

UNIVERSIDAD DE OVIEDO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA E INORGÁNICA  
MÁSTER UNIVERSITARIO EN QUÍMICA Y DESARROLLO  
SOSTENIBLE

# SÍNTESIS Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

*Aymara López Mencía*

2018

# Máster Universitario en Química y Desarrollo Sostenible

*Trabajo Fin de Máster*

*Curso 2017-2018*

Dña. **Aymara López Mencía** graduada en Química, ha realizado la Memoria titulada “**SÍNTESIS Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS**” bajo la tutela de Dña. **M<sup>a</sup> Elena Lastra Bengochea**, Profesora Titular de Química Inorgánica del Departamento de Química Orgánica e Inorgánica de la Universidad de Oviedo.

La tutora certifica que la citada Memoria ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica e Inorgánica de la Universidad de Oviedo bajo su dirección, autorizando su presentación para que sea calificada como *Trabajo Fin de Máster* del *Máster Universitario en Química y Desarrollo Sostenible* correspondiente al curso académico 2017-2018.

Oviedo, Julio de 2018

Fdo.: *Aymara López Mencía*

Fdo.: *M<sup>a</sup> Elena Lastra Bengochea*

---

# ÍNDICE

---

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1. ESTRUCTURA CRISTALINA DE LA MAGNETITA Y PROPIEDADES</b> .....	3
<b>1.2. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE MAGNETITA</b> .....	4
1.2.1. COPRECIPITACIÓN.....	5
1.2.2. DESCOMPOSICIÓN TÉRMICA A ALTA TEMPERATURA.....	6
1.2.3. OTROS MÉTODOS.....	7
<b>1.3. ESTABILIZACIÓN DE LAS NPs</b> .....	7
<b>1.4. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NPs</b> .....	8
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	10
<b>3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	11
<b>3.1. SÍNTESIS DE NPM-AO</b> .....	11
<b>3.2. SÍNTESIS DE NPM-PAA</b> .....	21
<b>3.3. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NPM-PAA CON NEUTRAVIDINA</b> .....	25
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	30
<b>4.1. CONDICIONES GENERALES DE REACCIÓN Y DE TRABAJO</b> .....	30
<b>4.2. TÉCNICAS EMPLEADAS EN LA CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS</b> .....	30
<b>4.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA</b> .....	31
4.3.1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA RECUBIERTAS DE ÁCIDO OLEICO.....	31
4.3.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA RECUBIERTAS DE ÁCIDO POLI(ACRÍLICO).....	59
4.3.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA FUNCIONALIZADAS CON NEUTRAVIDINA.....	64
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	65
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	66

---

# **LISTADO DE ABREVIATURAS**

---

## LISTADO DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
acac	Acetilacetato
Å	Angström
cm	Centímetro
conc	Concentrado
°C	Grado centígrado
DRX	Difracción de Rayos X de polvo
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
g	Gramo
h	Hora
IONPs	Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro
IR	Espectroscopía Infrarroja
Kv	Kilovoltio
mg	Miligramo
mm	Milímetro
mmol	Milimol
min	Minuto
Ms	Imanación de saturación
µL	Microlitro
µm	Micrómetro
NHS	N-hidroxisucciniimida
nm	Nanometro
NPs	Nanopartículas
NPM-AO	Nanopartículas de magnetita recubiertas de ácido oleico
NPM-PAA	Nanopartículas de magnetita recubiertas de ácido poli(acrílico)
NPM-NAV	Nanopartículas de magnetita funcionalizadas con neutravidina
NAV	Neutravidina
Oe	Oersted
TEM	Microscopía electrónica de transmisión

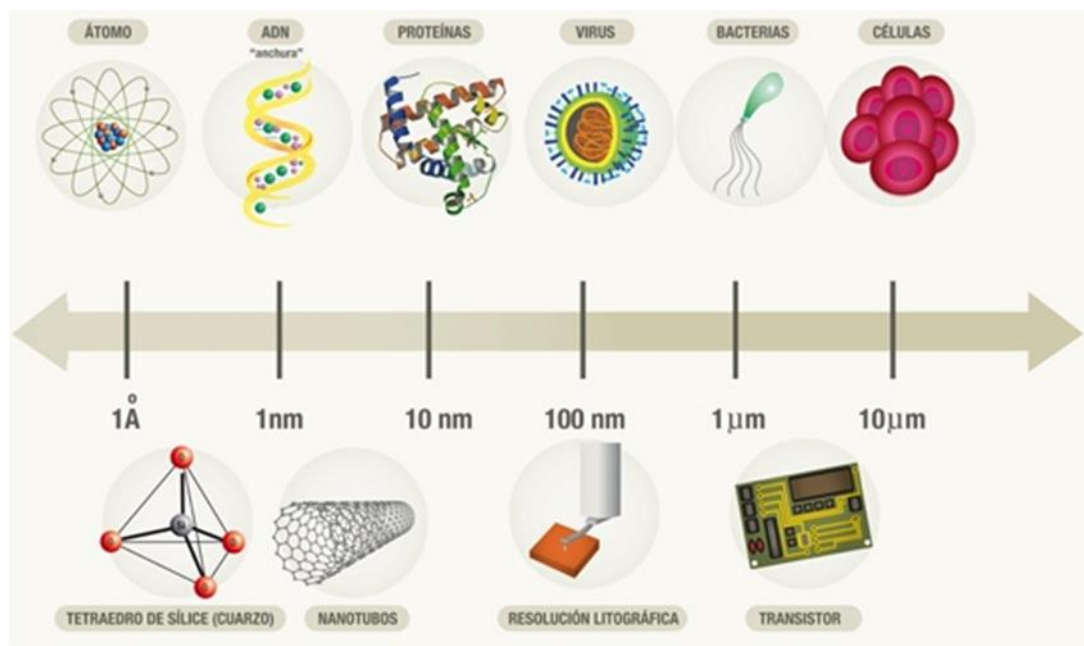
---

# INTRODUCCIÓN

---

## 1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es un área de la ciencia comprendida entre la biología, la física y la química que se basa en el estudio, diseño, creación, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a escala nanométrica (1-100 nm) (Figura 1).<sup>1-3</sup>



**Figura 1. Ejemplos de nanomateriales en el rango de los nanómetros a micrómetros**

Los nanomateriales son aquellos materiales en los que algunas de sus partes tienen, al menos alguna dimensión en el rango de los nanómetros.<sup>4</sup>

Hay tres tipos de materiales reducidos en función de las dimensiones que presente en la escala nanométrica<sup>5</sup> (Figura 2):

- Película delgada o materiales 2D. Solo una de sus tres dimensiones se ha reducido a la nanoescala.



- Nanotubos, Nanohilos, Nanobarras, Nanofibras o materiales 1D. En estos materiales se han reducido dos dimensiones a la nanoescala.
- Agrupamientos moleculares, clusters, nanopartículas o materiales 0D. Son materiales donde todas sus dimensiones se encuentran en el rango de los nanómetros.

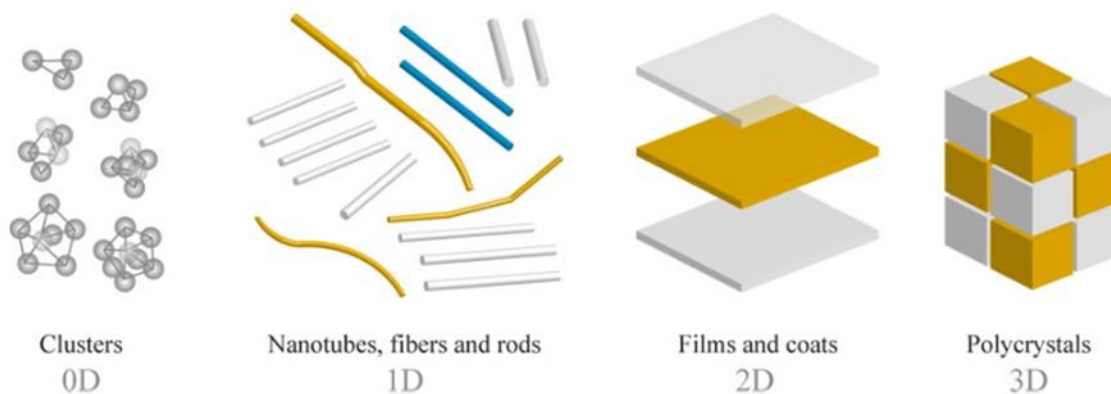


Figura 2. Clasificación de los nanomateriales por sus dimensiones

Por tanto, las nanopartículas son partículas con al menos una dimensión comprendida entre 1-100 nm. Las NPs pueden clasificarse de diferentes maneras, según sus propiedades como semiconductoras, magnéticas, etc, o según su naturaleza metálicas, óxidos, tensioactivos, dendrímeros, etc.<sup>6</sup>

Las nanopartículas inorgánicas son utilizadas en varias aplicaciones como catálisis<sup>7</sup>, biosensores<sup>8,9</sup>, biomedicina<sup>10,11</sup>, detección bacteriana<sup>12</sup>, bioseparación<sup>13</sup>, etc.

En concreto, las nanopartículas magnéticas destacan en aplicaciones biomédicas, siendo utilizadas en asociación con campos magnéticos externos para el transporte selectivo y liberación de fármacos o en el tratamiento de tumores por hipertermia.<sup>14</sup>

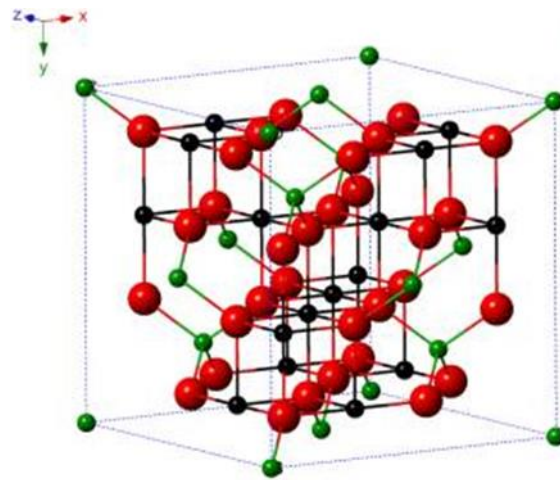
<sup>17</sup> También han sido utilizadas en bioanálisis utilizando las propiedades de

preconcentración de las NPs para aumentar el límite de detección de diferentes técnicas como, por ejemplo, ICP-MS o electroanálisis.<sup>18-20</sup>

De todas las nanopartículas magnéticas, las más utilizadas son las nanopartículas de magnetita por las interesantes propiedades físicoquímicas y por su sencillo método de síntesis.

### 1.1. ESTRUCTURA CRISTALINA DE LA MAGNETITA Y PROPIEDADES

La magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) tiene una estructura de espinela inversa. Tiene un empaquetamiento cúbico compacto de los átomos de oxígeno, con los iones de hierro (II) ocupando 1/4 de los huecos octaédricos y los iones de hierro (III) ocupando 1/4 de los huecos octaédricos y 1/8 de los huecos tetraédricos (Figura 3) y es un material ferrimagnético.<sup>21</sup>



**Magnetite**  
cubic,  $Fd\bar{3}m$

Figura 3. Estructura de la magnetita

Una de las propiedades más interesantes de las nanopartículas de magnetita es su comportamiento magnético.

