ibuprofeno. Es posible que este efecto en las partículas MMS cargadas se deba a que estas poseen los poros abiertos, con lo que el ibuprofeno se liberaría rápidamente antes de ingresar a las células, en concordancia con lo observado en los ensayos de liberación *in vitro*. En los nanotransportadores recubiertos con el polímero sin fármaco, no se observó toxicidad a dosajes elevados como 7600 µg mL⁻¹ (1500 µM), lo que representa un resultado excelente. En estas condiciones, las partículas MMS-PNIPAM-co-MPS cargadas sí mostraron un efecto citotóxico con una disminución de la viabilidad del alrededor del 40 %, similar a lo observado con ibuprofeno solo. Parece que de algún modo el polímero termosensible contribuye a la biodisponibilidad del fármaco en las células. Dado que no existe un protocolo establecido para medir la toxicidad, es difícil comparar resultados con otros reportes. La Tabla 10 muestra algunos resultados de citotoxicidad de diversos nanotransportadores cubiertos con sílice mesoporosa, donde se midió la viabilidad mediante MTT. El dosaje más alto ensayado fue 1000 µg mL⁻¹, con lo que el valor obtenido para MMS-PNIPAM-co-MPS (7600 µg mL⁻¹) resulta excelente. Cabe aclarar que en este caso se probó un dosaje muy alto, pues se requirió una gran concentración de ibuprofeno para generar toxicidad en las células HepG2.

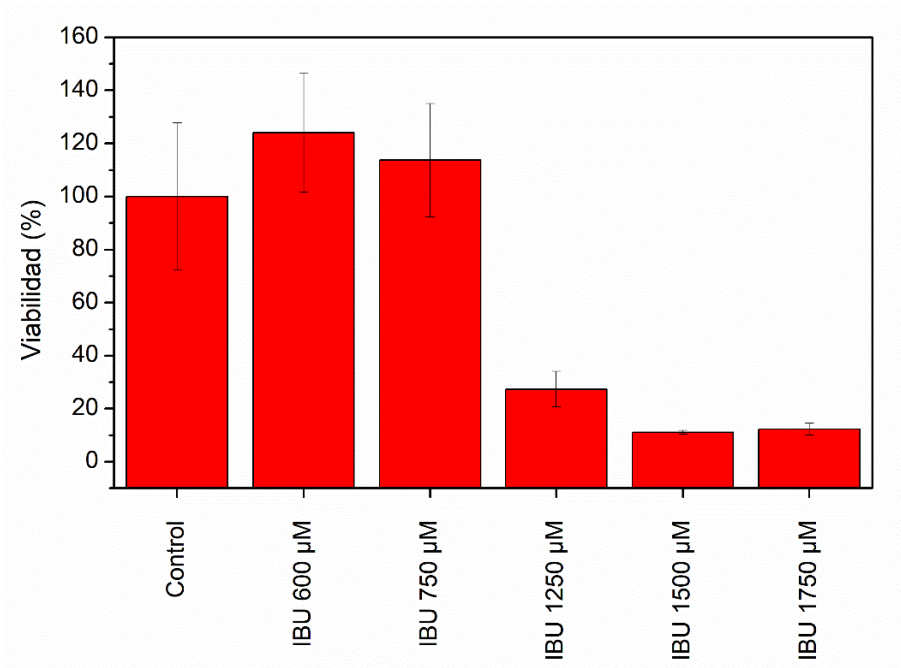


Figura 49 - Efecto la concentración de ibuprofeno libre sobre la viabilidad de células HepG2 a 37 °C.

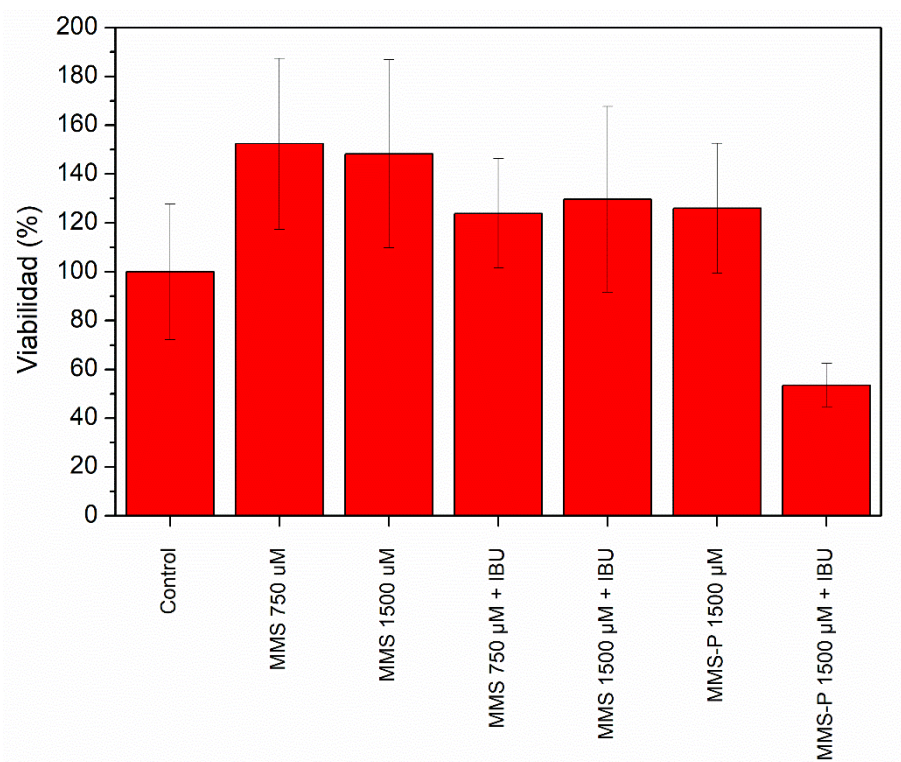


Figura 50 - Efecto del dosaje de nanotransportadores sobre la viabilidad de células HepG2 a 37 °C, con concentraciones citotóxicas de ibuprofeno.

Tabla 10 - Dosaje máximo ensayado para toxicidad in vitro de diversos nanotransportadores cubiertos de sílice mesoporosa

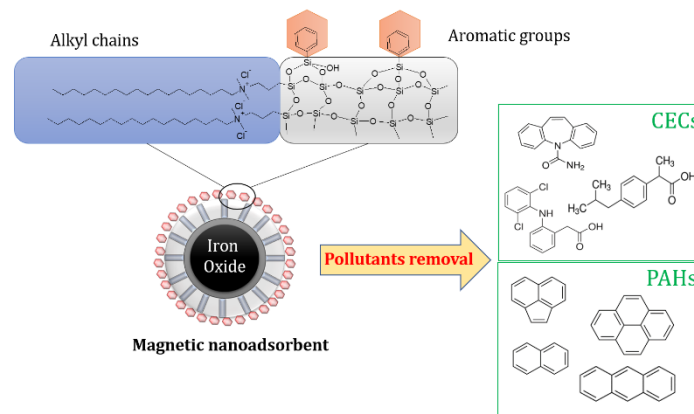
Nanotransportador	Línea celular	Dosaje máximo ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Referencia
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PAA}@SiO_2$	HepG2	40	[122]
MMSN-P(NIPAM-co-MAA)	HeLa	500	[123]
MEMSN	HeLa	50	[106]
$\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$ -PNIPAM	CHO-K1	1000	[124]
Ce6-CuS/MSN@PDA@MnO ₂ -FA	4T1	200	[125]

3.4. CONCLUSIONES PARCIALES

En este capítulo, se mostró la preparación de nanotransportadores basados en nanopartículas híbridas magnéticas de sílice mesoporosa modificadas con un polímero termosensible. Se adoptó un procedimiento sencillo en un solo paso para anclar el copolímero termosensible PNIPAM-co-MPS a las nanopartículas MMS. Hasta donde sabemos, este trabajo es el primer reporte de modificación de nanopartículas *core-shell* magnéticas recubiertas con sílice mesoporosa con este tipo de copolímero. Las nanopartículas híbridas mostraron una distribución de tamaños monodispersa en medios acuosos, con una media (105 – 125 nm) adecuada para su circulación vascular. A pesar de tener propiedades texturales destacadas, con un área superficial específica superior a 500 m² g⁻¹ y un volumen de poro cercano a 0.3 cm³ g⁻¹, la capacidad de carga de fármaco del nanotransportador híbrido resultó más bien moderada. Sus características magnéticas excelentes, con coercitividad y remanencia insignificantes y una elevada magnetización de saturación (19.5 emu g⁻¹) sugieren que puede ser fácilmente guiado a un sitio patológico específico por medio de un campo magnético externo. Además, MMS-PNIPAM-co-MPS mostró un control muy bueno de la liberación del fármaco modelo mediante la temperatura. En particular, se obtuvo una fuga baja de ibuprofeno por debajo de la LCST y una liberación completa y rápida del fármaco por encima de la LCST comparado con reportes previos. Asimismo, los nanotransportadores híbridos no generaron toxicidad en células HepG2 a dosajes hasta 7600 µg mL⁻¹.

CAPÍTULO 4.

APLICACIÓN EN MEDIOAMBIENTE: REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EN MEDIOS ACUOSOS



“No me siento obligado a creer que el mismo Dios que nos ha dotado de sentido, razón e intelecto haya querido que renunciemos a su uso”

Galileo Galilei

4. APLICACIÓN EN MEDIOAMBIENTE: REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EN MEDIOS ACUOSOS

En este capítulo se explicará el uso de nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice modificada en la remoción de contaminantes orgánicos en medios acuosos. Asimismo, se detallarán los materiales y métodos usados en la síntesis de estos nanoadsorbentes y en los ensayos de adsorción. Se discutirán los resultados obtenidos sobre la caracterización de los materiales preparados y su eficiencia en la remoción de las distintas familias de contaminantes orgánicos. Finalmente, se darán conclusiones y perspectivas futuras del presente capítulo.

4.1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso esencial para la vida en la Tierra. El rápido crecimiento de la industrialización y de la población humana son las causas principales de la presencia de contaminantes en las aguas. Las aguas contaminadas no son sólo peligrosas para los seres humanos, sino que afectan todo el ecosistema. Los contaminantes presentes en las aguas pueden alcanzar aguas superficiales y subterráneas principalmente por efluentes industriales, escurrimiento de aguas de agricultura, plantas de tratamiento u otras actividades. Estos contaminantes se clasifican como inorgánicos y orgánicos. Los compuestos aromáticos, colorantes, pesticidas y productos farmacéuticos están incluidos dentro de los contaminantes orgánicos. Varios reportes analizan el deterioro de la calidad de aguas por la aparición de contaminantes orgánicos debido a la actividad humana [5,6]. La presencia de estas sustancias en agua aún requiere soluciones efectivas, pues muchas son tóxicas, resistentes a la degradación microbiana y eliminación en plantas de tratamiento convencionales.

Un grupo de contaminantes orgánicos que son encontrados en las aguas son los hidrocarburos, tanto aromáticos como alifáticos, que provienen de derrames de petróleo y combustibles liberados durante accidentes industriales o de buques petroleros utilizados en el transporte marítimo. Aproximadamente entre el 30% y el 40% del diésel son hidrocarburos policíclicos aromáticos, que son los componentes más tóxicos de los hidrocarburos del petróleo [126]. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs, *polyaromatic hydrocarbons*) componen una gran familia química constituida por sustancias con uno o más anillos bencénicos en su estructura. Los PAHs poseen reconocidos efectos tóxicos, carcinógenos, teratogénicos y mutagénicos [127,128]. A pesar de ser hidrofóbicos, los PAHs son solubles hasta cierto punto y se han encontrado en agua subterránea, agua de lluvia, agua corriente y aguas superficiales [129]. Una vez en el medio acuoso los PAHs tienden a asociarse con la materia orgánica soluble y luego depositarse en sedimentos, lo que constituye los mayores reservorios en ambientes marinos. Luego, bajo ciertas alteraciones en el ambiente, los PAHs pueden ser resuspendidos volviendo a estar biodisponibles para los organismos acuáticos [130]. Varios estudios ambientales han expuesto la presencia de PAHs en sedimentos de diversos recursos hídricos de la Argentina, como en el río Neuquén [8], el estuario de Bahía Blanca [131] y recientemente en el mar Argentino, en una zona marítima protegida al norte de la Patagonia [130]. En consecuencia, son considerados sustancias altamente tóxicas para la vida acuática y terrestre, y de alta prioridad en los estudios medioambientales [132]. La *Environmental Protection Agency* de

los Estados Unidos (USEPA) incluyó 16 PAHs como contaminantes de control prioritarios [133]. Por su estabilidad química y dificultad de degradación por los microorganismos, es complicado eliminar los PAHs con tratamientos biológicos. Además, tampoco son removidos de manera eficiente por métodos fisicoquímicos convencionales como coagulación, floculación, sedimentación, filtración u ozonización [134]. Por otro lado, los hidrocarburos alifáticos de cadena lineal no son tan persistentes, ya que pueden ser degradados por microorganismos. Sin embargo, su concentración creciente en matrices ambientales en zonas urbanas y de actividades hidrocarburíferas de la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén [8] hace necesario considerar su presencia como potenciales contaminantes orgánicos.

Los contaminantes emergentes (*contaminants of emerging concern*, CECs) incluyen productos farmacéuticos y de cuidado personal, antibióticos, medicamentos de veterinaria, productos químicos disruptores endocrinos y pesticidas organoclorados entre muchos otros. Los CECs involucran nuevos contaminantes y sustancias que han sido detectadas con frecuencia en el ambiente, pero cuya presencia y toxicidad están siendo evaluadas en la actualidad [135]. Por esto hay una falta de regulaciones acerca de los límites tolerables de la mayoría de estos compuestos. Al mismo tiempo, son generalmente no biodegradables o poco biodegradables lo que los hace persistentes en el ambiente. Por este motivo, las plantas convencionales de tratamientos industriales y urbanas no son capaces de removerlos de manera eficiente [136,137]. En particular, una gran cantidad de fármacos son vertidos en las aguas por hospitales, industrias y domicilios. Los medicamentos de uso regular como los antibióticos, analgésicos, antipiréticos, psicofármacos y productos químicos usados en quimioterapia son los principales constituyentes de los residuos farmacéuticos. Los antiinflamatorios no esteroideos diclofenac (DCF) e ibuprofeno (IBU), junto con el medicamento antiepiléptico carbamazepina (CBZ) están dentro de esta categoría [138]. Hay estudios que exponen la presencia de estos fármacos en aguas naturales y residuales en la Argentina. Se han detectado IBU, DCF y CBZ en aguas residuales municipales que descargan en agua dulce en diversas zonas urbanas de las provincias de Córdoba y Buenos Aires [139,140]. También se ha puesto de manifiesto la presencia de CBZ y DCF en el río Suquia en Córdoba [141]. Muchos de estos fármacos están diseñados para penetrar las membranas celulares, por lo que pueden llegar a los órganos y bioacumularse, lo que implica que puedan resultar tóxicos para los seres vivos. Investigaciones han mostrado que la exposición continua a este tipo de sustancias a nivel de trazas posee potenciales efectos adversos sobre los humanos [142] y sobre todo en los organismos acuáticos [143]. Diversos estudios muestran una ecotoxicidad aguda de estos fármacos en bacterias, algas y peces, además se debe prestar especial atención a los efectos crónicos. Se han encontrado IBU y DCF en el hígado, músculos y cerebro de peces expuestos a aguas residuales contaminadas [143] y alteraciones citológicas en sus órganos incluso cuando son expuestos a concentraciones del orden de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ [144]. Asimismo, ensayos en bacterias, algas, microcrustáceos y peces han puesto de manifiesto el potencial peligro de la CBZ para estos organismos [145].

Existen una serie de métodos para el tratamiento y eliminación de contaminantes orgánicos en aguas, entre ellos oxidación química (por ejemplo, procesos de Fenton, H_2O_2 y ozonización), precipitación química (con carbonatos u hidróxidos), métodos fotoquímicos (por ejemplo, con TiO_2 como catalizador), oxidación o coagulación electroquímica, tratamientos biológicos (con bacterias, hongos, enzimas) y métodos físicos (como filtración

con membranas, floculación y adsorción) [146]. Entre los procedimientos físicos, la adsorción es el más simple, efectivo y ampliamente usado en la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Presenta una serie de ventajas que la convierten en una de las técnicas más prometedoras en la remediación de aguas:

- ✓ Posee un bajo costo de operación.
- ✓ No implica la producción de subproductos tóxicos.
- ✓ Los adsorbentes pueden diseñarse de modo selectivo.
- ✓ Los adsorbentes pueden reutilizarse una vez regenerados, lo que hace el proceso más económico.
- ✓ El proceso puede aplicarse a grandes cantidades de agua.
- ✓ El posible aplicar el tratamiento en campo.

La adsorción sobre una superficie sólida se define como el enriquecimiento de uno o más componentes de un fluido en la región de la interfase fluido-sólido. Se designa como adsorbible a aquellos componentes que potencialmente pueden ser adsorbidos por el sólido, llamado adsorbente. Una vez que una sustancia queda retenida en la superficie del sólido, se la denomina adsorbato. Cuando un adsorbato se libera de la superficie del sólido y vuelve al seno de la fase fluida, se produce desorción. En ocasiones, cuando no se puede distinguir el adsorbato que está retenido sobre la superficie del sólido (adsorción) del que permanece dentro del sólido (absorción), se emplea el término general sorción. Por simplicidad y puesto que es esperable que la mayoría de los fenómenos para nanomateriales sean superficiales, se usará adsorción en adelante.

El material adsorbente debe poseer buena capacidad de remoción del contaminante y ser estable, es decir, no perder algunos de sus componentes por lixiviación o descomposición. El carbón activado es uno de los materiales de soporte más antiguos estudiados como adsorbentes, por lo que suele usarse como material de referencia. Actualmente, la aplicación de nanomateriales como adsorbentes ha cobrado gran relevancia en investigación. Estos materiales presentan características únicas, como un tamaño de partícula regulable, área superficial excepcionalmente grande, elevada porosidad y pueden ser modificados superficialmente para mejorar su afinidad por una especie particular. Esto les confiere una excelente capacidad de adsorción. Además, pueden regenerarse después de agotarse mediante desorción. Diversos tipos de nanomateriales han sido estudiados para la remoción de contaminantes en medios acuosos, como arcillas, nanotubos de carbono, óxido de grafeno, carbón mesoporoso, sílice mesoporosa, nanopartículas metálicas, nanopartículas de óxidos metálicos, biopolímeros, entre otros [147].

El tratamiento de aguas contaminadas mediante adsorción consta en general de los siguientes pasos clave: (a) adsorción de contaminantes (b) recuperación del adsorbente para su posterior reutilización (c) regeneración (desorción) del adsorbente y (d) gestión tanto de la solución de regeneración como del adsorbente saturado.

Varios factores experimentales influyen en el proceso de adsorción como el pH, temperatura, tiempo de contacto, concentración inicial de contaminante, cantidad de adsorbente, etc. [146]. Estos factores deben ser optimizados para obtener la máxima capacidad de adsorción. El pH es un parámetro muy importante a tener en cuenta con las sustancias que participan de reacciones de protonación y deprotonación, como ciertos colorantes, fármacos y plaguicidas ionizables. Asimismo, el pH también puede modificar la carga superficial del adsorbente y, en definitiva, variar la interacción electrostática entre el

contaminante y el sólido. La temperatura influye de diferente manera si la adsorción es exotérmica o endotérmica. En un proceso endotérmico, el aumento de la temperatura favorece el proceso de adsorción cuando el balance energético entre la ruptura y formación de enlaces con el adsorbente resulta en una demanda de energía. Desde el punto de vista cinético, incrementa la movilidad del contaminante hacia el sólido adsorbente. Por el contrario, en una adsorción exotérmica el aumento de temperatura disminuye la remoción del adsorbato. El tiempo necesario para reducir la concentración de contaminante hasta un valor determinado es un factor preponderante para evaluar la viabilidad práctica de un tratamiento por adsorción. Una vez alcanzado el tiempo de equilibrio, la capacidad de adsorción está determinada por la constante fisicoquímica asociada denominada constante de adsorción. Por otro lado, cuando se incrementa la concentración inicial del contaminante, la capacidad de remoción del adsorbente también lo hace hasta cierto punto donde se vuelve constante. Esto ocurre cuando prácticamente todos los sitios del sólido se encuentran ocupados, de esta manera la concentración inicial del adsorbato permite determinar la capacidad de adsorción máxima del adsorbente. Finalmente, otro factor necesario para disminuir la concentración de contaminante hasta un valor determinado es la cantidad de adsorbente por volumen de agua (conocido como dosaje en mg L^{-1}).

Una vez optimizados los parámetros que influyen en la etapa de adsorción y realizada la propia remoción del contaminante, queda evaluar la posibilidad de regenerar el sólido para reutilizarlo. La regeneración del adsorbente es un factor económico esencial para su aplicación a gran escala. Para poder reusar el material varias veces, la separación del medio acuoso es un paso clave. Las técnicas de filtración y centrifugación son tradicionalmente usadas para el paso de separación, pero no son económicas y son difíciles de aplicar para grandes volúmenes de agua o tamaños de partículas muy pequeñas [148]. La aplicación de nanopartículas magnéticas (MNPs) como adsorbentes surge como una buena alternativa para superar estas dificultades [149]. Estos nanoadsorbentes magnéticos han resultado ser superiores a los adsorbentes tradicionales debido a sus propiedades fisicoquímicas mejoradas (gran área superficial, facilidad de funcionalización, estabilidad química, etc.) y la posibilidad de poder separarlos fácilmente de medios acuosos gracias a sus propiedades magnéticas. La separación magnética es una alternativa ambientalmente amigable y económica, para la separación y recuperación de nanomateriales pues no usa elementos auxiliares como filtros, no consume mucha energía como la centrifugación y minimiza los tiempos de operación al poder ejecutarse *in situ*.

Por sus excelentes propiedades superficiales y la posibilidad de separación magnética, los nanoadsorbentes magnéticos se destacan en aplicaciones ambientales. Como ya se mencionó, las nanopartículas más comunes empleadas en aplicaciones ambientales son las basadas en hierro y sus óxidos, principalmente hierro cero, magnetita y maghemita. Diversos materiales como organosilanos, polímeros, ácidos orgánicos, sílice, sustancias a base de carbono, grafeno, entre otros, han sido utilizados como cubiertas en la preparación de nanoadsorbentes magnéticos. Estas cubiertas tienen la función de proteger a los núcleos magnéticos de su agregación, de la oxidación con el aire o lixiviación en condiciones ácidas, lo que va a en detrimento de sus propiedades texturales y magnéticas; y al mismo tiempo proveen al material de una capacidad de adsorción superior hacia un contaminante objetivo

[150]. Un esquema del uso de nanoadsorbentes magnéticos en un proceso de adsorción se presenta en la Figura 51.

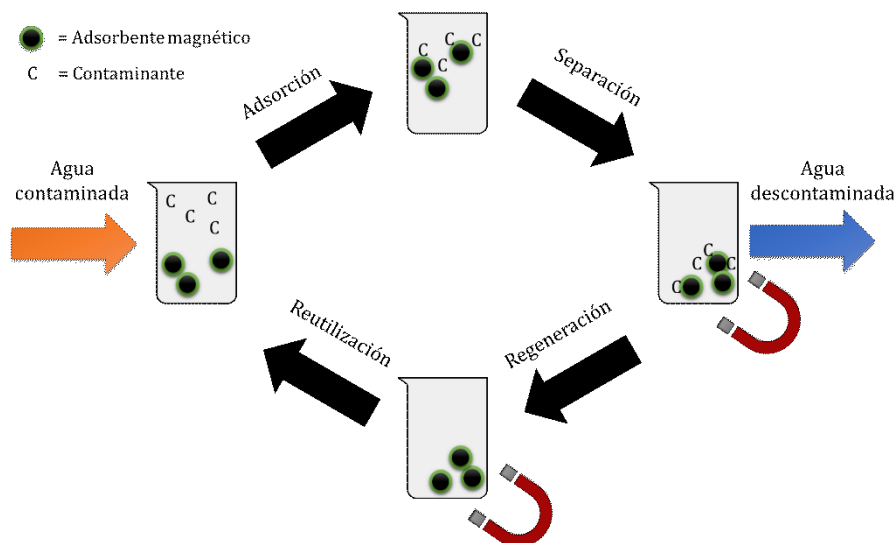


Figura 51 - Esquema del uso de nanoadsorbentes magnéticos en un proceso de adsorción de contaminantes de medios acuosos

Como se indicó con anterioridad, la sílice mesoporosa es uno de los materiales más investigados en aplicaciones ambientales por sus destacadas propiedades y las ventajas que ofrece en comparación con otros adsorbentes [16]. El tamaño de poro regulable (2–50 nm) de la sílice mesoporosa le permite retener en su interior contaminantes de diversas dimensiones, desde pequeñas moléculas orgánicas como el ibuprofeno (0.524 nm largo) [85] hasta microcistinas (1.9 nm largo) [151], a diferencia del carbón activado cuyo tamaño de poro está principalmente dentro del rango de los microporos (< 2 nm). Más importante aún, la distribución uniforme de poros de la sílice ayuda a que las cinéticas de adsorción sean rápidas (del orden de minutos) en contraste con las cinéticas lentas (del orden de varias horas) del carbón activado [136], donde el adsorbato debe difundir a través de un camino tortuoso de poros no uniformes. Asimismo, la síntesis de sílice mesoporosa con propiedades particulares es relativamente simple y económica, a diferencia de los métodos de obtención de óxidos de grafeno y carbón mesoporoso que requieren oxidantes fuertes y ácidos concentrados. Además, su superficie hidroxilada le permite incorporar fácilmente grupos orgánicos o inorgánicos para mejorar su afinidad por determinados contaminantes, al contrario de lo que ocurre con el carbón activado, el óxido de grafeno o el carbón mesoporoso. Finalmente, la sílice mesoporosa puede regenerarse de manera sencilla para ser reutilizada varias veces, en contraste con el carbón activado [152]. Estas características hacen de gran interés la integración de la sílice mesoporosa con nanopartículas magnéticas para obtener materiales con estructura y propiedades particulares.

Nanopartículas de magnetita recubiertas con sílice mesoporosa desnuda han sido aplicadas como adsorbentes de contaminantes orgánicos [77]. La modificación superficial de la sílice mediante organosilanos, permite la incorporación de diversos grupos funcionales que pueden mejorar la capacidad de adsorción y la afinidad hacia un contaminante objetivo [16]. Se han utilizado organosilanos en la síntesis de nanoadsorbentes basados en sílice mesoporosa magnética para la remoción de diversos

contaminantes en medios acuosos, como colorantes [153], antibióticos [76], metales pesados [154], PAHs [155], surfactantes [156], entre otros. Recientemente, el grupo de Bao [157] estudió la modificación superficial de la sílice mesoporosa SBA-15 para la remoción de PAHs de medios acuosos. Entre las diversas modificaciones, la unión con el trimetoxifenil silano (TMPS) genera un adsorbente con especial afinidad por los PAHs, lo que evidenció que las interacciones π - π poseen un rol predominante en la adsorción de PAHs comparadas con interacciones hidrofóbicas. El grupo de Arturo Keller y el desarrollador de las SBA, Galen Stucky, realizaron un estudio con un enfoque innovador utilizando un compuesto particular llamado cloruro de 3-(trimetoxisilil)propil octadecil dimetil amonio (TPODAC), que es a la vez un surfactante y un organosilano [158]. El TPODAC actúa como plantilla para la formación de mesoporos de la sílice que recubre nanopartículas magnéticas, de manera similar a lo que haría el CTAB, pero con la capacidad de permanecer unido de manera covalente a las paredes de sílice. De esta manera, se puede obtener en un solo paso un recubrimiento con una capa híbrida de sílice con micelas de este surfactante confinadas dentro de los poros, lo que le proporciona al material un carácter hidrofóbico y una carga positiva debido al grupo amonio cuaternario. En este tipo de materiales, la superficie externa de la sílice aún posee grupos Si-OH, lo que permitiría anclar grupos funcionales orgánicos adicionales. De esta manera, sería factible optimizar las capacidades adsorbentes de estos nanomateriales magnéticos hacia diversas familias de contaminantes orgánicos

En general los trabajos de nanoadsorbentes magnéticos basados en sílice se han enfocado principalmente en metales pesados más que en contaminantes orgánicos y la mayoría de ellos en el estudio de un único contaminante objetivo [147,148]. Por esta razón, existe el desafío de desarrollar nanoadsorbentes capaces de interactuar con varias familias de contaminantes orgánicos, especialmente aquellos que son refractarios a los tratamientos convencionales y comprender a su vez el proceso de adsorción para así poder proporcionar tratamientos de agua efectivos y sostenibles.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Materiales

Se utilizaron además de los reactivos para preparar las nanopartículas MMS (Sección 2.4.1), las sustancias listadas en la Tabla 11, los contaminantes emergentes de la Tabla 12 y los hidrocarburos policíclicos aromáticos que se detallan en la Tabla 13. Todos los CECs y los PAHs fueron adquiridos de Sigma-Aldrich con una pureza mayor al 98 %. Además, se empearon ácido fórmico (Anedra), metanol (Sintorgan, grado HPLC) y acetonitrilo (Sintorgan, grado HPLC) como fase móvil para la cuantificación por HPLC.

Tabla 11 - Reactivos adicionales para síntesis de nanoadsorbentes y ensayos de adsorción

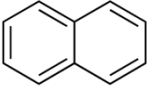
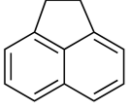
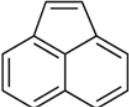
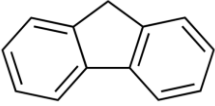
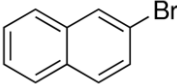
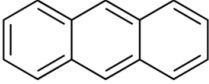

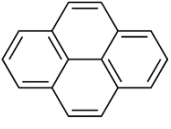
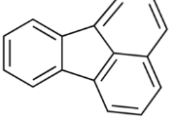
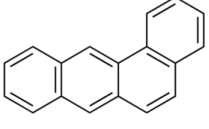
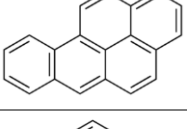
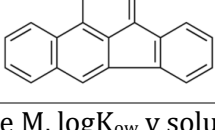
Nombre	Abreviatura	Fórmula	M (mol g ⁻¹)	Marca
Cloruro de 3-(trimetoxisilil)propil octadecil dimetil aonio	TPODAC		496.3	Sigma-Aldrich, 42 % m/V metanol
Trimetoxifenilsilano	TMPS		198.3	Sigma-Aldrich, 98%
Ácido clorhídrico	-	HCl	36.5	Cicarelli
Hidróxido de sodio	-	NaOH	40.0	Anedra
Cloruro de metileno o Diclorometano	MeCl ₂	CH ₂ Cl ₂	84.9	Dolwy
Tolueno	-	C ₆ H ₅ -CH ₃	92.1	Dolwy

Tabla 12 - Estructura y propiedades de contaminantes emergentes (CECs)

Nombre y Abreviatura	Estructura	M (mol g ⁻¹)	logK _{ow} ^a	Solubilidad en H ₂ O (mg L ⁻¹) ^a	pK _a ^a
Carbamazepina (CBZ)		236.27	2.45	17.70	13.9
Ibuprofeno (IBU)		206.29	3.97	21.00	4.91
Diclofenac (DCF)		296.15	4.51	2.37	4.15

^a Valores obtenidos de [152]

Tabla 13 - Estructura y propiedades de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs)

Nombre y Abreviatura	Estructura	M (mol g ⁻¹) ^a	logK _{ow} ^a	Solubilidad en H ₂ O (µg L ⁻¹) ^a
Naftaleno (NAP)		128.2	3.32	31700
Acenafteno (ACE)		154.2	3.94	16100
Acenaftileno (ACL)		152.2	4.07	3930
Fluoreno (FLU)		166.2	4.23	1980
2-Bromonafthaleno (2BN)		207.1	4.35	-
Antraceno (ANT)		178.2	4.50	73
Fenantreno (PHE)		178.2	4.60	1290
Pireno (PYR)		202.2	5.20	135
Fluoranteno (FLT)		202.2	5.20	260
Benzo(a)antraceno (BAA)		228.3	5.66	14
Benzo(a)pireno (BAP)		252.3	6.20	3.8
Benzo(b)fluoranteno (BBF)		252.3	6.40	1.5

^a Todos los valores de M, logK_{ow} y solubilidad fueron extraídos de [159] excepto para 2BN, obtenidos de [160].

4.2.2. Síntesis de Nanopartículas Adsorbentes

Un esquema del procedimiento de síntesis completo empleado para obtener los nanoadsorbentes se presenta en la Figura 52. El nanoadsorbente MMST se preparó siguiendo el mismo procedimiento de síntesis que en caso de MMS, pero utilizando TPODAC en lugar de CTAB como agente director de estructura, mantenido la misma relación molar Surfactante/TEOS. Primero, se obtuvieron nanopartículas de magnetita mediante el método del poli-ol sin estabilizador (Sección 2.4.2) y luego se recubrieron con una capa fina de sílice no porosa (Sección 2.4.3.1). El equipamiento usado fue análogo al mostrado en la Figura 16B. En detalle, 500 mg de las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$ húmedas recién lavadas se dispersaron en un vaso de precipitados de 500 mL con 250 mL de agua destilada. Luego se adicionaron 1.85 mL de solución de TPODAC a la dispersión bajo agitación magnética vigorosa. El sistema se mantuvo en agitación y calentamiento durante 30 min con el fin de promover la formación de micelas del surfactante alrededor de las partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$. Cuando la temperatura alcanzó los 80°C, se agregaron rápidamente 1.75 mL de solución de hidróxido de amonio concentrado y a continuación 2.5 mL de TEOS gota a gota con bureta. Esta reacción sol-gel se mantuvo durante 2 h a temperatura constante. En este tiempo ocurre una condensación cooperativa, catalizada por una base, entre los grupos silanol de TEOS y TPODAC sobre la superficie de las partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$. El nanoadsorbente así preparado se lavó exhaustivamente con agua y se secó a 50°C en estufa. Para estudiar la estructura de la capa híbrida obtenida, parte de MMST (107 mg) se colocó en una cápsula de porcelana, se llevó a una mufla y se sometió a calcinación en aire a 500 °C durante 4 h. Por otro lado, se evaluó el efecto de agregar a las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$, los reactivos TPODAC y NH_4OH en secuencia, seguido de 15 min de agitación y posterior agregado de TEOS (gota a gota). Parte de MMST

El sobrenadante de reacción se separó para la cuantificación de TPODAC sin reaccionar mediante una adaptación del método de Scott [161]. En este método se forma un complejo coloreado entre el colorante Orange II y surfactantes con grupos aminos cuaternarios, que puede cuantificarse mediante espectroscopía UV-Visible. Para eso se preparó una dilución acuosa del sobrenadante (1:50), se tomaron 4 mL y se adicionaron a un tubo con base cónica con 1 mL de solución de Orange II ($4.05 \cdot 10^{-4}$ M). Después de agitación con vortex 20 s, se agregaron 5 mL de cloroformo y se agitó nuevamente 40 s. Se dejó que las fases se separen y se tomó cuidadosamente la fase orgánica (inferior) con una pipeta Pasteur. Se midió la absorbancia de la fase orgánica en espectrofotómetro UV-Vis a $\lambda = 485$ nm ($A_{485\text{ nm}} = 21174[\text{TPODAC}(\text{M})] - 0.179$) y partir de ella se calculó la concentración de TPODAC en el sobrenadante de reacción.