En general, las partículas magnéticas presentan ciclos de histéresis, es decir, en ausencia de un campo magnético externo las partículas presentan una magnetización no nula. Esto es un inconveniente en sistemas in vivo debido a que se aglomeran, por ello, nos interesa que las partículas muestren una magnetización nula al retirar el campo magnético externo, esto es lo que se conoce como superparamagnetismo.<sup>3,22</sup>

Las nanopartículas que tienen un tamaño inferior a 20 nm son superparamagnéticas y por ello, son las más utilizadas en aplicaciones biomédicas.

## **1.2. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE MAGNETITA**

En general, en la síntesis de NPs hay dos etapas involucradas:

- Una nucleación que ocurre cuando la concentración de la especie alcanza la supersaturación crítica.
- Un crecimiento lento de los núcleos por difusión de los solutos a la superficie del cristal.

Hasta la fecha, para la síntesis de nanopartículas magnéticas se han aplicado diversos métodos sintéticos tales como coprecipitación, descomposición térmica, síntesis hidrotérmica y solvotérmica, síntesis de sol-gel, microemulsión, irradiación de ultrasonidos, aunque los más utilizados para producir nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro (IONPs) son la descomposición térmica y coprecipitación.<sup>21</sup>

Independientemente del método utilizado, la preparación de nanopartículas de manera reproducible es un proceso difícil, ya que el tamaño y la forma de las NPs obtenidas dependen de varios factores como la concentración de reactivos, el

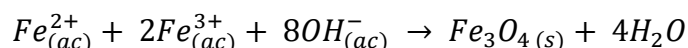
disolvente, la temperatura, el tiempo de reacción o la presencia de surfactantes de manera que un cambio en alguno de estos factores impide la reproducibilidad de las NPs.

Por otro lado, uno de los objetivos principales en su síntesis es el diseño de un proceso reproducible que no necesite ningún procedimiento de purificación complejo tales como ultracentrifugación, cromatografía de exclusión por tamaño, filtración magnética, etc.<sup>23</sup>

### 1.2.1. COPRECIPITACIÓN

La técnica de coprecipitación es probablemente el método más simple y eficiente para obtener IONPs. Dicho método, consiste en mezclar sales de hierro (II) y sales de hierro (III) en una relación molar 1: 2 en soluciones muy básicas ya sea temperatura ambiente o a temperatura elevada.

La reacción química de la formación de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> puede escribirse como:



#### **Ecuación 1. Formación de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>**

La precipitación completa de la magnetita ocurre a un pH entre 8 y 14 y debe realizarse en ausencia de oxígeno, para evitar la oxidación de la magnetita a maghemita ( $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

La principal ventaja del proceso de coprecipitación es su sencillez y se pueden sintetizar una gran cantidad de nanopartículas. No obstante, el control de la distribución del tamaño de las nanopartículas es limitado, ya que en este método sólo los factores cinéticos controlan el crecimiento del cristal.

Para producir nanopartículas de óxido de hierro lo más homogéneas posibles, la nucleación debe evitarse durante el período de crecimiento. Para ello, se debe ajustar el pH, la temperatura, la naturaleza de las sales utilizadas o la relación de concentración  $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$ . De este modo, controlando todos estos parámetros se pueden obtener NPs con un tamaño que varía de 2 a 17 nm.

### 1.2.2. DESCOMPOSICIÓN TÉRMICA A ALTA TEMPERATURA

Esta técnica es apropiada para la síntesis de IONPs de morfología esférica con un tamaño inferior a 30 nm.

En principio, las estrategias de descomposición térmica pueden subdividirse en estrategias de reacción convencionales en las que se prepara una mezcla de reacción a temperatura ambiente y luego se calienta en un recipiente de reacción que puede ser cerrado o abierto y en aproximaciones de inyección en caliente, en las que los precursores se inyectan en una mezcla de reacción calentada previamente.

Los precursores más utilizados en este proceso son  $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$ ,  $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$  y oleato de hierro. Por otro lado, se han utilizado varios disolventes orgánicos como 1-octadeceno, 1-tetradeceno y benciléter.

En este procedimiento es frecuente el uso de estabilizadores que pueden ralentizar el proceso de nucleación e inhibir el crecimiento de las IONP favoreciendo así la formación de NPs pequeñas. Los estabilizadores más utilizados son oleilamina y ácido oleico.

Cabe destacar que las nanopartículas obtenidas por este método muestran una alta cristalinidad y un rango de tamaños más estrecho mientras que las NPs obtenidas por el proceso de coprecipitación muestran una baja cristalinidad.

Sin embargo, hay que destacar que la forma y el tamaño dependen de una variedad de factores como la cantidad de precursor<sup>24</sup>, la velocidad de la reacción y temperatura<sup>25</sup>, la concentración de surfactantes o el disolvente<sup>26</sup>.

### 1.2.3. OTROS MÉTODOS

Existen otros métodos para la síntesis de nanopartículas entre los que destacan la síntesis hidro y solvotermal y el proceso sol-gel.

La síntesis hidrotermal y solvotermal se utiliza para la preparación de NPs de  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; la síntesis de  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> implica la oxidación controlada de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. La síntesis hidrotermal incluye varias técnicas de química húmeda para cristalizar la sustancia en un recipiente sellado desde la solución acuosa a alta temperatura (130-250 °C) bajo alta presión de vapor (0.3-4 MPa). La síntesis solvotermal se realiza de la misma manera que el caso anterior, pero utilizando un disolvente orgánico en vez de agua.

El proceso sol-gel es adecuado para la síntesis de óxidos metálicos nanoestructurados. Este método, se basa en la condensación de precursores moleculares en disolución.

### 1.3. ESTABILIZACIÓN DE LAS NPs

Un problema inevitable asociado con las IONP es su inestabilidad intrínseca durante periodos largos de tiempo, que se manifiesta de dos maneras<sup>21</sup>:

- Pérdida de dispersabilidad, debido a que las nanopartículas pequeñas tienden a agregarse y formar partículas grandes.
- Pérdida de magnetismo, ya que las NPs desnudas se oxidan fácilmente al aire.

Para resolver este problema se han desarrollado varias estrategias de protección adecuadas que consisten en estabilizar las nanopartículas magnéticas recubriéndolas con materiales tanto orgánicos como inorgánicos.

Los recubrimientos orgánicos más utilizados son dextrano, quitosano, almidón, ácido poli(acrílico) y polietilenglicol. Estos se utilizan para estabilizar las partículas contra la agregación y presentan una buena biocompatibilidad. Las nanopartículas magnéticas revestidas con estos materiales orgánicos se usan principalmente para la resonancia magnética, la fijación de drogas específicas, separación de células magnéticas, etc.

Los recubrimientos inorgánicos proporcionan alta estabilidad en disolución y se utilizan para mejorar la eficiencia de las nanopartículas como semiconductores, en almacenamiento de información, etc. Algunos de estos materiales son la sílice, óxidos metálicos ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{Cu}_2\text{O}$ ), sulfuros ( $\text{CdS}$ ,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{PbS}$ ,  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ), etc.

#### **1.4. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NPs**

La estabilidad de IONPs es un tema importante para su aplicación posterior y como se discutió en el apartado anterior hay distintas formas de estabilizar las NPs. Sin embargo, para que las partículas sean eficientes para el objetivo deseado, deben ser funcionalizadas con las moléculas adecuadas. Para ello, nos interesan residuos que nos permitan una posterior funcionalización.

Uno de estos recubrimientos es PAA que posee grupos ácido que puede reaccionar con diversos grupos.

De todas las reacciones posibles, la reacción con aminas para formar una amida es un método muy utilizado. La reacción es sencilla, si bien ocurre a altas temperaturas, condiciones en que la proteína se desnaturaliza. Para evitar este

problema se utilizan activadores como carbodiimidas y la N-hidroxisuccinimida que permite la formación de la amida a temperatura ambiente.<sup>27</sup>

Otro tipo de funcionalización es la reacción de clic tiol-eno. Esta metodología se ha utilizado para la unión de cisteínas a las nanopartículas modificadas con un grupo alilo<sup>28</sup>.



---

# OBJETIVOS

---

## **2. OBJETIVOS**

Dada la importancia de las NPs magnéticas y sus aplicaciones nos planteamos los siguientes objetivos para este trabajo:

- 1) La síntesis de nanopartículas de magnetita superparamagnéticas.
- 2) La funcionalización de su superficie con PAA.
- 3) Establecer un protocolo de unión de estas NPs a proteínas.

---

# **DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

---

### **3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

La síntesis de nanopartículas de magnetita es un proceso sencillo, sin embargo, el control de manera reproducible es difícil.<sup>30-33</sup>

En la síntesis de nanopartículas de magnetita hay que tener en cuenta que las propiedades dependen no solo de la naturaleza del núcleo cristalino sino de la forma y el tamaño y estas propiedades varían no solo con el método utilizado, sino que también dependen de factores como la concentración de reactivos, surfactantes, la temperatura, el tiempo de reacción y el disolvente utilizado.<sup>29</sup>

#### **3.1. SÍNTESIS DE NPM-AO**

Las NPM-AO de este trabajo se han preparado por el método de descomposición térmica. Para ello, se ha utilizado como precursor el  $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$ , 1-octadeceno y benciléter como disolventes y ácido oleico y oleilamina como estabilizadores.

##### **Método A: Control de la rampa de calentamiento**

Todos los reactivos de partida ( $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$  como precursor, 1-octadeceno como disolvente, ácido oleico y oleilamina como estabilizadores) se mezclan a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte, observándose una disolución de color naranja. A continuación, se pone a calentar la mezcla controlando la rampa de calentamiento. La velocidad de calentamiento fue de 10 °C/min hasta llegar a los 130 °C aproximadamente observándose progresivamente un cambio de color de naranja a negro. A partir de esta temperatura se produce un calentamiento rápido hasta los 312 °C y se mantuvo a temperatura constante al llegar a los 312 °C. Una vez alcanzada la temperatura, se enfría y se lava el producto de reacción con ayuda de un imán obteniéndose un sólido negro.

De otro lado, en química de materiales es imprescindible la reproducibilidad por lo que la reacción se ha repetido en 8 ocasiones.

Al controlar las rampas de calentamiento se ha podido observar que cuánto más lento es el calentamiento entre 130 y 312 °C más polidispersa es la distribución de tamaño de las nanopartículas obtenidas, mientras que si el calentamiento es rápido la distribución de tamaño es más estrecha. Esto explica que la reacción NPM-AO-1 se obtenga con una alta polidispersidad (Figura 4).