Posteriormente, se realizó una funcionalización superficial adicional con grupos fenilo. Parte de las nanopartículas de MMST preparadas (600 mg) se dispersaron en un balón de vidrio con 70 mL de tolueno. El sistema se mantuvo en agitación magnética durante 30 min para solvatar el sólido. Más tarde se adicionó una pequeña cantidad de agua Milli-Q (140 μL) para promover la hidrólisis de los grupos metoxi del organosilano y obtener grupos silanoles. Después de una hora de agitación, se agregaron 240 μL de TMPS. Luego, se añadieron unas pequeñas esferas de vidrio, se conectó un condensador a la boca del balón de vidrio y el sistema se mantuvo a reflujo (alrededor de 120°C) durante 18 h (Figura 53). El sólido hidrofóbico obtenido se lavó con tolueno 3 veces, con etanol 3 veces y se secó a 50°C en estufa. Este nanoadsorbente así preparado se denominó MMST-Ph. Durante la

reacción se estima que los grupos metoxi de TMPS se hidrolicen con el agua presente en el sistema y se enlacen con los grupos silanoles disponibles en la superficie de las nanopartículas de MMST a través de uniones Si-O-Si. De esta manera, es factible obtener nanopartículas de MMST decoradas con grupos fenilos en la superficie.

Para evaluar el efecto de la modificación superficial se compararon los nanoadsorbentes preparados con nanopartículas magnéticas cubiertas con sílice mesoporosa (MMS) obtenidas como se detalló en la sección 2.4.3.1.

Los nanoadsorbentes se caracterizaron exhaustivamente mediante diversas técnicas: XRD, FTIR, TGA, TEM, adsorción-desorción de N₂, curvas de magnetización y potencial zeta (ver detalle instrumental en la Sección 6.1).

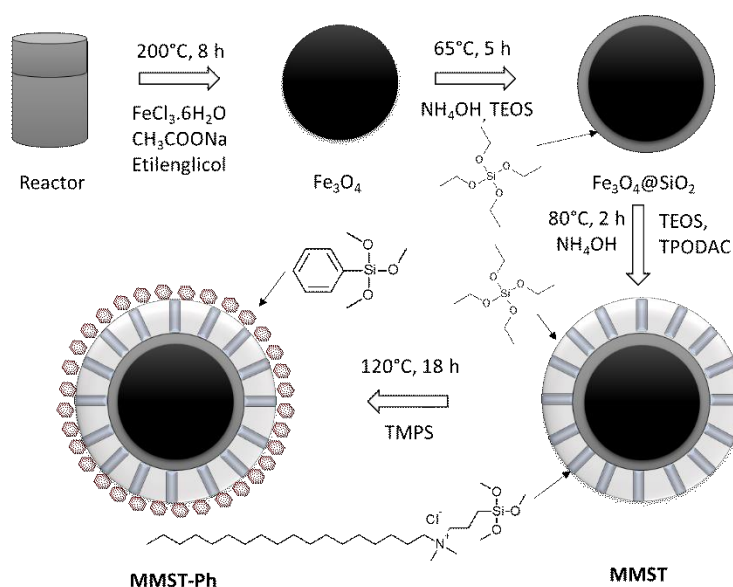


Figura 52 - Esquema del procedimiento de síntesis de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph



Figura 53 - Equipamiento usado en la obtención de los nanoadsorbentes MMST-Ph

4.2.3. Ensayos de Adsorción de Contaminantes Orgánicos

Se estudió la adsorción de tres familias de contaminantes orgánicos CECs, PAHs e hidrocarburos alifáticos, mediante experimentos tipo *batch*. En un ensayo típico, una cantidad conocida de nanoadsorbente se dispersó mediante ultrasonido (5-10 min) en un cierto volumen de solución acuosa de un contaminante objetivo. El pH se ajustó cuando fue necesario con soluciones de diversa concentración de HCl e NaOH midiendo con un pH-metro de membrana (Sartorius). La dispersión se agitó en un agitador orbital (150 rpm) en frascos de vidrio cerrados dentro de una cámara a 20 °C por un tiempo determinado (Figura 54). Más tarde, el sólido se separó del sobrenadante dejando el recipiente entre 5 y 15 min sobre un imán de Neodimio. Se tomó con cuidado una alícuota del sobrenadante para cuantificar la concentración remanente de contaminante. La remoción lograda por el nanoadsorbente, R (%), y la capacidad de adsorción o *uptake* a cierto tiempo, q_t (mg g⁻¹), fueron calculadas mediante las siguientes expresiones:

$$R(\%) = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \quad \text{Ecuación 13}$$

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)}{m} \times V \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde V es el volumen de solución (L), m es la masa de nanoadsorbente (g) y C_0 (mg L⁻¹) y C_t (mg L⁻¹) son las concentraciones de contaminante orgánico a 0 min y t min de tiempo de contacto. Todas las soluciones fueron preparadas usando agua ultrapura Millipore Milli-Q™. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los datos presentados son los valores promedio de esos ensayos independientes.



Figura 54 - Agitador orbital con frascos para ensayos de adsorción

4.2.4. Adsorción de una única Sustancia Modelo

Se realizaron ensayos de adsorción preliminares para CECs y PAHs usando IBU y ANT como sustancias modelo, respectivamente. Los estudios de la **cinética de adsorción** se hicieron siguiendo la metodología descrita anteriormente. En este caso se dispersaron 10 mg de nanoadsorbente en 50 mL de solución acuosa de contaminante, es decir, se usó un dosaje de 200 mg L^{-1} a $\text{pH} = 5.5$. Las concentraciones iniciales fueron $[\text{IBU}]_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$ y $[\text{ANT}]_0 = 70 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Se tomaron muestras a ciertos tiempos (de 15 min a 24 h) para su cuantificación.

Se estudió el efecto del pH en la adsorción de ibuprofeno a cuatro valores de pH diferentes (3.0, 5.5, 7.5 y 9.5), bajo las mismas condiciones de concentración inicial y dosaje (en este caso 2 mg de sólido en 10 mL de solución) que en el ensayo cinético, pero con 24 h de contacto antes de medir la concentración de equilibrio de IBU. Para el antraceno se hicieron ensayos solo a pH 5.5 con 24 h de contacto, debido a que no posee grupos ionizables, y estudios previos han demostrado un efecto insignificante del pH en la adsorción [162].

Las isotermas de adsorción se ensayaron con el mismo procedimiento, a pH 5.5 y con dosaje de 200 mg L^{-1} (2 mg de sólido en 10 mL de solución). La concentración final de contaminante orgánico se determinó luego de 24 h para asegurar el equilibrio del sistema. Para cada ensayo individual se utilizaron soluciones de diferente concentración inicial de IBU ($2 \text{ mg L}^{-1} < [\text{IBU}]_0 < 50 \text{ mg L}^{-1}$) y de ANT ($5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} < [\text{ANT}]_0 < 70 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) de acuerdo a la solubilidad de cada sustancia. Para preparar estas soluciones se hicieron diluciones de una solución madre pesando una cantidad conocida de la droga sólida en balanza analítica (Mettler Toledo). La solución madre de IBU se preparó con una concentración de 60 mg L^{-1} a pH 5.5 disolviendo con ayuda de sonicación y temperatura. Para el ANT se preparó primero una solución madre en metanol (25 mg L^{-1}) y de esta se hizo una dilución para obtener una solución stock en metanol (10 mg L^{-1}). Se tomaron alícuotas de la solución stock para preparar las soluciones acuosas de contacto, cuidando de no sobrepasar el 1 % en volumen de metanol en agua para evitar efectos de cosolventes en el sistema.

El antraceno se cuantificó mediante espectroscopía de fluorescencia (detalles en Sección 6.2.4.2), mientras que la concentración de IBU se determinó por HPLC (detalles en Sección 6.2.2.2).

4.2.5. Adsorción de una Mezcla de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos

Se hicieron experimentos de adsorción con una mezcla de 12 PAHs (NAP, ACE, ACL, FLU, 2BN, ANT, PHE, PYR, FLT, BAA, BAP, BBF). La solución mezcla de PAHs de contacto se preparó disolviendo 1 mL de una solución stock de PAHs (20 mg L^{-1} de cada PAH en metanol) en 1 L de agua ultrapura dentro de un frasco de color caramelo. Esta mezcla se dejó en agitación a 20°C durante 24 h. Más tarde, 200 mL de la solución acuosa de PAHs se pusieron en contacto con 10 mg de nanoadsorbente en un matraz Erlenmeyer con tapa, la mezcla se dejó en agitación orbital 24 h. Luego, se separó magnéticamente gran parte del sólido colocando un imán sobre la base del matraz Erlenmeyer y se hizo pasar el sobrenadante por un papel de filtro. Además, se preparó un matraz Erlenmeyer con 200 mL

de la solución acuosa de PAHs sin nanoadsorbente que siguió el mismo proceso que el resto de los contactos para determinar la concentración inicial real de PAHs.

La concentración de PAHs se determinó mediante cromatografía de gases por detección de masas (GC-MS) (ver detalle instrumental en la Sección 6.2.3.2) con un método de extracción en fase sólida previo. En detalle, se trasvasaron 200 mL de muestra a una ampolla de decantación de 500 mL de capacidad. Se ajustó al fondo de la ampolla un cartucho de extracción en fase sólida RP-18 Strata® conectado a una bomba peristáltica. Previamente, se acondicionaron los cartuchos con agua y cloruro de metileno. Una vez que todo el líquido fluyó a través del cartucho, en aproximadamente 4 h, este se retiró y se secó cuidadosamente con una corriente suave de nitrógeno. A continuación, se llevaron los cartuchos a un Manifold donde se recuperaron los PAHs retenidos en la sílice hidrofóbica haciendo pasar 6 mL de diclorometano gota a gota (Figura 55). Una vez realizada la elución, se llevaron los tubos de base cónica que contenía la fase orgánica a un equipo TurboVap LV (Biotage) para su reducir su volumen a aproximadamente 1 mL. Para esto se dejaron los tubos 15 min a 30°C con una presión de 4 psi de nitrógeno. Con sumo cuidado se trasvasó el líquido concentrado con pipeta Pasteur a un vial con septum, se enrasó a 1 mL con diclorometano fresco y se le llevó al cromatógrafo.



Figura 55 - Manifold para la concentración de hidrocarburos

4.2.6. Adsorción de una Mezcla de Hidrocarburos Alifáticos

Para evaluar la capacidad de adsorción de los materiales preparados frente a una matriz compleja, compuesta principalmente de hidrocarburos alifáticos, se efectuaron experimentos de adsorción con combustible diésel disuelto en agua. Primero, una muestra de 31.28 mg de diésel se disolvió en 15 mL de acetona con agitación en vortex por 20 min. Luego, la solución de diésel en acetona se mezcló con agua ultra pura en una relación 3:200 v/v y se dejó en agitación orbital a 20°C durante 24 h en oscuridad. La fracción de diésel soluble en agua (WSFD, *water-soluble fraction of diesel*) así preparada se utilizó para los ensayos de adsorción. Para esto, 200 mL de WSFD se agregaron a 10 mg de nanoadsorbente dentro de un matraz Erlenmeyer de 250 mL con tapa, y la mezcla se agitó orbitalmente a

20°C durante 24 h en oscuridad. Terminado el tiempo de contacto, se colocó un imán sobre la base del Erlenmeyer y se dejó 30 min para promover la separación magnética. A continuación, se trasvasó el sobrenadante a una ampolla de 250 mL filtrando con filtro de papel. Como en el ensayo de PAHs, se hizo este mismo procedimiento para una muestra de WSFD sin sólido adsorbente para calcular la concentración inicial de hidrocarburos alifáticos.

La concentración de hidrocarburos en los sobrenadantes, expresada como hidrocarburos totales de petróleo (TPH: C6-C35, *total petroleum carbon*) se cuantificó por cromatografía gaseosa utilizando un detector de ionización de llama (GC-FID) (ver detalle instrumental en la Sección 6.2.3.2). Para esto se realizó previamente un método de extracción líquido-líquido. En detalle, los 200 mL de muestra dentro de la ampolla de decantación se extrajeron con 10 mL de diclorometano mediante agitación vigorosa durante 1 min. Se dejó que se separen las fases (10 min) y el diclorometano se extrajo por la parte inferior de la ampolla por ser más denso que la fase acuosa. Se repitió el procedimiento de extracción 3 veces. La fase orgánica (30 mL) se llevó a concentración en Turbo Vap en atmosfera de nitrógeno (35 °C, 3.0 psi) hasta aproximadamente 1 mL. Con mucho cuidado se trasvasó la fase orgánica concentrada a un vial y se enrasó a 1 mL con diclorometano fresco. Luego se hizo una dilución 1:2 (300 µL muestra: 300 µL diclorometano) antes de su cuantificación por GC-FID.

4.2.7. Adsorción de una Mezcla de Contaminantes Emergentes

Una mezcla de CECs incluyendo IBU, DCF y CBZ (10 mg L⁻¹) se puso en contacto con los nanoadsorbentes (200 mg L⁻¹) a pH 5.5 en frascos cerrados bajo agitación a 20°C durante 24 h. Luego de la separación magnética, se tomó el sobrenadante para análisis por HPLC-UV (Sección 6.2.2.2).

4.2.8. Regeneración y Reutilización de Nanoadsorbentes

Para investigar la posibilidad de regenerar y reutilizar los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph, se ensayaron experimentos de adsorción usando IBU ($C_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$, pH 5.5) y ANT ($C_0 = 0.070 \text{ mg L}^{-1}$, pH 5.5), respectivamente. Estos experimentos cuentan con 2 etapas: adsorción y regeneración (o desorción). Primero, se contactaron 10 mg de nanoadsorbente con 50 mL de solución acuosa del contaminante modelo en un matraz Erlenmeyer con tapa. El sistema se mantuvo en agitación orbital durante 24 h. Al terminar el proceso de adsorción, el sólido se separó magnéticamente y se retiró todo el sobrenadante para su cuantificación (UV-Vis para IBU y fluorescencia para ANT). Luego, se procedió a la regeneración del sólido con etanol comercial 96 %. Para esto se agregaron 50 mL de etanol al matraz Erlenmeyer con el complejo adsorbente-adsorbato y se dejó en agitación orbital durante 2 h. Después se retiró el sobrenadante previa separación magnética y el nanoadsorbente regenerado se reutilizó agregando nuevamente solución acuosa del contaminante modelo. Este ciclo de adsorción, regeneración y reutilización se repitió 8 veces.

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Caracterización de Nanopartículas Adsorbentes

Para sintetizar los nanoadsorbentes, se prepararon en primer lugar nanopartículas de magnetita mediante el método del poliol y luego se agregó sobre su superficie una fina cubierta de sílice no porosa. A las nanopartículas así obtenidas, llamadas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$, se las recubrió más tarde con la capa híbrida mesoestructurada de sílice-TPODAC. Para esto primero se adicionó una solución de TPODAC a la dispersión de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ en agua y se dejó en agitación vigorosa durante unos minutos. Durante este tiempo, las moléculas del surfactante TPODAC se organizan en forma de micelas, orientando sus cadenas carbonadas hidrofóbicas hacia el centro y dejando sus cabezas polares (los grupos amonio cuaternarios y grupo trimetoxisilil) expuestas al agua del medio (Figura 56). Estas micelas esféricas luego de agrupan en micelas de forma tubular.

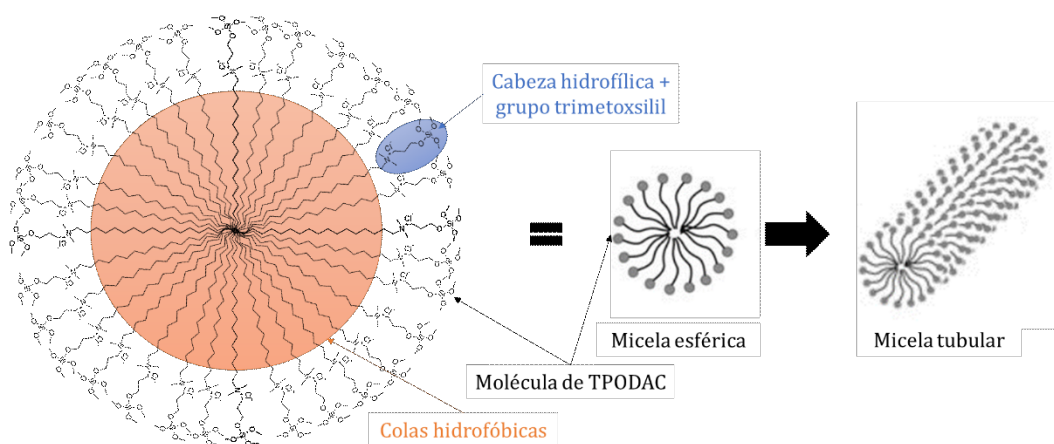


Figura 56 - Formación de micelas del surfactante TPODAC

Las micelas tubulares de TPODAC cargadas positivamente rodean a las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ que poseen una carga superficial negativa debido a los grupos silanoles desprotonados de su superficie (Figura 57). Esta interacción electrostática permite que el agente director de estructura se sitúe preferentemente sobre los núcleos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$. Con el agregado subsiguiente de TEOS y la base para catalizar la reacción, la red tetraédrica de sílice se forma alrededor de las micelas de TPODAC sobre en núcleo de nanopartículas magnéticas. El TPODAC actúa como agente formador de poros, de igual forma que el CTAB en MMS, pero permanece anclado de modo covalente a las paredes de la sílice. De esta manera, se obtiene un nanoadsorbente magnético denominado MMST funcionalizado con largas cadenas carbonadas que le confieren afinidad por contaminantes orgánicos hidrofóbicos.

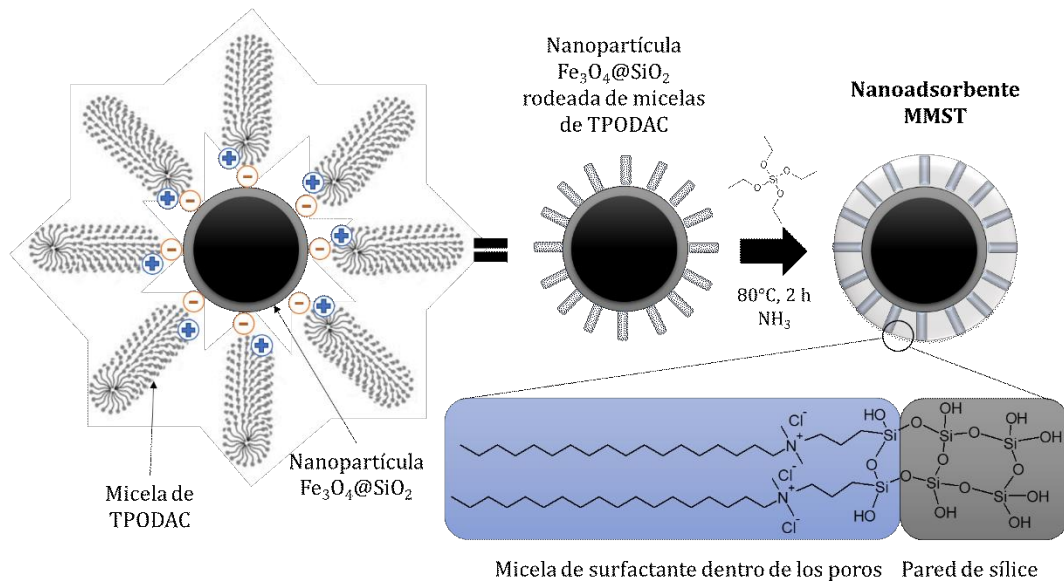


Figura 57 – Recubrimiento de las nanopartículas magnéticas $Fe_3O_4@SiO_2$ con la capa híbrida mesoestructurada de TPODAC y sílice para obtener el nanoadsorbente MMST

Para preparar el nanoadsorbente MMST-Ph con grupos fenilo, se realizó una funcionalización adicional con trimetoxifenilsilano de una fracción del nanoadsorbente preparado MMST. La superficie de MMST cuenta con grupos silanoles superficiales disponibles para la inmovilización del organosilano. La pequeña cantidad de agua agregada al sistema puede promover la hidrólisis de los grupos metoxi del MPS, transformándolo en grupos silanoles más reactivos. Las moléculas de MPS entonces pueden reaccionar con los grupos silanoles de la superficie de MMST y unirse a través de enlaces siloxano (Si-O-Si). Es factible el anclaje mediante uno, dos o tres grupos siloxanos. La Figura 58 muestra un esquema de la posible estructura de la superficie del nanoadsorbente MMST-Ph así obtenido.

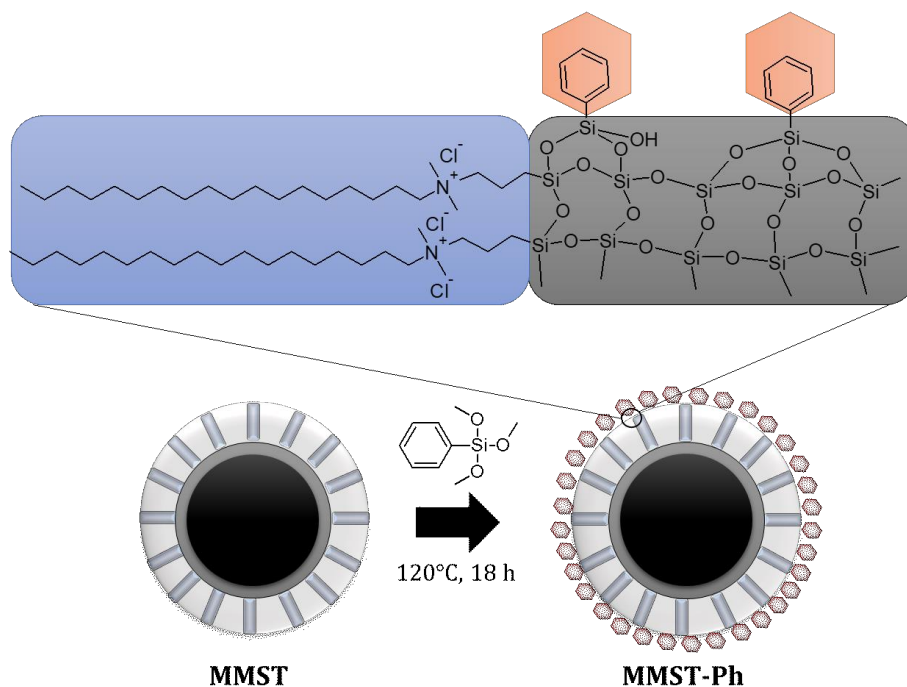


Figura 58 – Esquema de síntesis y estructura del material MMST-Ph

Se realizaron dos procedimientos de síntesis para MMST, que difieren en el orden del agregado de reactivos a la dispersión de nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$. Por un lado, se agregaron NH_4OH , TPODAC y se dejó el sistema en agitación por 15 min; y por el otro, se adicionó TPODAC, se mantuvo el sistema en agitación durante 30 min y luego se agregó NH_4OH . En ambos casos, el paso final fue la adición de TEOS gota a gota. Los materiales obtenidos se llamaron MMST-15 y MMST-30, respectivamente. Se evaluaron las diferencias de cada metodología comparando la cantidad de materia orgánica y la morfología de los materiales obtenidos. La Figura 59 presenta el espectro FTIR de los dos materiales obtenidos mediante estos procedimientos. Las bandas a 2855 cm^{-1} y a 2924 cm^{-1} corresponden a las tensiones simétricas y asimétricas de los grupos metileno ($-\text{CH}_2-$) de las cadenas carbonadas del surfactante. De modo cualitativo, puede apreciarse que MMST-30 posee bandas más intensas, por lo que logró incorporar una mayor cantidad de TPODAC.

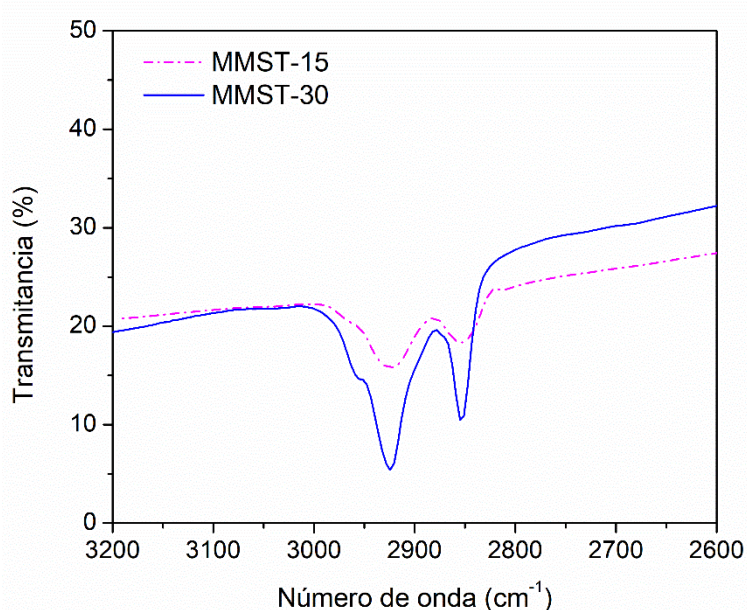


Figura 59 – Espectro FTIR de las bandas correspondientes a los grupos metileno para los materiales obtenidos mediante distintos procedimientos de síntesis: MMST-15 y MMST-30.

El análisis termogravimétrico de los materiales permite cuantificar la cantidad de materia orgánica presente. Las curvas de TGA (Figura 60) presentaron tres regiones de pérdida de masa. Desde temperatura ambiente hasta alrededor de $200\text{ }^\circ\text{C}$ se observó una primera pérdida de masa asociada a la desorción de agua. La segunda región de pérdida de masa pronunciada, entre $200\text{ }^\circ\text{C}$ y $600\text{ }^\circ\text{C}$, está relacionada a la descomposición y calcinación de la materia orgánica, es decir, las cadenas de surfactante. La tercera región, puede deberse a la condensación de grupos silanoles de la superficie externa de la sílice. Esta técnica también evidenció una mayor cantidad de materia orgánica obtenida en MMST-30 (32.4 %) en comparación con MMST-15 (21.5 %). Esta diferencia puede deberse al agregado de NH_4OH prematuro en el procedimiento de obtención de MMST-15 respecto a MMST-30. La base pudo promover la hidrólisis de los grupos metoxi de las moléculas de TPODAC, transformándolos en grupos silanol más reactivos. De esta manera, las moléculas de TPODAC lograron reaccionar con la superficie de las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ e incluso entre ellas, interfiriendo con la formación de micelas y, por lo tanto, con el recubrimiento de las $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ con la capa híbrida de sílice-TPODAC.

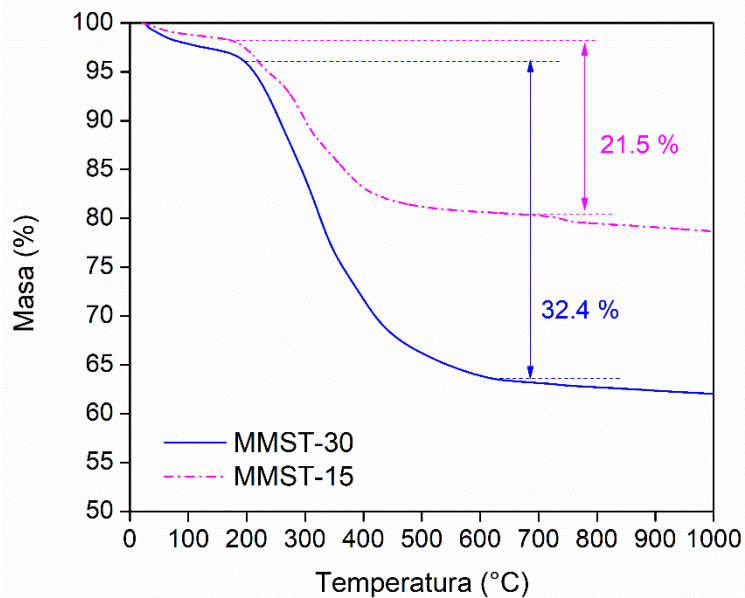


Figura 60 - Curvas de TGA de los materiales obtenidos mediante distintos procedimientos de síntesis: MMST-15 y MMST-30.

Se analizó la morfología de los materiales obtenidos MMST-15 (Figura 61) y MMST-30 (Figura 62) mediante imágenes TEM. Los materiales obtenidos mediante ambos procedimientos están compuestos de nanopartículas de óxido de hierro de forma aproximadamente esférica rodeados de una cubierta de sílice-TPODAC poco uniforme en algunos casos. Se puede observar que el material MMST-15 presentó una capa híbrida más fina que el MMST-30.

Debido a que se obtuvo un material más uniforme y con mayor carga de TPODAC, se seleccionó el procedimiento de obtención de MMST-30, que se denominó por simplicidad MMST, para la preparación de los nanoadsorbentes.

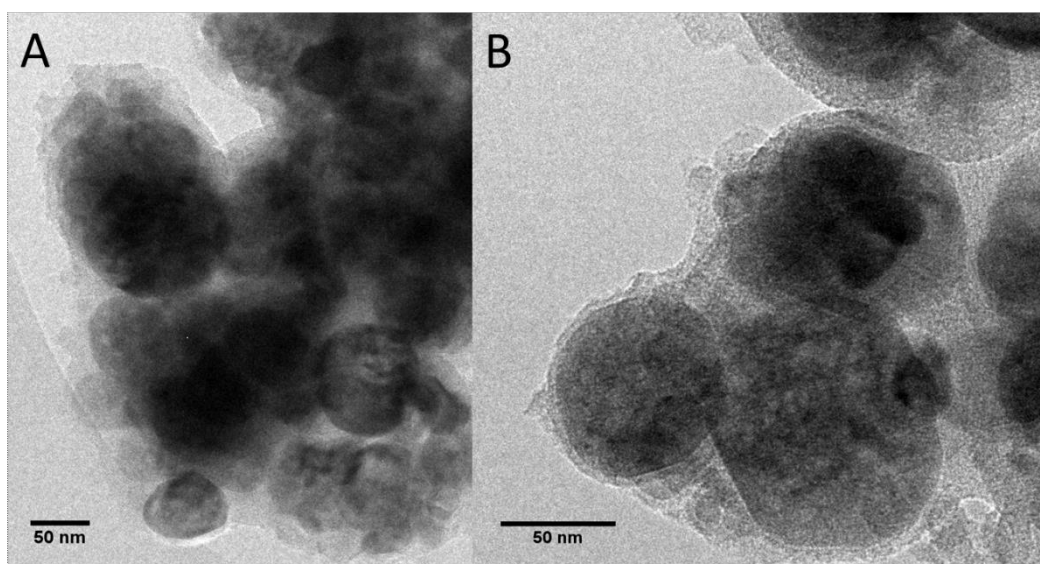


Figura 61 A y B - Imágenes TEM del material MMST-15

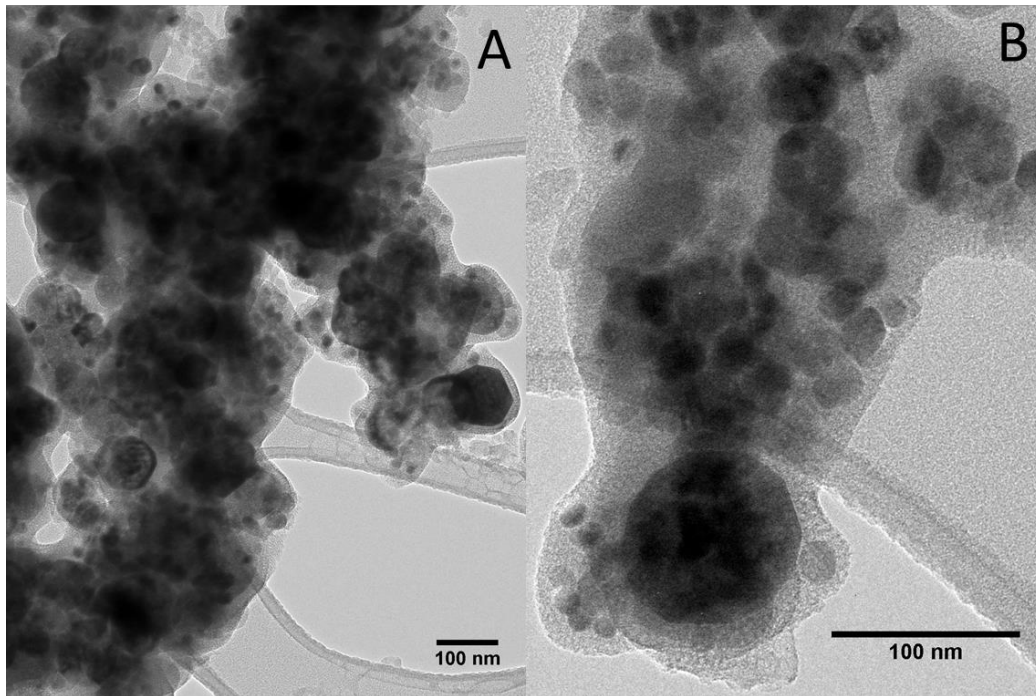


Figura 62 A y B – Imágenes TEM del material MMST-30 (MMST).