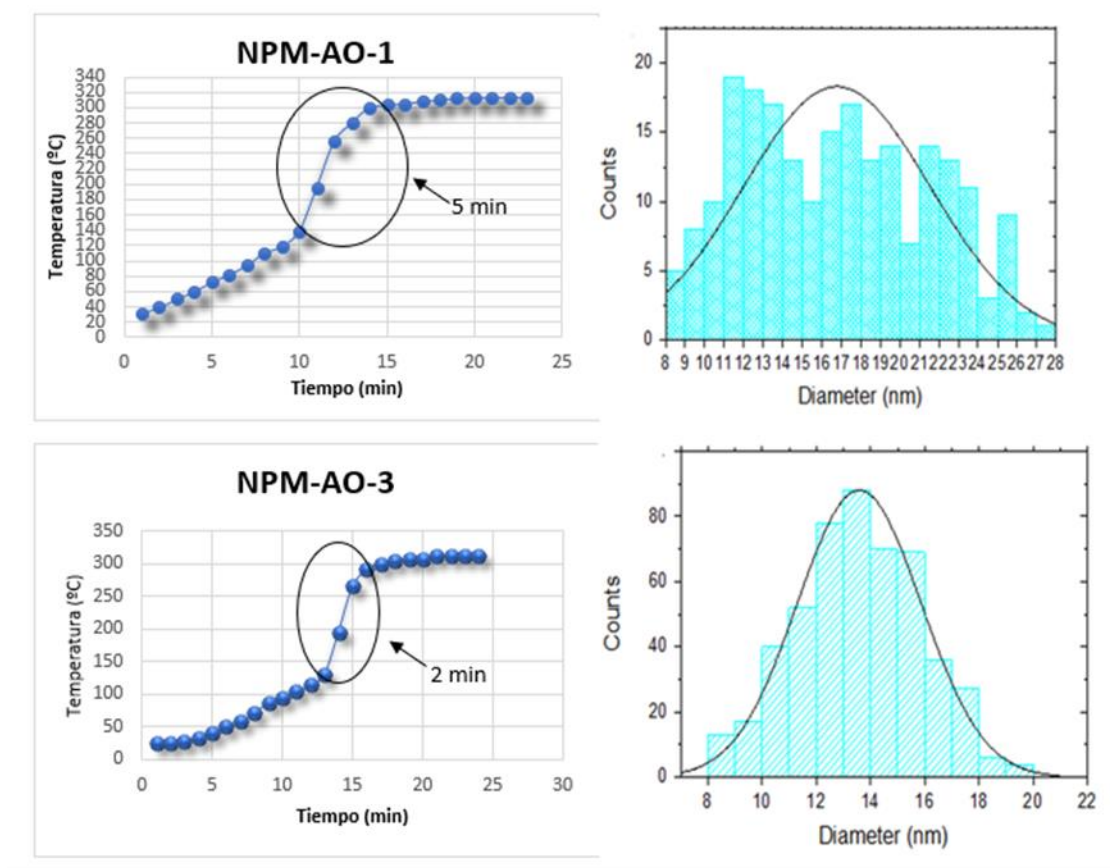


Figura 4. Comparación de las rampas de calentamiento con sus distribuciones de tamaño

El método planteado en este trabajo supone una mejora respecto a los protocolos de síntesis descritos en la literatura que requieren el empleo de reductores como el 1,2-hexadecanodiol.<sup>25,34</sup>

El producto obtenido, se ha caracterizado por espectroscopía infrarroja, TEM, Rayos X y medidas de magnetismo.

En el espectro de IR se observa una banda a  $576.0\text{ cm}^{-1}$  asignada al enlace Fe-O presente en el núcleo de magnetita. Además, a  $2952$  y  $1429.6\text{ cm}^{-1}$  se observan las bandas correspondientes a los grupos CH y CH<sub>2</sub> del ácido oleico. La banda  $1626.6\text{ cm}^{-1}$  se puede atribuir al movimiento de tensión del carbonilo del grupo carboxilo del ácido oleico (Figura 5).

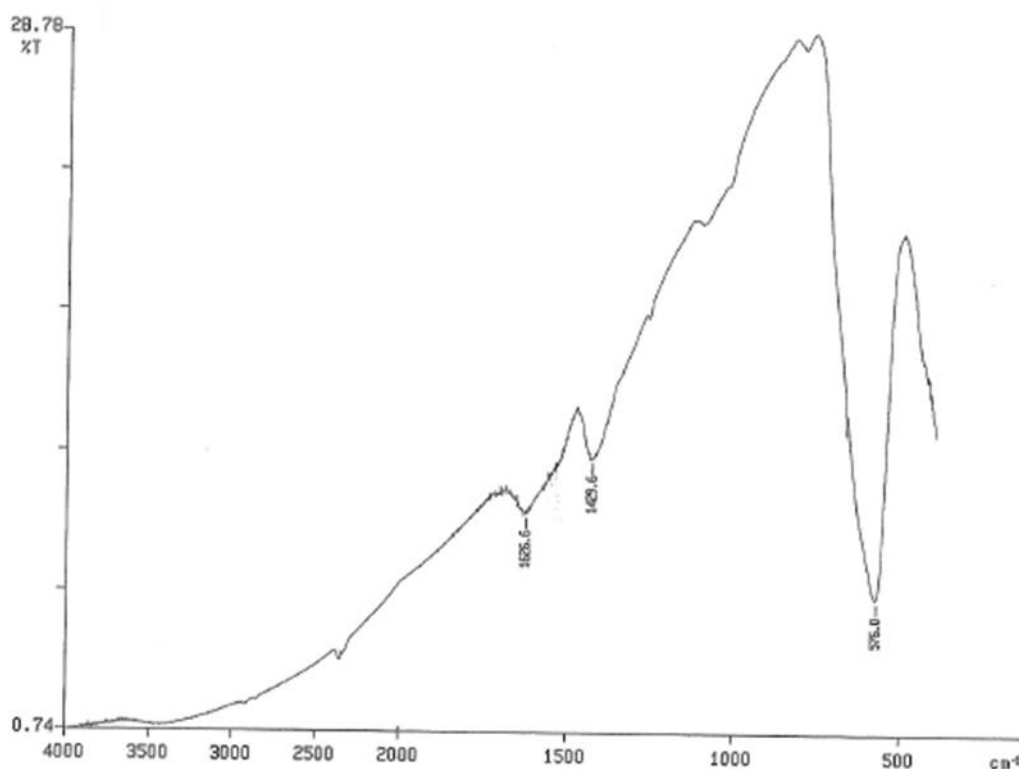
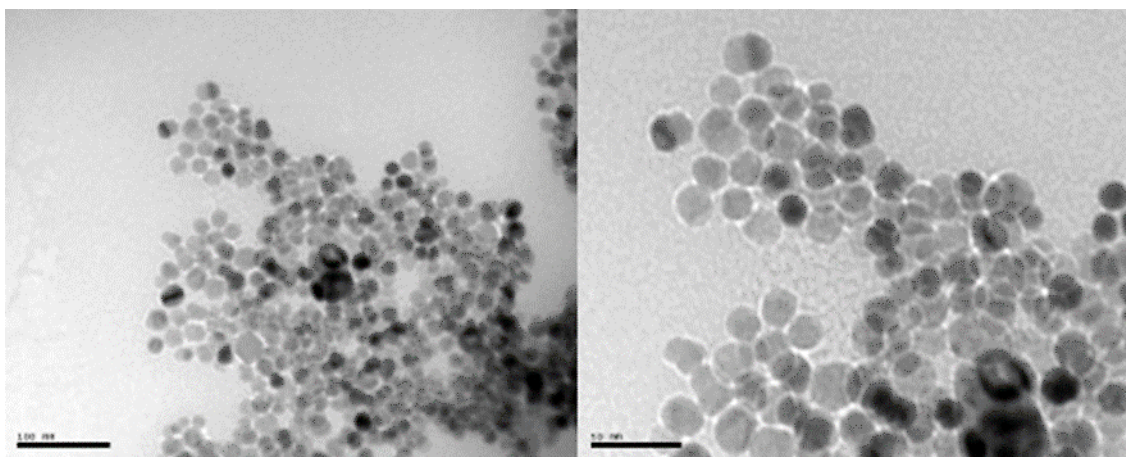
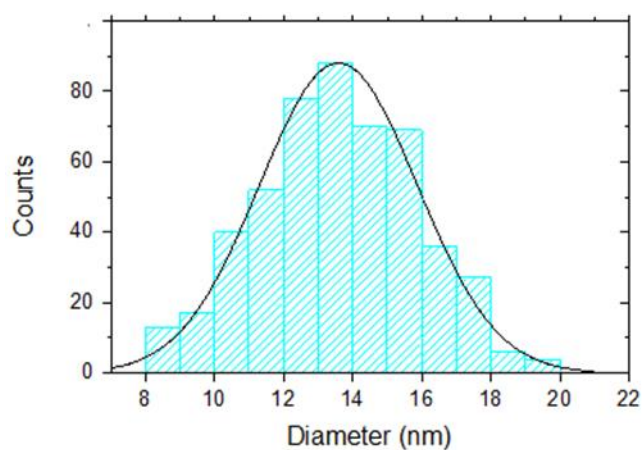


Figura 5. Espectro infrarrojo de NPM-AO-3

Para la caracterización de la morfología y tamaño de las nanopartículas sintetizadas se ha utilizado la microscopía electrónica de transmisión. En este apartado se discuten las micrografías de NPM-AO-3 de forma representativa. En ellas, se puede apreciar que las nanopartículas tienen una morfología esférica con un tamaño medio de 13-17 nm (Figura 6) y una distribución de tamaño bastante homogénea (Figura 7).



**Figura 6. Micrografías de NPM-AO-3**



**Figura 7. Distribución de tamaño de NPM-AO-3**

También se ha realizado el difractograma de NPM-AO-3 que muestra los picos característicos de la magnetita señalados con una flecha junto con un sólido no cristalino en la zona inicial del difractograma (Figura 8).

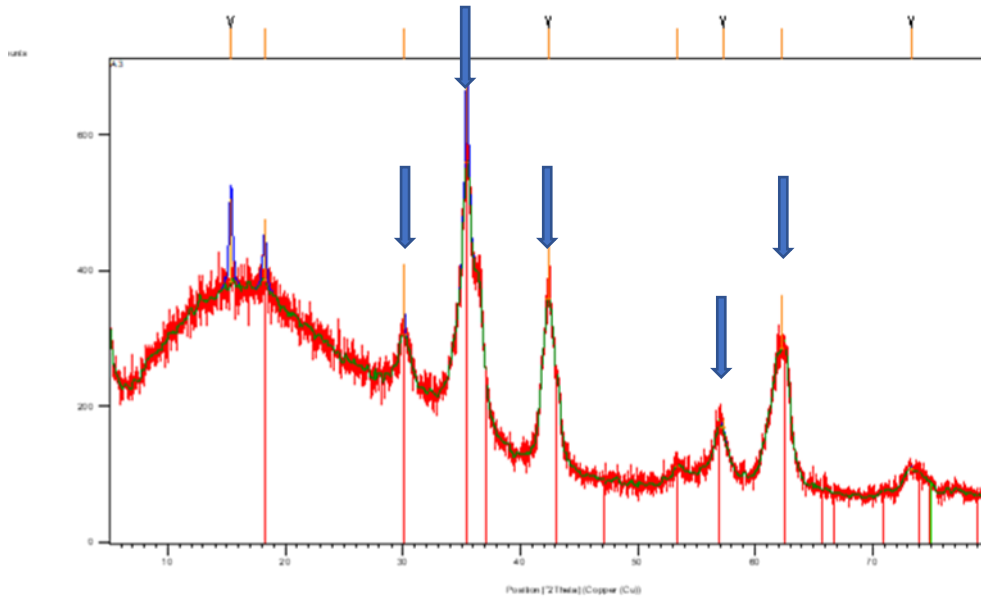


Figura 8. Difractograma de NPM-AO-3

Se realizaron pruebas de magnetismo para estudiar su comportamiento. Se ha discutido el comportamiento de NPM-AO-8 de manera representativa. En la figura 9, se puede observar que las nanopartículas tienen un campo coercitivo menor de 15 Oe y una imanación de saturación alta. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se concluye que las NPM-AO tienen un comportamiento superparamagnético.