Se estudiaron exhaustivamente las características fisicoquímicas de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph. Primero se estudió su morfología mediante imágenes TEM. No se encontraron diferencias significativas entre los materiales, lo que implica que la modificación adicional con TMPS no afectó la estructura primaria de MMST. Las imágenes muestran partículas MMST-Ph prácticamente esféricas con un centro oscuro de óxido de hierro cubiertas de sílice más clara (Figura 63A). El diámetro medio de las IONPs resultó de 76 nm aproximadamente (Figura 23), mientras que la capa híbrida posee un espesor entre 4 y 29 nm dependiendo de la región donde se mida. Una imagen con mayor amplificación de las partículas de MMST-Ph (Figura 63B) revela la presencia de planos cristalinos en las IONPs rodeado de una cubierta más clara, atribuible a la sílice con surfactante confinado. Al estudiar los patrones de las líneas de difracción con el software Image J®, se puede detectar el plano $d_{hkl} = 0.3$ nm correspondiente al plano (2 2 0) de la magnetita.

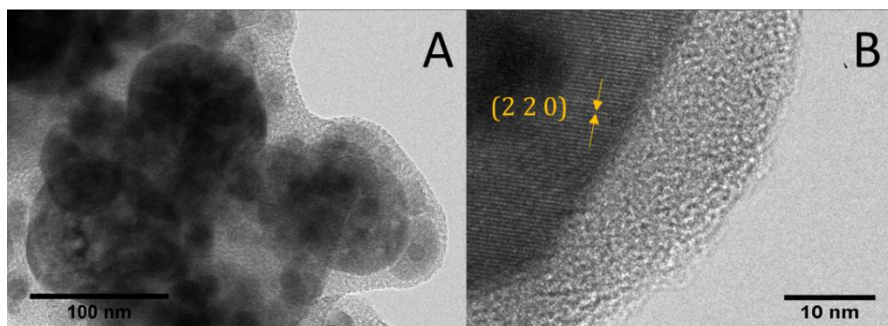


Figura 63 – Micrografías TEM del nanoadsorbente MMST-Ph en baja (A y B) y alta resolución (C)

La Figura 64 reporta los patrones de XRD de MMST y MMST-Ph. Puede apreciarse que ambos difractogramas son prácticamente idénticos, lo que indica que la estructura cristalina no se ve alterada con la incorporación de los grupos fenilo. Se realizó el análisis cualitativo de las fases cristalinas presentes en los nanoadsorbentes comparando sus difractogramas con patrones de la base de datos PDF2 de la ICDD. El buen acuerdo entre los picos de difracción principales de las muestras y el patrón de referencia correspondiente (Número de tarjeta 01-075-1610) sugiere que la magnetita es la principal fase de hierro en las nanopartículas. De esta manera, las posiciones de los picos a $2\theta = 18.3^\circ, 30.1^\circ, 35.5^\circ, 37.1^\circ, 43.1^\circ, 53.5^\circ, 57.1^\circ, 62.6^\circ, 71.1^\circ, 74.0^\circ, 75.1^\circ, 79.1^\circ$ y 86.9° pueden asociarse respectivamente con los planos (1 1 0), (2 2 0), (3 1 1), (3 2 2), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1), (4 4 0), (6 2 0), (5 3 3), (6 2 2), (4 4 4) y (6 4 2) de la fase cristalina cúbica. El halo de difracción ancho centrado cerca de $2\theta = 22^\circ$ en ambos patrones de difracción puede atribuirse al material amorfo por la cubierta de sílice [25,79].

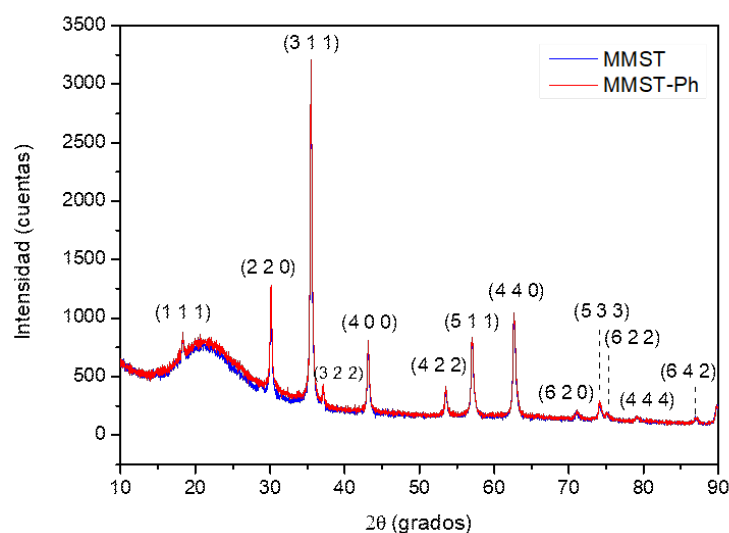


Figura 64 - Patrones de difracción de rayos X de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

La modificación superficial de las nanopartículas magnéticas con los dos organosilanos propuestos fue confirmada mediante espectroscopía FTIR (Figura 65). Las bandas a 2855 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ tensiones simétricas y asimétricas del enlace C-H) y 1465 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ deformación del enlace C-H) confirman la presencia de la cadena carbonada del TPODAC en ambos materiales. Los modos vibracionales intensos de la red tetraédrica de sílice en bandas anchas ($837\text{-}1370\text{ cm}^{-1}$) [76,154] y las vibraciones de tensión del enlace Fe-O (578 cm^{-1}) [77,78] pueden atribuirse a las nanopartículas de óxido de hierro recubiertos de sílice, respaldando lo observado en las imágenes HR-TEM. La banda a 1640 cm^{-1} puede ser atribuida a la presencia de agua ($\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ deformación H-O-H) en la estructura del material, y la banda ancha centrada alrededor de 3450 cm^{-1} está relacionada a la tensión del grupo hidroxilo ($\nu_{\text{O-H}}$) del agua y al modo de vibración axial de los grupos Si-OH [76]. Por otro lado, las bandas pequeñas a 3051 cm^{-1} y 3075 cm^{-1} y a 700 cm^{-1} [163], presentes en el espectro de MMST-Ph pero ausentes en MMST, están relacionadas con la tensión C(aromático)-H en un grupo fenilo y la deformación del mismo enlace en grupos aromáticos monosustituídos, lo que demuestra el anclaje exitoso del trimetoxifenilsilano sobre la superficie de las nanopartículas de MMST.

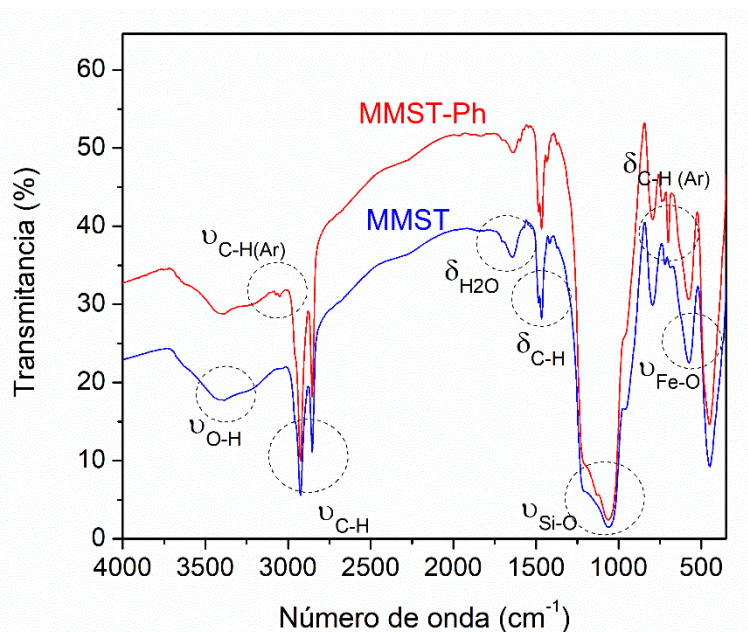


Figura 65 - Espectros de FTIR de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

Las curvas de TGA (Figura 66) de los nanoadsorbentes son similares y presentan tres regiones de pérdida de masa. Desde temperatura ambiente hasta alrededor de 200 °C se observó una primera pérdida de masa asociada a la desorción de agua, 4 % para MMST y 2.5 % para MMST-P. Una segunda pérdida de masa pronunciada, entre 200 °C y 600 °C, está relacionada a la descomposición y calcinación de la materia orgánica, es decir, las cadenas de surfactante y los restos de grupos fenilo. En esta región, el termograma presenta cambios de pendiente que están vinculados a los máximos en la curva de la derivada de la masa en función de la temperatura (Figura 67) a aproximadamente 252 °C, 322 °C y 400 °C. Estos cambios pueden asociarse a la descomposición de los grupos amino cuaternarios, la ruptura y carbonización de las cadenas alquílicas y la combustión total del carbono, respectivamente [158]. La tercera región, desde 600 °C a 1000 °C, que se manifiesta como una pérdida suave de alrededor del 1 %, puede asociarse a la condensación de grupos Si-OH de la superficie externa remanentes. También es factible una transformación de fase a hematita de una pequeña fracción de la magnetita, soportada además por el máximo a 580 °C en la curva de la derivada de la masa (Figura 67).

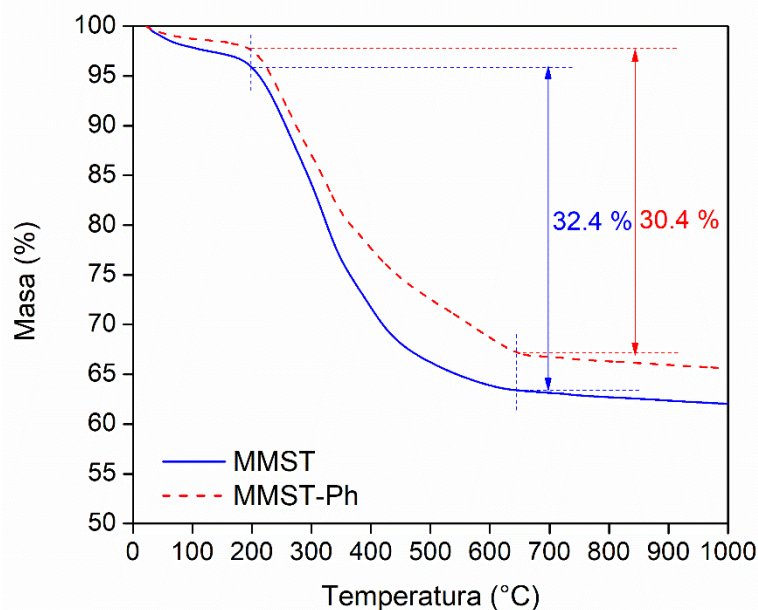


Figura 66 - Curvas de TGA de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

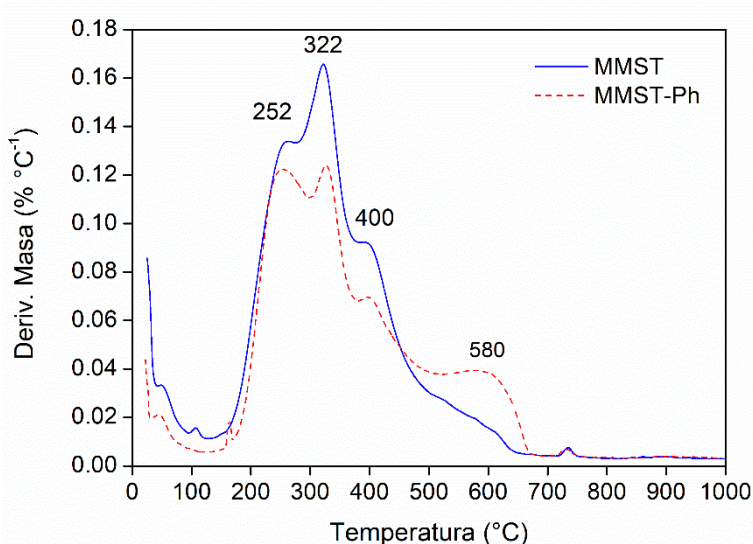


Figura 67 - Derivada de la masa en función de la temperatura para el análisis TGA de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

La carga orgánica que se elimina como dióxido de carbono no se corresponde con los moles de los organosilanos TPODAC y TMPS incorporados a las partículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$. Esto se debe a que estas moléculas poseen grupos no calcinables, particularmente los grupos Si-O-R que pueden permanecer anclados al sólido mediante enlaces Si-O-Si, o bien condensarse entre ellos [164]. La cuantificación del TPODAC remanente en el sobrenadante mediante el método de Scott, reveló una cantidad despreciable de surfactante. Esto implica que prácticamente la totalidad del TPODAC adicionado inicialmente se unió al nanoadsorbente magnético.

Como está indicado en la Figura 66, la carga orgánica de ambos materiales es similar, pero ligeramente inferior en MMST (32.4 %) comparado con MMST-Ph (30.4 %) contrario a lo que podría esperarse. Esto sugiere que una pequeña cantidad de TPODAC es liberado durante el paso de incorporación del TMPS. Las moléculas de TPODAC pueden permanecer unidas en la estructura de MMST mediante tres tipos de interacciones: covalentes,

electrostáticas e hidrofóbicas. El primer modo de interacción es a través de enlaces covalentes Si-O-Si, ya sea directamente sobre la superficie de las partículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ con sus propios grupos silanoles, o bien como parte de la capa híbrida TPODAC-sílice, donde el TPODAC forma una mesoestructura con la red silánica y se enlaza por los grupos silanoles de esta capa híbrida (del mismo surfactante o del TEOS) (Figura 58). Como el agregado de la base se realiza junto con el TEOS, es menos probable que las moléculas de TPODAC puedan anclarse solas al no poseer muchos grupos metoxi hidrolizados, por lo que es más factible su anclaje a la superficie de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ como parte de la capa híbrida. El segundo modo de acoplarse a las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ es mediante interacción electrostática entre las cargas negativas de la sílice (Si-O⁻) y las cargas positivas en el grupo amonio cuaternario del surfactante. La cantidad de surfactante unido por este tipo de interacción debería ser muy baja debido a los sucesivos lavados del material. Por último, moléculas de TPODAC libres pueden unirse mediante interacciones hidrofóbicas con cadenas carbonadas enlazadas a las partículas.

Las fuertes condiciones básicas de la reacción promueven la desprotonación de los grupos Si-OH de las nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ y de la capa híbrida TPODAC-sílice, con lo que cataliza la formación de enlaces covalentes Si-O-Si mediante sustitución nucleofílica. En consecuencia, es de esperarse que gran parte del organosilano permanezca unido al sólido principalmente por enlaces covalentes en lugar de interacciones electrostáticas e hidrofóbicas. La pequeña fracción unida por estos últimos dos mecanismos es más susceptible a ser removida cuando el material se expone a condiciones químicas agresivas, como las que ocurre en el paso de síntesis con TMPS. Para corroborar esta hipótesis, parte de las nanopartículas de MMST preparadas se expusieron a las mismas condiciones que en el paso de incorporación de TMPS, pero sin agregar este organosilano, es decir, reflujo en tolueno a 120°C durante 16 h. Luego se compararon estos materiales mediante TGA y FTIR. El análisis TGA (Figura 68A) confirma una cantidad de materia orgánica ligeramente menor (2.4 %) después del tratamiento en reflujo. Además, la disminución en la intensidad de las bandas de tensión $\nu_{\text{C-H}}$ (2855 cm^{-1} y 2928 cm^{-1}) en el espectro FTIR de MMST (Figura 68B) luego del reflujo es consistente con la hipótesis. Con estos resultados, solo una pequeña fracción de moléculas de TPODAC (cerca del 3.5% de la masa orgánica total removida por combustión) podría unirse mediante interacciones hidrofóbicas entre cadenas alquílicas de surfactante, mientras que la mayoría de las moléculas de TPODAC permanecen ancladas fuertemente a la sílice de modo covalente.

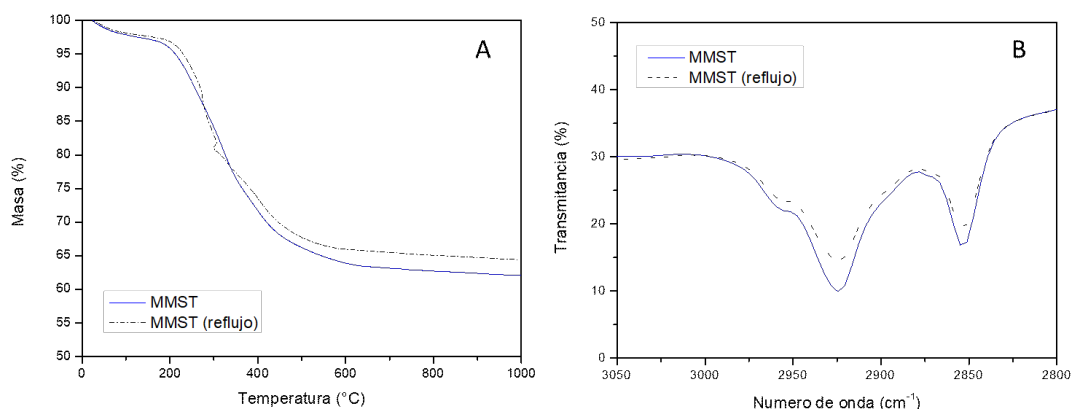


Figura 68 - A) Análisis TGA y B) espectros FTIR del nanoadsorbente MMST antes y después de reflujo en tolueno durante 16 h

Las curvas de magnetización (Figura 69) de los nanoadsorbentes se obtuvieron a 300 K para determinar sus propiedades magnéticas (Tabla 14). Los valores menores de magnetización de saturación (M_s) en los nanoadsorbentes comparados con magnetita desnuda (80 emu g^{-1}) es un fenómeno observado con frecuencia en nanopartículas magnéticas recubiertas y suele atribuirse a la sílice diamagnética y a la presencia de materia orgánica [79]. Algunos estudios sugieren que la presencia de estos recubrimientos desfavorece la uniformidad por cancelación parcial de momentos magnéticos (*quenching*), provocando una reducción de los momentos magnéticos, lo que se traduce en una disminución de la magnetización de saturación [30]. A pesar de esto, los nanoadsorbentes lograron una rápida (10 min) y efectiva separación magnética de los medios acuosos una vez utilizados. Además, los valores de M_s de MMST (18.6 emu g^{-1}) y MMST-Ph (16 emu g^{-1}) son superiores a los reportados para otros materiales modificados con TPODAC (7.09 emu g^{-1}) [17]. Debido a su mayor porcentaje de materia orgánica, es de esperar que MMST muestre menores valores de M_s que MMST-Ph. Por último, las muestras presentan muy bajas coercitividad y remanencia, es decir, no se observa histéresis en la curva de magnetización, lo que sugiere características superparamagnéticas.

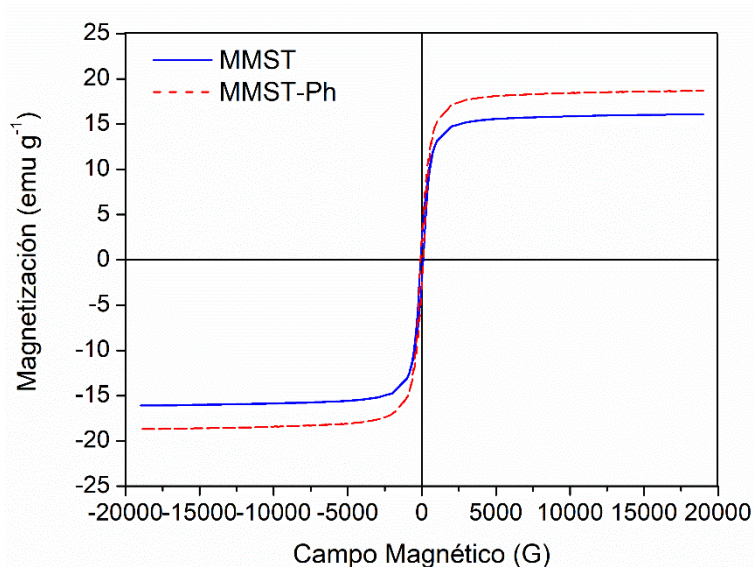


Figura 69 - Curvas de magnetización de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

Tabla 14 - Propiedades magnéticas de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

Muestra	M_s (emu g^{-1})	M_r (emu g^{-1})	H_c (G)
MMST	16.0	2.27	80
MMST-Ph	18.6	2.80	90
IONPs	80.0	5.73	40

Las isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno de MMST y MMST-Ph poseen una forma similar (Figura 70) y pueden clasificarse entre tipo II y tipo IVa, mientras que las curvas de histéresis poseen formas entre H1 y H3 de acuerdo a la clasificación de la IUPAC [48]. Las isotermas tipo IV y la histéresis H1 son características materiales mesoporosos. Por otro lado, el aumento progresivo de la cantidad de N₂ adsorbida a presiones moderadas, típico de una isoterma tipo II, y la ausencia de un *plateau* de saturación final, puede explicarse por una superposición de cobertura monocapa y el inicio de adsorción multicapa debido a la presencia de macroporos. La histéresis ancha tipo H3 también es característica de macroporos que no se han llenado por completo. Por otro lado, las isotermas muestran una pequeña cantidad de N₂ adsorbida a bajas presiones, lo que evidencia que los nanoadsorbentes no poseen microporosidad. Estas observaciones son consistentes con mesoporos mayormente bloqueados micelas de TPODAC confinadas en los nanoadsorbentes y con macroporos formados por los espacios entre partículas aglomeradas, como se observa en imágenes TEM. Por otro lado, no se aprecian grandes diferencias en el área superficial específica y en el volumen total de poros luego del anclaje de TMPS (Tabla 15). El leve incremento en el área superficial específica de MMST-Ph (90 m² g⁻¹) respecto a MMST (80 m² g⁻¹) puede deberse a que la remoción de las moléculas de surfactante no unidas de modo covalente a los poros permite un mayor ingreso moléculas de N₂. Por el contrario, el volumen total de poros disminuyó levemente de 0.44 cm³ g⁻¹ a 0.38 cm³ g⁻¹ después de la reacción del injerto con TMPS. Estos resultados pueden atribuirse grupos fenilo anclados en la entrada de los poros que dificultan el acceso de las moléculas de N₂ a los poros. Sin embargo, ambos materiales aún presentan propiedades texturales superiores a otros adsorbentes basados en TPODAC reportados ($S_{\text{BET}} = 1.63 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, volumen de poros = 0.05 cm³ g⁻¹) [17].

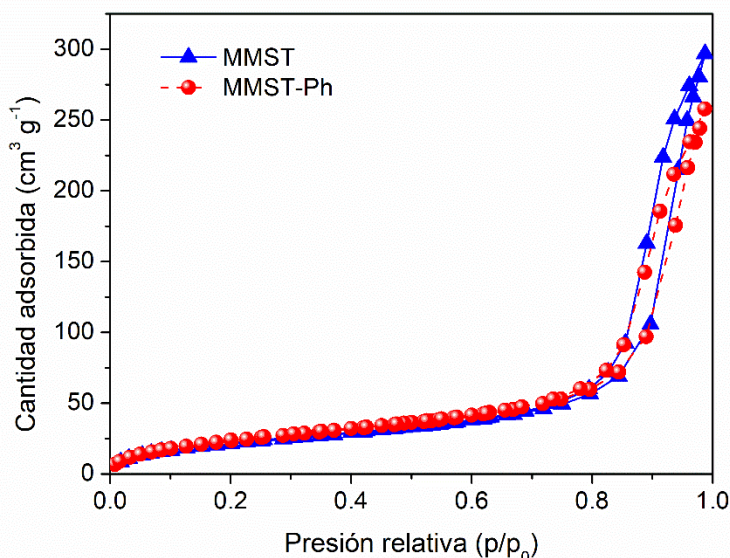


Figura 70 - Isotermas de adsorción-desorción de N₂ a 77 K de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

Tabla 15 - Propiedades texturales de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph

Muestra	S_{BET} (m² g⁻¹)	V_t poros (cm³ g⁻¹)
MMST	80	0.44
MMST-Ph	90	0.38
MMST 500 °C	700	1.04

Los estudios previos del grupo de Keller y Stucky sobre el uso de TPODAC como agente director de estructura en la polimerización de sílice, han reportado la obtención un material mesoestructurado [165,166]. Esto significa que se consiguió una cubierta híbrida de micelas de TPODAC confinadas covalentemente en una red de sílice, y que estas micelas poseen un tamaño del orden de los mesoporos. Dado que el procedimiento de síntesis plateado en esta tesis difiere del reportado por el grupo de Keller, se sometió a calcinación una fracción de MMST, con el objetivo de estudiar la estructura de la capa híbrida de los materiales obtenidos. La Figura 71 muestra las isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno de MMST luego de la calcinación (MMST 500 °C). La isoterma puede clasificarse como tipo IVa con una curva de histéresis tipo H1 [48], típica de materiales mesoporosos, similar a lo observado para MMS (Figura 40), donde se empleó CTAB como agente director de estructura. Además, el área superficial específica y el volumen total de poros se incrementaron notablemente luego del proceso de calcinación, de 80 m² g⁻¹ a 700 m² g⁻¹ y de 0.44 cm³ g⁻¹ a 1.04 cm³ g⁻¹ (Tabla 15). Por otro lado, la distribución del tamaño de poros MMST 500 °C muestra una distribución moderadamente estrecha centrada en alrededor 3.8 nm. Estos resultados, confirman la obtención de una mesoestructura híbrida con mesoporos formados por la red de sílice alrededor de micelas de TPODAC confinadas. Por otro lado, el uso de TPODAC como formador de mesoporos, resultó en un nanomaterial con propiedades texturales superiores a las obtenidas al utilizar CTAB. De esta manera, MMST 500 °C en comparación con MMS, obtuvo valores superiores de área específica (700 m² g⁻¹ vs 521 m² g⁻¹), volumen de poro (1.04 cm³ g⁻¹ vs 0.33 cm³ g⁻¹) y tamaño de poro (3.8 nm vs 2.9 nm). Esto puede deberse a que el TPODAC forma micelas de mayor tamaño, al poseer una cadena carbonada con dos átomos de carbonos adicionales más una cadena de 3 átomos de carbono entre el amonio cuaternario y el grupo trimetoxisilil. Sin embargo, MMS mostró una cubierta de sílice porosa más uniforme.

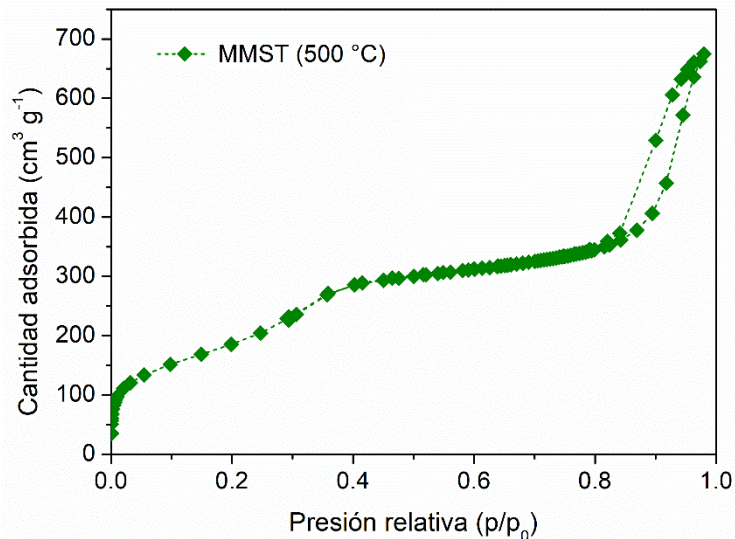


Figura 71 - Isoterma de adsorción-desorción de N_2 a 77 K de MMST luego de un proceso de calcinación

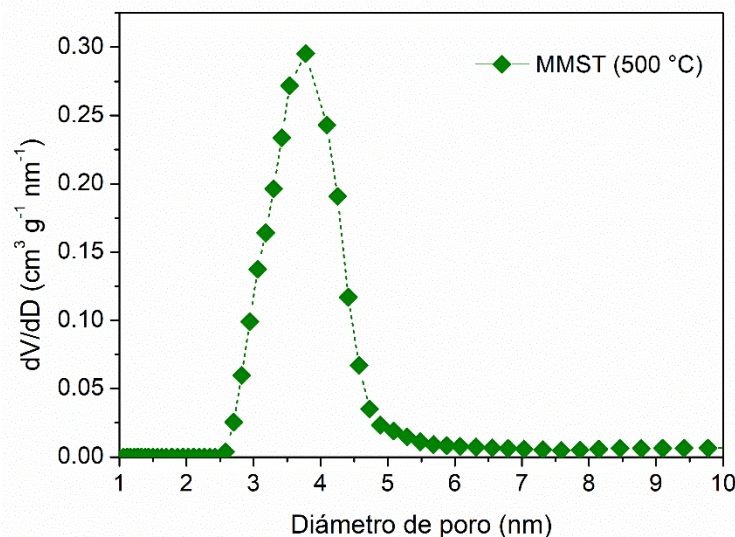


Figura 72 - Distribución de tamaño de poros de MMST luego de un proceso de calcinación

La Figura 73 muestra los valores de potencial zeta en función del pH de los materiales preparados (MMS, MMST, MMST-Ph) y las curvas de tendencia de los puntos experimentales. MMS presenta valores negativos de potencial zeta en todo el rango de pH estudiado, característico de sílice mesoporosa con grupos silanol superficiales desprotonados. El potencial zeta de MMST puede explicarse considerando que, en adición a los grupos silanol ionizables posee moléculas de TPODAC con una carga positiva permanente. Así, a valores bajos de pH las cargas positivas son más significativas pues una parte importante de los grupos silanol se encuentran protonados, lo que resulta en un potencial zeta neto positivo. A medida que el pH se incrementa, las cargas negativas se vuelven más predominantes ya que hay más grupos silanol desprotonados y por encima del punto isoeléctrico (pH_{IEP} , *isoelectric point*) de MMST, alrededor de pH 7, el potencial zeta neto resulta negativo. Por otro lado, la curva de potencial Z de MMST-Ph posee una tendencia similar a la de MMST, pero con valores de potencial Z en general más positivos y el pH_{IEP} trasladado a pH 8.5. Este comportamiento puede atribuirse a un menor número de

grupos silanol disponibles (y por ende cargas negativas) en MMST-Ph como resultado del anclaje de TMPS sobre la superficie de la sílice.

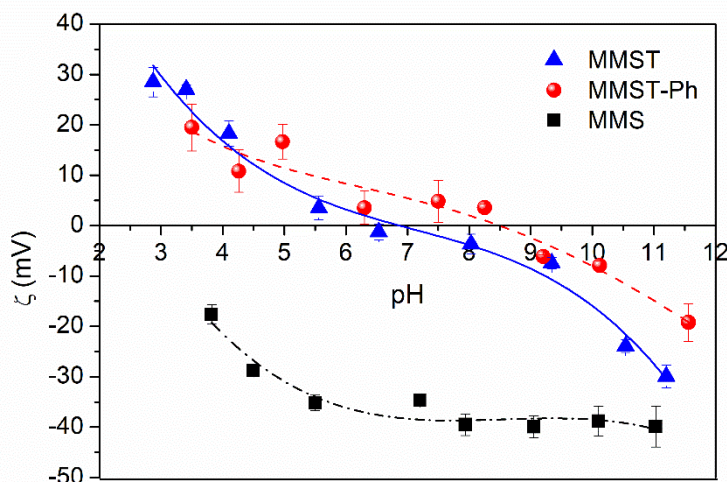


Figura 73 - Potencial zeta en función del pH para MMS, MMST y MMST-Ph

4.3.2. Adsorción de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos

A fin de evaluar la potencial aplicación de MMST y MMST-Ph en la remoción de PAHs en medios acuosos, se realizaron estudios preliminares usando antraceno como sustancia modelo. Primero, se ejecutaron experimentos para estudiar el comportamiento cinético del sistema. La cinética puede proporcionar información importante acerca del desempeño del adsorbente y el mecanismo de adsorción. Asimismo, se pueden determinar el tiempo de residencia y el tamaño del contactor necesarios para el diseño de un sistema *batch* o continuo. Como se aprecia en la Figura 74, el equilibrio de adsorción para MMST-Ph se alcanza rápidamente en 30 min y el 75% de la capacidad de adsorción máxima se logra a los 15 min. En caso de MMST se necesitaron 75 min para alcanzar la máxima capacidad de retención de ANT, lo que pone de manifiesto un proceso más lento. En el proceso de adsorción, las moléculas de ANT deben difundir a través de la solución, llegar al sólido y luego difundir a través de él para alcanzar los sitios de adsorción. De estas etapas, la difusión por el sólido suele ser la más lenta y por lo tanto la limitante de la cinética. Teniendo en cuenta la estructura de los adsorbentes analizada en su caracterización fisicoquímica, los grupos fenilo expuestos en la superficie externa de MMST-Ph, podrían ser alcanzados rápidamente por las moléculas de ANT que permanecerán retenidas por interacciones tipo π - π . Por el contrario, en las partículas de MMST las moléculas de ANT deberán difundir a través de los poros que contienen las cadenas carbonadas del surfactante para adsorberse mediante interacciones hidrofóbicas.

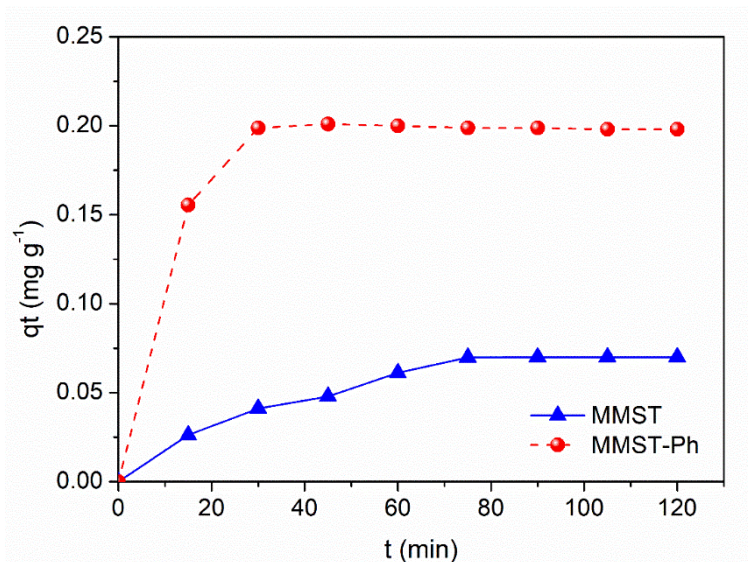


Figura 74 - Cinética de adsorción de ANT sobre MMST y MMST-Ph. $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C_0 = 70\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, dosaje = 200 mg L^{-1} , pH 5.5.