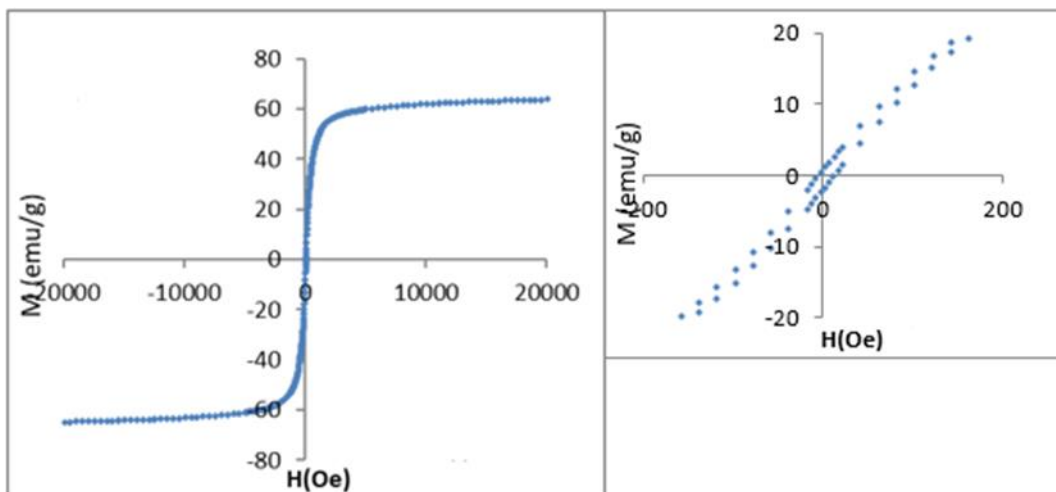


Figura 9. Ciclo de histéresis y campo coercitivo de NPM-AO-8



### **Método B: Adición de [Fe(acac)<sub>3</sub>] a temperatura de reflujo**

La polidispersidad es importante en la síntesis de nanopartículas de magnetita. Una de las razones de la polidispersidad obtenida puede ser que la etapa de crecimiento ocurre a la vez que la nucleación, por lo que siempre tendremos NPs pequeñas junto con la distribución de tamaño que nos interesa.

Por ello, nos planteamos un método donde el crecimiento y la nucleación no ocurran de manera simultánea.

Para ello, se mezclan benciléter, ácido oleico y oleilamina a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte observándose una disolución transparente y se pone a calentar a reflujo. Una vez alcanzada esta temperatura, se añade el precursor [Fe(acac)<sub>3</sub>] disuelto en benciléter, observándose una disolución de color naranja. Transcurridos 15 minutos, se obtiene una disolución de color negro que se enfría aislando las NPs como un sólido negro con la ayuda de un imán.

El producto obtenido, se ha caracterizado por espectroscopía infrarroja, TEM, Rayos X y medidas de magnetismo.

El espectro IR es como el obtenido en el método A (Figura 10). Las bandas de 2952 y 1429.6 cm<sup>-1</sup> se corresponden con los grupos CH y CH<sub>2</sub> del ácido oleico y la banda de 576.0 cm<sup>-1</sup> nos indica la presencia del núcleo de magnetita. Por último, la banda de 1626.6 cm<sup>-1</sup> es la de tensión del carbonilo del grupo carboxilo del ácido oleico.

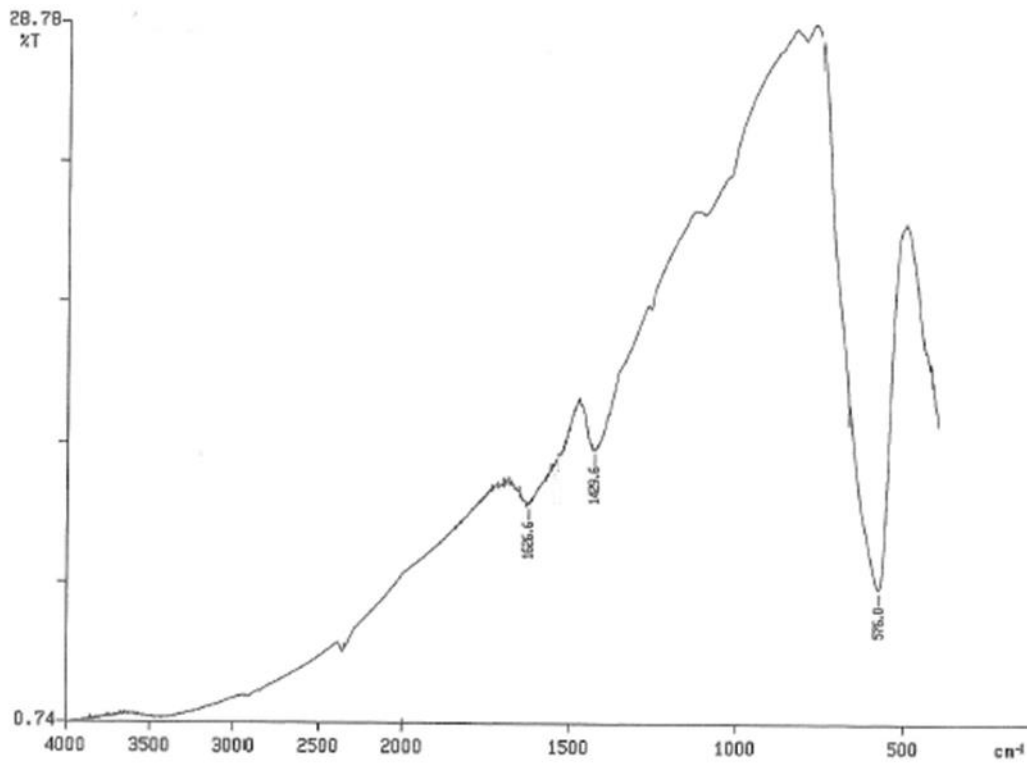
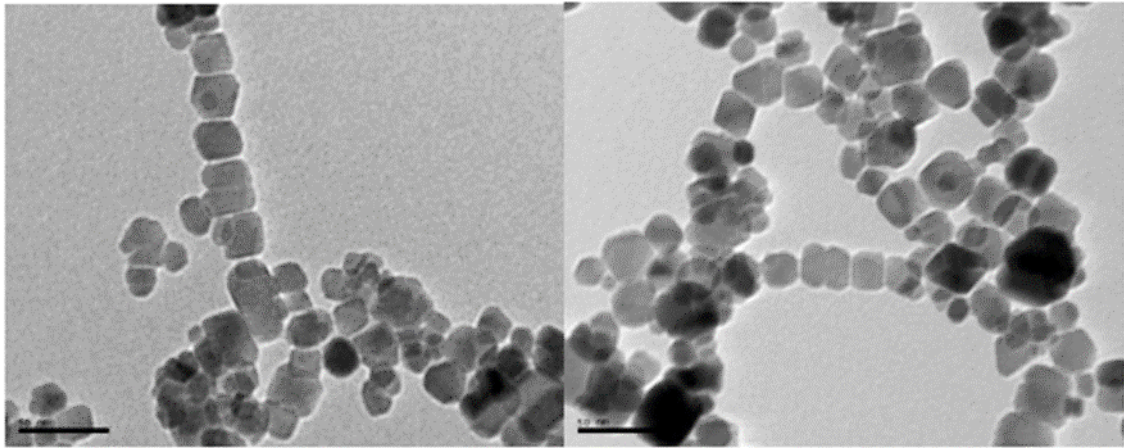
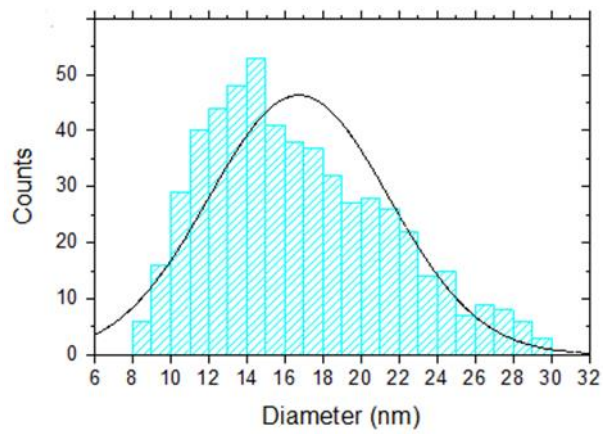


Figura 10. Espectro de NPM-AO-10

La caracterización de la morfología y tamaño de las nanopartículas recubiertas de ácido oleico se han llevado a cabo por microscopía electrónica de transmisión. En la figura 11, se muestran las micrografías de NPM-AO-10 de forma representativa. En ellas, se puede apreciar que las nanopartículas tienen una morfología cúbica con un tamaño medio de 16 nm (Figura 12). En este caso, las nanopartículas tienen una forma distinta al caso anterior, sin que podamos determinar si este cambio de forma es debido al cambio de concentración de oleilamina o al protocolo de síntesis utilizado.



**Figura 11. Micrografías de NPM-AO-10**



**Figura 12. Distribución de tamaño de NPM-AO-10**

El difractograma de NPM-AO-11 se recoge en la figura 13. En él se observan los picos característicos de la magnetita y que la concentración del sólido no cristalino ha disminuido considerablemente respecto al caso anterior.

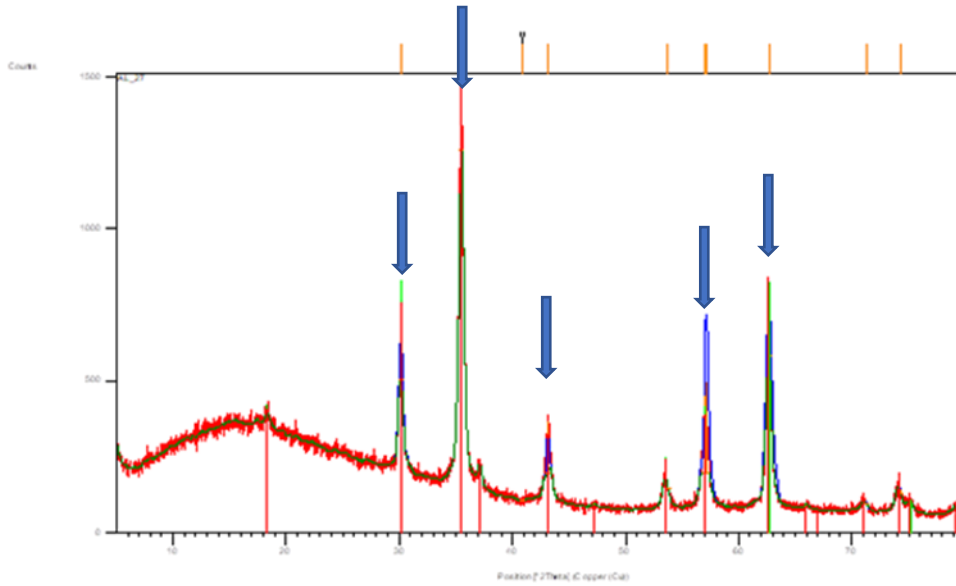


Figura 13. Difractograma de NPM-AO-11

En la figura 14 se recogen las pruebas de magnetismo de NPM-AO-11. Se observa que las nanopartículas, también tienen una imanación de saturación alta y un campo coercitivo menor de 15 Oe por lo que también tienen un comportamiento superparamagnético.