Existen muchos modelos matemáticos para ajustar el comportamiento cinético [167]. Sin embargo, estos datos experimentales no son adecuados para aplicar ninguno de ellos. En particular para MMST-Ph, hay solo un punto antes de alcanzar el equilibrio y en la práctica fue muy difícil obtener mediciones con menos de 10 min entre ellas, considerando una separación magnética de 5 min. Por este motivo, no se aplicaron modelos en estos ensayos cinéticos y solo se obtuvo el tiempo de equilibrio.

Para asegurar el equilibrio y por practicidad operacional, las isotermas de adsorción de los nanoadsorbentes frente a ANT (Figura 75A) se realizaron con 24 h de tiempo de contacto. Se realizó el ajuste de los datos experimentales a los modelos de isotermas de Freundlich y Langmuir. El modelo de Freundlich [168] es empírico, fue uno de los primeros modelos de isotermas planteados y asume la heterogeneidad de la superficie del adsorbente. Su expresión matemática es la siguiente:

$$q_e = K_F \cdot C_e^{1/n} \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde C_e es la concentración del adsorbato en equilibrio, q_e es la capacidad de adsorción en equilibrio, K_F ($\text{mg}^{1-n} \text{ L}^n \text{ g}^{-1}$) es la constante de adsorción de Freundlich relacionada con la capacidad de adsorción y n es el exponente, asociado con la afinidad entre el adsorbato y el adsorbente [169]. Los parámetros pueden obtenerse al graficar una recta de $\ln q_e$ en función de $\ln C_e$ (Figura 75B) de la forma linealizada de la Ecuación 15.

$$\ln q_e = \ln K_F - \frac{1}{n} C_e \quad \text{Ecuación 16}$$

El modelo de la isoterma de Langmuir [170] fue diseñado inicialmente para describir la adsorción de gases sobre sólidos, pero luego fue extendido para cuantificar y comparar capacidades de adsorción de varios adsorbentes en solución. Este modelo asume que el sólido posee una capacidad de adsorción limitada, que todos los sitios de adsorción son idénticos, que cada sitio puede retener una única molécula de adsorbato y que los sitios son energética y estéricamente independientes de la cantidad adsorbida [171]. La expresión matemática de la isoterma de Langmuir es la siguiente:

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e}$$

Ecuación 17

O bien, en su forma linealizada:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{K_L q_m C_e} + \frac{1}{q_m}$$

Ecuación 18

Donde K_L ($L \text{ mg}^{-1}$) es la constante de Langmuir y q_m (mg g^{-1}) es la capacidad de adsorción máxima, que pueden obtenerse al graficar $1/q_e$ en función de $1/C_e$, o bien del ajuste no lineal de la Ecuación 17. La isoterma de adsorción en sí no provee información respecto al mecanismo de la adsorción, pero sí lo hace acerca de la capacidad máxima de adsorción del sólido y también muestra el comportamiento habitual del proceso de equilibrio [172].

En estos ensayos, el modelo de Freundlich resultó más adecuado para el ajuste de los datos experimentales. Los valores de los parámetros obtenidos usando el programa Origin Pro 8.5 se presentan en la Tabla 16, donde R^2 es el coeficiente de determinación indicativo de la bondad del ajuste. El comportamiento lineal observado es probablemente debido a que la concentración de ANT no fue lo suficientemente alta para saturar la capacidad de adsorción de los sólidos, por la baja solubilidad de este adsorbato en agua [162]. Los valores de $1/n$ calculados del modelo de Freundlich fueron similares y menores a 1 para todos los adsorbentes, lo que indica una adsorción de ANT favorable [173]. A pesar de eso, la modificación superficial aumentó significativamente la capacidad de adsorción de los materiales modificados comparados con sílice magnética mesoporosa, lo que se reflejó en un incremento importante de los valores de K_F desde 6.8 (MMS) a 17.1 (MMST) y 64.7 (MMST-Ph). Esta mejora puede ser atribuida a la presencia de nuevas interacciones que favorecen la adsorción de ANT. En MMST, la presencia de las cadenas de surfactante permite interacciones hidrofóbicas entre las cadenas carbonadas y el ANT [61]. Adicionalmente, la incorporación del trimetoxifenilsilano en MMST-Ph, no solo aumenta la hidrofobicidad (y por lo tanto las interacciones hidrofóbicas) sino que también agrega la posibilidad de interacciones π - π entre el ANT y los grupos fenilo, lo que conduce a una capacidad de adsorción superior [157].

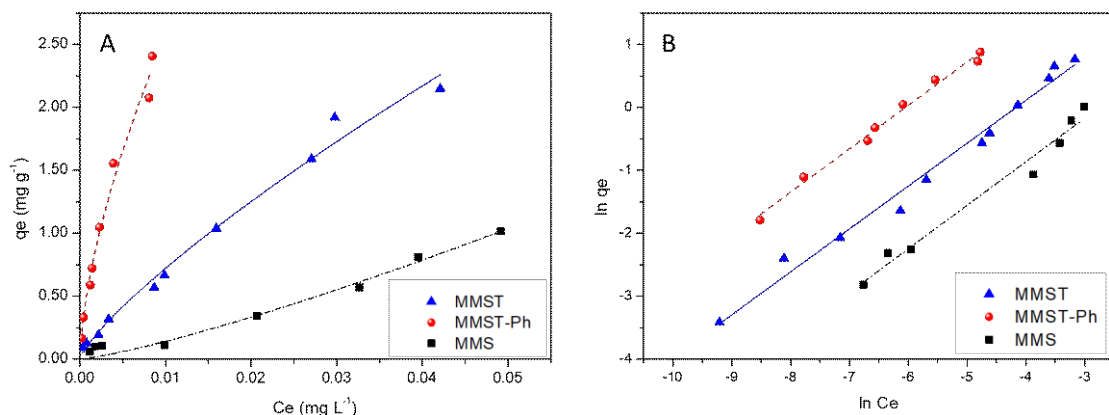


Figura 75 - Isotermas de adsorción de antraceno sobre los nanoadsorbentes preparados y su modelo de Freundlich (A) y grafico de la forma linealizada del modelo de Freundlich

Tabla 16 - Parámetros del modelo de Freundlich de las isothermas de adsorción de antraceno mediante los nanoadsorbentes preparados

Parámetro	MMST-Ph	MMST	MMS
K_F	64.7	17.1	6.8
$1/n$	0.69	0.68	0.69
R^2	0.99	0.98	0.97

La Tabla 17 compara los valores de K_F de diversos adsorbentes ensayados con antraceno. Como puede apreciarse, la capacidad de adsorción de MMST y MMST-Ph es bastante destacada en comparación.

Tabla 17 - Comparación de los valores de K_F de diversos adsorbentes frente a antraceno

Adsorbente	K_F	Referencia
Carbón activado	11.17	[174]
Nanocompuestos de óxido de magnesio-carbono	2.39	[169]
SBA-15 cubierta con grupos fenilo	7.34	[157]
Nanopartículas magnéticas con quitosano pirolizado	9.53	[175]
MMST	17.1	Este trabajo
MMST-Ph	64.7	Este trabajo

Realizados los experimentos con antraceno, se procedió a evaluar la capacidad de remoción de los nanoadsorbentes frente a una mezcla acuosa de 12 hidrocarburos policíclicos aromáticos. La Figura 76 representa la remoción de cada PAH en la mezcla acuosa por MMST y MMST-Ph, ordenados por $\log K_{ow}$ creciente. Se observó una clara tendencia de la capacidad de remoción de los materiales con la hidrofobicidad de los PAHs ($\log K_{ow}$). Esto puede deberse a que el incremento de la hidrofobicidad de los adsorbatos conduce a interacciones hidrofóbicas más fuertes con los nanoadsorbentes. También puede verse que MMST-Ph muestra una mayor capacidad de remoción que MMST bajo las mismas condiciones. El ambiente más hidrofóbico de MMST-Ph, junto con los grupos fenilos que permiten interacciones con los electrones π de los anillos aromáticos de los PAHs, pueden ser responsables de la mayor adsorción observada. Además, se aprecia una mayor retención de PAHs en MMST-Ph a medida aumenta el número de anillos aromáticos, desde dos anillos en ANT hasta 5 en BAP, lo que puede explicarse por interacciones π - π intensificadas por una cantidad creciente de electrones π que interaccionan con los grupos fenilos de la superficie del sólido.

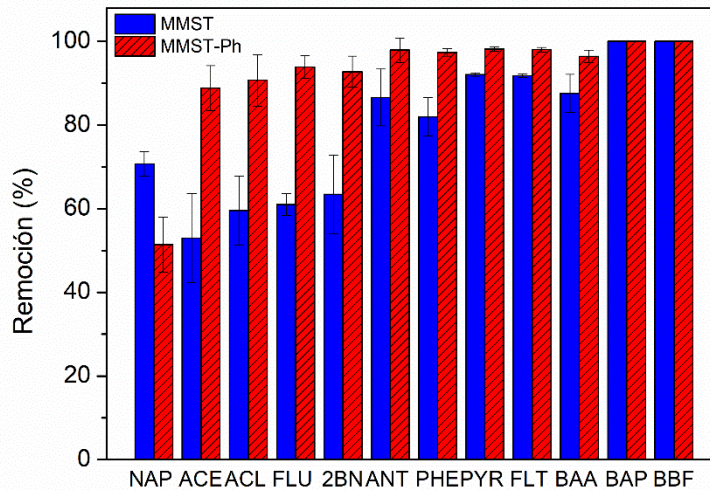


Figura 76 - Remoción de PAHs de una mezcla acuosa por los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph. $[PAH]_0 = 20 \mu\text{g L}^{-1}$, dosaje = 50 mg L^{-1} , $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, tiempo de contacto = 24 h.

4.3.3. Adsorción de Hidrocarburos Alifáticos

Se estudió la capacidad de adsorción de los materiales preparados frente a la fracción soluble de diesel en agua. Del análisis por GC-FID resultó que la WSFD estaba compuesta principalmente de hidrocarburos alifáticos ($TPH = 2010 \text{ mg L}^{-1}$). Ambos materiales exhibieron una significativa remoción de hidrocarburos: alrededor del 45.3 % para MMST y 80.5 % en el caso de MMST-Ph (Figura 77). Esta remoción se calculó comparando los valores de TPH medidos en los sobrenadantes con los valores de TPH iniciales de cada experimento. A partir de estos resultados, se puede inferir que el carácter más hidrofóbico de MMST-Ph comparado con MMST favorece la retención de hidrocarburos alifáticos, como se observó también en PAHs. Un estudio previo [176], donde se utilizaron nanopartículas magnéticas recubiertas con carbono tipo grafeno para remover la WSFD de una muestra de petróleo en agua (TPH inicial de 0.94 mg L^{-1}), reportó una remoción del 65 % de la fracción de hidrocarburos más pesada (C26-C36) usando el mismo dosaje de adsorbente (50 mg L^{-1}) que en los experimentos de esta tesis. En comparación, la capacidad de remoción alcanzada por MMST-Ph fue considerablemente superior, teniendo en cuenta que en este trabajo se utilizó una muestra con una fracción de hidrocarburos mayor (C6-C35) y se partió de una concentración inicial mucho más elevada ($TPH = 2010 \text{ mg L}^{-1}$).

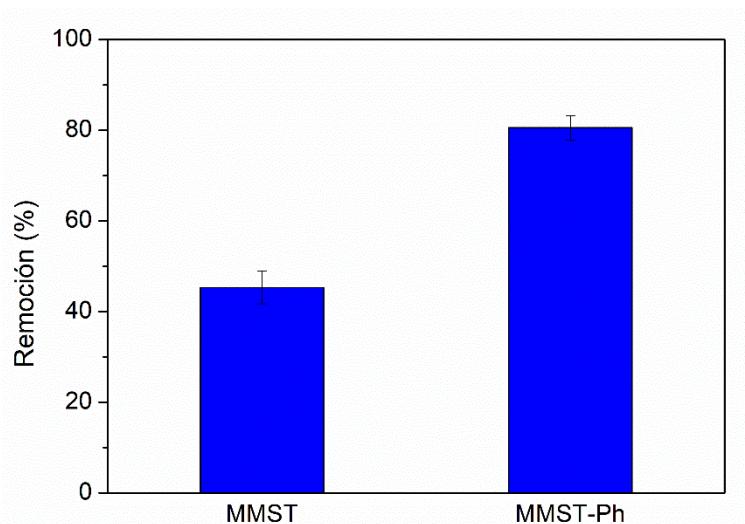


Figura 77 – Remoción de la fracción soluble de diésel en agua por MMST y MMST-Ph. $TPH_0 = 2010 \text{ mg L}^{-1}$, dosaje = 50 mg L^{-1} , $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, tiempo de contacto = 24 h.

4.3.4. Adsorción de Contaminantes Emergentes

En primer lugar, se realizaron experimentos preliminares con nanopartículas magnéticas recubiertas de sílice mesoporosa sin funcionalizar y soluciones de diferentes contaminantes emergentes incluyendo CBZ, IBU y DCF. Para esto, se pusieron en contacto soluciones de concentración inicial 10 mg L^{-1} de los diferentes CEC a pH 5.5 con MMS (200 mg L^{-1}) durante 24 h mediante agitación orbital. La remoción resultó menor al 3 % (los datos no se muestran) entonces, se descartó MMS para estudios de adsorción posteriores. Como es de esperar que el ibuprofeno pueda retenerse en los nanoadsorbentes preparados mediante fuerzas electrostáticas, además de fuerzas hidrofóbicas e interacciones π - π , se seleccionó como sustancia modelo para estudiar las características de la adsorción de los CECs.

Se llevaron a cabo experimentos cinéticos usando IBU a pH 5.5 sobre MMST y MMST-Ph. Como resultado, el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio fue 75 min para MMST y 200 min para MMST-Ph (Figura 78). En este caso, se pudo obtener un mayor número de datos antes del equilibrio, por lo que se buscó ajustarlos a un modelo cinético. Estos modelos pueden clasificarse en general en modelos de adsorción de reacción y modelos de adsorción de difusión [177]. Los modelos de difusión consideran tres pasos consecutivos: 1) difusión a través de la capa o film líquido que rodea las partículas de adsorbente (difusión externa o en el film); 2) difusión en el líquido contenido en los poros y/o a lo largo de las paredes de los poros (difusión intraparticular) y 3) adsorción-desorción entre el adsorbato y los sitios activos. Por otro lado, los modelos de adsorción de reacción se originan en la cinética de la reacción química y se basan en el proceso de adsorción como un todo, sin considerar pasos intermedios.

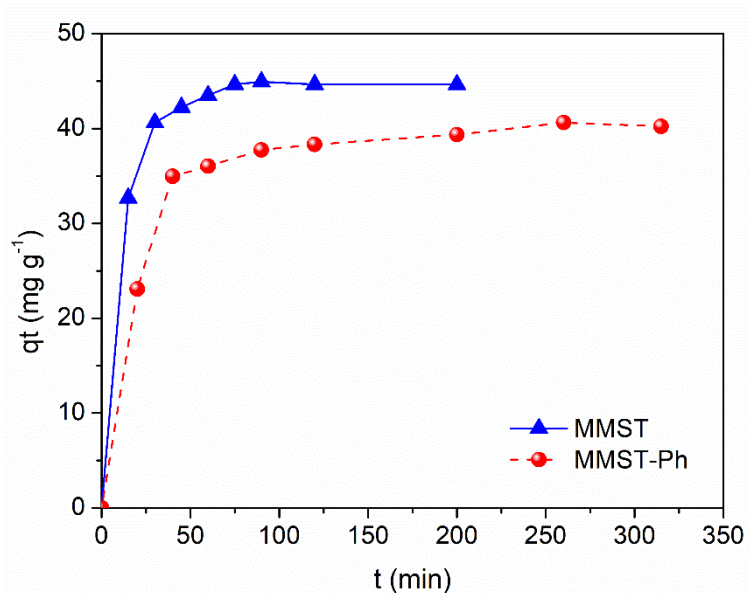


Figura 78 – Cinética de adsorción de ibuprofeno sobre MMST y MMST-Ph. $C_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$, pH 5.5 dosaje = 200 mg L^{-1} , $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$.

El modelo de pseudo primer orden propuesto por Lagergren en 1898 [178] es el primer modelo conocido para describir la velocidad de adsorción y ha sido ampliamente utilizado:

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad \text{Ecuación 19}$$

Donde q_e y q_t representan la capacidad de adsorción (mg de adsorbato por gramo de adsorbente) en el equilibrio y a tiempo t (min), respectivamente y k_1 (min^{-1}) es la constante de velocidad de pseudo primer orden de reacción. Integrando la ecuación anterior con los extremos de integración $q = 0$ en $t' = 0$ y $q = q_t$ en $t' = t$, se obtiene:

$$\ln(q_e - q) = \ln q_e - k_1 t \quad \text{Ecuación 20}$$

A partir de la Ecuación 20, si al graficar el $\ln(q_e - q)$ en función del tiempo los datos se aproximan a una recta, se obtienen de la pendiente y la ordenada al origen los parámetros de la constante de velocidad y el uptake de equilibrio.

En 1995, Ho [179] describió un proceso cinético de pseudo segundo orden para la adsorción de iones metálicos divalentes sobre turba (carbón obtenido de descomposición vegetal) Las principales suposiciones son que la adsorción es de segundo orden y el paso limitante es la reacción química de adsorción. El modelo tiene la siguiente expresión:

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad \text{Ecuación 21}$$

Separando variables e integrando la ecuación con respecto a las condiciones límite $q = 0$ a $t' = 0$ y $q = q_t$ a $t' = t$, se obtiene:

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{Ecuación 22}$$

Donde k_2 es la constante de velocidad de pseudo segundo orden ($\text{g mg}^{-1}\text{min}^{-1}$); q y q_e son las cantidades adsorbidas a un tiempo t y en el equilibrio, respectivamente. Los parámetros cinéticos son determinados experimentalmente de la pendiente y de la

ordenada en el origen de la gráfica t/q versus t . El modelo de pseudo segundo orden ha sido extendido y aplicado con éxito en la adsorción de iones metálicos, colorantes, herbicidas, petróleo y sustancias orgánicas de soluciones acuosas [177]. La velocidad para las reacciones que siguen este modelo es directamente proporcional al número de sitios de adsorción en la superficie del sólido [172]. Para distinguir ecuaciones cinéticas basadas en concentraciones de soluciones (C) de aquellos modelos basados en capacidad de adsorción (q) sobre sólidos, estas ecuaciones de velocidad suelen llamarse de pseudo primer y pseudo segundo orden.

Los datos experimentales se ajustaron con los modelos de adsorción pseudo primer orden y pseudo segundo orden (Figura 79 A y B). Los parámetros obtenidos y los coeficientes de determinación se listan en la Tabla 18. Los valores obtenidos para ambos nanoadsorbentes sugieren que el modelo de pseudo segundo orden es el más apropiado para la adsorción de IBU, puesto que sus coeficientes de determinación son mayores ($R^2 > 0.998$) y las capacidades de adsorción de equilibrio calculadas se aproximaron bastante a los valores experimentales. La constante de velocidad (k_2) para la adsorción de ibuprofeno sobre MMST resultó más de 10 veces mayor en MMST-Ph, revelando un proceso más rápido. A partir de un análisis bibliográfico realizado para la adsorción de IBU y otros fármacos con adsorbentes basados en sílice mesoporosa, se encontró que en la mayoría de los casos presentaban cinéticas de pseudo-segundo orden [152].

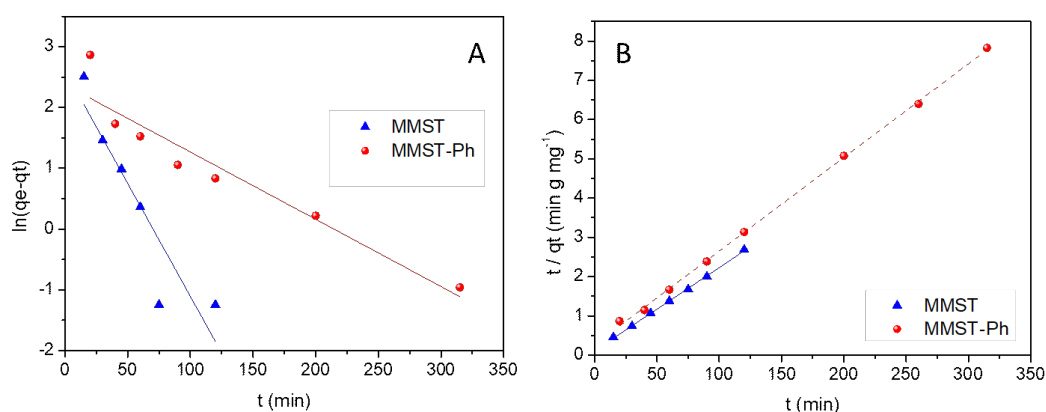


Figura 79 – Ajuste de los datos de cinética de adsorción de ibuprofeno sobre MMST y MMST-Ph al modelo de pseudo primer orden (A) y pseudo segundo orden (B)

Tabla 18 - Parámetros de los modelos cinéticos para la adsorción de ibuprofeno sobre MMST y MMST-Ph

Modelo cinético	MMST	MMST-Ph
Pseudo primer orden		
k_1 (min ⁻¹)	0.037	0.011
q_e (mg g ⁻¹)	13.6	10.7
R ²	0.84	0.91
Pseudo segundo orden		
k_2 (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	0.04	0.003
q_e (mg g ⁻¹)	47.2	41.4
R ²	0.99	0.99
Weber-Morris		
k_{p1} (mg g ⁻¹ min ^{-1/2})	7.6	5.5
C	0.73	-0.3
R ²	0.98	0.99
k_{p2} (mg g ⁻¹ min ^{-1/2})	0.79	0.47
C	37.0	32.6
R ²	0.79	0.92

Por otro lado, los modelos difusionales pueden aportar información complementaria sobre el mecanismo de adsorción. Para el caso de adsorción física, el proceso de interacción entre el soluto y el sitio activo es muy rápido y puede no ser muy significativo para el estudio cinético. En estas condiciones, la cinética del proceso de adsorción está controlada por fenómenos difusionales, ya sea la difusión en el film líquido o la difusión intraparticular. Por lo tanto, los modelos de adsorción por difusión suelen estar enfocados en describir alguno de estos fenómenos. Comúnmente, la difusión a través del sólido suele ser la etapa más lenta y, por lo tanto, limitante de la velocidad. En el modelo de Weber-Morris [177] la capacidad de adsorción del adsorbato varía proporcionalmente con la raíz cuadrada del tiempo:

$$q_t = k_p t^{1/2} + C \quad \text{Ecuación 23}$$

Donde k_p es la constante de velocidad de difusión intraparticular (mg g⁻¹ min^{-1/2}) y C es la ordenada al origen, que pueden determinarse al graficar de q_t versus $t^{1/2}$. Para la adsorción de ibuprofeno sobre MMST y MMST-Ph (Figura 80, Tabla 18), el grafico presenta dos regiones lineales, lo que indica diferentes etapas en proceso de adsorción. En ambos casos, la primera etapa presenta una pendiente mayor (k_{p1}) que puede deberse a la transferencia de masa desde la solución hacia la superficie externa de los adsorbentes; mientras la segunda región linear sugiere un proceso más lento ($k_{p2} < k_{p1}$) que puede atribuirse a la difusión intraparticular del ibuprofeno dentro de los poros del sólido. Según este modelo, cuando la recta de q_t versus $t^{1/2}$ pasa por el origen la velocidad del proceso de adsorción puede considerarse limitada por el proceso de difusión intraparticular [177]. Si

bien dentro del error pueden considerarse que, las pendientes de la primera etapa pasan por el origen (C está cerca de cero), el proceso global resultó multilinear, lo que sugiere que tanto la difusión en el film como la difusión intraparticular influyen en la cinética del proceso de adsorción [180]. Si bien se observa una componente de la difusión en el film líquido y una de difusión intraparticular, esta última se manifiesta como preponderante de la adsorción controlada por difusión. Sin embargo, serían necesarios más datos experimentales previo a la zona de meseta para poder evaluar mejor la cinética.

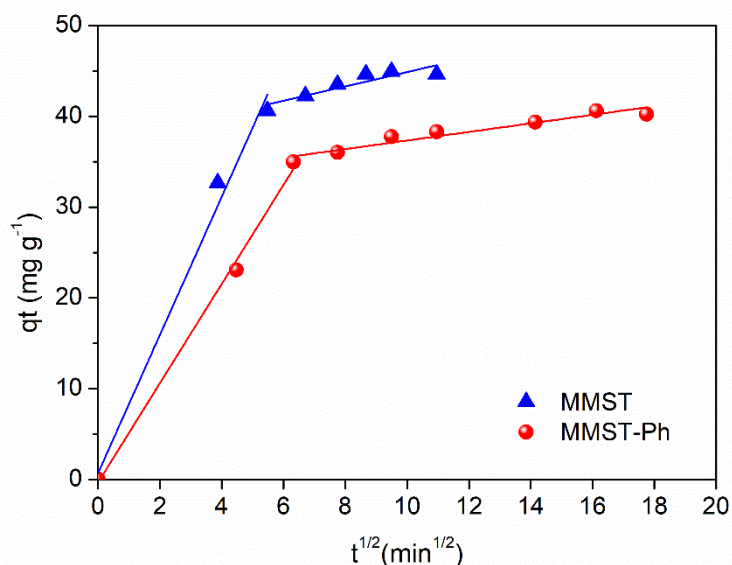


Figura 80 – Aplicación del modelo de difusión intraparticular de Weber-Morris para la cinética de adsorción de IBU sobre MMST y MMST-Ph

Los siguientes estudios de adsorción se realizaron en condiciones de equilibrio y nuevamente los contactos se realizaron a 24 h por practicidad. La Figura 81 presenta el efecto del pH en la adsorción del IBU con valores de pH entre 3.0 y 9.5. La capacidad de adsorción decrece gradualmente con el incremento del pH para ambos materiales. Como puede observarse, la mayor capacidad de retención se alcanzó a pH 3.0 en ambos casos. En estas condiciones, las moléculas de IBU se encuentran mayoritariamente en su forma neutra protonada (Figura 81 equilibrio ácido-base de IBU), lo que beneficia las interacciones hidrofóbicas y puente hidrógeno con el nanoadsorbente. A pH 5.5 la capacidad de adsorción permanece casi sin variación, a pesar de que el ibuprofeno está principalmente en su estructura aniónica hidrofílica que disminuiría la intensidad de las interacciones hidrofóbicas. Es posible que las fuerzas electrostáticas entre las moléculas negativas de IBU y las partículas MMST con carga positiva compensen la disminución de las interacciones hidrofóbicas. A valores de pH por encima del pH_{IEP} de las nanopartículas (Figura 73, alrededor de pH 6.5) la repulsión electrostática entre las cargas negativas de la superficie de MMST y las moléculas de IBU desprotonadas puede ser responsable de la disminución en la capacidad de adsorción. Se observa la misma tendencia en MMST-Ph, pero con una mayor caída de q_e (82 %) comparado con MMST (30%). De esta manera para MMST, aunque las interacciones electrostáticas pueden jugar un rol en el mecanismo de adsorción, las interacciones hidrofóbicas son responsables de la capacidad de retención elevada. Es posible que en MMST-Ph, la presencia de los grupos fenilo en la entrada de los poros

dificulte el acceso de las moléculas de IBU desprotonado, donde se encuentran las cadenas de surfactante con carga positiva.

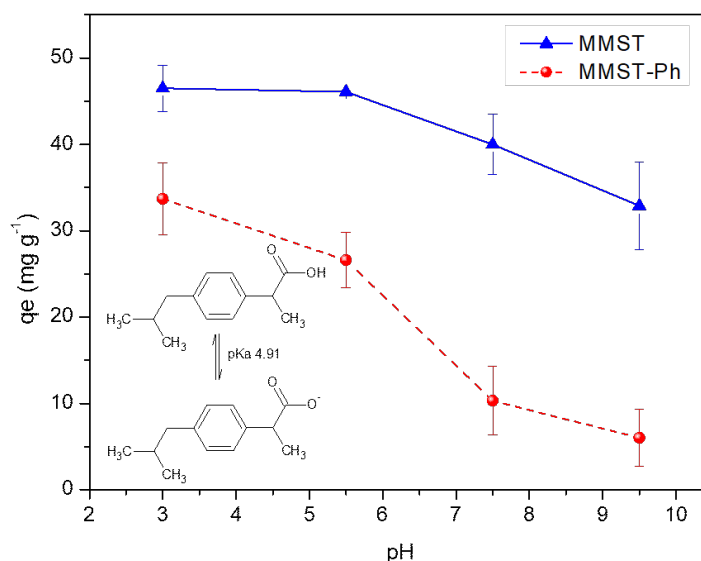


Figura 81 - Efecto del pH en la adsorción de ibuprofeno sobre MMST y MMS-Ph. $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C_0 = 10\text{ mg L}^{-1}$, dosaje = 200 mg L^{-1} . Dentro, equilibrio ácido-base del ibuprofeno

Teniendo en cuenta estos resultados, se seleccionó pH 5.5 para el resto de los experimentos de adsorción, puesto que la capacidad de remoción se mantiene elevada y no es un valor de pH extremo. Las isotermas experimentales de adsorción de ambos materiales se evaluaron de acuerdo con los modelos de Freundlich y Langmuir. Los ajustes de las isotermas experimentales a ambos modelos se muestran en la Figura 82 y los parámetros obtenidos se listan en la Tabla 19. Los dos nanoadsorbentes presentaron capacidades de adsorción similares a bajos valores de concentración de equilibrio, que corresponden a bajas concentraciones iniciales de IBU. Con el incremento de C_e , la capacidad de adsorción de MMST tiende a crecer, mientras que para MMST-Ph parece alcanzar un *plateau* o valor máximo. Los mayores valores de *uptake* de IBU en MMST comparados con MMST-Ph concuerdan con los resultados de los ensayos del efecto pH. La isoterma experimental de MMST parece ajustar mejor al modelo de Freundlich, pues no alcanza la saturación de adsorción y el valor de R^2 obtenido (0.960) es mayor que para el modelo de Langmuir (0.892). Con respecto a la isoterma de MMST-Ph, el modelo de Langmuir parece ser más adecuado debido a que muestra un mayor coeficiente de determinación (0.835 comparado con 0.714 de Freundlich) y el hecho que sí se alcanza un valor máximo de capacidad de adsorción. Además, la capacidad de remoción máxima predicha por el modelo (33.0 mg g^{-1}) es cercano al valor experimental (aproximadamente 35.0 mg g^{-1}). El factor R_L , llamado factor de separación adimensional (Ecuación 24), fue definido originalmente por el grupo de Hall y luego aplicado por muchos investigadores para evaluar si el proceso de adsorción está favorecido [172].

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0}$$

Ecuación 24

Donde C_0 es la concentración inicial. Los valores de R_L indican adsorción desfavorable ($R_L > 1$), lineal ($R_L = 1$), favorable ($0 < R_L < 1$) e irreversible ($R_L = 0$). Los valores de R_L para el rango de concentraciones iniciales usadas en la isoterma de MMST-Ph ($2 \text{ mg L}^{-1} < C_0 < 65 \text{ mg L}^{-1}$) resultaron entre 0 y 1 ($0.02 < R_L < 0.37$) lo que sugiere una adsorción favorable de ibuprofeno sobre MMST-Ph.

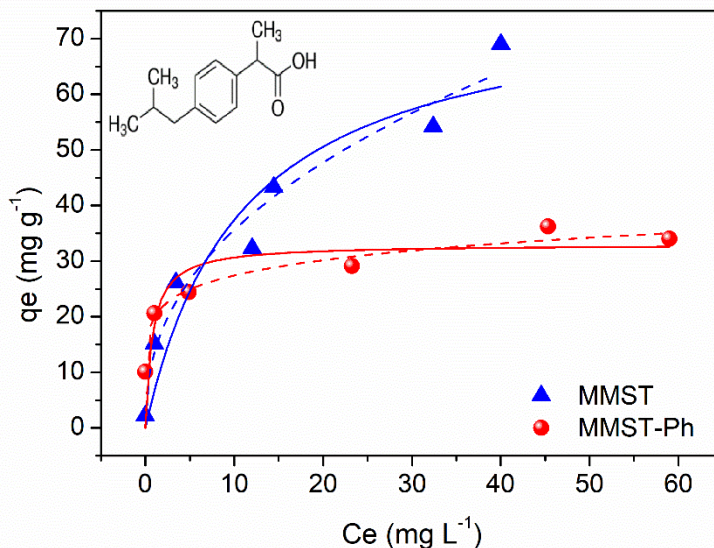


Figura 82 – Isotermas de adsorción de ibuprofeno sobre MMST y MMST-Ph a pH 5.5 y $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$. Líneas sólidas para el modelo de Langmuir y líneas ralladas para el modelo de Freundlich

Tabla 19 – Parámetros de los modelos de Freundlich y Langmuir para las isotermas de adsorción de ibuprofeno por MMST y MMST-Ph

Modelo de Isoterma	MMST	MMST-Ph
Freundlich		
K_F	13.5	20.0
$1/n$	0.42	0.14
R^2	0.960	0.714
Langmuir		
$K_L \text{ (L mg}^{-1}\text{)}$	0.092	0.83
$q_m \text{ (mg g}^{-1}\text{)}$	78.0	33.0
R^2	0.892	0.835

Se compararon los resultados de este trabajo con los reportados en la literatura de diferentes adsorbentes (Tabla 20). En términos generales MMST sobrepasó en capacidad máxima de retención de ibuprofeno a muchos adsorbentes, siendo comparable con carbón activado modificado con grupos fenilo.