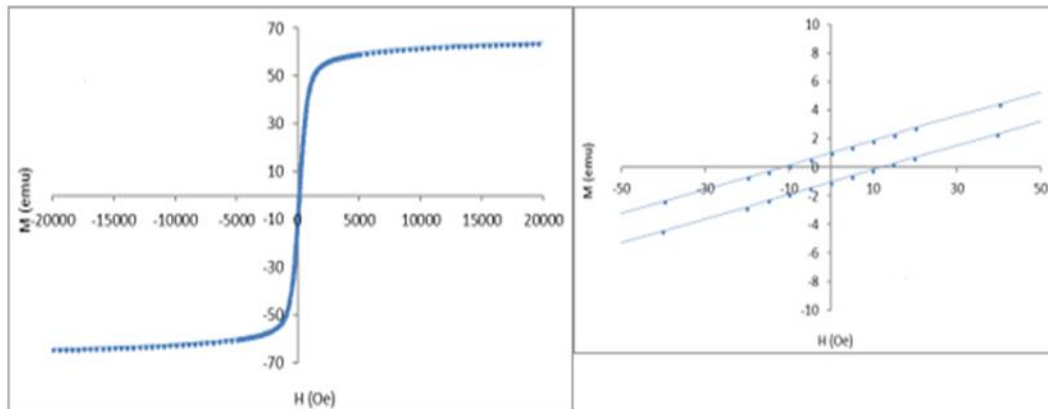


Figura 14. Ciclo de histéresis y campo coercitivo de NPM-AO-11

### **Otros métodos de síntesis**

Se han ensayado otros protocolos en la síntesis de nanopartículas. En primer lugar, se ha realizado la síntesis aumentando el tiempo de reacción. Para ello, se mezclan todos los reactivos ( $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$  como precursor, benciléter, ácido oleico y oleilamina) a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte calentando durante 2 horas y media controlando la rampa de calentamiento los primeros 30 minutos. El producto se ha obtenido con un tamaño medio de 48 nm por lo que este método no es útil para la obtención de NPs superparamagnéticas.

En otro ensayo, los reactivos de partida ( $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$  como precursor, benciléter, ácido oleico y oleilamina) se mezclan a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte controlando la rampa de calentamiento durante los primeros 30 minutos. A continuación, se enfría a temperatura ambiente durante media hora para frenar el proceso de nucleación y se vuelve a calentar durante 2 horas para que se produzca la fase de crecimiento. El producto se ha obtenido con un polidispersidad bastante alta por lo que este procedimiento también se ha descartado.

Se ha probado a realizar el enfriamiento con un baño de agua fría a 0 °C para evitar el aumento de tamaño de los núcleos de magnetita mientras se produce el enfriamiento. En este caso, la polidispersidad obtenida es alta por lo que este método también se ha descartado.

El último procedimiento es la adición del precursor sólido en una mezcla a reflujo. Para ello, se mezclan benciléter, ácido oleico y oleilamina a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte observándose una disolución transparente y se pone a calentar a reflujo. A continuación, se añade el precursor sólido ( $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$ ) observándose una disolución naranja. Pasados 15 minutos, se enfría y se lava el

producto de reacción con la ayuda de un imán obteniéndose un sólido negro. En este caso, las nanopartículas se han sintetizado de manera reproducible, pero se ha descartado porque se han obtenido con un tamaño medio mayor a 20 nm.

### **3.2. SÍNTESIS DE NPM-PAA**

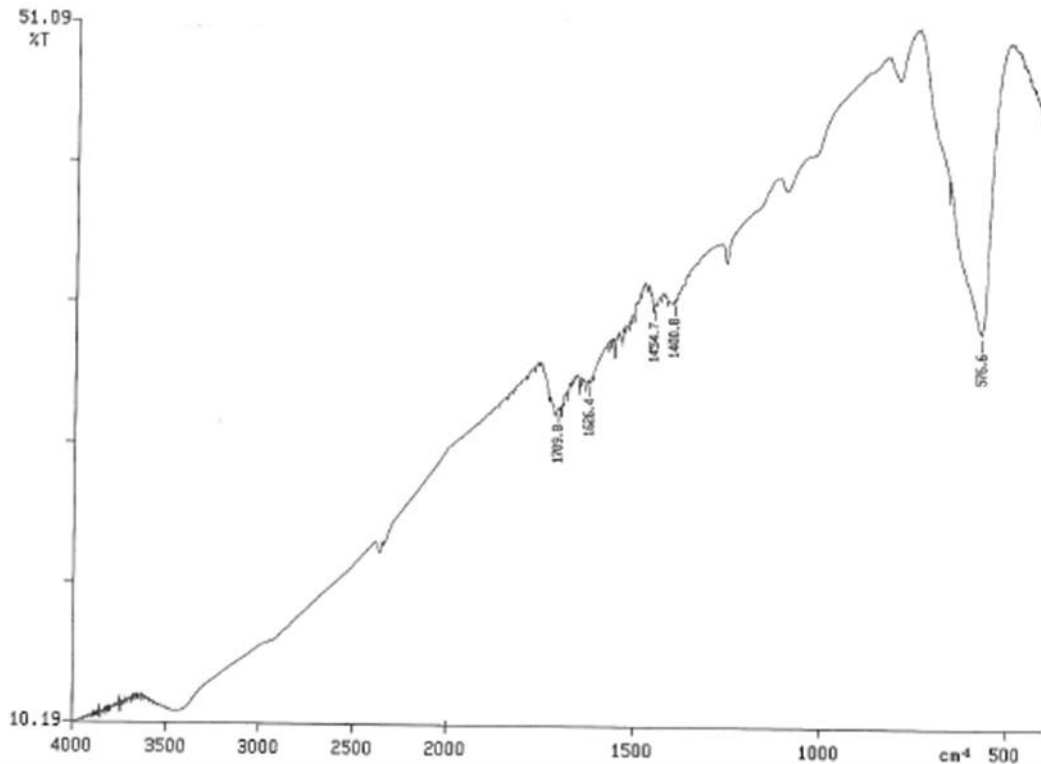
Uno de los objetivos de este trabajo es la funcionalización de nanopartículas de magnetita.

Con ese objetivo, nos interesa un recubrimiento que nos permita facilitar la funcionalización y que además sea biocompatible. Para ello, se ha realizado el intercambio del ácido oleico por el PAA utilizando un baño de ultrasonido.

Los reactivos de partida (NPM-AO, PAA y DMSO) se mezclan a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte apreciando una disolución de color negro. A continuación, se pone en un baño de ultrasonido a temperatura ambiente. Este procedimiento se ha repetido 4 veces para comprobar su reproducibilidad.

Esta síntesis representa una mejora respecto a los métodos de síntesis descritos que requieren tiempos de reacción de 48 horas.<sup>35</sup>

Se ha comprobado la modificación de la superficie de las nanopartículas por espectroscopía infrarroja. La banda de  $2960.3\text{ cm}^{-1}$  se corresponde con el modo de vibración del CH de PAA y las que aparecen a  $1454.7$  y  $1400.8\text{ cm}^{-1}$  a los  $\text{CH}_2$ . La banda de  $1709.8\text{ cm}^{-1}$  se asigna a los carbonilos libres del ácido poli(acrílico). A  $1626.4\text{ cm}^{-1}$  aparece la banda de deformación del agua H-O-H. Y, por último, la banda de  $576.0\text{ cm}^{-1}$  corresponde al enlace Fe-O presente en el núcleo de magnetita (Figura 15).



**Figura 15. Espectro de NPM-PAA-3**

La caracterización de la morfología y tamaño de las nanopartículas obtenidas se han llevado a cabo por microscopía electrónica de transmisión. Se han discutido las micrografías de NPM-PAA-3 de manera representativa en el que el material de partida es NPM-AO-7 (Figura 16). En este caso, se puede apreciar que las nanopartículas tienen una morfología esférica y una distribución de tamaño homogénea con un tamaño medio de 14-18 nm (Figura 17) igual que el material de partida NPM-AO-7 por lo que se concluye que el núcleo de las nanopartículas recubiertas de PAA no se ha modificado en el proceso de intercambio.

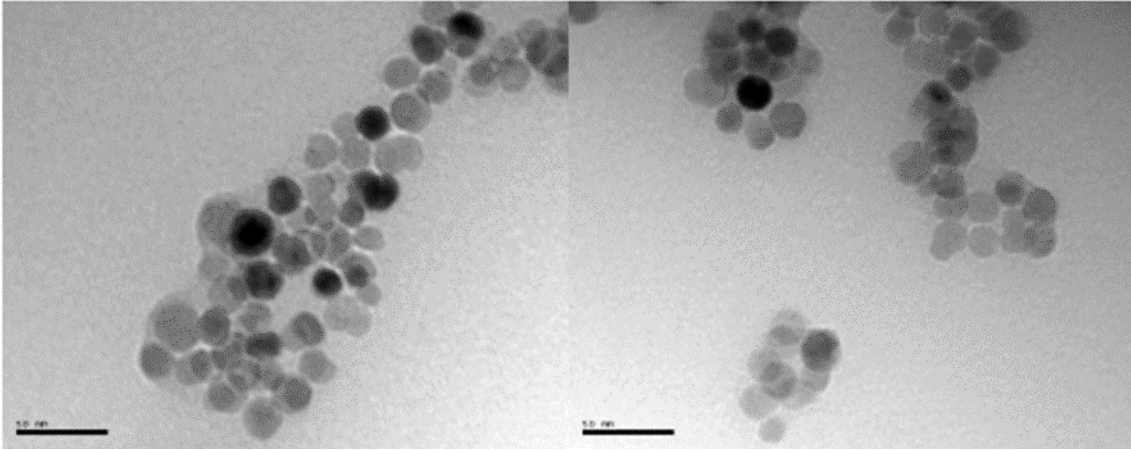


Figura 16. Micrografías de NPM-PAA-3

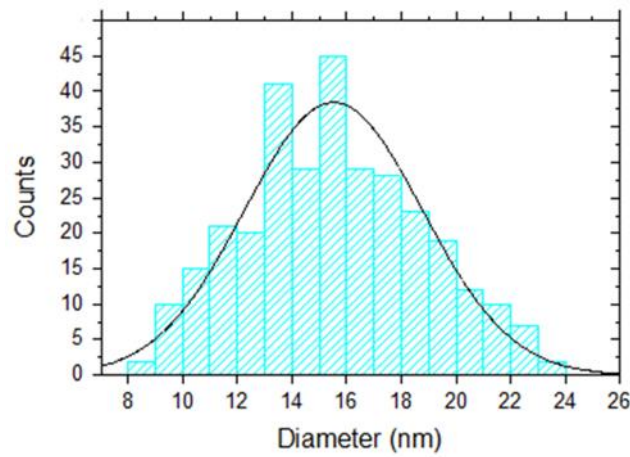


Figura 17. Distribución de tamaño de NPM-PAA-3

Las NPs obtenidas se han caracterizado por difracción de Rayos X de polvo para comprobar que la estructura cristalina de la nanopartícula obtenida es la misma que la de partida (Figura 18). Como ejemplo, se discute el difractograma de NPM-PAA-2 en que no se observa ninguna variación respecto al material de partida ni ningún pico de oxidación en el núcleo de magnetita.



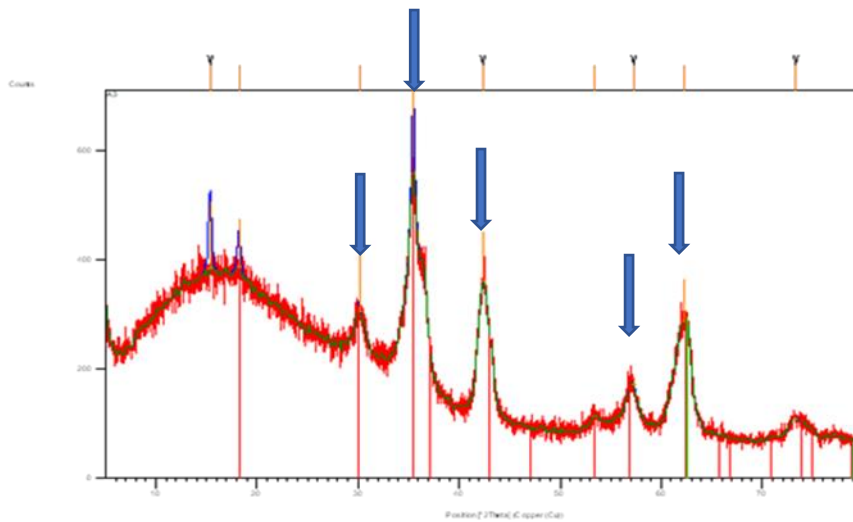


Figura 18. Difractograma de NPM-PAA-2

También se realizaron pruebas de magnetismo de NPM-PAA-2. Como se observa en la figura 19, las NPM-PAA siguen teniendo un campo coercitivo menor de 15 Oe. Sin embargo, se observa una disminución en la imanación de saturación que puede deberse a la naturaleza del recubrimiento.