Tabla 20 - Comparación de la adsorción de ibuprofeno de diversos adsorbentes con ajuste al modelo de Langmuir

Adsorbente	$q_{\text{máx}}$ (mg g ⁻¹)	Referencia
SBA-15	0.4	[152]
SBA-15 modificada con grupos amino	45	[181]
Sílice mesoporosa impregnada con hidróxido de aluminio	34.9	[182]
Nanoláminas de órgano-sílice con surfactantes gemelos	64.2	[183]
Adsorbente magnético de biocarbón de abeto de Douglas	32.0	[184]
Carbón activado magnético pulverizado funcionalizado con fenilsilano	~ 78	[185]
MMST	78	Este trabajo
MMST-Ph	33	Este trabajo

Respecto a la remoción de la mezcla de CECs por los nanoadsorbentes (Figura 83) se observó que en todos los casos MMST mostró una capacidad de adsorción mayor que MMST-Ph. Para IBU en particular, los resultados fueron similares a los observados en los ensayos del efecto pH (Figura 81), con MMST logrando un q_e superior a MMST-Ph. Un análisis análogo puede hacerse para DCF, con una estructura aniónica predominante a pH 5.5 que puede interactuar por fuerzas electrostáticas con las cargas positivas superficiales de los sólidos [186] (Figura 73). Para ambos nanoadsorbentes la remoción de DCF (83.0 % para MMST y 68.7 % para MMST-Ph) fue superior a la de IBU (63.5 % para MMST y 50.2 % para MMST-Ph), mientras que la adsorción de CBZ fue insignificante (menor al 3 % en ambos sólidos). Como sucedió para los PAHs, la adsorción de los CECs mostró un fuerte incremento con el $\log K_{ow}$: el menor valor de remoción se observó para CBZ ($\log K_{ow} = 2.45$), seguido de IBU ($\log K_{ow} = 3.97$) y finalmente DCF ($\log K_{ow} = 4.51$). La sustancial dependencia de la remoción con el $\log K_{ow}$ sugiere que el mecanismo de adsorción está dominado por las interacciones hidrofóbicas entre las moléculas de CECs y los nanoadsorbentes, como fue observado también para PAHs. Probablemente la especie de los CECs que se adsorbe es la neutra, aunque esté en menor proporción y de esta manera, se desplaza el equilibrio hacia la forma no disociada en solución.

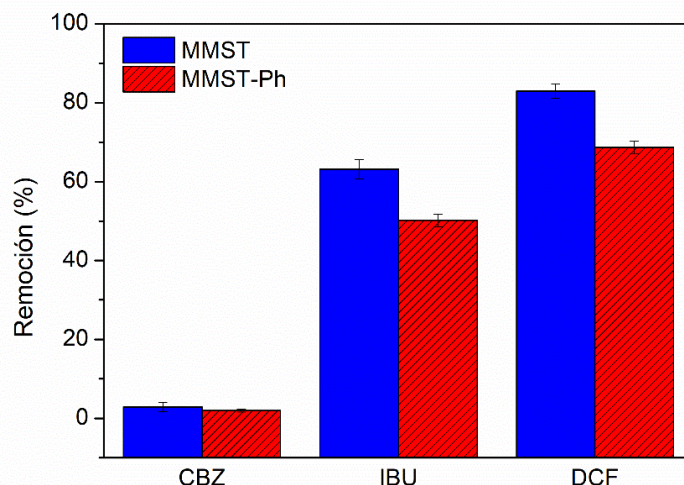


Figura 83 - Remoción de una mezcla de contaminantes emergentes por MMST y MMST-Ph. $[CEC]_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$; dosaje = 200 mg L^{-1} , pH = 5.5, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, tiempo de contacto = 24 h.

4.3.5. Regeneración y Reutilización de Nanoadsorbentes

La remoción de contaminantes orgánicos en medios acuosos durante ocho ciclos consecutivos de regeneración y reutilización por los nanoadsorbentes preparados se presenta en la Figura 84. Para MMST se usó ibuprofeno como contaminante modelo; mientras que en el caso MMST-Ph se empleó antraceno. La regeneración de ambos materiales se llevó a cabo usando extracción con etanol comercial. La remoción de IBU por MMST mostró una caída del 42 % en el segundo ciclo, lo que significa que el etanol no extrajo todo el ibuprofeno retenido por el sólido en el primer paso de adsorción y/o se modificó la superficie del nanoadsorbente luego del primer ciclo. Después del segundo ciclo, la capacidad de adsorción permaneció casi sin cambios. Por otro lado, no se observó una disminución significativa en la capacidad de eliminación de antraceno por MMST-Ph después de ocho ciclos de consecutivos de reutilización, lo que muestra una buena reutilización y estabilidad del material. Además, la extracción de antraceno se logró utilizando etanol, menos tóxico y más económico que el metanol empleado en estudios previos [17,176].

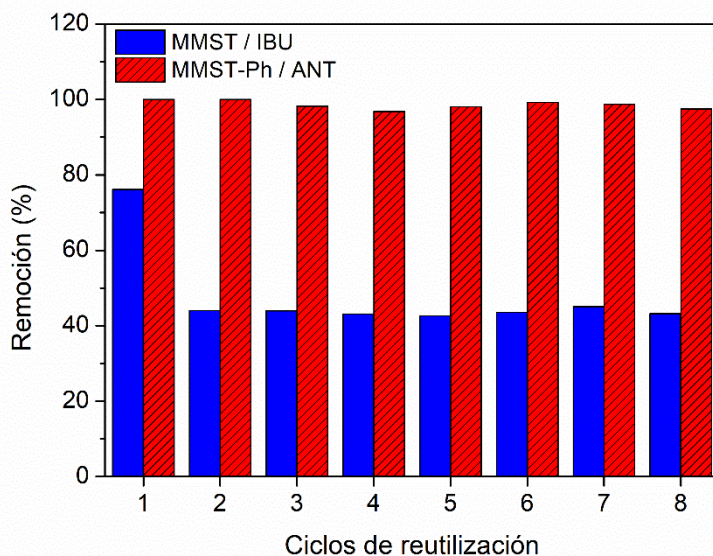


Figura 84 - Ciclos de reutilización en la remoción de ibuprofeno para MMST y de antraceno para MMST-Ph. $[IBU]_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$, $[ANT]_0 = 0.070 \text{ mg L}^{-1}$, pH 5.5, dosaje = 200 mg L^{-1} , $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, tiempo de contacto = 24 h.

4.4. CONCLUSIONES PARCIALES

La modificación superficial de nanopartículas magnéticas con capas híbridas a base de sílice mesoporosa permitió obtener nanoadsorbentes con un muy buen desempeño en la remoción de diversas familias de contaminantes orgánicos de medios acuosos. En particular, MMST presentó una mayor capacidad de remoción de CECs que MMST-Ph, mientras que MMST-Ph demostró ser más eficiente en la adsorción de PAHs e hidrocarburos alifáticos. Los estudios cinéticos para ambos materiales revelaron un proceso de adsorción relativamente rápido: se requirieron 30 min para alcanzar la capacidad de adsorción de equilibrio de ANT sobre MMST-Ph, mientras que tomó 75 min lograr el de equilibrio de ibuprofeno con MMST. La adsorción de ibuprofeno es fuertemente dependiente del pH, aunque los materiales todavía muestran altos valores de adsorción a valores de pH cercanos a la neutralidad. Se observó una clara tendencia de la capacidad de remoción de los nanoadsorbentes con la hidrofobicidad de los contaminantes orgánicos ($\log K_{ow}$), lo que sugiere que las fuerzas hidrofóbicas juegan un rol clave en el mecanismo de adsorción. Las características superparamagnéticas junto con altos valores de magnetización de saturación, indican que los nanoadsorbentes pueden ser fácilmente separados del sobrenadante mediante un campo magnético una vez agotados. Además, MMST-Ph pudo ser regenerado fácilmente con etanol y reutilizado ocho veces manteniendo una alta capacidad de adsorción de ANT. Por su parte, MMST mantuvo una aceptable capacidad de remoción de IBU, en comparación con otros adsorbentes reportados, durante siete ciclos de reutilización a partir del segundo ciclo.

CAPÍTULO 5.

CONCLUSIONES GENERALES

*“La ciencia puede ser descrita como el arte de la
simplificación excesiva sistemática”*

Karl Popper

5. CONCLUSIONES GENERALES

En el presente trabajo de tesis doctoral se propuso como objetivo desarrollar nanopartículas magnéticas recubiertas con sílice funcionalizadas para su potencial aplicación, por un lado, en la adsorción de contaminantes en medios acuosos y por el otro, como un sistema de administración controlada de fármacos.

Se consiguió preparar exitosamente el nanotransportador híbrido MMS-PNIPAM-co-MPS con respuesta a estímulos térmicos y magnéticos. La inmovilización y polimerización de PNIPAM-co-MPS sobre las nanopartículas MMS se realizó eficientemente en un único paso. El nanotransportador híbrido mostró una distribución de tamaños monodispersa en medios acuosos y una aceptable capacidad de almacenamiento de ibuprofeno. Además, su magnetización de saturación resultó muy superior a la reportada en trabajos previos, garantizando la posibilidad de ser guiadas hacia un sitio patológico particular mediante un campo magnético externo. Su excelente control temporal de la liberación del fármaco con la temperatura, junto a su baja toxicidad *in vitro*, coloca a los nanotransportadores híbridos MMS-PNIPAM-co-MPS como candidatos prometedores para su aplicación como sistema de administración controlada de fármacos hacia un sitio objetivo. Asimismo, gracias a sus propiedades magnéticas destacadas, estas nanopartículas híbridas poseen el potencial para ser utilizadas como un sistema de tratamiento y diagnóstico simultáneo mediante imágenes por resonancia magnética e incluso para el tratamiento de enfermedades mediante hipertermia.

Se logró sintetizar el nanoadsorbente magnético MMST modificando en un solo paso IONPs preparadas previamente con el método del poliol. En esta síntesis el TPODAC actuó como agente director de estructura para la formación de una capa de híbrida de sílice con micelas de surfactante confinadas de modo covalente en el nanoadsorbente. Parte de este material se logró funcionalizar con grupos fenilos mediante una reacción con un organosilano, para obtener el nanoadsorbente MMST-Ph. Los nanomateriales preparados MMST y MMST-Ph mostraron una muy buena capacidad de retención de contaminantes orgánicos de diversas familias (PAHs, CECs e hidrocarburos alifáticos) en medios acuosos. La capacidad de remoción mostró un incremento con el logKow de los contaminantes y las cinéticas mostraron que el equilibrio se alcanzó relativamente rápido (entre 30 y 200 min). Los nanoadsorbentes pudieron ser fácilmente separados del medio acuoso mediante un campo magnético externo una vez utilizados y fueron exitosamente regenerados y reutilizados múltiples veces. Estas facilidades aportan a la economía del proceso de adsorción global. La carga superficial de los nanoadsorbentes, además, podría ser aprovechada en la retención de contaminantes con carga neta a ciertos valores de pH, como por ejemplo el herbicida paraquat, el glifosato, nitratos y colorantes como el azul de metileno o el rojo Congo.

CAPÍTULO 6.

TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN Y MÉTODOS ANALÍTICOS

“Un experimento es una pregunta que la ciencia le plantea a la naturaleza, y una medición, es el registro de la respuesta de la naturaleza”

Max Planck

6. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN Y MÉTODOS ANALÍTICOS

En la primera parte de este capítulo se describirán brevemente las técnicas utilizadas para determinar las características fisicoquímicas de los nanomateriales preparados. Estas técnicas proporcionan información complementaria para dilucidar la estructura, morfología y propiedades de las nanopartículas sintetizadas. En la segunda parte, se explicarán sucintamente los métodos analíticos empleados para la cuantificación de analitos, en este caso moléculas orgánicas. Para cada una de ellas se explicarán los fundamentos en los que se basan sus mediciones, las propiedades que se determinaron en este trabajo, las características del equipamiento utilizado y la metodología de medición aplicada.

6.1. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA

6.1.1. Difracción de Rayos X (XRD)

6.1.1.1. Fundamentos

En la actualidad, las técnicas basadas en la difracción de rayos X (XRD) están ampliamente difundidas para la caracterización de materiales cristalinos, es decir, materiales que poseen una estructura con orden periódico. Dentro de estas metodologías la difracción de rayos X de polvo está dentro de las más utilizadas para materiales policristalinos. Las aplicaciones típicas de difracción de polvos incluyen, la identificación de fases, la cuantificación de la concentración de cada fase y la determinación del tamaño de cristalitas. En este trabajo de tesis en particular, se utilizó esta técnica para identificar fases de óxido de hierro presentes en los nanomateriales.

En un experimento típico de XRD de polvos, una muestra policristalina en polvo es irradiada por un haz de rayos X monocromático, lo que genera un ensanchamiento del haz que es registrado en un detector. Este efecto se debe al fenómeno de difracción. Ocurre difracción cuando una onda encuentra una serie de obstáculos separados regularmente que son capaces de dispersarla y están separados por distancias comparables a la longitud de la onda [187]. Además, la difracción es consecuencia de relaciones entre fases, establecidas entre dos o más ondas dispersadas. Esta interferencia entre las ondas dispersadas puede ser constructiva (y generar una señal detectable) o destructiva o según el ángulo de incidencia del haz.

Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética de alta energía que pueden penetrar en un sólido y cuyas longitudes de onda ($0.5 \text{ \AA} < \lambda < 2.5 \text{ \AA}$) son del orden de las distancias interatómicas, lo que permite estudiar la estructura cristalina de los sólidos. Cuando un haz de rayos X incide en un material sólido policristalino, parte de este haz se dispersa en todas direcciones a causa de los electrones de los átomos o iones que se encuentra en el trayecto (Figura 85). La ley de Bragg relaciona la longitud de onda de los rayos X (λ) y la distancia interatómica (d) con el ángulo de incidencia del haz difractado:

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

Ecuación 25

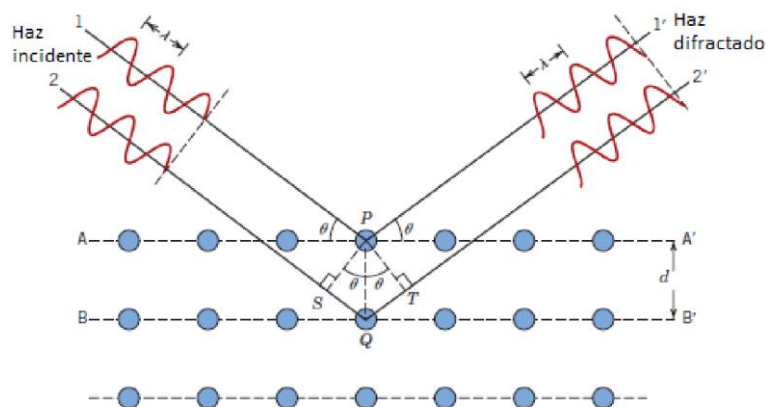


Figura 85 - Difracción de rayos X en planos cristalinos. Adaptado de [187]

Donde n es el orden de difracción, que puede ser cualquier número entero siempre que $\sin \theta$ no exceda la unidad y θ es el ángulo de incidencia idéntico al de reflexión. De esta manera, si una familia de planos del polvo policristalino difracta la radiación incidente en un ángulo de Bragg habrá cristales que difractarán en este ángulo hacia cualquier dirección del espacio, formándose un cono. En un difractómetro (Figura 86) se barre con el ángulo 2θ (entre en haz incidente y el haz difractado) y se intersecan estos conos. Para optimizar la focalización del haz difractado, se hace un barrido simétrico θ - 2θ (tubo fijo) o θ - θ (muestra fija), lo que se conoce como geometría de Bragg-Brentano. El patrón de difracción, llamado difractograma, se convierte en “picos”. Las posiciones de los mismos dan información de la celda unidad, mientras que sus áreas (intensidades integradas) están relacionadas con los átomos presentes y sus posiciones. Los difractogramas son una huella digital de la sustancia analizada y al comparar con un patrón de base de datos, se las puede identificar.

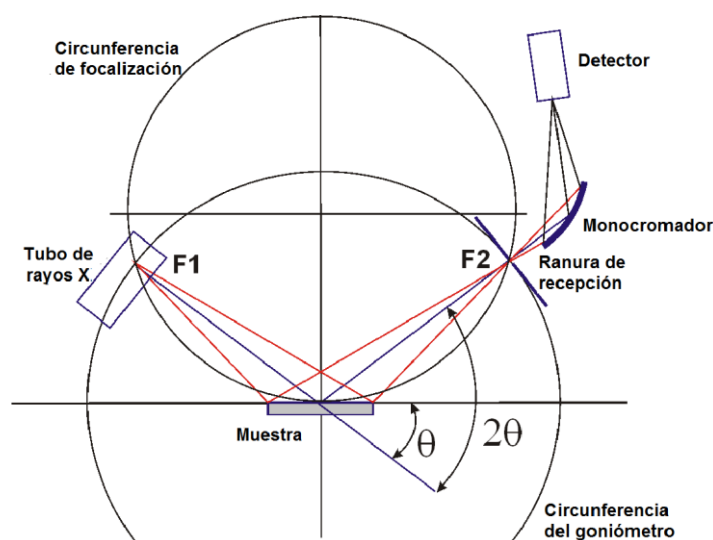


Figura 86 - Esquema de un difractómetro de rayos X

6.1.1.2. Instrumental

El equipo usado para obtener los difractogramas de las nanopartículas IONPS, MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS fue un difractómetro X'Pert PRO MPD (Panalytical) con ánodo de Cu (45 kV, 40 mA) del Departamento de Química de la Universidad de Torino, Italia. Las muestras se molieron en mortero de ágata, se colocaron en un portamuestra giratorio y se

llevó al equipo. Los patrones se adquirieron en un rango de 2θ entre 10° y 80° , con un paso de 0.02° y una velocidad de barrido de 3° min^{-1} .

Para obtener los patrones de difracción de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph se empleó un difractor Empyrean (Malvern Panalytical) con ánodo de Cu (45 kV, 40 mA) equipado con monocromador de grafito del Centro Atómico Bariloche. Las muestras se analizaron siguiendo el mismo procedimiento y condiciones que con el difractor de la Universidad de Torino.

Para analizar de modo cualitativo las fases cristalinas presentes en las muestras, se compararon los patrones de XRD obtenidos con la base de datos PDF2 de la ICDD (*International Centre for Diffraction Data*) usando el programa X'Pert HighScore® de Panalytical.

6.1.2. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

6.1.2.1. Fundamentos

La microscopía electrónica de transmisión (*Transmission Electron Microscopy*, TEM) es una técnica que se basa en la formación de imágenes mediante la transmisión/dispersión de electrones. En un experimento de TEM, un filamento (usualmente de hexabromuro de lantano, LaB_6) conectado a una fuente de alto voltaje emite electrones sobre una muestra sólida dispuesta en una lámina de fino espesor. Los electrones atraviesan la muestra y llegan a un detector. La resolución óptica (d), es decir, la distancia que debe existir entre dos puntos para que puedan verse como dos entidades distintas, viene dada por el criterio de Rayleigh y se expresa mediante la siguiente ecuación [188]:

$$d = \frac{k\lambda}{2n\text{sen}\alpha} = 0.61 \frac{\lambda}{\text{sen}\alpha} \quad \text{Ecuación 26}$$

Donde k es la constante del medio de la lente, λ es la longitud de onda de la radiación, n es el índice de refracción del espacio lente-objeto y α es el semiángulo de incidencia. Para toda lente magnética que focaliza un haz de partículas cargadas, k es igual a 1.22. Así, el límite de resolución que viene determinado por la longitud de onda de la radiación con la que se irradia el objeto: cuanto menor sea la longitud de onda de la radiación, menor es d y por tanto mayor es la resolución del microscopio [189]. Para un microscopio de transmisión electrónica los valores de d son del orden de 1 nm o menos.

Para que tenga lugar la formación de la imagen, debe existir un contraste mínimo o variación de intensidad entre zonas próximas a la que se quiere observar. Debido a su comportamiento ondulatorio, los electrones pueden experimentar variaciones tanto de su amplitud de onda como de su fase al atravesar la muestra. Ambos tipos de variación dan lugar al contraste en la imagen. En las imágenes de contraste de amplitud se obtiene imágenes de campo claro o campo oscuro seleccionando mediante diafragmas o aperturas, el haz directo o los haces dispersados, respectivamente. Dentro del contraste de amplitud existen dos tipos de contraste debido al grosor de la muestra y el debido a la difracción de electrones.

El contraste debido al grosor de la muestra es el más importante, es la causa de la dispersión que sufre el haz de electrones al atravesar la muestra y depende del número atómico y del espesor de la muestra. El contraste debido a la difracción se produce a un determinado ángulo de Bragg y por tanto solo aparece en muestras cristalinas con cierta estructura y orientación [157].

6.1.2.2. Instrumental

Las imágenes TEM de las nanopartículas sintetizadas se obtuvieron en diferentes equipos:

- ✓ Para IONPs obtenidas mediante coprecipitación se usó un microscopio JEOL JEM 3010 equipado con filamento de LaB₆ y un voltaje de aceleración de 300 kV, del CCT Bahía Blanca.
- ✓ Para las IONPs obtenidas mediante el método del poliol y los nanotransportadores MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS se utilizó JEOL 2010 equipado con filamento de LaB₆ (300 kV), del Departamento de Química de la Universidad de Torino.
- ✓ Para los nanoadsorbentes MMST y MMST se utilizó un microscopio de alta resolución (HR-TEM) FEI F20 (G2) UT operando a 200 kV, del Centro Atómico Bariloche.

Para la preparación de las muestras, primero se dispersaron las nanopartículas en etanol ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$). Unas gotas de esta dispersión se depositaron sobre grillas agujereadas de cobre recubiertas en carbono y se dejaron secar antes del análisis.

De las imágenes TEM se pudo analizar la morfología y por diferencia de contraste inferir la estructura de las partículas. Los óxidos de hierro con más electrones en su estructura se observan más oscuros comparados con el óxido de silicio, o la materia orgánica.

6.1.3. Espectroscopía Infrarroja (FTIR)

6.1.3.1. Fundamentos

Las técnicas espectroscópicas se basan en la interacción entre la materia y la energía radiante. Entre ellas, la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (*Fourier transform infrared*, FTIR) es el método de espectroscopía infrarroja preferido, pues el ensayo es mucho más rápido al medir todas las frecuencias del espectro IR en simultáneo, a diferencia de los instrumentos dispersivos. En un experimento de FTIR, se hace pasar radiación en la frecuencia del infrarrojo a través de una muestra. Parte de esta radiación es absorbida por la muestra y parte es transmitida hacia un detector. El espectro que resulta es único para cada sustancia y presenta picos de absorción correspondientes a las frecuencias de vibración de los enlaces de los átomos que componen la muestra. De esta manera, la espectroscopía IR es una herramienta para el análisis cualitativo de cualquier material. Adicionalmente, como el tamaño de los picos del espectro es proporcional a la cantidad de material presente, la espectroscopía IR también puede usarse para análisis cuantitativo. Esta técnica está ampliamente difundida en los laboratorios desde hace muchos años y puede usarse para muestras sólidas, líquidas y gaseosas. Para el caso de nanomateriales sólidos, FTIR es particularmente útil para identificar los grupos funcionales presentes y evaluar si una estrategia de modificación superficial ha sido exitosa. Existen diferentes modos de operación de un espectrofotómetro IR que dependen de las características de la muestra, incluyendo transmisión, reflectancia total atenuada (*attenuated total reflectance*, ATR), reflectancia difusa y reflectancia especular verdadera. En este trabajo de tesis se utilizó FTIR en dos modos de operación diferentes con diversos fines. Para identificar la presencia del surfactante TPODAC y los restos de grupos fenilo en los nanoadsorbentes; para analizar la cantidad de TPODAC anclada en diferentes estrategias de síntesis; para comparar los métodos de remoción de CTAB para MMS y para evaluar la modificación superficial de MMS con el polímero termosensible PNIPAM-co-MPS.

Un espectrofotómetro FTIR consta de tres elementos principales: una fuente de radiación, un interferómetro y un detector [190], como se esquematiza en la Figura 87. El instrumento genera un haz de radiación infrarroja emitido desde una fuente de un cuerpo negro brillante. Luego el haz ingresa al interferómetro, donde se divide en dos haces. Un rayo se refleja en un espejo plano fijo. El otro rayo se refleja en un espejo plano que puede moverse a una distancia muy pequeña del divisor del haz. Como el camino recorrido por un haz es de una longitud fija y el otro cambia constantemente a medida que su espejo se mueve, la señal que sale del interferómetro es el resultado de interferencias constructivas y destructivas entre ellos. La señal resultante es llamada interferograma. Luego, el haz llega al porta-muestra donde la muestra absorbe frecuencias de energía específica. A continuación, el detector mide la señal del interferograma en energía versus tiempo para todas las frecuencias simultáneamente. Mientras tanto, un haz se superpone para proporcionar una referencia (fondo o *background*) para el funcionamiento del instrumento. Finalmente, el espectro se obtiene una vez que del interferograma se sustrae de modo automático el fondo mediante la aplicación de la transformada de Fourier. El espectro es un gráfico de intensidad (absorbancia o transmitancia) en función del número de onda ($\bar{\nu}$ [=] cm^{-1}) (inverso de la longitud de onda, λ [=] cm).

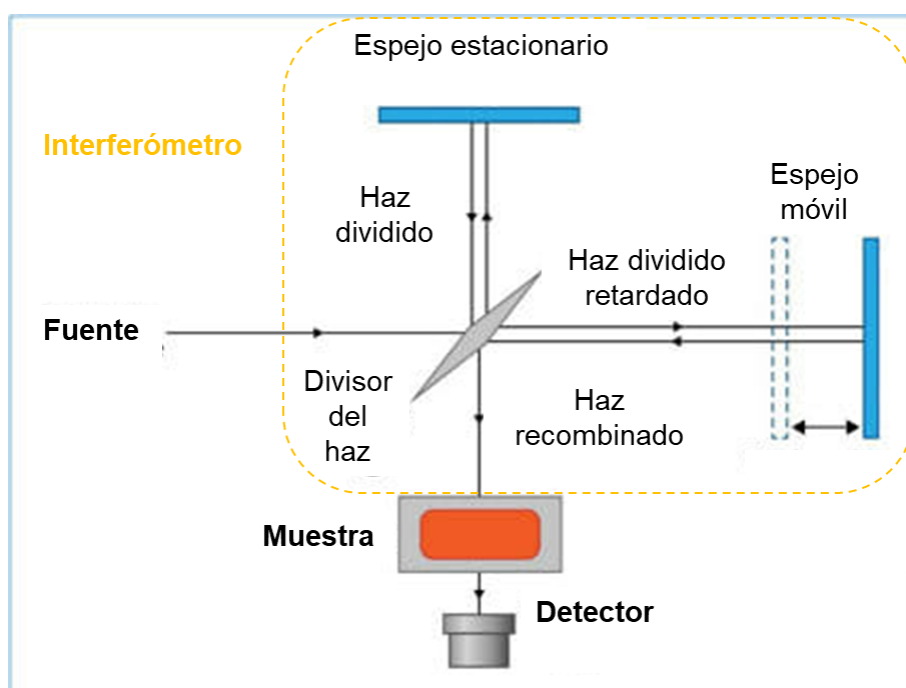


Figura 87 - Esquema de un espectrofotómetro FTIR

El espectro está formado como consecuencia de la absorción de radiación a frecuencias determinadas que están correlacionadas con la vibración de conjuntos específicos de enlaces químicos dentro de la muestra. El rango de interés, en el que se producen la mayor cantidad de estas absorciones es el IR medio, entre 4000 cm^{-1} y 600 cm^{-1} . Los fotones de luz IR pueden hacer que los átomos vibren respecto de los enlaces que los conectan, si la energía incidente es exactamente igual a la energía de vibración de ese enlace:

$$E = h\nu = h\bar{\nu}c$$

Ecuación 27

Donde h es la constante de Plank y c es la velocidad de la luz en el vacío. Durante la vibración, la distribución electrónica varía periódicamente con el tiempo, así como el momento dipolar del enlace, generando un campo eléctrico oscilante asociado a una frecuencia de vibración. Para explicar el comportamiento de estas vibraciones se usa el modelo simple de un oscilador armónico [190]. En este modelo, la relación entre la frecuencia de vibración y la fuerza del enlace (k) está dada por:

$$v = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{m_r}} \text{ o bien } \bar{\nu} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m_r}} \quad \text{Ecuación 28}$$

Donde m_r es la masa reducida del sistema:

$$m_r = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad \text{Ecuación 29}$$

Con m_1 y m_2 las masas de los átomos del enlace. Aunque este modelo es simple, existe un ajuste razonablemente bueno entre las vibraciones de estiramiento de enlace predichas y los valores experimentales. Este modelo sencillo no incorpora la disociación del enlace a altos niveles de energía absorbida. Los modos de vibración pueden incluir tanto cambios en la longitud de enlace (tensión) como en el ángulo de enlace (flexión o deformación). Las vibraciones de tensión suelen clasificarse como simétricas o asimétricas. Mientras que las flexiones suelen subdividirse en flexiones de tijera, de vaivén, de ondulación y de giro.

6.1.3.2. Instrumental

En este trabajo, se usaron dos modos de operación con FTIR para los nanomateriales preparados. Para las nanopartículas IONPs, MMS, MMST y MMST-Ph se utilizó el método de transmisión con pastilla de bromuro de potasio (KBr). Para esto se molieron aproximadamente 2 mg de muestra seca con 300 mg de KBr en un mortero de ágata. El KBr fue previamente secado en estufa a 110 °C durante 12 h. El polvo morterado se trasvasó a un recipiente y se lo sometió a una presión de 10 tn cm⁻² durante 15 min. La pastilla obtenida se llevó a un portamuestra de un espectrofotómetro IRTracer-100 (Shimadzu) del Laboratorio de Materiales de la Facultad de Ingeniería de la UNCo. Los espectros se registraron en el modo de transmisión con 128 escaneos, una resolución de 4 cm⁻¹, en un rango entre 4000-400 cm⁻¹.

Para identificar la presencia del polímero PNIPAM-co-MPS en el nanotransportador híbrido, se trabajó con ATR. El modo de reflectancia total atenuada da acceso a las frecuencias vibracionales de la superficie, y no al material *bulk* [191]. En espectroscopía ATR-FTIR, se usa un accesorio para medir los cambios que ocurren en un haz IR que se refleja internamente cuando entra en contacto con la muestra. En principio, un haz infrarrojo es dirigido hacia un cristal denso con un índice de refracción alto (como diamante, seleniuro de zinc, etc.) a cierto ángulo. El haz entra en contacto con el cristal y produce múltiples reflectancias internas, que crean una onda evanescente que se extiende más allá de la superficie del cristal. La muestra en contacto con la onda absorbe la energía radiante y en consecuencia la onda evanescente se atenúa. El rayo atenuado se reflejará en el cristal y luego saldrá por el extremo opuesto del cristal y se dirigirá al detector. Este registra el haz IR atenuado como una señal de interferograma, que luego puede ser utilizado para generar un espectro.

Para obtener el espectro de MMS-PNIPAM-co-MPS (y por comparación también de MMS) se depositó la muestra sólida seca en un espectrofotómetro Spectrum 100 (Perkin

Elmer) en modo ATR con cristal de diamante, en el rango de 4000-600 cm^{-1} . Este ensayo se realizó en el Laboratorio de Química Macromolecular, del Departamento de Química de la Universidad de Torino, Italia.

6.1.4. Análisis Termogravimétrico (TGA)

6.1.4.1. Fundamentos

La termogravimetría es la rama del análisis térmico que investiga cambios en el peso de una sustancia en función del tiempo o de la temperatura. El principio fundamental del análisis termogravimétrico (*thermogravimetric analysis*, TGA) es que los cambios en la masa de una muestra pueden estudiarse bajo condiciones controladas. Por lo tanto, el TGA se utiliza para comprender ciertos eventos térmicos que involucran cambios en la masa de las sustancias, como absorción, adsorción, desorción, vaporización, sublimación, descomposición, oxidación y reducción [192]. Otros eventos que no involucran cambios en la masa, como fusión o cristalización, no pueden estudiarse con esta técnica. En este trabajo se utilizó el TGA para cuantificar la cantidad de TPODAC y TMPS anclados en los nanoadsorbentes y la masa de polímero termosensible presente en el nanotransportador híbrido MMS-PNIPAM-co-MPS. Esto pudo realizarse debido a que las fracciones orgánicas de estas muestras pueden descomponerse y carbonizarse con el aumento de temperatura, lo que produce una pérdida de masa detectable. También se utilizó el TGA para cuantificar la cantidad de fármaco cargada en los mesoporos de los nanotransportadores MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS.

La termobalanza constituye la pieza más importante de un instrumento de TGA. Una termobalanza comprende: una microbalanza electrónica, un portamuestra o crisol, un horno, un programador de temperatura y un registrador [192]. La termobalanza consiste en una pinza que se utiliza para sujetar el brazo de una microbalanza. En un experimento típico de TGA se coloca una masa conocida de muestra dentro de un crisol sobre la microbalanza. Un crisol de referencia de idéntica masa se ubica en el otro brazo de la microbalanza. El sistema se cierra y se programa el aumento de temperatura en función del tiempo y la atmósfera a la que se expondrá la muestra, usualmente aire o nitrógeno. Una termocupla mide la temperatura a medida que avanza en ensayo y todos los datos son almacenados en una microcomputadora que actúa de registrador. Un experimento TGA puede hacerse manteniendo la temperatura de la muestra constante durante un determinado tiempo (estático u isotérmico) o bien variando linealmente la temperatura con el tiempo usando una velocidad de calentamiento específica (dinámico). El resultado del análisis es un termograma, que es un gráfico que representa el peso o la variación del peso en función de la temperatura o del tiempo. Algunos instrumentos miden el flujo de calor (Joule g^{-1}) utilizando calorimetría diferencial de barrido (*differential scanning calorimetry*, DSC) y los datos de pérdida de masa mediante TGA, simultáneamente.