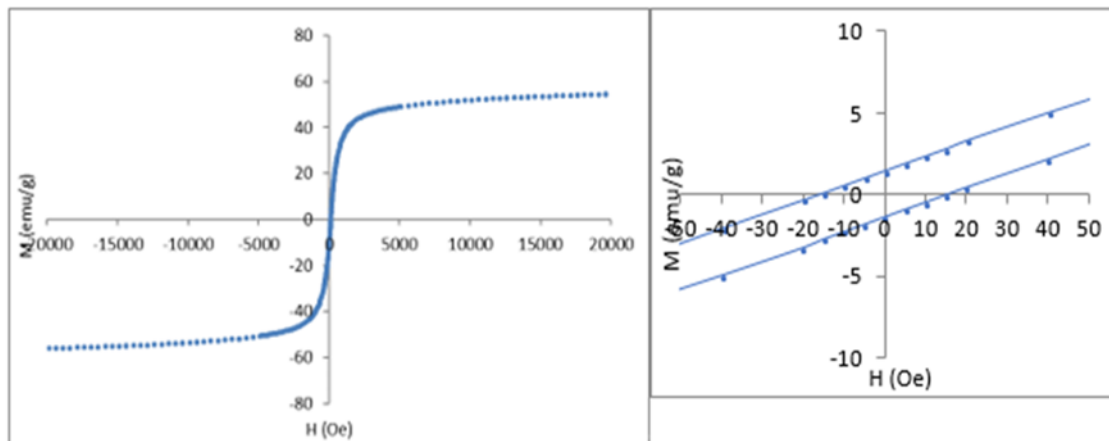


Figura 19. Ciclo de histéresis y campo coercitivo de NPM-PAA-2

### 3.3. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NPM-PAA CON NEUTRAVIDINA

El recubrimiento con PAA supone la presencia de grupos carboxilo en la superficie de las nanopartículas que permiten una posterior funcionalización.

Como se ha comentado en la introducción, una forma de funcionalización sería la reacción de los grupos ácido con los grupos amino de la proteína. Sin embargo, dicha reacción transcurre a temperaturas elevadas, por lo que la proteína se desnaturaría.

Para ello, se han utilizado aditivos como EDC y NHS que actúan como activadores que permiten la formación del enlace amida a temperatura ambiente.

Para comprobar esta ruta sintética se ha realizado la reacción de las nanopartículas recubiertas de PAA con proteínas. Utilizaremos la proteína neutravidina que es fácilmente detectable en IR.

En esta reacción se ha utilizado una proporción 1 NPs : 50 EDC : 74 NHS : 11 NAV.

Para el cálculo de las nanopartículas se han utilizado métodos aproximados. Para ello, supongo que todas las nanopartículas son esféricas y que su densidad es la densidad de la magnetita, despreciando su recubrimiento orgánico. El radio se obtiene de las medidas de TEM.

Diámetro	16 nm
Radio	8 nm = $8 \times 10^{-7}$ cm

Volumen de una nanopartícula:

$$V_{np} = \frac{4}{3}\pi r^3 = \frac{4}{3}\pi(8 \times 10^{-7})^3 = 2.14 \times 10^{-18} \text{ cm}^3$$

**Para una muestra de 5 mg**

Densidad de magnetita:  $5.2 \text{ g/cm}^3$

Volumen muestra:

$$V_m = 5 \text{ mg} \times \frac{1 \text{ g}}{10^3 \text{ mg}} \times \frac{1 \text{ cm}^3}{5.2 \text{ g}} = 0.000961 \text{ cm}^3$$

Nº de partículas en la muestra:

$$n^\circ \text{ de nanopartículas} = \frac{0.000961 \text{ cm}^3}{2.14 \times 10^{-18} \text{ cm}^3} = 4.49 \times 10^{14}$$

Proporción 1 NPs : 50 EDC : 74 NHS : 11 NAV

- EDC

1 NPS : 50 EDC

Moléculas necesarias de EDC:

$$4.49 \times 10^{14} \times 50 = 2.245 \times 10^{16} \text{ moléculas}$$

Como tenemos una disolución de 3 mg de EDC en 25 mL

Peso molecular de EDC:  $191 \text{ g/mol}$

$$\frac{3 \times 10^{-3} \text{ g}}{25 \text{ mL}} \times \frac{6.022 \times 10^{23} \text{ moléculas/mol}}{191.7 \text{ g/mol}} = 3.76 \times 10^{17} \text{ moléculas/mL}$$

$$2.245 \times 10^{16} \text{ moléculas} \times \frac{1 \text{ mL}}{3.76 \times 10^{17} \text{ moléculas}} = 0.0597 \text{ mL} \approx 60 \mu\text{L}$$

- NHS

Proporción: 1 NPS : 74 NHS

Moléculas necesarias de NHS:

$$4.49 \times 10^{14} \times 74 = 3.3226 \times 10^{16} \text{ moléculas}$$

Como tenemos una disolución de 6 mg de NHS en 50 mL

Peso molecular de NHS:  $217.3 \text{ g/mol}$

$$\frac{6 \times 10^{-3} \text{ g}}{50 \text{ mL}} \times \frac{6.022 \times 10^{23} \text{ moléculas/mol}}{217.3 \text{ g/mol}} = 3.32 \times 10^{17} \text{ moléculas/mL}$$

$$3.3226 \times 10^{16} \text{ moléculas} \times \frac{1 \text{ mL}}{3.32 \times 10^{17} \text{ moléculas}} = 0.1 \text{ mL} \approx 100 \mu\text{L}$$

- NAV

Proporción: 1 NPs: 11 NAV

Moléculas necesarias de NAV:

$$4.49 \times 10^{14} \times 11 = 4.939 \times 10^{15} \text{ moléculas}$$

Como tenemos una disolución de 10 mg de NAV en 1 mL.

Peso molecular de NAV:  $60000 \text{ g/mol}$

$$\frac{10 \times 10^{-3} \text{ g}}{1 \text{ mL}} \times \frac{6.022 \times 10^{23} \text{ moléculas/mol}}{60000 \text{ g/mol}} = 1.0037 \times 10^{17} \text{ moléculas/mL}$$

$$4.939 \times 10^{15} \text{ moléculas} \times \frac{1 \text{ mL}}{1.0037 \times 10^{17} \text{ moléculas}} = 0.049 \text{ mL} \approx 50 \mu\text{L}$$

El protocolo utilizado es el siguiente. En un eppendorf especial para proteínas, se mezclan a temperatura ambiente las NPM-PAA, el EDC y el NHS observándose una disolución de color negro y se pone a agitar en un agitador orbital durante 30 minutos. Transcurrido ese tiempo, se añade la neutravidina y se vuelve a agitar de

nuevo durante 2 horas para que se produzca la funcionalización obteniendo un sólido de color negro.

Este procedimiento representa una mejora respecto a otros métodos de síntesis descritos para la unión de proteínas a nanopartículas que requieren tiempos de reacción más largos de 3-4 horas.<sup>36,37</sup>

En este caso el producto resultante sólo se caracteriza por espectroscopía infrarroja suponiendo que la forma, el tamaño, estructura cristalina y comportamiento magnético no se han modificado.

Como se observa en la figura 20, la banda de  $1709.8\text{ cm}^{-1}$  ha desaparecido y aparecen otras dos bandas a  $1556.9\text{ cm}^{-1}$  que no había en el caso anterior. Este hecho nos confirma que se ha formado un enlace entre el PAA y la NAV, por lo que las nanopartículas se han funcionalizado. A  $1455.2$  y  $1400.8\text{ cm}^{-1}$  aparecen las bandas de los  $\text{CH}_2$  del PAA. La banda de  $1556.9\text{ cm}^{-1}$  corresponde al N-H de la amida y la de  $1651,6\text{ cm}^{-1}$  se asignada al C=O de la amida. Por último, las bandas tachadas con una X no pertenecen al compuesto sintetizado y provienen de una contaminación con silicona.

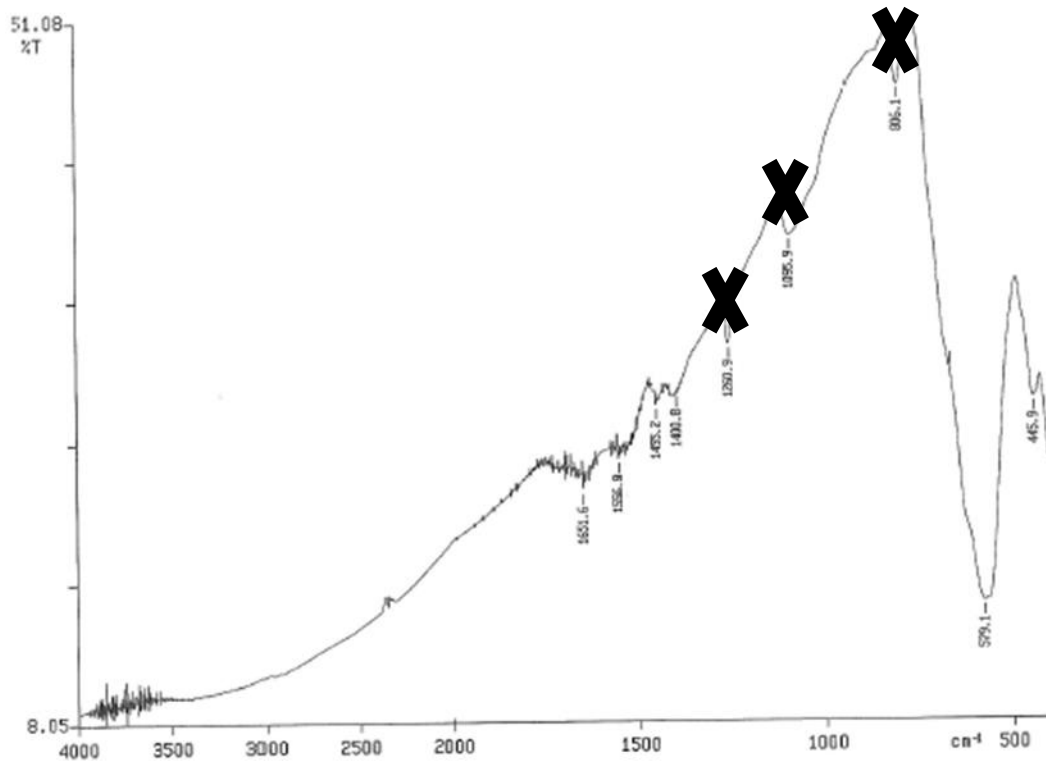


Figura 20. Espectro infrarrojo de NPM-NAV

La caracterización completa no se ha realizado debido a la pequeña cantidad preparada y al alto coste de la proteína.

Esta reacción será escalada y la utilidad de este reactivo probada por distintos métodos analíticos.

---

# **PARTE EXPERIMENTAL**

---

## **4. PARTE EXPERIMENTAL**

### **4.1. CONDICIONES GENERALES DE REACCIÓN Y DE TRABAJO**

Todas las reacciones de síntesis de NPM se realizaron bajo atmósfera inerte (Ar), utilizando agitación mecánica.

Todo el material de vidrio utilizado en la síntesis de NPM fue previamente lavado con HCl (conc), agua destilada y secado en estufa a 120 °C.

El hexano utilizado, se ha destilado previamente, bajo atmósfera de nitrógeno, utilizando un sistema de destilado y secado SPS (Solvent Purification System de Scharlab). El resto de los disolventes, así como todos los reactivos son comerciales y se han utilizado sin posterior purificación.

### **4.2. TÉCNICAS EMPLEADAS EN LA CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS**

Todos los compuestos descritos en este trabajo se han caracterizado empleando las siguientes técnicas:

- **Espectroscopía de infrarrojo (IR)**

Los espectros de infrarrojo se han registrado en un espectrofotómetro Perkin Elmer FT-IR Paragon 1000. Las absorciones se expresan en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ), siendo el error en la determinación de las posiciones del orden de  $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$ .

Las muestras se prepararon en pastillas de bromuro potásico recogiendo una zona del espectro comprendida entre 4000 y 400  $\text{cm}^{-1}$ .

- **Microscopía electrónica de transmisión (TEM)**

Las micrografías han sido obtenidas en un microscopio electrónico de transmisión (MET JEOL-2000 EX-II) de kilovoltaje máximo 200 kV. Poder



de resolución 3,4 amstrong entre líneas. Sistema fotográfico: cámara de placas 6,5 x 9,5 y película 35 mm, e imagen digitalizada con salida a PC (sistema digital micrograph GATAN) de los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo.

Las muestras previamente a su análisis son dispersadas en isopropanol para posteriormente ser depositadas en una rejilla de cobre.

▪ **Difracción de Rayos X (DRX)**

Los difractogramas de Rayos X de polvo presentes en este trabajo han sido llevados a cabo en los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo, mediante el uso de un difractómetro de rayos X “Bruker D8 Discover”.

▪ **Magnetismo**

Las pruebas de magnetismo expuestas en este trabajo han sido medidas en un equipo PPMS 14-T (Physical Property Measurement System) de los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo.

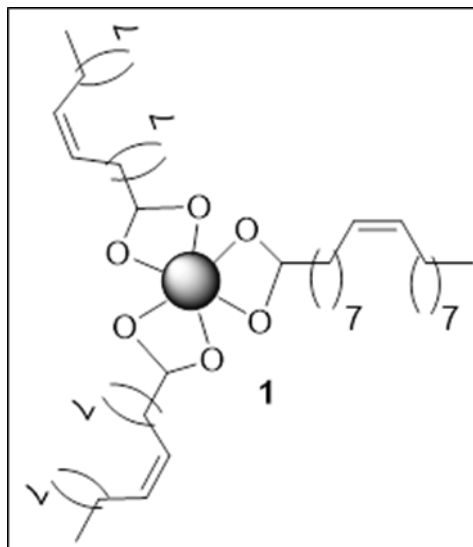
### **4.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA**

#### ***4.3.1. Síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita recubiertas de ácido oleico***

##### **Método A: Control de la rampa de calentamiento**

En un matraz de tres bocas, se disuelve [Fe(acac)<sub>3</sub>] (1.42 g, 4.02 mmol) en una mezcla de ácido oleico (2.8 mL, 8.82 mmol), oleilamina (2.7 mL, 6.95 mmol) y 1-octadeceno (20 mL) (peb 315 °C) desoxigenada previamente. La mezcla de reacción se calienta hasta llegar a temperatura constante (312 °C) controlando la rampa de calentamiento observando un cambio de color de naranja a negro. A continuación, se

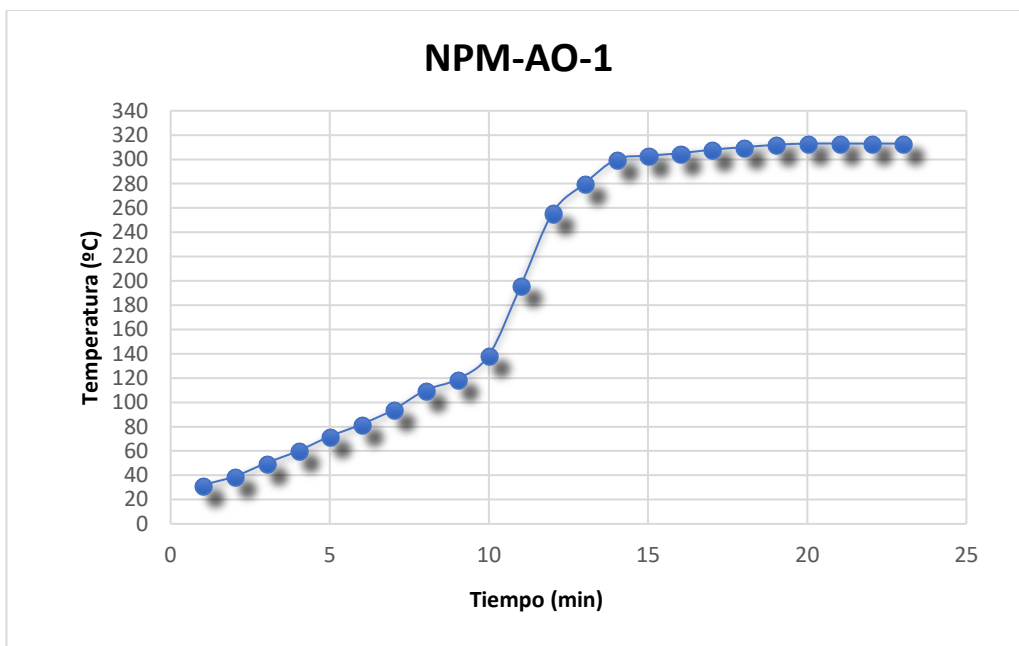
deja enfriar a temperatura ambiente durante 30 min. Pasado ese tiempo, se añade una mezcla de hexano/isopropanol (1:1) (100 mL) decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava 3 veces (3 x 100 mL) con la mezcla anterior decantando en cada lavado con ayuda de un imán.



La reacción se ha repetido varias veces para comprobar su reproducibilidad.

**NPM-AO-1**

**Rampa de calentamiento:**



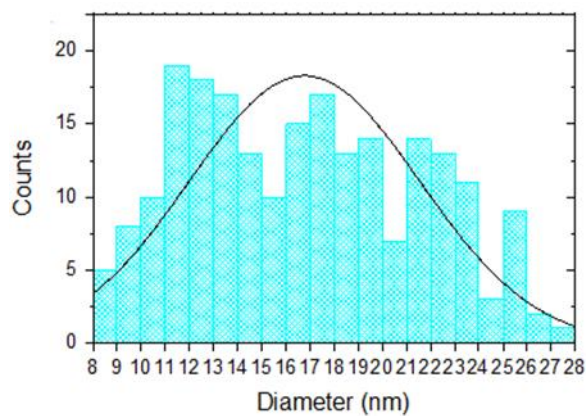
**Peso obtenido:** 266 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1632.1  $\nu(\text{C-O})$ ; 1424.2  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 570.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

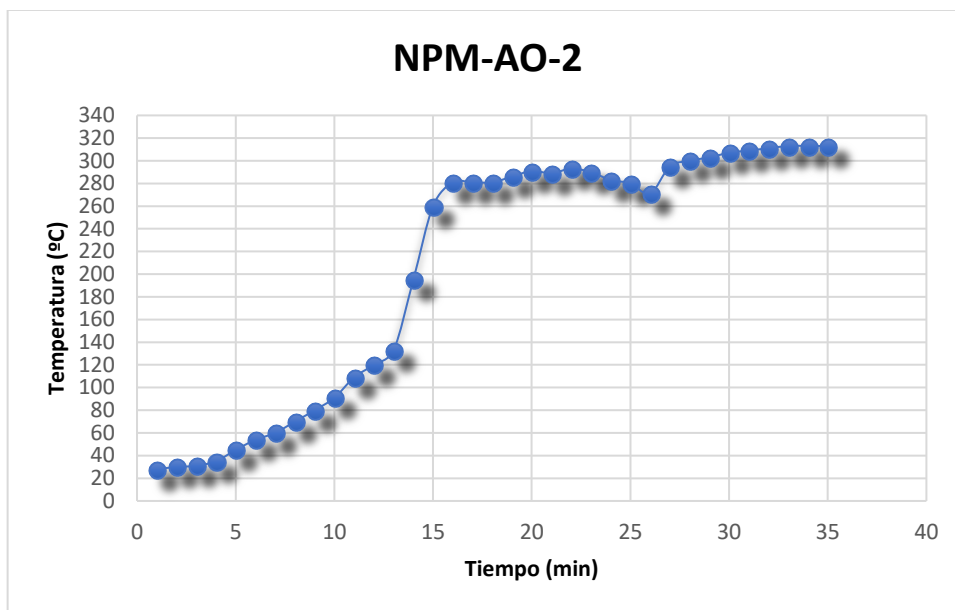
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
16,77350684932	4,7750285680626	219



**NPM-AO-2**

**Rampa de calentamiento:**



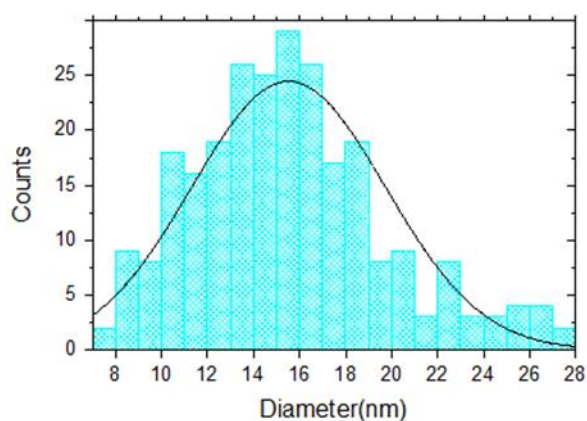
**Peso obtenido:** 341 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2916.5  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.5  $\nu(\text{C-O})$ ; 1440.5  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.0  $\nu(\text{Fe-O})$ .