6.1.4.2. Instrumental

Se realizó el análisis termogravimétrico de los nanomateriales utilizando un instrumento TGA-DSC Q600 (TA Instruments) en dos laboratorios diferentes:

- ✓ Los termogramas de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph se obtuvieron en el CCT-Bahía Blanca.

- ✓ Los termogramas de los nanomateriales MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS se realizaron en el Departamento de Química de la Universidad de Torino. La Figura 88 presenta una foto del equipo.

Para esto se secaron previamente las muestras a 100 °C durante 30 min en una estufa. Luego se pesó en una balanza analítica una cantidad de muestra (entre 6 y 10 mg) dentro de un crisol de alúmina. Se colocó el crisol con la muestra y el crisol de referencia en los brazos de la microbalanza y se cerró el sistema. El análisis se realizó calentando las muestras a una velocidad de 10 °C min⁻¹ desde temperatura ambiente hasta 1000 °C en atmósfera de aire.



Figura 88 – Instrumento DSC-TGA

6.1.5. Propiedades Texturales por Adsorción de Gases

6.1.5.1. Fundamentos

La adsorción de gases es una herramienta bien establecida para la caracterización textural de sólidos porosos y polvos finos [48,193]. Las propiedades texturales más comunes a determinar son el área superficial específica (a_s), el volumen de poros (V_p) y la distribución de tamaños de los poros. Estas propiedades son calculadas a partir de la fisisorción de un fluido subcrítico (como N₂ a 77 K, Ar a 87 K, CO₂ a 273 K) por parte de la muestra. En este trabajo, se estimaron las propiedades mencionadas utilizando N₂ a 77 K como gas adsorbible para los nanomateriales preparados. En el caso de los nanoadsorbentes, el área superficial específica sirve como medida de comparación con otros adsorbentes. Para el caso del nano transportador híbrido MMS-PNIPAM-co-MPS, es de utilizad conocer la distribución de tamaño de poros para evaluar qué tamaño de fármaco puede almacenarse dentro de los poros.

Un sortómetro es el instrumento utilizado para la caracterización textural por adsorción de gases. Los sortómetros más comunes miden la cantidad de gas removida de la fase gaseosa mediante cambios de presión. En ellos una cantidad conocida de gas es admitido en un volumen confinado y calibrado que contiene el adsorbente, que se mantiene a temperatura constante. A medida que ocurre la adsorción, la presión en el volumen confinado cae hasta que se establece el equilibrio. La cantidad de gas adsorbido a la presión de equilibrio se calcula como la diferencia entre la cantidad de gas admitida y la cantidad de

gas necesaria para llenar el espacio alrededor del adsorbente, es decir, el espacio muerto. La isoterma de adsorción generalmente se construye punto por punto mediante la admisión de cargas sucesivas de gas al adsorbente con la ayuda de una técnica de dosificación y la aplicación de las leyes de gas apropiadas. El volumen del espacio muerto se obtiene usualmente mediante precalibración con gas no adsorbente como el helio en las condiciones operativas y restando el volumen del adsorbente. La determinación del espacio muerto generalmente representa el mayor elemento de incertidumbre. Antes de la medición, deben eliminarse las especies fisisorbidas de la superficie de la muestra. Esto puede lograrse mediante un desgasado, que consiste en exponer la muestra a alto vacío y temperatura elevada durante un cierto tiempo, dependiendo de las características del sólido.

Una vez terminado el ensayo, se obtienen las isotermas de adsorción que en general se muestran como un gráfico de la cantidad adsorbida (mol g^{-1}) en función de la presión relativa al equilibrio p/p^0 , donde p^0 es la presión de saturación del adsorbente puro a la temperatura de operación. El método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) [194] continúa siendo el procedimiento más difundido para evaluar el área superficial específica de materiales porosos y polvos, a pesar de la debilidad de sus fundamentos teóricos [48]. Para materiales no porosos, mesoporosos o macroporosos, es decir, con isotermas tipo II o IV bien definidas, puede considerarse como el área accesible al adsorbible utilizado. El método BET se aplica en dos partes. Primero, se transforma la isoterma de adsorción en un gráfico lineal con la ecuación de BET:

$$\frac{p/p^0}{n(1-p/p^0)} = \frac{1}{n_m C} + \frac{C-1}{n_m C} (p/p^0) \quad \text{Ecuación 30}$$

Donde n es la cantidad de adsorbible adsorbida a presión relativa p/p^0 y n_m es la capacidad específica de la monocapa. El valor de la constante C es indicador de la forma de la isoterma en el rango BET y debe ser positiva. Para determinar n_m se usa un rango donde se cumple la linealidad, usualmente $0.05 < p/p^0 < 0.30$ para isotermas tipo II y tipo IV [48]. Una vez obtenido n_m , la segunda etapa es el cálculo del área superficial específica BET, a_s (BET) a partir de la capacidad de la monocapa. Para esto es necesario conocer el área de sección transversal molecular (σ_m) ocupada por la molécula de adsorbato en la monocapa completa. Para el nitrógeno a 77 K, $\sigma_m = 0.162 \text{ nm}^2$. De esta manera:

$$a_s(\text{BET}) = n_m N_A \sigma_m / m \quad \text{Ecuación 31}$$

Donde N_A es el número de Avogadro, m es la masa de la muestra y a_s (BET) es el área superficial específica de la muestra ($\text{m}^2 \text{ gas adsorbido g}^{-1} \text{ sólido}$) determinada mediante el método BET.

Si la muestra contiene mesoporos, es decir posee una isoterma tipo IV, el volumen total de poros (V_p) se calcula de la cantidad de gas adsorbida a una presión relativa cercana a uno (por ejemplo, $p/p^0=0.98$). Esto quiere decir que se aplica la regla de Gurvich, que asume que los poros están llenos con el adsorbato en estado líquido.

El método de Barrett, Joyner y Halenda (BJH) [195] continúa siendo el método más ampliamente difundido para la calcular la distribución de tamaños de poros. Sin embargo, se ha mostrado que este método subestima significativamente el tamaño de poro para mesoporos estrechos. Por ejemplo, para diámetros de poro $< 10 \text{ nm}$ el tamaño puede ser subestimado entre un 20 y 30 % [48]. Recientemente, se han propuesto otros métodos para corregir estos efectos, como el método VBS (Villaroel-Barrera-Sapag) [196].

6.1.5.2. Instrumental

La caracterización textural de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph se realizó mediante isoterma de adsorción-desorción de N₂ a 77 K usando un sortómetro ASAP 2000 (Micromeritics). En primera instancia se desgasaron las muestras a 105 °C durante 12 h. El área superficial específica fue calculada con el método BET, el volumen de poros usando la regla de Gurvich a $p/p^0 = 0.98$ y la distribución de tamaño de poros de la rama de desorción mediante el método BJH. Estas medidas se realizaron en el Laboratorio de Sólidos Porosos del Instituto de Física Aplicada (INFAP, CONICET-Universidad Nacional de San Luis) en la ciudad de San Luis.

Las isoterma de adsorción-desorción de N₂ a 77 K de los nanotransportadores MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS se realizaron en un sortómetro ASAP 2020 (Micromeritics). Previamente, las muestras se desgasaron a 60 °C durante 6 h. Los ensayos se ejecutaron en el Departamento de Química de la Universidad de Torino en Italia.

En todos los casos, el área superficial específica fue calculada con el método BET, el volumen de poros usando la regla de Gurvich a $p/p^0 = 0.98$ y la distribución de tamaño de poros mediante el método BJH. En este último método, se usó la rama de desorción para los nanoadsorbentes y la rama de adsorción para el caso de los nanotransportadores.

6.1.6. Propiedades Magnéticas

6.1.6.1. Fundamentos

La técnica más comúnmente usada para evaluar la respuesta magnética de los materiales es la determinación de sus curvas de magnetización. Este análisis puede realizarse mediante un magnetómetro, que es un instrumento capaz de medir el momento magnético (o magnetización) en función de diversos parámetros controlables, como el campo magnético aplicado o la temperatura. Existen diferentes tipos de magnetómetros, siendo el magnetómetro de muestra vibrante (VSM), desarrollado por Simon Foner, el más ampliamente difundido por su simplicidad y versatilidad [197]. El principio de funcionamiento es la Ley de Inducción de Faraday, donde un campo magnético variable produce un campo eléctrico que puede ser medido y así obtener información acerca de las propiedades magnéticas de la muestra. Para ello la muestra se coloca dentro de una bobina inductiva y es sometida a una oscilación armónica únicamente en el eje vertical, perpendicular al campo magnético generado por un electroimán que por tanto magnetiza la muestra. La magnetización del material se mide indirectamente detectando la formación de corriente inducida o la variación de flujo en la bobina inductiva al variar el campo magnético aplicado (H) en un ciclo de magnetización-desmagnetización [198]. La forma de la curva de histéresis depende de las características del material (diamagnético, paramagnético, ferromagnético, superparamagnético) y de ella se pueden obtener propiedades tales como la magnetización de saturación, coercitividad y remanencia; como fue descrito en más detalle en la sección 2.1.1. En este trabajo de tesis, esta técnica permitió mostrar las características ferro y superparamagnéticas de los nanomateriales preparados y el efecto del recubrimiento en las estructuras *core-shell*.

6.1.6.2. Instrumental

Las curvas de magnetización de todos los materiales se obtuvieron en magnetómetros de muestra vibrante a 300 K con campo magnético entre -20000 y 20000 Oe. Las muestras de IONPs, MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS se midieron en un magnetómetro LakeShore 7300 en el Centro Atómico Bariloche, mientras las muestras MMST y MMST-Ph se estudiaron con un equipo LakeShore 7404 en la Universidad Nacional de La Plata.

6.1.7. Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

6.1.7.1. Fundamentos

La dispersión de luz dinámica (DLS), también llamada espectroscopía de correlación fotónica o dispersión cuasi-elástica de luz es una de las técnicas más ampliamente empleadas para la caracterización de polímeros y coloides en solución. Mediante DLS, es posible estudiar distribuciones de tamaño y peso molecular de macromoléculas. Es una técnica no destructiva y utiliza relativamente poca cantidad de muestra. La compañía Malvern Instruments (Malvern, Reino Unido) fue la primera en comercializar los instrumentos DLS modernos, seguido de Brookhaven (Long Island, Estados Unidos) y ALV (Langen, Alemania) [199].

En un experimento típico de DLS una muestra es expuesta a luz de longitud de onda monocromática y un detector apropiado registra la señal generada. Dependiendo de la fuente de luz y el detector, se pueden estudiar propiedades específicas de las partículas. En particular, el diámetro o radio hidrodinámico (R_h), puede ser definido como el radio de una esférica hipotética que difunde a la misma velocidad que la partícula que se está estudiando. Físicamente, puede entenderse como las nanopartículas (o sus agregados) junto con su esfera de solvatación, es decir, las moléculas del solvente (agua) y los iones que las rodean. Por este motivo, el tamaño estimado con DLS usualmente difiere del obtenido por otras técnicas, como SEM o TEM. En particular, en este trabajo se estudió la variación del R_h con la temperatura para evaluar el comportamiento del polímero termosensible en el nanotransportador híbrido.

En un experimento DLS, el R_h se estima a partir del coeficiente de difusión (D_τ) de las partículas obtenido mediante medición de las fluctuaciones de la intensidad de la luz dispersada. Las partículas dispersas en un solvente poseen un movimiento aleatorio, llamado movimiento Browniano, que resulta de su colisión con las moléculas del solvente. Este movimiento depende del tamaño de las partículas, de la temperatura y de la viscosidad del solvente. Mientras más grandes sean las partículas, menor será este movimiento. Cuando un haz de luz monocromática se encuentra con una dispersión de partículas, la luz se dispersa en todas las direcciones. Debido al movimiento Browniano, la luz incidente monocromática experimenta un fenómeno llamado efecto Doppler, por el cual se produce un ensanchamiento simétrico de la frecuencia de la luz dispersada respecto a la luz incidente [189]. Así, la luz dispersada puede resultar en fases con interacción destructiva que se cancelan mutuamente, o en fases con interacciones constructivas que generan una señal detectable. En un experimento DLS estas fluctuaciones de la intensidad de la luz dispersada son registradas por un detector y se mide la función de correlación de intensidad $g_2(\tau)$ que describe el movimiento de las partículas y puede expresarse como la integral del producto de intensidades a un tiempo t y a un tiempo de retardo $(t + \tau)$ [199].

En un experimento de dispersión de luz no es posible conocer con precisión como se mueve cada partícula, sin embargo, el movimiento de partículas relativo a otras está correlacionado por medio de la función de correlación de campo eléctrico $g_1(\tau)$. Estas dos funciones $g_2(\tau)$ y $g_1(\tau)$ normalizadas pueden acoplarse mediante la relación de Siegert, bajo la suposición de que el detector solo detecta luz dispersada y el conteo de fotones es un proceso aleatorio Gaussiano [199]. Considerando un sistema polidisperso de partículas con movimiento Browniano

$$g_2(\tau) = 1 + \beta e^{-2D_\tau q^2 \tau} \quad \text{Ecuación 32}$$

Donde β es un factor de coherencia que depende del área del detector, alineamiento óptico y propiedades de dispersión de las partículas y q es el vector de onda de Bragg, directamente proporcional al índice de refracción del solvente n . Los equipos modernos poseen modos de resolución de $g_2(\tau)$ como el método de cumulantes (distribución monomodal) y los métodos de regularización (distribución no monomodal), como CONTIN o REPES. Una vez obtenido el coeficiente de difusión D_τ , este está relacionado con el R_h mediante la ecuación de Stokes-Einstein:

$$R_h = \frac{k \cdot T}{\pi \eta D_\tau} \quad \text{Ecuación 33}$$

Donde k es la constante de Boltzman, T es la temperatura absoluta y η es la viscosidad del solvente. De esta manera, es posible calcular la distribución del R_h de las partículas.

6.1.7.2. Instrumental

Las medidas de DLS de los nanotransportadores MMS y MMS-PNIPAM-co-MPS se realizaron con un instrumento Zetasizer Nano ZS90 de Malvern, en el Departamento de Química de la Universidad de Torino, Italia.

Para ellos se prepararon dispersiones (100 mg L^{-1}) de las nanopartículas en agua Milli Q™ y se sonicaron durante 20 minutos. Luego se llevó la dispersión a una cubeta de cuarzo de 1 cm de ancho y 3 mL de capacidad y se colocó en el equipo, que cuenta con un controlador de temperatura. Las mediciones se realizaron a temperatura constante a 20 °C y 40 °C.

6.1.8. Potencial Zeta (ζ)

6.1.8.1. Fundamentos

Si bien el concepto de potencial zeta (ζ) se conoce desde hace más de 100 años, en 1985 la Fundación de Electroacústica Moderna (ESA) patentó y desarrolló esta técnica [189]. El potencial zeta es una medida indicativa de las interacciones electrostáticas entre las partículas. No debe confundirse con la carga superficial, que se determina mediante valoraciones potenciométricas ácido-base, aunque poseen el mismo signo. El potencial zeta depende del pH, de la fuerza iónica y de la concentración de las partículas cargadas en solvente. El punto en el que el potencial zeta es cero se conoce como punto isoeléctrico (IEP) y es el punto más inestable del sistema coloidal.

El potencial zeta se utiliza normalmente para predecir la estabilidad de una dispersión. También puede ser útil para contrastar la eficacia de funcionalizaciones mediante la observación de cambios en el potencial antes y después de la modificación de la superficie, lo que permite incluso la identificación de grupos funcionales [200].

Particularmente, en este trabajo se emplearon los datos de potencial zeta para evaluar la funcionalización de los nanoadsorbentes MMST y MMST-Ph y su interacción con contaminantes con grupos ionizables.

Los fenómenos electrocinéticos se caracterizan por un movimiento tangencial de líquido (solución de un electrolito) con respecto a una superficie cargada adyacente. Entre ellos, la electroforesis, que es el movimiento de una partícula cargada respecto del medio líquido debido a la aplicación de un campo eléctrico, es el más estudiado. El potencial zeta se obtiene experimentalmente a partir de la movilidad electroforética. La velocidad que adquieren las partículas (v_e) se relaciona con el campo eléctrico aplicado (E) a través de la movilidad electroforética (μ_e) según la expresión:

$$v_e = \mu_e \cdot E \quad \text{Ecuación 34}$$

Donde la movilidad electroforética expresa la velocidad adquirida por las partículas por unidad de campo eléctrico. Cuando una superficie sólida se mueve en un líquido, o viceversa, hay siempre una capa de líquido y iones adherida a la superficie que se mueve (o se permanece quieta) con ella. El plano de deslizamiento es el plano que separa a la fase en movimiento con la fase estacionara (Figura 89). El potencial eléctrico en el plano de deslizamiento es llamado potencial zeta [201].

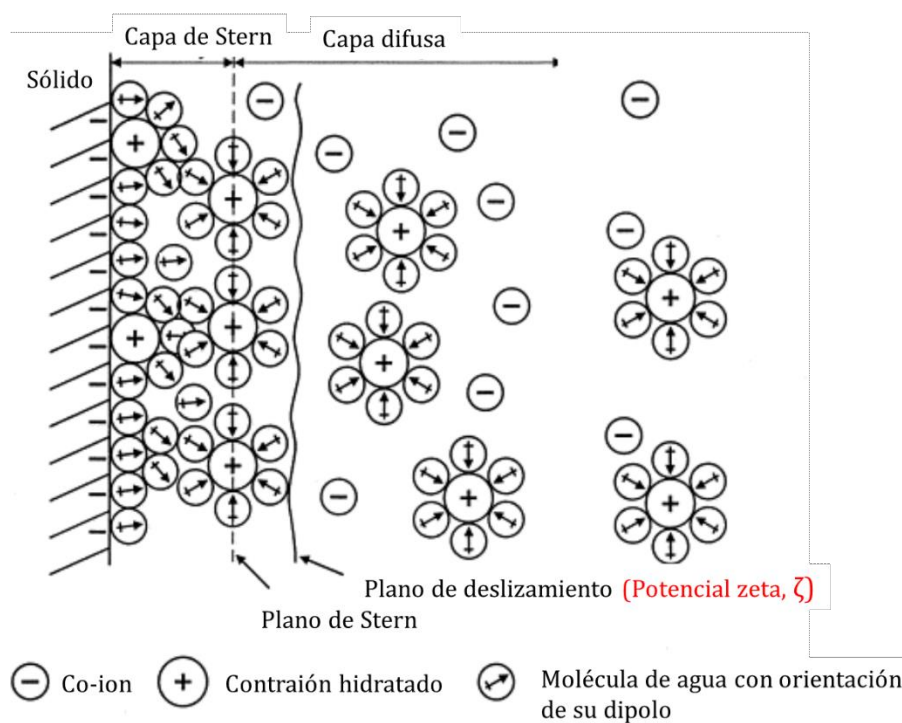


Figura 89 - Esquema de una superficie sólida cargada en una solución de electrolito. Adaptado de [201]

Los fenómenos electrocinéticos están determinados por el potencial zeta, más que por el potencial eléctrico en la superficie del sólido. ζ está relacionado con la movilidad electroforética y se puede calcular de distintas formas, en función del tamaño de la partícula. Las tres formas más utilizadas para relacionar potencial zeta y movilidad electroforética son tres: aproximación de Smoluchowski, aproximación de Hückel y ecuación de Henry [201].

1. **Aproximación de Smoluchowski** o de la doble capa fina: es la primera aproximación que se desarrolló para calcular el potencial zeta a partir de medidas experimentales de movilidad electroforética. Considera que las partículas coloidales son esféricas y que su radio (a), es mucho más grande que el espesor de la doble capa eléctrica (κ_D^{-1}). Bajo estas condiciones, el campo eléctrico aplicado afecta al movimiento de la partícula, ya que ésta experimenta un campo distorsionado y se cumple la expresión:

$$\zeta = \frac{\eta}{\varepsilon_0 \varepsilon_t} \mu_e \quad \text{Ecuación 35}$$

Donde η es la viscosidad del disolvente y ε_0 y ε_r son las permitividades del vacío y del solvente, respectivamente.

2. **Aproximación de Hückel o de la doble capa gruesa:** considera que las partículas coloidales son esféricas y que su radio (a) es mucho más pequeño que el espesor de la doble capa eléctrica (κ_D^{-1}). Bajo estas condiciones el campo eléctrico aplicado no provoca ningún movimiento del líquido situado alrededor de la partícula, es decir, la partícula experimenta el campo casi sin distorsionar, y se cumple:

$$\zeta = \frac{3}{2} \frac{\eta}{\varepsilon_0 \varepsilon_t} \mu_e \quad \text{Ecuación 36}$$

3. **Ecuación de Henry:** Henry fue el primero en resolver el problema para esferas de cualquier radio (a) es decir, para cualquier valor de $\kappa_D a$, llegando a la siguiente ecuación:

$$\zeta = \frac{\eta}{\varepsilon_0 \varepsilon_t f(\kappa_D a)} \mu_e \quad \text{Ecuación 37}$$

Siendo $f(\kappa_D a)$ la función de Henry, que incluye las deformaciones en la polarización de la doble capa eléctrica de la partícula debidas al campo eléctrico aplicado. Considerando partículas esféricas, para valores de $\kappa_D a$ bajos ($\kappa_D a < 1$) la ecuación de Henry tiende a la aproximación de Hückel; mientras que para $\kappa_D a$ altos, que se dan en medios viscosos ($\kappa_D a > 1$), a la expresión de Smoluchowski.

Para medir el potencial zeta se ha utilizado la técnica de Electroforesis Laser Doppler, LDE, basada en el principio básico del efecto Doppler, que supone la variación de frecuencia de cualquier tipo de onda emitida o recibida por una partícula en movimiento [189]. Para esto se usan de un par de láser coherentes procedentes de una única fuente y enfocados, mediante unos espejos, hacia un punto concreto de la célula de medida en la cual se cruzan, iluminando las partículas que pasan. Este punto está localizado sobre la capa estacionaria, donde la velocidad de las partículas se debe únicamente a su velocidad electroforética. Además, en este punto se generan franjas de interferencia de Young, de espaciado conocido, con las que interactúan las partículas dispersando luz, cuya intensidad fluctúa con una frecuencia que está relacionada con la velocidad de las partículas. La luz dispersada se registra mediante un detector enfocado hacia el punto de cruce de los haces que determina la función de autocorrelación, a partir del cual se obtiene la movilidad electroforética de las partículas.

6.1.8.2. Instrumental

Las medidas de potencial zeta de los nanoadsorbentes MMS, MMST y MMST-Ph se realizaron con un instrumento Zetasizer Nano ZS de Malvern, en el Laboratorio de Operaciones, Departamento de Química, Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Comahue. Primero se prepararon dispersiones (100 mg L^{-1}) de las nanopartículas en

agua Milli Q™ y se sonicaron durante 20 minutos. A estas dispersiones se las mantuvo en agitación y se les ajustó el pH con soluciones de distintas concentraciones de NaOH y HCl a valores entre 3 y 12. Luego, se introdujo lentamente cada una de las dispersiones a una celda con electrodos (Figura 70) con ayuda de una jeringa, procurando que no hayan quedado burbujas de aire. Una vez introducida la celda en el equipo, todo el proceso está controlado por el software. Se ingresaron como parámetros el índice de refracción, la viscosidad y la constante dieléctrica del solvente empleado (agua, en este caso) y la temperatura de trabajo ($25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$). Se dejó por defecto la aproximación de Smoluchowski.

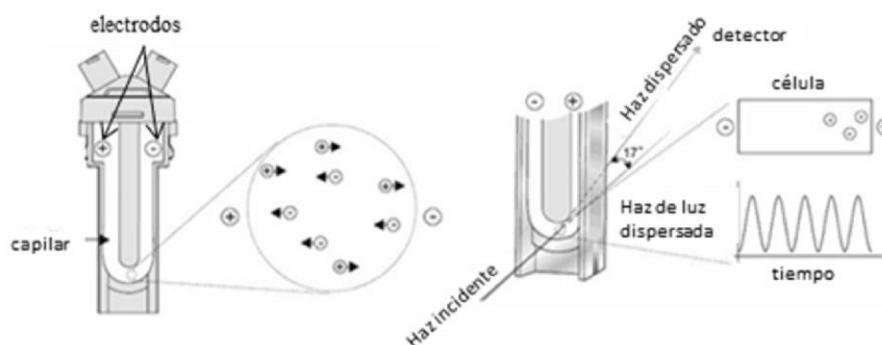


Figura 90 - Esquema de la celda de medición para potencial zeta. Adaptado de [189]

6.2. MÉTODOS ANALÍTICOS

6.2.1. Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

6.2.1.1. Fundamentos

La espectroscopía de luz ultravioleta-visible (UV-Vis) es una de las técnicas analíticas más comunes de los laboratorios modernos para determinar la concentración de soluciones de moléculas orgánicas individuales. Como todas las técnicas espectroscópicas se basa en la interacción entre la materia y la energía radiante. En este trabajo, se utilizó UV-Vis para cuantificar el IBU liberado por los nanotransportadores y la remoción individual de CBZ y DCF mediante los nanoadsorbentes.

En un espectrofotómetro, una fuente de luz emite radiación electromagnética y un monocromador selecciona el intervalo de longitud de onda requerido. El haz de luz seleccionado pasa por una celda que contiene la muestra y por una referencia. Si la energía irradiada está en fase con la energía necesaria para que la muestra genere un cambio, entonces la muestra absorbe energía y la intensidad del haz saliente es diferente de la intensidad del haz incidente. La diferencia de intensidad entre la referencia y la muestra son registradas por un detector.

En un espectrofotómetro UV-Vis se utiliza una radiación incidente con una longitud de onda entre 200 y 800 nm, que causa en las moléculas orgánicas transiciones de electrones de la capa de valencia desde un orbital molecular ocupado a un orbital molecular desocupado. En esta transición, la muestra absorbe energía equivalente a la diferencia de energía entre esos orbitales. La absorbancia (A) de la muestra se relaciona con su concentración molar (c) a través de la Ley de Lambert-Beer.

$$A = \log\left(\frac{I_{\text{referencia}}}{I_{\text{muestra}}}\right) = \varepsilon bc$$

Ecuación 38

Donde $\varepsilon(\lambda)$ es el coeficiente de atenuación molar, absorptividad molar o coeficiente de extinción molar de la molécula y b (cm) es el camino óptico, en la práctica el ancho de la cubeta. Para cuantificar la concentración de una muestra, primero se obtiene su espectro barriendo en todo el rango de longitudes de onda (λ). Se selecciona un valor de λ , preferentemente donde la sustancia posea una absorbancia elevada para tener una mayor sensibilidad. Luego se construye una curva de calibración, preparando soluciones de la sustancia a cuantificar con diferentes valores de concentración conocidos y midiendo sus absorbancias. Al realizar una regresión lineal de A vs c se obtiene $\varepsilon(\lambda)$ a partir de la pendiente de la recta. Luego se mide la absorbancia de la muestra de concentración desconocida y finalmente, se obtiene su concentración a partir de la Ley de Lambert-Beer.

6.2.1.2. Instrumental

La cuantificación de ibuprofeno en los ensayos de liberación *in vitro* se realizó por espectroscopía UV-Visible (Sección 3.2.3). Las soluciones líquidas se colocaron dentro de una cubeta de cuarzo con dos caras lisas y dos esmeriladas y se llevaron a un espectrofotómetro UV T60 (PG Instruments).

En primer lugar, se prepararon soluciones acuosas para una curva de calibración. Para esto se pesaron 10.7 mg de ibuprofeno Sigma en una balanza analítica (Mettler Toledo) y se llevaron a un matraz aforado de 100 mL. La solución se sonicó durante 20 min, luego se agregaron 3 gotas de solución de NaOH 1 M hasta pH 8.0 y se dejó en agitación magnética 1 h. De esta solución madre de IBU ($5.185 \cdot 10^{-4}$ M), se tomaron alícuotas de distintos volúmenes a partir de esta solución con pipetas automáticas y se llevaron a volumen final en matraces de 10 mL (Tabla 21). Se midió el espectro de absorbancia de cada una de estas disoluciones desde 200 hasta 600 nm y se tomó la absorbancia a 221 nm por presentar un pico pronunciado. A partir de los datos de la Tabla 21, se realizó una regresión lineal de la concentración de IBU en función de la absorbancia. De la pendiente de la recta resultante se obtuvo $\varepsilon(221 \text{ nm}) = 8660 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($R^2 0.998$).

Tabla 21 - Curva de calibración de ibuprofeno para su cuantificación por espectroscopía UV-Vis

Volumen solución madre (μL)	Concentración IBU dilución (M)	A (221 nm)
2500	$1.30 \cdot 10^{-4}$	1.171
1250	$6.5 \cdot 10^{-5}$	0.592
625	$3.25 \cdot 10^{-5}$	0.449
300	$1.56 \cdot 10^{-5}$	0.144
150	$7.78 \cdot 10^{-6}$	0.084

Conocida la curva de calibración, se midió la absorbancia de las soluciones de ibuprofeno y partir de ella se determinó su concentración molar.

6.2.2. Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)

6.2.2.1. Fundamentos

La cromatografía líquida de alta performance (HPLC, *High-Performance Liquid Chromatography*) es una técnica de la química analítica que permite la separación, cuantificación e incluso identificación de los componentes de una mezcla. En este trabajo de tesis, se utilizó un HPLC para la cuantificación de CECs tanto en modo individual como en mezclas, durante los ensayos de adsorción con MMST y MMST-Ph.

En un equipo HPLC, se inyecta una muestra líquida (20-200 μL) a una columna rellena de un material adsorbente (fase estacionaria), mientras que un solvente (fase móvil) presurizado por bombas fluye a través de la columna. Cada componente de la muestra puede interactuar de modo diferente con la fase estacionaria, causando diferentes velocidades de flujo para los distintos componentes, lo que resulta en su separación mientras fluyen fuera de la columna. Las velocidades de flujo de cada componente se miden como diferentes tiempos de retención dentro de la columna, que dependen de las características de la sustancia, de la fase estacionaria, la fase móvil, la temperatura, el flujo, entre las más importantes. Los componentes, una vez separados llegan a un detector adecuado según la naturaleza de las sustancias. Este detector permite cuantificar, y en ocasiones identificar las sustancias.

Lo que distingue a la HPLC de la cromatografía líquida tradicional es la elevada presión operacional: en HPLC se usan presiones entre 50 y 350 bar, mientras que en cromatografía líquida ordinaria se usa la fuerza de gravedad (~ 1 bar) para hacer pasar la fase móvil a través de la columna. Las columnas de HPLC son usualmente tubos de acero inoxidable con longitud entre 50 y 250 mm y 1-4.6 mm de diámetro, rellenos de partículas de sílice modificadas (con diámetro entre 1 y 50 μm) [202]. Estas características hacen que la HPLC posea un poder de resolución de componentes de una mezcla muy superior a la cromatografía líquida tradicional. Mientras menor sea el tamaño de partículas del relleno, mejor es la capacidad de resolución de la mezcla.

Para analitos que son moléculas orgánicas, la columna suele estar rellena de esferas de sílice no porosa modificada con algún organosilano con cadena lateral hidrocarbonada (C_{18}), es decir, la fase estacionaria es no polar. La fase móvil es en general una mezcla de agua con algún solvente orgánico cuya composición puede ser fija (isocrático) o variable (gradiente) con el tiempo. Entre los diversos detectores, se encuentran los UV-Vis, de fluorescencia, de espectrometría de masas, entre otros.

6.2.2.2. Instrumental

Se utilizó HPLC para determinar la concentración de IBU en forma individual (Sección 4.2.4) y en mezclas de IBU, DCF y CBZ (Sección 4.2.7), en los ensayos de adsorción con los MMST y MMST-Ph. Para todos los ensayos se utilizó un cromatógrafo HPLC (Agilent 1260, 4 bombas VL) con un detector UV de arreglo de diodos (DAD), una columna de fase reversa C-18 (Lichrospher, 250 mm \times 4.5 mm d.i. 5 mm), el caudal se fijó en caudal de 1 mL min^{-1} y el volumen de inyección fue de 20 μL .

La elución de ibuprofeno se logró en gradiente isocrático usando como fase móvil solución acuosa de ácido fórmico (0.1 % m/V) y acetonitrilo en 50:50 v/v. La longitud de onda de detección se fijó en 221 nm y el tiempo de retención resultó en aproximadamente 5.5 min.

Se logró la elución de mezclas acuosas de IBU, DCF y CBZ con un gradiente de una fase móvil de agua (ácido fórmico 0.1 % m/V) / metanol desde una composición 80:20 v/v hasta 30:70 v/v en 15 min. Las longitudes de onda de detección para IBU, DCF y CBZ fueron 221 nm, 271 nm y 221 nm respectivamente. Los tiempos de retención correspondientes resultaron en 12.0 min, 11.0 min y 8.5 min.

Para determinar las concentraciones se prepararon estándares de los analitos de 20, 10, 5, 2 y 1 ppm. Se midieron estos estándares por HPLC mediante el método adecuado y se construyó una curva de calibración del área en función de la concentración. A partir de la curva de calibración, se calculó la concentración de muestras de los ensayos de adsorción con el área medida experimentalmente.

6.2.3. Cromatografía Gaseosa (GC)

6.2.3.1. Fundamentos

La cromatografía gas-líquido, más comúnmente llamada cromatografía gaseosa (GC, *gas chromatography*), constituye una técnica cromatográfica de alta resolución ampliamente difundida en laboratorio de diferentes disciplinas. En este trabajo de tesis se utilizó GC para separar y cuantificar mezclas de PAHs e hidrocarburos alifáticos, durante los ensayos de adsorción con los nanoadsorbentes.

El análisis de moléculas orgánicas por GC, requiere la inyección de la muestra disuelta en un solvente orgánico (1-2 μL) a un puerto de inyección calentado (200-300 $^{\circ}\text{C}$), donde la muestra pasa a la fase gaseosa y es arrastrada hacia una columna revestida de sílice revestida (fase estacionaria) mediante un gas transportador, como He o N_2 . Los analitos deben poder volatilizarse sin descomponerse térmicamente.

En un cromatógrafo GC el gas de arrastre mueve los analitos a través de un capilar (columna). Las columnas de GC modernas poseen una longitud entre 10 y 100 m, un diámetro entre 0.1 y 0.5 mm y poseen un interior revestido con un polisiloxano modificado [202]. La separación de los componentes de la muestra ocurre gracias a la diferencia de afinidad de las moléculas orgánicas por la fase gaseosa o la fase estacionaria. Los componentes migran a través de la columna en base a la combinación de propiedades físicas, como el punto de ebullición y su afinidad por la fase estacionaria. La capacidad de resolución de GC depende de la temperatura, flujo, dimensiones y composición de la columna.

Una vez que los componentes eluyen de la columna, son cuantificados por un detector acoplado al equipo. Como en HPLC, hay un gran número de detectores disponibles, algunos ampliamente aplicables y otros específicos para una clase de compuestos. El detector más común es el de flama ionizante, donde el eluido de la columna pasa a través de una llama alimentada con hidrógeno y los iones resultantes producen una señal electrónica que se mide mientras pasan entre dos placas cargadas [202].

6.2.3.2. Instrumental

Se utilizó GC para cuantificar mezclas de hidrocarburos policíclicos aromáticos (Sección 4.2.5) y mezclas de hidrocarburos alifáticos (Sección 4.2.6), en los ensayos de adsorción con MMST y MMST-Ph. En todos los casos se empleó un cromatógrafo gaseoso Agilent 6890 equipado con una columna de sílice fundida ZB-5 (30 m longitud, 0.25 mm d.i., 0.25 μm de espesor de película) utilizando N_2 como gas de arrastre (2 mL min^{-1}).

Una vez concentrados y disueltos con diclorometano, se inyectó la mezcla de PAHs al cromatógrafo gaseoso equipado con un detector de masas (GC-MS). La temperatura de la columna comenzó en 35°C, se llevó a 300°C con una rampa de 6 °C min⁻¹ y se mantuvo durante 5 min a 300 °C. Las muestras se corrieron en modo de impacto de electrones a 70 eV y en el modo de monitoreo de electrones seleccionado con un tiempo de escaneo de 4.04 s sobre un rango de resolución de 50-450 amu. Cada compuesto se reconoció por un ion objetivo y dos calificadores.

La mezcla de hidrocarburos alifáticos de la WSFD, una vez concentrados y disueltos con diclorometano, se llevaron al cromatógrafo gaseoso equipado en este caso con un detector de flama ionizante (GC-FID). La temperatura de la columna se programó para subir de 35 °C a 300 °C, a una velocidad de calentamiento de 6 °C min⁻¹ y se mantuvo a esta última temperatura durante 5 min.

6.2.4. Espectroscopía de Fluorescencia

6.2.4.1. Fundamentos

En química analítica, la espectroscopía de fluorescencia constituye una técnica de cuantificación altamente sensible de moléculas que emiten fluorescencia. En esta tesis, se utilizó para la cuantificación de antraceno. La fluorescencia es un fenómeno electrónico que ocurre en moléculas con electrones π conjugados cuando se absorben fotones, como puede representarse en un diagrama de Jablonski (Figura 91). Cuando se irradia la muestra con luz, las moléculas absorben fotones y son excitadas, desde un estado electrónico fundamental de baja energía (S_0), a hasta un estado electrónico excitado de alta energía. Entre estos niveles electrónicos existen varios estados vibracionales. La molécula cae inmediatamente al estado de energía vibracional más bajo del nivel electrónico excitado singlete. La molécula excitada puede volver al estado S_0 de dos formas sucesivas [203]. Primero, por conversión interna, lo que significa que la molécula regresa a un estado excitado de menor energía (S_2 a S_1), lo que suele ocurrir cuando hay una diferencia de energía relativamente pequeña entre dos estados electrónicos. Aquí la energía es transferida a los modos vibracionales del estado electrónico. Segundo, para alcanzar el estado fundamental (S_0) la molécula puede pasar por alguno de los siguientes procesos competitivos: Por fluorescencia (emisión de fotones), conversión externa, cruce entre sistemas a un triplete excitado o por extinción de fluorescencia (*quenching*). En conversión externa, la energía se pierde mediante colisiones del fluoróforo con moléculas del solvente. El cruce entre sistemas ocurre cuando los niveles vibracionales del estado singlete y triplete excitado se superponen en energía y los electrones pasan del estado excitado singlete más bajo al primer estado triplete excitado. La emisión de fotones cuando se regresa al estado fundamental se conoce como fosforescencia. En general estas transiciones al estado triplete son prohibidas.

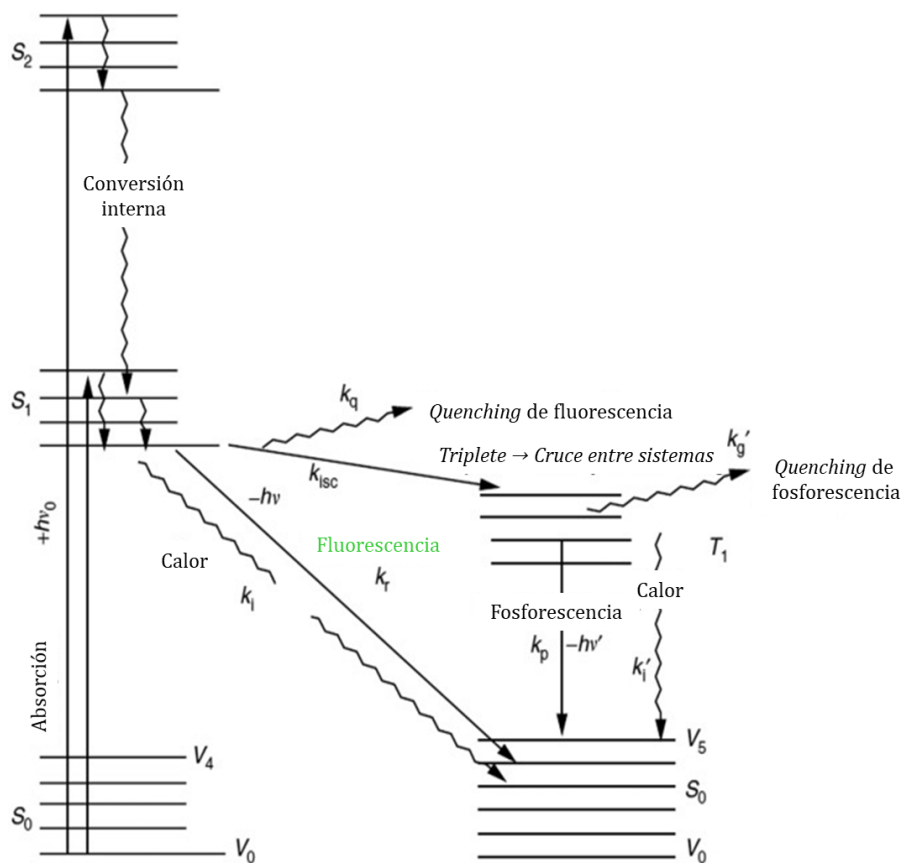


Figura 91 - Diagrama de Jablonski. Adaptado de [203].

La intensidad de fluorescencia (I_F) es directamente proporcional a la intensidad de la luz de excitación (I_0) [204]:

$$I_F = 2.303 K I_0 \epsilon bc \quad \text{Ecuación 39}$$

Donde K es una constante basada en la geometría del instrumento, I_0 es la intensidad de la luz de excitación, ϵ es la absorptividad molar, b es el camino óptico y c es la concentración. Como la intensidad de fluorescencia no es proporcional a la intensidad de la luz incidente, como ocurre en absorción UV-Vis, la sensibilidad de la fluorescencia es mucho mayor, pues no está limitada por la capacidad del instrumento para diferenciar intensidades incidentes y detectadas. La Ecuación 39 es lineal solo cuando la absorbancia de la muestra es menor a 0.05 u.a. Si la muestra es demasiado concentrada, la luz de emisión puede ser reabsorbida por el fluoróforo, atenuando la señal de fluorescencia a longitudes de onda más cortas.

Un fluorómetro es el instrumento usado para medir fluorescencia. La luz de una fuente de excitación pasa a través de monocromador y llega a la muestra. Una parte de la luz incidente es absorbida por la misma y algunas de sus moléculas emiten fluorescencia. La luz fluorescente se emite en todas direcciones. Parte de esta luz fluorescente pasa a través de un segundo monocromador y llega a un detector, que generalmente se coloca a 90° del haz de luz incidente para minimizar el riesgo de que la luz incidente transmitida o reflejada llegue al detector. Pueden obtenerse espectros de excitación y de emisión. Para medir los espectros de fluorescencia o emisión, la longitud de onda de la luz de excitación se mantiene constante, preferiblemente a una longitud de onda de alta absorción, y se

escanea el espectro de emisión en un rango de longitudes de onda. La fluorescencia medida es muy dependiente de diseño del instrumento y de sus componentes.

6.2.4.2. Instrumental

Se cuantificó antraceno por fluorescencia durante los ensayos de adsorción con MMST y MMST-Ph (Sección 4.2.4). Para esto se colocaron las muestras acuosas en una cubeta de cuarzo con caras transparentes de 1 cm de lado y se llevaron a un espectrofotómetro de fluorescencia (Hitachi F-7000). La longitud de onda de excitación fue de 250 nm y el espectro de emisión se midió entre 300 y 480 nm.

Para la curva de calibración, se prepararon soluciones acuosas de concentración conocida de ANT a partir de una solución madre, con $5 \mu\text{g L}^{-1} < [\text{ANT}]_0 < 70 \mu\text{g L}^{-1}$. Se midió la intensidad de fluorescencia a 380.6 nm y se obtuvo la curva de calibración: $I_f(380.6\text{nm}) = 1,039 [\text{ANT}(\mu\text{g L}^{-1})] + 1,220$.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

“La ciencia no conoce países, porque el conocimiento pertenece a la humanidad, y es la antorcha que ilumina el mundo”

Louis Pasteur

7. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Derivados de este trabajo de tesis doctoral, se realizaron y publicaron 4 trabajos en revistas científicas con referato:

- *Synthesis and in vitro testing of thermoresponsive polymer-grafted core-shell magnetic mesoporous silica nanoparticles for efficient controlled and targeted drug delivery.* M. E. Peralta, S. A. Jadhav, G. Magnacca, D. Scalarone, D. O. Mártire, M. E. Parolo and L. Carlos. *Journal of Colloid and Interface Science* 544 (2019), 198-205. DOI: 10.1016/j.jcis.2019.02.086



Regular Article

Synthesis and in vitro testing of thermoresponsive polymer-grafted core-shell magnetic mesoporous silica nanoparticles for efficient controlled and targeted drug delivery



Marcos E. Peralta^a, Sushilkumar A. Jadhav^{b,c,*}, Giuliana Magnacca^b, Dominique Scalarone^b, Daniel O. Mártire^d, María E. Parolo^e, Luciano Carlos^{a,*}

- *Recent studies on magnetic mesoporous nanomaterials for water treatments.* Santiago Ocampo, Marcos E. Peralta, María E. Parolo, Luciano Carlos. *Anales de la Asociación Química Argentina División Jóvenes Profesionales* 106 (2) (2019), 56-78. <https://www.aqa.org.ar/index.php/volumenes-publicados>.

Anales de la Asociación Química Argentina

División Jóvenes Profesionales



Mini-Review

RECENT STUDIES ON MAGNETIC MESOPOROUS NANOMATERIALS FOR WATER TREATMENTS

Santiago Ocampo,¹ Marcos E. Peralta,¹ María E. Parolo,² Luciano Carlos,^{1,*}

- *Nanomaterials with Tailored Magnetic Properties as Adsorbents of Organic Pollutants from Wastewaters.* Marcos E. Peralta, Santiago Ocampo, Israel Germán Funes, Florencia Onaga Medina, María E. Parolo and Luciano Carlos. *Inorganics* (2020), 8, 24. DOI: 10.3390/inorganics8040024.



inorganics



Review

Nanomaterials with Tailored Magnetic Properties as Adsorbents of Organic Pollutants from Wastewaters

Marcos E. Peralta ¹, Santiago Ocampo ¹, Israel G. Funes ², Florencia Onaga Medina ², María E. Parolo ² and Luciano Carlos ^{1,*}

- *Versatile nanoadsorbents based on magnetic mesostructured silica nanoparticles with tailored surface properties for organic pollutants removal.* Marcos E. Peralta, Daniel O. Mártire, M. Sergio Moreno, María E. Parolo and Luciano Carlos. *Journal of Environmental Chemical Engineering* (2021). 104041. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104841>

Journal of Environmental Chemical Engineering 9 (2021) 104841



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Environmental Chemical Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jece



Versatile nanoadsorbents based on magnetic mesostructured silica nanoparticles with tailored surface properties for organic pollutants removal



Marcos E. Peralta ^a, Daniel O. Mártire ^b, M. Sergio Moreno ^c, María E. Parolo ^d, Luciano Carlos ^{a,*}

Asimismo, se presentaron trabajos en 3 reuniones científicas:

- Nanopartículas de Fe₃O₄@SiO₂ mesoporosa hidrofóbicas para la remoción de antraceno. Peralta, M.E.; Funes, I.; Magnacca, G.; Mártire, D.O.; Parolo, M.E. y Carlos, L. Tercer Simposio sobre Adsorción Adsorbentes y sus Aplicaciones (SAASA). Facultad de Ingeniería, UNCo. Febrero de 2018. Tipo de participación: asistencia, póster.
- *Thermoresponsive polymer-coated hybrid magnetic mesoporous silica nanoparticles as smart pharmaceutical nanocarriers.* S. A. Jadhav, M. E. Peralta, G. Magnacca, D. Scalarone, D. O. Mártire, M. E. Parolo and L. Carlos. Third international conference on advances in material science (ICAMS) 2018. Shivaji University Kolhapur, Maharashtra, India. Diciembre 2018. Tipo de participación: colaborador.

- Nanopartículas *core-shell* a base de sílice mesoporosa con respuesta térmica y magnética: aplicación en liberación controlada de fármacos. Peralta M., Jadhav S., Magnacca G., Scaralone D., Mártire D., Parolo M. y L. Carlos. XXI Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Universidad Nacional de Tucumán. Abril de 2019. Tipo de participación: asistencia, póster.

Además, se realizaron dos estadías de investigación en el exterior durante tres meses en el Departamento de Química de la Universidad de Torino, Italia con los grupos de la Prof. Giuliana Magnacca y la Prof. Dominique Scaralone. Estas estadías se efectuaron entre abril y junio de 2017 y entre abril y junio de 2018.

BIBLIOGRAFÍA

“Si he visto más allá, es subiéndome a hombros de gigantes”

Isaac Newton

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] A.H. Lu, E.L. Salabas, F. Schüth, Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 46 (2007) 1222–1244. <https://doi.org/10.1002/anie.200602866>.
- [2] A. Farzin, S.A. Etesami, J. Quint, A. Memic, A. Tamayol, Magnetic Nanoparticles in Cancer Therapy and Diagnosis, *Adv. Healthc. Mater.* 1901058 (2020) 1–29. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901058>.
- [3] Y. Wang, H. Gu, Core-shell-type magnetic mesoporous silica nanocomposites for bioimaging and therapeutic agent delivery, *Adv. Mater.* 27 (2015) 576–585. <https://doi.org/10.1002/adma.201401124>.
- [4] M.A. Agotegaray, V.L. Lassalle, *Silica-coated Magnetic Nanoparticles An Insight into Targeted Drug Delivery and Toxicology*, Springer Nature, Cham, Switzerland, 2017.
- [5] M. Stuart, D. Lapworth, E. Crane, A. Hart, Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater, *Sci. Total Environ.* 416 (2012) 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.072>.
- [6] L.M. Gómez-Oliván, ed., *Pollution of Water Bodies in Latin America*, Springer Nature Switzerland, 2019. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8>.
- [7] R.M. Loewy, L.B. Monza, K.E. Veronica, M.C. Savini, Pesticide distribution in an agricultural environment in Argentina, *J. Environ. Sci. Heal. Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes.* 46 (2011) 662–670. <https://doi.org/10.1080/03601234.2012.592051>.
- [8] L.B. Monza, R.M. Loewy, M.C. Savini, A.M. Pechen De Dangelo, Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments from the Neuquen River, Argentine Patagonia, *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* 48 (2013) 370–379. <https://doi.org/10.1080/10934529.2013.728097>.
- [9] T. Wang, S. Ai, Y. Zhou, Z. Luo, C. Dai, Y. Yang, J. Zhang, H. Huang, S. Luo, L. Luo, Adsorption of agricultural wastewater contaminated with antibiotics, pesticides and toxic metals by functionalized magnetic nanoparticles, *J. Environ. Chem. Eng.* 6 (2018) 6468–6478. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.10.014>.
- [10] B.K. Sodipo, A.A. Aziz, Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica, *J. Magn. Magn. Mater.* 416 (2016) 275–291. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2016.05.019>.
- [11] Y. Deng, Q. Yue, J. Sun, Y. Kang, Recent Advance in Interfacial Assembly Growth of Mesoporous Silica on Magnetite Particles, *Angew. Chemie Int. Ed.* (2019). <https://doi.org/10.1002/anie.201911690>.
- [12] Y. Chen, H. Chen, J. Shi, In vivo bio-safety evaluations and diagnostic/therapeutic applications of chemically designed mesoporous silica nanoparticles, *Adv. Mater.* 25 (2013) 3144–3176. <https://doi.org/10.1002/adma.201205292>.
- [13] J. Wen, K. Yang, F. Liu, H. Li, Y. Xu, S. Sun, Diverse gatekeepers for mesoporous silica nanoparticle based drug delivery systems, *Chem. Soc. Rev.* 46 (2017) 6024–6045. <https://doi.org/10.1039/C7CS00219J>.
- [14] M. Manzano, M. Vallet-Regí, Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery, *Adv. Funct. Mater.* 30 (2019) 1902634. <https://doi.org/10.1002/adfm.201902634>.
- [15] V. Brunella, S.A. Jadhav, I. Miletto, G. Berlier, E. Ugazio, S. Sapino, D. Scalarone, Hybrid drug carriers with temperature-controlled on-off release: A simple and reliable synthesis of PNIPAM-functionalized mesoporous silica nanoparticles, *React. Funct. Polym.* 98 (2016) 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2015.11.006>.
- [16] V.B. Cashin, D.S. Eldridge, A. Yu, D. Zhao, Surface functionalization and manipulation of mesoporous silica adsorbents for improved removal of pollutants: A review, *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 4 (2018) 110–128. <https://doi.org/10.1039/c7ew00322f>.
- [17] Y. Huang, A.N. Fulton, A.A. Keller, Optimization of porous structure of

- superparamagnetic nanoparticle adsorbents for higher and faster removal of emerging organic contaminants and PAHs, *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 2 (2016) 521–528. <https://doi.org/10.1039/c6ew00066e>.
- [18] M. Colombo, S. Carregal-Romero, M.F. Casula, L. Gutiérrez, M.P. Morales, I.B. Böhm, J.T. Heverhagen, D. Prospero, W.J. Parak, Biological applications of magnetic nanoparticles, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 4306–4334. <https://doi.org/10.1039/c2cs15337h>.
- [19] R. Nisticò, F. Cesano, F. Garello, Magnetic materials and systems: Domain structure visualization and other characterization techniques for the application in the materials science and biomedicine, 2020. <https://doi.org/10.3390/inorganics8010006>.
- [20] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, W.S. Kim, Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 16 (2015) 23501. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/2/023501>.
- [21] E. Tombácz, R. Turcu, V. Socoliuc, L. Vékás, Magnetic iron oxide nanoparticles: Recent trends in design and synthesis of magneto-responsive nanosystems, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 468 (2015) 442–453. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.08.030>.
- [22] M. Mahmoudi, H. Hofmann, B. Rothen-Rutishauser, A. Petri-Fink, Assessing the in vitro and in vivo toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles, *Chem. Rev.* 112 (2012) 2323–2338. <https://doi.org/10.1021/cr2002596>.
- [23] R.M. Cornell, U. Schwertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2003. <https://doi.org/10.1038/236285b0>.
- [24] E.C. Sklute, S. Kashyap, M.D. Dyar, J.F. Holden, T. Tague, P. Wang, S.J. Jaret, Spectral and morphological characteristics of synthetic nanophase iron (oxyhydr)oxides, *Phys. Chem. Miner.* 45 (2018) 1–26. <https://doi.org/10.1007/s00269-017-0897-y>.
- [25] E.S.D.T. de Mendonça, A.C.B. de Faria, S.C.L. Dias, F.F.H. Aragón, J.C. Mantilla, J.A.H. Coaquira, J.A. Dias, Effects of silica coating on the magnetic properties of magnetite nanoparticles, *Surfaces and Interfaces.* 14 (2019) 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2018.11.005>.
- [26] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R.N. Muller, Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations and biological applications, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2064–2110. <https://doi.org/10.1021/cr068445e>.
- [27] J.F. De Carvalho, S.N. De Medeiros, M.A. Morales, A.L. Dantas, A.S. Carriço, Synthesis of magnetite nanoparticles by high energy ball milling, *Appl. Surf. Sci.* 275 (2013) 84–87. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.01.118>.
- [28] A.A. Bharde, R.Y. Parikh, M. Baidakova, S. Jouen, B. Hannoyer, T. Enoki, B.L.V. Prasad, Y.S. Shouche, S. Ogale, M. Sastry, Bacteria-mediated precursor-dependent biosynthesis of superparamagnetic iron oxide and iron sulfide nanoparticles, *Langmuir.* 24 (2008) 5787–5794. <https://doi.org/10.1021/la704019p>.
- [29] O. Karaagac, H. Kockar, S. Beyaz, T. Tanrisever, A simple way to synthesize superparamagnetic iron oxide nanoparticles in air atmosphere: Iron ion concentration effect, *IEEE Trans. Magn.* 46 (2010) 3978–3983. <https://doi.org/10.1109/TMAG.2010.2076824>.
- [30] G. Magnacca, A. Allera, E. Montoneri, L. Celi, D.E. Benito, L.G. Gagliardi, L. Carlos, Novel magnetite nanoparticles coated with waste sourced bio-based substances as sustainable and renewable adsorbing materials, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2 (2014) 1518–1524. <https://doi.org/10.1021/sc500213j>.
- [31] R. Massart, Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media, *IEEE Trans. Magn.* 17 (1981) 1247–1248. <https://doi.org/10.1109/TMAG.1981.1061188>.
- [32] P. Azcona, R. Zysler, V. Lassalle, Simple and novel strategies to achieve shape and size

- control of magnetite nanoparticles intended for biomedical applications, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 504 (2016) 320–330. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.05.064>.
- [33] M.E. Peralta, R. Nisticò, F. Franzoso, G. Magnacca, M.E. Parolo, E.G. León, L. Carlos, Highly efficient removal of heavy metals from waters by magnetic chitosan-based composite, *Adsorption*. 25 (2019) 1337–1347. <https://doi.org/10.1007/s10450-019-00096-4>.
- [34] S. Wan, J. Huang, H. Yan, K. Liu, Size-controlled preparation of magnetite nanoparticles in the presence of graft copolymers, *J. Mater. Chem.* 16 (2006) 298–303. <https://doi.org/10.1039/b512605c>.
- [35] Y. Liu, T. Cui, Y. Li, Y. Zhao, Y. Ye, W. Wu, G. Tong, Effects of crystal size and sphere diameter on static magnetic and electromagnetic properties of monodisperse Fe₃O₄ microspheres, *Mater. Chem. Phys.* 173 (2016) 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.01.053>.
- [36] C. Cheng, Y. Wen, X. Xu, H. Gu, Tunable synthesis of carboxyl-functionalized magnetite nanocrystal clusters with uniform size, *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 8782. <https://doi.org/10.1039/b910832g>.
- [37] H. Deng, X. Li, Q. Peng, X. Wang, J. Chen, Y. Li, Monodisperse Magnetic Single-Crystal Ferrite Microspheres, *Angew. Chemie.* 117 (2005) 2842–2845. <https://doi.org/10.1002/ange.200462551>.
- [38] T. Fan, D. Pan, H. Zhang, Study on formation mechanism by monitoring the morphology and structure evolution of nearly monodispersed Fe₃O₄ submicroparticles with controlled particle sizes, *Ind. Eng. Chem. Res.* 50 (2011) 9009–9018. <https://doi.org/10.1021/ie200970j>.
- [39] W. Wang, B. Tang, B. Ju, S. Zhang, Size-controlled synthesis of water-dispersible superparamagnetic Fe₃O₄ nanoclusters and their magnetic responsiveness, *RSC Adv.* 5 (2015) 75292–75299. <https://doi.org/10.1039/c5ra14354c>.
- [40] A. Bunge, A.S. Porav, G. Borodi, T. Radu, A. Pîrnău, C. Berghian-Grosan, R. Turcu, Correlation between synthesis parameters and properties of magnetite clusters prepared by solvothermal polyol method, *J. Mater. Sci.* 54 (2019) 2853–2875. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-3030-9>.
- [41] W. Cai, J. Wan, Facile synthesis of superparamagnetic magnetite nanoparticles in liquid polyols, *J. Colloid Interface Sci.* 305 (2007) 366–370. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.10.023>.
- [42] J. Wan, W. Cai, X. Meng, E. Liu, Monodisperse water-soluble magnetite nanoparticles prepared by polyol process for high-performance magnetic resonance imaging, *Chem. Commun.* 4 (2007) 5004–5006. <https://doi.org/10.1039/b712795b>.
- [43] J. Liu, Z. Sun, Y. Deng, Y. Zou, C. Li, X. Guo, L. Xiong, Y. Gao, F. Li, D. Zhao, Highly water-dispersible biocompatible magnetite particles with low cytotoxicity stabilized by citrate groups, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 48 (2009) 5875–5879. <https://doi.org/10.1002/anie.200901566>.
- [44] S. Li, T. Zhang, R. Tang, H. Qiu, C. Wang, Z. Zhou, Solvothermal synthesis and characterization of monodisperse superparamagnetic iron oxide nanoparticles, *J. Magn. Magn. Mater.* 379 (2015) 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2014.12.054>.
- [45] J. Ge, Y. Hu, M. Biasini, W.P. Beyermann, Y. Yin, Superparamagnetic magnetite colloidal nanocrystal clusters, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 46 (2007) 4342–4345. <https://doi.org/10.1002/anie.200700197>.
- [46] H. Liu, S. Ji, Y. Zheng, M. Li, H. Yang, Modified solvothermal synthesis of magnetic microspheres with multifunctional surfactant cetyltrimethyl ammonium bromide and directly coated mesoporous shell, *Powder Technol.* 246 (2013) 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.06.007>.
- [47] J. Liang, H. Ma, W. Luo, S. Wang, Synthesis of magnetite submicrospheres with tunable size and superparamagnetism by a facile polyol process, *Mater. Chem. Phys.* 139

- (2013) 383–388. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.10.027>.
- [48] M. Thommes, K. Kaneko, A. V. Neimark, J.P. Olivier, F. Rodriguez-Reinoso, J. Rouquerol, K.S.W. Sing, Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.* 87 (2015) 1051–1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>.
- [49] I.I. Slowing, J.L. Vivero-Escoto, B.G. Trewyn, V.S.Y. Lin, Mesoporous silica nanoparticles: Structural design and applications, *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 7924–7937. <https://doi.org/10.1039/c0jm00554a>.
- [50] Y. Wan, D. Zhao, On the Controllable Soft-Templating Approach to Mesoporous Silicates, *Chem. Rev.* 107 (2007) 2821–2860. <https://doi.org/10.1021/cr068020s>.
- [51] T. Yanagisawa, T. Shimizu, K. Kuroda, C. Kato, The preparation of alkyltrimethylammonium-kanemite complexes and their conversion to microporous materials, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 63 (1990) 988–992. <https://doi.org/10.1246/bcsj.63.988>.
- [52] C.T. Kresge, M.E. Leonowicz, W.J. Roth, J.C. Vartuli, J.S. Beck, Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism, *Nature.* 359 (1992) 710–712. <https://doi.org/10.1038/359710a0>.
- [53] J.S. Beck, J.C. Vartuli, W.J. Roth, M.E. Leonowicz, C.T. Kresge, K.D. Schmitt, C.T.W. Chu, D.H. Olson, E.W. Sheppard, S.B. McCullen, J.B. Higgins, J.L. Schlenker, A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates, *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 10834–10843. <https://doi.org/10.1021/ja00053a020>.
- [54] R. Ryoo, J.M. Kim, C.H. Shin, J.Y. Lee, Synthesis and hydrothermal stability of a disordered mesoporous molecular sieve, *Stud. Surf. Sci. Catal.* 105 (1997) 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0167-2991\(97\)80537-X](https://doi.org/10.1016/S0167-2991(97)80537-X).
- [55] D. Zhao, Q. Huo, J. Feng, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, Nonionic triblock and star diblock copolymer and oligomeric surfactant syntheses of highly ordered, hydrothermally stable, mesoporous silica structures, *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 6024–6036. <https://doi.org/10.1021/ja974025i>.
- [56] D. Zhao, F. Jianglin, H. Qisheng, N. Melosh, G.H. Fredrickson, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores, *Science* (80-.). 279 (1998) 548–552. <https://doi.org/10.1111/nan.12224>.
- [57] C.Y. Lai, B.G. Trewyn, D.M. Jeftinija, K. Jeftinija, S. Xu, S. Jeftinija, V.S.Y. Lin, A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 4451–4459. <https://doi.org/10.1021/ja028650l>.
- [58] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba, Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 45 (2006) 3216–3251. <https://doi.org/10.1002/anie.200503075>.
- [59] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range, *J. Colloid Interface Sci.* 26 (1968) 62–69. [https://doi.org/10.1016/0021-9790\(68\)90017-0](https://doi.org/10.1016/0021-9790(68)90017-0).
- [60] J.S. Lettow, Y.J. Han, P. Schmidt-Winkel, P. Yang, D. Zhao, G.D. Stucky, J.Y. Ying, Hexagonal to mesocellular foam phase transition in polymer-templated mesoporous silicas, *Langmuir.* 16 (2000) 8291–8295. <https://doi.org/10.1021/la000660h>.
- [61] Y. Shi, B. Li, P. Wang, R. Dua, D. Zhao, Micelle swelling agent derived cavities for increasing hydrophobic organic compound removal efficiency by mesoporous micelle@silica hybrid materials, *Microporous Mesoporous Mater.* 155 (2012) 252–257. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.02.002>.
- [62] S.A. Jadhav, I. Miletto, V. Brunella, G. Berlier, D. Scalarone, Controlled post-synthesis grafting of thermoresponsive poly(*N*-isopropylacrylamide) on mesoporous silica nanoparticles, *Polym. Adv. Technol.* 26 (2015) 1070–1075. <https://doi.org/10.1002/pat.3534>.

- [63] H.-P. Lin, C.-Y. Mou, Salt effect in post-synthesis hydrothermal treatment of MCM-41, *Microporous Mesoporous Mater.* 55 (2002) 69–80. [https://doi.org/10.1016/S1387-1811\(02\)00407-9](https://doi.org/10.1016/S1387-1811(02)00407-9).
- [64] W. Wang, X. Ren, W. Yang, C. Zhang, H. Ru, Hierarchical mesoporous silica microspheres prepared by partitioned cooperative self-assembly process using sodium silicate as precursor and their drug release performance, *Microporous Mesoporous Mater.* 275 (2019) 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.08.017>.
- [65] Q. Huo, D.I. Margolese, G.D. Stucky, Surfactant Control of Phases in the Synthesis of Mesoporous Silica-Based Materials, *Chem. Mater.* 8 (1996) 1147–1160. <https://doi.org/10.1021/cm960137h>.
- [66] E. Lira, C.M. López, F. Oropeza, M. Bartolini, J. Alvarez, M. Goldwasser, F.L. Linares, J.-F. Lamonier, M.J. Pérez Zurita, HMS mesoporous silica as cobalt support for the Fischer–Tropsch Synthesis: Pretreatment, cobalt loading and particle size effects, *J. Mol. Catal. A Chem.* 281 (2008) 146–153. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATA.2007.11.014>.
- [67] Y. Deng, D. Qi, C. Deng, X. Zhang, D. Zhao, Superparamagnetic High-Magnetization Microspheres with an Fe₃O₄@SiO₂ Core and Perpendicularly Aligned Mesoporous SiO₂ Shell for Removal of Microcystins, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 28–29.
- [68] E. Ugazio, L. Gastaldi, V. Brunella, D. Scaroni, S.A. Jadhav, S. Oliaro-Bosso, D. Zonari, G. Berlier, I. Mileto, S. Sapino, Thermoresponsive mesoporous silica nanoparticles as a carrier for skin delivery of quercetin, *Int. J. Pharm.* 511 (2016) 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.024>.
- [69] M. Brigante, M.E. Parolo, P.C. Schulz, M. Avena, Synthesis, characterization of mesoporous silica powders and application to antibiotic removal from aqueous solution. Effect of supported Fe-oxide on the SiO₂ adsorption properties, *Powder Technol.* 253 (2014) 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.11.008>.
- [70] F. De Juan, E. Ruiz-Hitzky, Selective functionalization of mesoporous silica, *Adv. Mater.* 12 (2000) 430–432. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4095\(200003\)12:6<430::AID-ADMA430>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4095(200003)12:6<430::AID-ADMA430>3.0.CO;2-3).
- [71] N.K. Mal, M. Fujiwara, Y. Tanaka, Photocontrolled reversible release of guest molecules from coumarin-modified mesoporous silica, *Nature.* 421 (2003) 350–353. <https://doi.org/10.1038/nature01362>.
- [72] Y.H. Deng, C.C. Wang, J.H. Hu, W.L. Yang, S.K. Fu, Investigation of formation of silica-coated magnetite nanoparticles via sol-gel approach, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 262 (2005) 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.04.009>.
- [73] P. Wu, J. Zhu, Z. Xu, Template-assisted synthesis of mesoporous magnetic nanocomposite particles, *Adv. Funct. Mater.* 14 (2004) 345–351. <https://doi.org/10.1002/adfm.200305455>.
- [74] W. Zhao, J. Gu, L. Zhang, H. Chen, J. Shi, Fabrication of uniform magnetic nanocomposite spheres with a magnetic core/mesoporous silica shell structure, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 8916–8917. <https://doi.org/10.1021/ja051113r>.
- [75] J. Kim, H.S. Kim, N. Lee, T. Kim, H. Kim, T. Yu, I.C. Song, W.K. Moon, T. Hyeon, Multifunctional uniform nanoparticles composed of a magnetite nanocrystal core and a mesoporous silica shell for magnetic resonance and fluorescence imaging and for drug delivery, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 47 (2008) 8438–8441. <https://doi.org/10.1002/anie.200802469>.
- [76] Y. Zhang, F. Jiang, D. Huang, S. Hou, H. Wang, M. Wang, Y. Chi, Z. Zhao, A facile route to magnetic mesoporous core-shell structured silicas containing covalently bound cyclodextrins for the removal of the antibiotic doxycycline from water, *RSC Adv.* 8 (2018) 31348–31357. <https://doi.org/10.1039/c8ra05781h>.
- [77] P. Wang, X. Wang, S. Yu, Y. Zou, J. Wang, Z. Chen, N.S. Alharbi, A. Alsaedi, T. Hayat, Y. Chen, Wang Xiangke, Silica coated Fe₃O₄ magnetic nanospheres for high removal of

- organic pollutants from wastewater, *Chem. Eng. J.* 306 (2016) 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.07.068>.
- [78] Q. Zhou, Y. Wang, J. Xiao, H. Fan, C. Chen, Preparation and characterization of magnetic nanomaterial and its application for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons, *J. Hazard. Mater.* 371 (2019) 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.027>.
- [79] F.B. Zanardi, I.A. Barbosa, P.C. De Sousa Filho, L.D. Zanatta, D.L. Da Silva, O.A. Serra, Y. Iamamoto, Manganese porphyrin functionalized on Fe₃O₄@nSiO₂@MCM-41 magnetic composite: Structural characterization and catalytic activity as cytochrome P450 model, *Microporous Mesoporous Mater.* 219 (2016) 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2015.07.035>.
- [80] S. Mura, J. Nicolas, P. Couvreur, Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery, *Nat. Mater.* 12 (2013) 991–1003. <https://doi.org/10.1038/nmat3776>.
- [81] Z. Li, E. Ye, David, R. Lakshminarayanan, X.J. Loh, Recent Advances of Using Hybrid Nanocarriers in Remotely Controlled Therapeutic Delivery, *Small.* 12 (2016) 4782–4806. <https://doi.org/10.1002/smll.201601129>.
- [82] M. Gisbert-Garzarán, M. Vallet-Regí, Influence of the Surface Functionalization on the Fate and Performance of Mesoporous Silica Nanoparticles, *Nanomaterials.* 10 (2020) 916. <https://doi.org/10.3390/nano10050916>.
- [83] M.B. Yatvin, J.N. Weinstein, W.H. Dennis, R. Blumenthal, Design of liposomes for enhanced local release of drugs by hyperthermia, *Science (80-.)*. 202 (1978) 1290–1293. <https://doi.org/10.1126/science.364652>.
- [84] S. Baek, R.K. Singh, D. Khanal, K.D. Patel, E.J. Lee, K.W. Leong, W. Chrzanowski, H.W. Kim, Smart multifunctional drug delivery towards anticancer therapy harmonized in mesoporous nanoparticles, *Nanoscale.* 7 (2015) 14191–14216. <https://doi.org/10.1039/c5nr02730f>.
- [85] M. Vallet-Regí, A. Rámila, R.P. Del Real, J. Pérez-Pariente, A new property of MCM-41: Drug delivery system, *Chem. Mater.* 13 (2001) 308–311. <https://doi.org/10.1021/cm0011559>.
- [86] F. Tang, L. Li, D. Chen, Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery, *Adv. Mater.* 24 (2012) 1504–1534. <https://doi.org/10.1002/adma.201104763>.
- [87] Y. Yang, C. Yu, Advances in silica based nanoparticles for targeted cancer therapy, *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* 12 (2016) 317–332. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.10.018>.
- [88] E. Aznar, M. Oroval, L. Pascual, J.R. Murguía, R. Martínez-Máñez, F. Sancenón, Gated Materials for On-Command Release of Guest Molecules, *Chem. Rev.* 116 (2016) 561–718. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00456>.
- [89] T. Alejo, L. Uson, M. Arruebo, Reversible stimuli-responsive nanomaterials with on-off switching ability for biomedical applications, *J. Control. Release.* 314 (2019) 162–176. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.10.036>.
- [90] E. Yu, I. Galiana, R. Martínez-Máñez, P. Stroeve, M.D. Marcos, E. Aznar, F. Sancenón, J.R. Murguía, P. Amorós, Poly(N-isopropylacrylamide)-gated Fe₃O₄/SiO₂ core shell nanoparticles with expanded mesoporous structures for the temperature triggered release of lysozyme, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 135 (2015) 652–660. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.06.048>.
- [91] A. Baeza, E. Guisasola, E. Ruiz-Hernández, M. Vallet-Regí, Magnetically triggered multidrug release by hybrid mesoporous silica nanoparticles, *Chem. Mater.* 24 (2012) 517–524. <https://doi.org/10.1021/cm203000u>.
- [92] J.L. Paris, M.V. Cabañas, M. Manzano, M. Vallet-Regí, Polymer-grafted mesoporous silica nanoparticles as ultrasound-responsive drug carriers, *ACS Nano.* 9 (2015) 11023–11033. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.5b04378>.
- [93] X. Lin, M. Wu, M. Li, Z. Cai, H. Sun, X. Tan, J. Li, Y. Zeng, X. Liu, J. Liu, Photo-responsive hollow silica nanoparticles for light-triggered genetic and photodynamic synergistic

- therapy, *Acta Biomater.* 76 (2018) 178–192. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.07.007>.
- [94] Q. Bian, Z. Xue, P. Sun, K. Shen, S. Wang, J. Jia, Visible-light-triggered supramolecular valves based on β -cyclodextrin-modified mesoporous silica nanoparticles for controlled drug release, *RSC Adv.* 9 (2019) 17179–17182. <https://doi.org/10.1039/c9ra02612f>.
- [95] P. Saint-Cricq, S. Deshayes, J.I. Zink, A.M. Kasko, Magnetic field activated drug delivery using thermodegradable azo-functionalised PEG-coated core-shell mesoporous silica nanoparticles, *Nanoscale.* 7 (2015) 13168–13172. <https://doi.org/10.1039/C5NR03777H>.
- [96] R. Liu, M. Fraylich, B.R. Saunders, Thermoresponsive copolymers: from fundamental studies to applications, *Colloid Polym. Sci.* 287 (2009) 627–643. <https://doi.org/10.1007/s00396-009-2028-x>.
- [97] K.K. Bansal, D.K. Mishra, A. Rosling, J.M. Rosenholm, Therapeutic potential of polymer-coated mesoporous silica nanoparticles, *Appl. Sci.* 10 (2020). <https://doi.org/10.3390/app10010289>.
- [98] E. Guisasola, A. Baeza, M. Talelli, D. Arcos, M. Moros, J.M. de la Fuente, M. Vallet-Regí, Magnetic-Responsive Release Controlled by Hot Spot Effect, *Langmuir.* 31 (2015) 12777–12782. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b03470>.
- [99] L.A. Picos-Corrales, A. Licea-Claverie, J.M. Cornejo-Bravo, S. Schwarz, K.F. Arndt, Well-defined N-isopropylacrylamide dual-sensitive copolymers with LCST ≈ 38 °c in different architectures: Linear, block and star polymers, *Macromol. Chem. Phys.* 213 (2012) 301–314. <https://doi.org/10.1002/macp.201100468>.
- [100] B. Polyak, G. Friedman, Magnetic targeting for site-specific drug delivery: Applications and clinical potential, *Expert Opin. Drug Deliv.* 6 (2009) 53–70. <https://doi.org/10.1517/17425240802662795>.
- [101] M. Arruebo, R. Fernández-Pacheco, M.R. Ibarra, J. Santamaría, Magnetic nanoparticles for drug delivery The potential of magnetic NPs stems from the intrinsic properties of their magnetic cores combined with their drug loading capability and the biochemical properties that can be bestowed on them by means of a suitab, 2 (2007) 22–32. <https://pdfs.semanticscholar.org/1844/8eb43dc235f82cb591983bc8df5ed799984c.pdf>.
- [102] X. Mou, Z. Ali, S. Li, N. He, Applications of magnetic nanoparticles in targeted drug delivery system, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 15 (2015) 54–62. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.9585>.
- [103] M. Hegazy, P. Zhou, G. Wu, L. Wang, N. Rahoui, N. Taloub, X. Huang, Y. Huang, Construction of polymer coated core-shell magnetic mesoporous silica nanoparticles with triple responsive drug delivery, *Polym. Chem.* 8 (2017) 5852–5864. <https://doi.org/10.1039/C7PY01179B>.
- [104] Z. Tian, X. Yu, Z. Ruan, M. Zhu, Y. Zhu, N. Hanagata, Magnetic mesoporous silica nanoparticles coated with thermo-responsive copolymer for potential chemo- and magnetic hyperthermia therapy, *Microporous Mesoporous Mater.* 256 (2018) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.07.053>.
- [105] B. Sahoo, K.S.P. Devi, S. Dutta, T.K. Maiti, P. Pramanik, D. Dhara, Biocompatible mesoporous silica-coated superparamagnetic manganese ferrite nanoparticles for targeted drug delivery and MR imaging applications, *J. Colloid Interface Sci.* 431 (2014) 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.06.003>.
- [106] Y. Chen, K. Ai, J. Liu, G. Sun, Q. Yin, L. Lu, Multifunctional envelope-type mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive drug delivery and magnetic resonance imaging, *Biomaterials.* 60 (2015) 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.05.003>.
- [107] J.S. Kim, T.J. Yoon, K.N. Yu, B.G. Kim, S.J. Park, H.W. Kim, K.H. Lee, S.B. Park, J.K. Lee, M.H. Cho, Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice, *Toxicol.*

- Sci. 89 (2006) 338–347. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj027>.
- [108] K. Chen, J. Zhang, H. Gu, Dissolution from inside: A unique degradation behaviour of core-shell magnetic mesoporous silica nanoparticles and the effect of polyethyleneimine coating, *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 22005–22012. <https://doi.org/10.1039/c2jm34364a>.
- [109] G.K. Nasrallah, Y. Zhang, M.M. Zagho, H.M. Ismail, A.A. Al-Khalaf, R.M. Prieto, K.E. Albinali, A.A. Elzatahry, Y. Deng, A systematic investigation of the bio-toxicity of core-shell magnetic mesoporous silica microspheres using zebrafish model, *Microporous Mesoporous Mater.* 265 (2018) 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.02.008>.
- [110] M.T. Donato, L. Tolosa, M.J. Gómez-Lechón, P. Rodríguez-Torres, Culture and Functional Characterization of Human Hepatoma HepG2 Cells, in: *Protoc. Vitro. Hepatocyte Res.*, Springer Science & Business Media, New York, 2015: pp. 1–390. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2074-7>.
- [111] S. Hatz, J.D.C. Lambert, P.R. Ogilby, Measuring the lifetime of singlet oxygen in a single cell: Addressing the issue of cell viability, *Photochem. Photobiol. Sci.* 6 (2007) 1106–1116. <https://doi.org/10.1039/b707313e>.
- [112] E. Bittrich, S. Burkert, M. Müller, K.-J. Eichhorn, M. Stamm, P. Uhlmann, Temperature-Sensitive Swelling of Poly(N-isopropylacrylamide) Brushes with Low Molecular Weight and Grafting Density, *Langmuir.* 28 (2012) 3439–3448. <https://doi.org/10.1021/la204230a>.
- [113] S.A. Jadhav, V. Brunella, I. Miletto, G. Berlier, D. Scalarone, Synthesis of poly(N-isopropylacrylamide) by distillation precipitation polymerization and quantitative grafting on mesoporous silica, *J. Appl. Polym. Sci.* 133 (2016) 1–8. <https://doi.org/10.1002/app.44181>.
- [114] X. Hou, H. Xu, L. Pan, Y. Tian, X. Zhang, L. Ma, Y. Li, J. Zhao, Adsorption of bovine serum albumin on superparamagnetic composite microspheres with a Fe₃O₄/SiO₂ core and mesoporous SiO₂ shell, *RSC Adv.* 5 (2015) 103760–103766. <https://doi.org/10.1039/C5RA21773C>.
- [115] L. Dong, H. Peng, S. Wang, Z. Zhang, J. Li, F. Ai, Q. Zhao, M. Luo, H. Xiong, L. Chen, Thermally and magnetically dual-responsive mesoporous silica nanospheres: Preparation, characterization, and properties for the controlled release of sophoridine, *J. Appl. Polym. Sci.* 131 (2014). <https://doi.org/10.1002/app.40477>.
- [116] S. Zhu, C. Chen, Z. Chen, X. Liu, Y. Li, Y. Shi, D. Zhang, Thermo-responsive polymer-functionalized mesoporous carbon for controlled drug release, *Mater. Chem. Phys.* 126 (2011) 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.11.013>.
- [117] X. Jin, Q. Wang, J. Sun, H. Panzail, X. Wu, S. Bai, Dual temperature- and pH-responsive ibuprofen delivery from poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) nanoparticles and their fractal features, *Polym. Bull.* 74 (2017) 3619–3638. <https://doi.org/10.1007/s00289-017-1915-4>.
- [118] B.-S. Tian, C. Yang, Thermo-Sensitive Poly(N-isopropylacrylamide)/Mesoporous Silica Nanocomposites as Controlled Delivery Carriers: Loading and Release Behaviors for Drug Ibuprofen, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 11 (2011) 1871–1879. <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.3543>.
- [119] M. Bathfield, J. Reboul, T. Cacciaguerra, P. Lacroix-Desmazes, C. Gérardin, Thermosensitive and Drug-Loaded Ordered Mesoporous Silica: A Direct and Effective Synthesis Using PEO-b-PNIPAM Block Copolymers, *Chem. Mater.* 28 (2016) 3374–3384. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b00595>.
- [120] R. Garcia-Contreras, L. Acosta-Torres, M.C. Areas-Arrocena, P. Rodríguez-Torres, Manual para la enseñanza práctica del ensayo MTT para evaluar la citotoxicidad de nanopartículas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2019.
- [121] F.M. Young, W. Phungtamdet, B.J.S. Sanderson, Modification of MTT assay conditions to examine the cytotoxic effects of amitraz on the human lymphoblastoid cell line, *WIL2NS, Toxicol. Vitro.* 19 (2005) 1051–1059.

- <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.05.001>.
- [122] S. Xuan, F. Wang, J.M.Y. Lai, K.W.Y. Sham, Y.J. Wang, S. Lee, J.C. Yu, C.H.K. Cheng, K.C. Leung, Synthesis of Biocompatible , Mesoporous Fe₃O₄ Nano / Microspheres with Large Surface Area for Magnetic Resonance Imaging and Therapeutic Applications, *Interfaces* (Providence). (2011) 237–244. <https://doi.org/10.1039/c1jm13357h>.
- [123] B. Chang, X. Sha, J. Guo, Y. Jiao, C. Wang, W. Yang, Thermo and pH dual responsive, polymer shell coated, magnetic mesoporous silica nanoparticles for controlled drug release, *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 9239–9247. <https://doi.org/10.1039/c1jm10631g>.
- [124] Y.H. Lien, T.M. Wu, J.H. Wu, J.W. Liao, Cytotoxicity and drug release behavior of PNIPAM grafted on silica-coated iron oxide nanoparticles, *J. Nanoparticle Res.* 13 (2011) 5065–5075. <https://doi.org/10.1007/s11051-011-0487-8>.
- [125] L. Zhang, Z. Yang, J. Ren, L. Ba, W. He, C.Y. Wong, Multifunctional oxygen-enriching nano-theranostics for cancer-specific magnetic resonance imaging and enhanced photodynamic/photothermal therapy, *Nano Res.* 13 (2020) 1389–1398. <https://doi.org/10.1007/s12274-020-2646-7>.
- [126] K.R. Carman, T.S. Bianchi, F. Kloep, Influence of grazing and nitrogen on benthic algal blooms in diesel fuel-contaminated saltmarsh sediments, *Environ. Sci. Technol.* 34 (2000) 107–111. <https://doi.org/10.1021/es990850i>.
- [127] World Health Organization, *Guidelines for Drinking-water Quality* 4th ed., WHO, Geneva, p. 340., World Heal. Organ. (2011). [https://doi.org/10.1016/S1462-0758\(00\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S1462-0758(00)00006-6).
- [128] S. Lamichhane, K.C. Bal Krishna, R. Sarukkalige, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by sorption: A review, *Chemosphere.* 148 (2016) 336–353. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.036>.
- [129] F. Topuz, T. Uyar, Cyclodextrin-functionalized mesostructured silica nanoparticles for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons, *J. Colloid Interface Sci.* 497 (2017) 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.03.015>.
- [130] A.L. Oliva, P.Y. Quintas, A.C. Ronda, J.E. Marcovecchio, A.H. Arias, First evidence of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from a marine protected area within Argentinean Continental Shelf, *Mar. Pollut. Bull.* 158 (2020) 111385. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111385>.
- [131] A.L. Oliva, P.Y. Quintas, N.S. La Colla, A.H. Arias, J.E. Marcovecchio, Distribution, sources, and potential ecotoxicological risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from Bahía Blanca Estuary, Argentina, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 69 (2015) 163–172. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0169-0>.
- [132] L.C. Paraíba, S.C.N. Queiroz, D.R.C. De Souza, M.L. Saito, Risk simulation of soil contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons from sewage sludge used as fertilizers, *J. Braz. Chem. Soc.* 22 (2011) 1156–1163. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000600022>.
- [133] US EPA, Environmental Criteria, and Assessment Office (Cincinnati). Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental Criteria and Assessment Office, Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Protection Agency. United States, Cincinnati, 1993.
- [134] X. Xiao, D. Liu, Y. Yan, Z. Wu, Z. Wu, G. Cravotto, Preparation of activated carbon from Xinjiang region coal by microwave activation and its application in naphthalene, phenanthrene, and pyrene adsorption, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 53 (2015) 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.02.031>.
- [135] USEPA, Aquatic life criteria for contaminants of emerging concern, (2008).
- [136] N. Delgado, A. Capparelli, A. Navarro, D. Marino, Pharmaceutical emerging pollutants removal from water using powdered activated carbon: Study of kinetics and adsorption equilibrium, *J. Environ. Manage.* 236 (2019) 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.116>.
- [137] N.Y. Mlunguza, S. Ncube, P. Nokwethemba Mahlambi, L. Chimuka, L.M. Madikizela,

- Adsorbents and removal strategies of non-steroidal anti-inflammatory drugs from contaminated water bodies, *J. Environ. Chem. Eng.* 7 (2019) 103142. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103142>.
- [138] A. Ziylan, N.H. Ince, The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes, *J. Hazard. Mater.* 187 (2011) 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.01.057>.
- [139] Y. Elorriaga, D.J. Marino, P. Carriquiriborde, A.E. Ronco, Human pharmaceuticals in wastewaters from urbanized areas of Argentina, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 90 (2013) 397–400. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0919-x>.
- [140] Y. Elorriaga, D.J. Marino, P. Carriquiriborde, A.E. Ronco, Screening of pharmaceuticals in surface water bodies of the Pampas region of Argentina, *Int. J. Environ. Heal.* 6 (2013) 330. <https://doi.org/10.1504/IJENVH.2013.056974>.
- [141] M.E. Valdés, M.V. Amé, M. de los A. Bistoni, D.A. Wunderlin, Occurrence and bioaccumulation of pharmaceuticals in a fish species inhabiting the Suquía River basin (Córdoba, Argentina), *Sci. Total Environ.* 472 (2014) 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.124>.
- [142] F. Pomati, S. Castiglioni, E. Zuccato, R. Fanelli, D. Vigetti, C. Rossetti, D. Calamari, Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 2442–2447. <https://doi.org/10.1021/es051715a>.
- [143] J.M. Brozinski, M. Lahti, A. Meierjohann, A. Oikari, L. Kronberg, The anti-inflammatory drugs diclofenac, naproxen and ibuprofen are found in the bile of wild fish caught downstream of a wastewater treatment plant, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 342–348. <https://doi.org/10.1021/es303013j>.
- [144] J. Schwaiger, H. Ferling, U. Mallow, H. Wintermayr, R.D. Negele, Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout, *Aquat. Toxicol.* 68 (2004) 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.014>.
- [145] B. Ferrari, N. Paxéus, R. Lo Giudice, A. Pollio, J. Garric, Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: Study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 55 (2003) 359–370. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00082-9](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00082-9).
- [146] R. Saxena, M. Saxena, A. Lochab, Recent Progress in Nanomaterials for Adsorptive Removal of Organic Contaminants from Wastewater, *ChemistrySelect.* 5 (2020) 335–353. <https://doi.org/10.1002/slct.201903542>.
- [147] C. Santhosh, V. Velmurugan, G. Jacob, S.K. Jeong, A.N. Grace, A. Bhatnagar, Role of nanomaterials in water treatment applications: A review, *Chem. Eng. J.* 306 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.08.053>.
- [148] P.N.E. Diagboya, E.D. Dikio, Silica-based mesoporous materials ; emerging designer adsorbents for aqueous pollutants removal and water treatment, *Microporous Mesoporous Mater.* 266 (2018) 252–267. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.03.008>.
- [149] J. Gómez-Pastora, E. Bringas, I. Ortiz, Recent progress and future challenges on the use of high performance magnetic nano-adsorbents in environmental applications, *Chem. Eng. J.* 256 (2014) 187–204. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138589471400881X>.
- [150] R.G. Chaudhuri, S. Paria, Core / Shell Nanoparticles : Classes , Properties , Synthesis Mechanisms , Characterization , and Applications, *Chem. Rev.* 112 (2012) 2373–2433. <https://doi.org/10.1021/cr100449n>.
- [151] W. Teng, Z. Wu, D. Feng, J. Fan, J. Wang, H. Wei, M. Song, D. Zhao, Rapid and efficient removal of microcystins by ordered mesoporous silica, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 8633–8641. <https://doi.org/10.1021/es400659b>.
- [152] T.X. Bui, H. Choi, Adsorptive removal of selected pharmaceuticals by mesoporous

- silica SBA-15, *J. Hazard. Mater.* 168 (2009) 602–608. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.072>.
- [153] T.A. Arica, E. Ayas, M.Y. Arica, Magnetic MCM-41 silica particles grafted with poly(glycidylmethacrylate) brush: Modification and application for removal of direct dyes, *Microporous Mesoporous Mater.* 243 (2017) 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.02.011>.
- [154] S. Hou, X. Li, H. Wang, M. Wang, Y. Zhang, Y. Chi, Z. Zhao, Synthesis of core-shell structured magnetic mesoporous silica microspheres with accessible carboxyl functionalized surfaces and radially oriented large mesopores as adsorbents for the removal of heavy metal ions, *RSC Adv.* 7 (2017) 51993–52000. <https://doi.org/10.1039/C7RA08937F>.
- [155] X. Le Zhang, H.Y. Niu, W.H. Li, Y.L. Shi, Y.Q. Cai, A core-shell magnetic mesoporous silica sorbent for organic targets with high extraction performance and anti-interference ability, *Chem. Commun.* 47 (2011) 4454–4456. <https://doi.org/10.1039/c1cc10300h>.
- [156] S. Hozhabr Araghi, M.H. Entezari, Amino-functionalized silica magnetite nanoparticles for the simultaneous removal of pollutants from aqueous solution, *Appl. Surf. Sci.* 333 (2015) 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.01.211>.
- [157] P. Yuan, X. Li, W. Wang, H. Liu, Y. Yan, H. Yang, Y. Yue, X. Bao, Tailored Design of Differently Modified Mesoporous Materials to Deeply Understand the Adsorption Mechanism for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Langmuir.* 34 (2018) 15708–15718. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03299>.
- [158] P. Wang, Q. Shi, Y. Shi, K.K. Clark, G.D. Stucky, A.A. Keller, Magnetic permanently confined micelle arrays for treating hydrophobic organic compound contamination, *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 182–188. <https://doi.org/10.1021/ja806556a>.
- [159] L.E. Sverdrup, T. Nielsen, P.H. Krogh, Soil ecotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in relation to soil sorption, lipophilicity, and water solubility, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 2429–2435. <https://doi.org/10.1021/es010180s>.
- [160] D. Mackay, W.Y. Shiu, K.C. Ma, S.C. Lee, *Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals: Volume I: Introduction and hydrocarbons*, Taylor & Francis, Boca Raton, 2006. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781420044393>.
- [161] G.V. Scott, Spectrophotometric determination of cationic surfactants with Orange II, *Anal. Chem.* 40 (1968) 768–773. <https://doi.org/10.1021/ac60260a038>.
- [162] J. Li, Q. Zhou, Y. Liu, M. Lei, Recyclable nanoscale zero-valent iron-based magnetic polydopamine coated nanomaterials for the adsorption and removal of phenanthrene and anthracene, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 18 (2017) 3–16. <https://doi.org/10.1080/14686996.2016.1246941>.
- [163] I.S. Ibarra, J.A. Rodriguez, J.M. Miranda, M. Vega, E. Barrado, Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A.* 1218 (2011) 2196–2202. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.046>.
- [164] I.G.A. Funes, M.E. Peralta, G.R. Pettinari, L. Carlos, M.E. Parolo, Facile modification of montmorillonite by intercalation and grafting: The study of the binding mechanisms of a quaternary alkylammonium surfactant, *Appl. Clay Sci.* 195 (2020) 105738. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2020.105738>.
- [165] P. Wang, Q. Shi, Y. Shi, K.K. Clark, G.D. Stucky, A.A. Keller, Magnetic permanently confined micelle arrays for treating hydrophobic organic compound contamination, *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 182–188. <https://doi.org/10.1021/ja806556a>.
- [166] Y. Huang, A.A. Keller, Magnetic nanoparticle adsorbents for emerging organic contaminants, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 1 (2013) 731–736. <https://doi.org/10.1021/sc400047q>.
- [167] S. Brandani, Kinetics of liquid phase batch adsorption experiments, *Adsorption.* (2020). <https://doi.org/10.1007/s10450-020-00258-9>.

- [168] H.M.F. Freundlich, About the adsorption in solution, *Z. Phys. Chem.* 57 (1906) 385–471.
- [169] J. Aravind Kumar, D. Joshua Amarnath, S. Anuradha Jabasingh, P. Senthil Kumar, K. Vijai Anand, G. Narendrakumar, S. Karthick Raja Namasivayam, T. Krithiga, S. Sunny, S. Purna Pushkala, D. Yuvarajan, One pot Green Synthesis of Nano magnesium oxide-carbon composite: Preparation, characterization and application towards anthracene adsorption, *J. Clean. Prod.* 237 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117691>.
- [170] I. Langmuir, The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum, *J. Am. Chem. Soc.* 40 (1918) 1361–1403. <https://doi.org/10.1021/ja02242a004>.
- [171] G. Limousin, J.P. Gaudet, L. Charlet, S. Szenknect, V. Barth??s, M. Krimissa, Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement, *Appl. Geochemistry*. 22 (2007) 249–275. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.09.010>.
- [172] D. Mohan, S. Rajput, V.K. Singh, P.H. Steele, C.U. Pittman, Modeling and evaluation of chromium remediation from water using low cost bio-char, a green adsorbent, *J. Hazard. Mater.* 188 (2011) 319–333. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.01.127>.
- [173] M.R. Lasheen, I.Y. El-Sherif, M.E. Tawfik, S.T. El-Wakeel, M.F. El-Shahat, Preparation and adsorption properties of nano magnetite chitosan films for heavy metal ions from aqueous solution, *Mater. Res. Bull.* 80 (2016) 344–350. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2016.04.011>.
- [174] H. Gupta, Anthracene removal from water onto activated carbon derived from vehicular tyre, *Sep. Sci. Technol.* 53 (2018) 613–625. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1405038>.
- [175] R. Nisticò, F. Franzoso, F. Cesano, D. Scarano, G. Magnacca, M.E. Parolo, L. Carlos, Chitosan-Derived Iron Oxide Systems for Magnetically Guided and Efficient Water Purification Processes from Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 5 (2017) 793–801. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02126>.
- [176] R. Nisticò, F. Cesano, F. Franzoso, G. Magnacca, D. Scarano, I.G. Funes, L. Carlos, M.E. Parolo, From biowaste to magnet-responsive materials for water remediation from polycyclic aromatic hydrocarbons, *Chemosphere*. 202 (2018) 686–693. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.153>.
- [177] H. Qiu, L. Lv, B.C. Pan, Q.J. Zhang, W.M. Zhang, Q.X. Zhang, Critical review in adsorption kinetic models, *J. Zhejiang Univ. Sci. A.* 10 (2009) 716–724. <https://doi.org/10.1631/jzus.A0820524>.
- [178] Y.S. Ho, Review of second-order models for adsorption systems, *J. Hazard. Mater.* 136 (2006) 681–689. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.12.043>.
- [179] Y.S. Ho, J.F. Porter, G. McKay, Equilibrium isotherm studies for the sorption of divalent metal ions onto peat: Copper, nickel and lead single component systems, *Water. Air. Soil Pollut.* 141 (2002) 1–33. <https://doi.org/10.1023/A:1021304828010>.
- [180] N.F. Campos, C.M.B.M. Barbosa, J.M. Rodríguez-Díaz, M.M.M.B. Duarte, Removal of naphthenic acids using activated charcoal: Kinetic and equilibrium studies, *Adsorpt. Sci. Technol.* 36 (2018) 1405–1421. <https://doi.org/10.1177/0263617418773844>.
- [181] M. Barczak, Amine-modified mesoporous silicas: Morphology-controlled synthesis toward efficient removal of pharmaceuticals, *Microporous Mesoporous Mater.* 278 (2019) 354–365. <https://doi.org/10.1016/j.MICROMESO.2019.01.012>.
- [182] C.E. Choong, S. Ibrahim, W.J. Basirun, Mesoporous silica from batik sludge impregnated with aluminum hydroxide for the removal of bisphenol A and ibuprofen, *J. Colloid Interface Sci.* 541 (2019) 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.071>.
- [183] H. Zeng, M. Gao, T. Shen, F. Ding, Organo silica nanosheets with gemini surfactants for rapid adsorption of ibuprofen from aqueous solutions, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 93

- (2018) 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.07.038>.
- [184] A.S. Liyanage, S. Canaday, C.U. Pittman, T. Mlsna, Rapid remediation of pharmaceuticals from wastewater using magnetic Fe₃O₄/Douglas fir biochar adsorbents, *Chemosphere*. 258 (2020) 127336. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127336>.
- [185] K.T. Wong, Y. Yoon, S.A. Snyder, M. Jang, Phenyl-functionalized magnetic palm-based powdered activated carbon for the effective removal of selected pharmaceutical and endocrine-disruptive compounds, *Chemosphere*. 152 (2016) 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.090>.
- [186] N. Suriyanon, P. Punyapalakul, C. Ngamcharussrivichai, Mechanistic study of diclofenac and carbamazepine adsorption on functionalized silica-based porous materials, *Chem. Eng. J.* 214 (2013) 208–218. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.10.052>.
- [187] W.D.J. Callister, *Fundamentals of Materials Science and Engineering*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001.
- [188] B. Fultz, J.M. Howe, *Transmission electron microscopy and diffractometry of materials*, Springer Science & Business Media, 2012.
- [189] Marta Ruano Aldea, *Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas*, Universidad Complutense de Madrid, 2013.
- [190] A. Dutta, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Elsevier Inc., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2>.
- [191] M.A. Mohamed, J. Jaafar, A.F. Ismail, M.H.D. Othman, M.A. Rahman, *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*, Elsevier B.V., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>.
- [192] S. Loganathan, R.B. Valapa, R.K. Mishra, G. Pugazhenti, S. Thomas, *Thermogravimetric Analysis for Characterization of Nanomaterials*, Elsevier Inc., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00004-9>.
- [193] M. Thommes, Physical adsorption characterization of nanoporous materials, *Chemie-Ingenieur-Technik*. 82 (2010) 1059–1073. <https://doi.org/10.1002/cite.201000064>.
- [194] S. Brunauer, P.H. Emmet, E. Teller, Adsorption of Gases in Multimolecular Layers, *J. Am. Chem. Soc.* 60 (1938) 309–319.
- [195] E.P. Barrett, L.G. Joyner, P.P. Halenda, The determination of pore volume and area distributions in porous substances. II. Comparison between nitrogen isotherm and mercury porosimeter methods, *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951) 3155–3158. <https://doi.org/10.1021/ja01145a126>.
- [196] J. Villarroel-Rocha, D. Barrera, K. Sapag, Introducing a self-consistent test and the corresponding modification in the Barrett, Joyner and Halenda method for pore-size determination, *Microporous Mesoporous Mater.* 200 (2014) 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2014.08.017>.
- [197] S. Foner, The vibrating sample magnetometer: Experiences of a volunteer (invited), *J. Appl. Phys.* 79 (1996) 4740. <https://doi.org/https://doi.org/10.1063/1.361657>.
- [198] R. Nisticò, Magnetic materials and water treatments for a sustainable future, *Res. Chem. Intermed.* 43 (2017) 6911–6949. <https://doi.org/10.1007/s11164-017-3029-x>.
- [199] J. Stetefeld, S.A. McKenna, T.R. Patel, *Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences*, *Biophys. Rev.* 8 (2016) 409–427. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>.
- [200] E. Guisasola Cal, *Nanotransportadores basados en sílice mesoporosa para tratamiento antitumoral*, Universidad Complutense de Madrid, 2017.
- [201] W. Norde, *Colloids and Interfaces in Life Sciences*, Marcel Dekker, New York, 2003.
- [202] J.G. McDonald, P.T. Ivanova, H.A. Brown, *Approaches to Lipid Analysis*, Sixth Edit, Elsevier, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63438-2.00002-X>.
- [203] A. Barhoum, M.L. García-Betancourt, Chapter 10 - Physicochemical characterization

of nanomaterials: size, morphology, optical, magnetic, and electrical properties, in: A. Barhoum, A.S.H.B.T.-E.A. of N. and A.N. Makhlouf (Eds.), *Micro Nano Technol.*, Elsevier, 2018: pp. 279–304. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51254-1.00010-5>.

- [204] Jasco, *Fluorescence Spectroscopy Theory*, (2020). <https://jascoinc.com/learning-center/theory/fluorescence-spectroscopy/>.