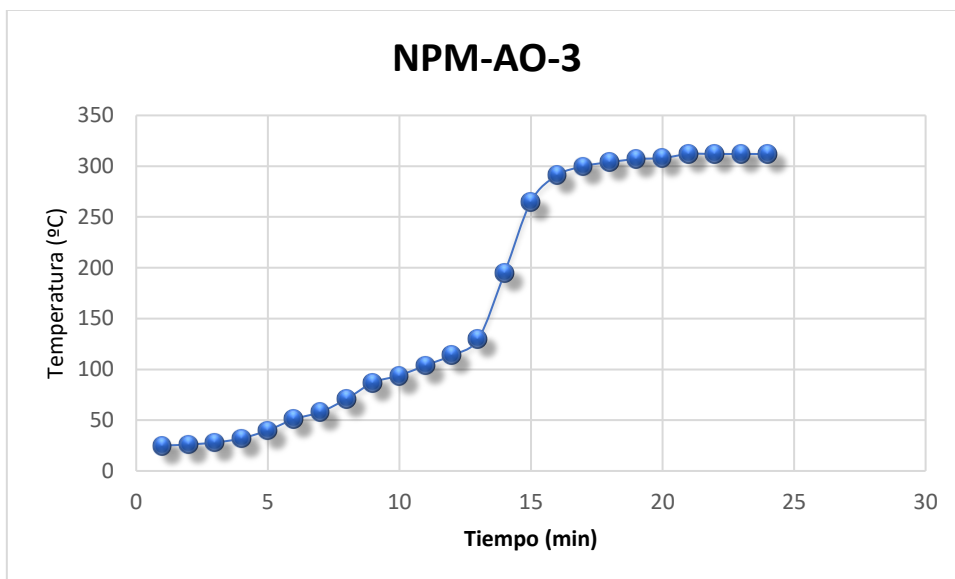
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
15,527751937984	4,2097741078819	258



**NPM-AO-3**

**Rampa de calentamiento:**



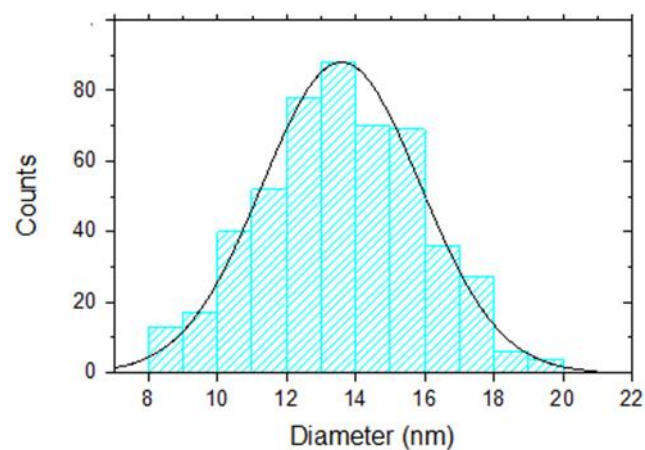
**Peso obtenido:** 139 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2920.8  $\nu(\text{CH})$ ; 1633.5  $\nu(\text{C-O})$ ; 1426.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 571.7  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

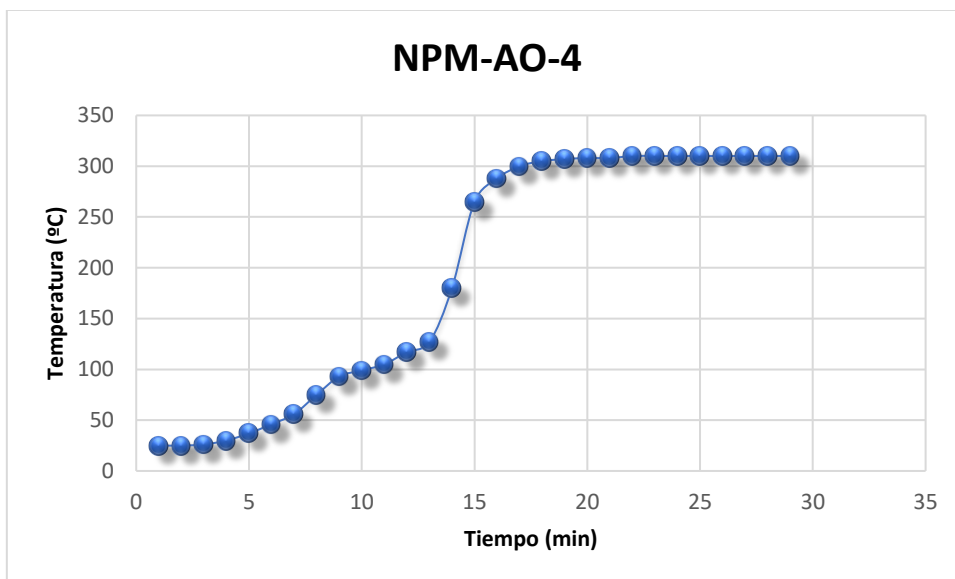
Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
13,58424	2,2833662749307	500



**DRX ( $2\theta$ , % intensidad): 15.3424 (56.65%); 18.2310 (41.54%); 30.1562 (47.47%); 35.4389 (100%); 42.3744 (42%); 53.3564 (0,46%); 57,2834 (5.72%); 62.3324 (36.53%); 73.3144 (1.61%).**

**NPM-AO-4**

**Rampa de calentamiento:**



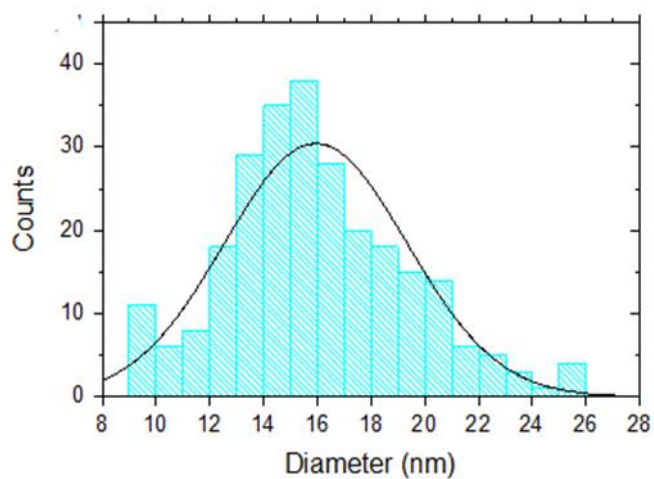
**Peso obtenido:** 268 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2950.6  $\nu(\text{CH})$ ; 1632.1  $\nu(\text{C-O})$ ; 1424.2  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.0  $\nu(\text{Fe-O})$ .

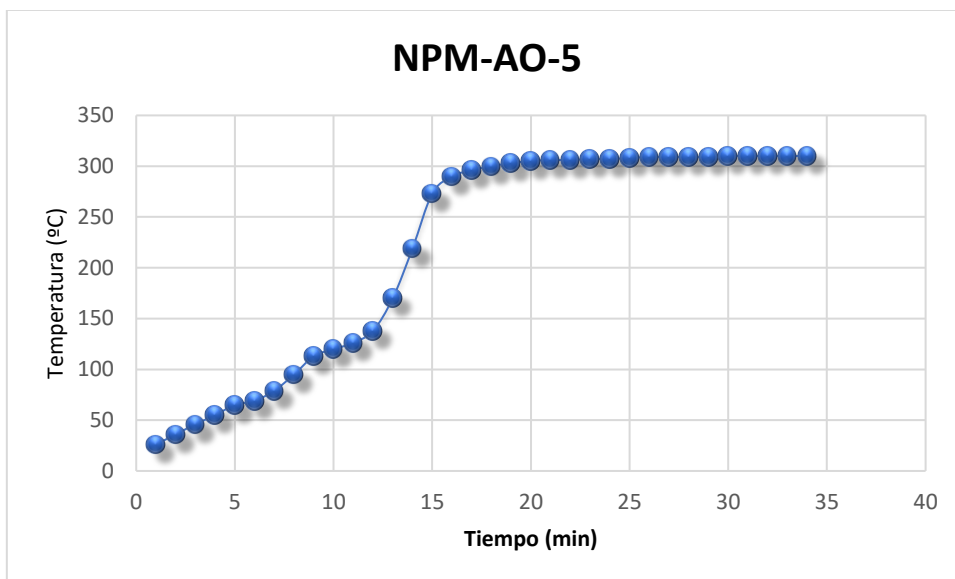
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
15,942702702703	3,3949779988716	259



**NPM-AO-5**

**Rampa de calentamiento:**



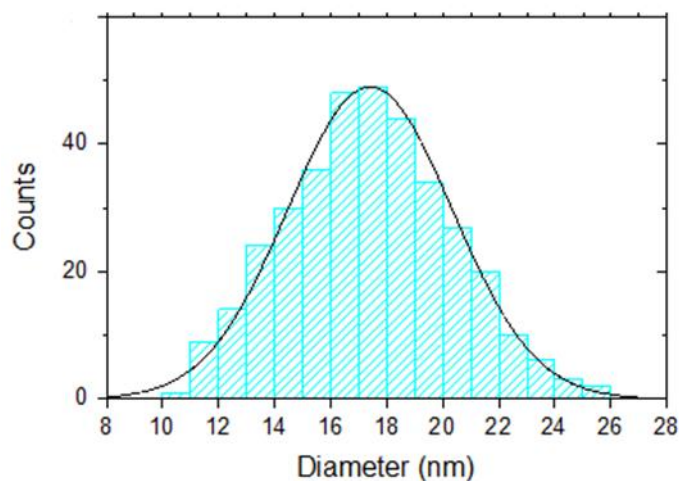
**Peso obtenido:** 186 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2951.7  $\nu(\text{CH})$ ; 1632.1  $\nu(\text{C-O})$ ; 1423.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 568.8  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

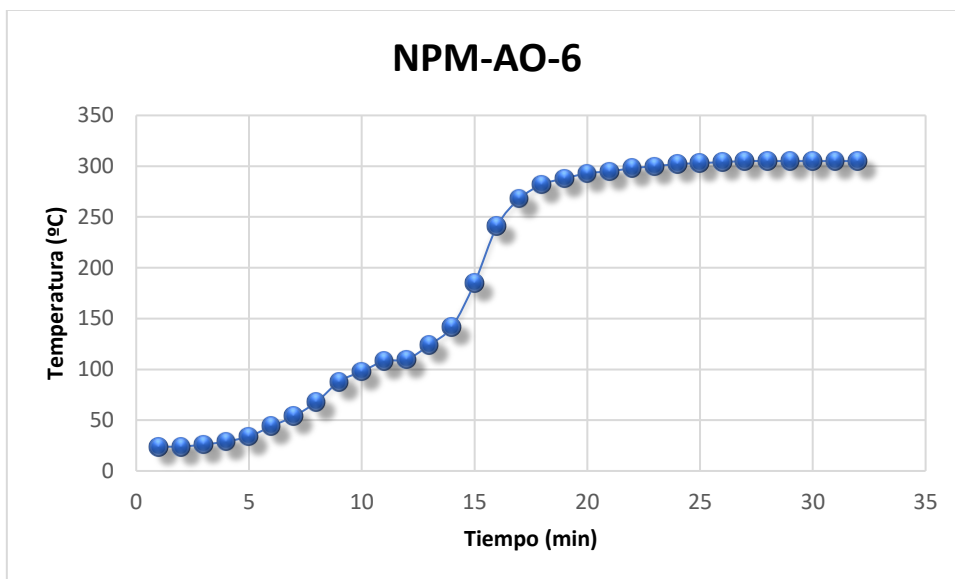
Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
17,403193277311	2,9353950788129	357





**NPM-AO-6**

**Rampa de calentamiento:**



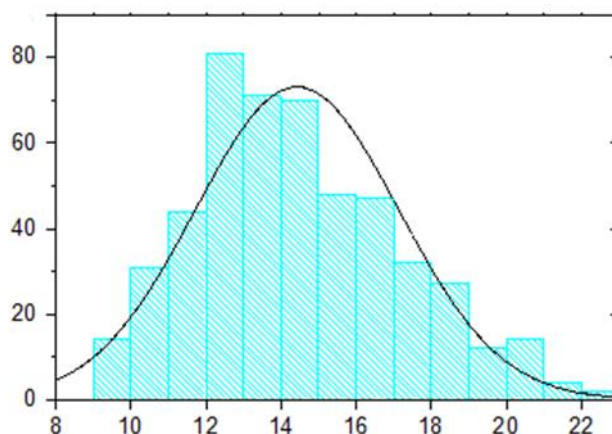
**Peso obtenido:** 210 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.6  $\nu(\text{C-O})$ ; 1424.2  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.0  $\nu(\text{Fe-O})$ .

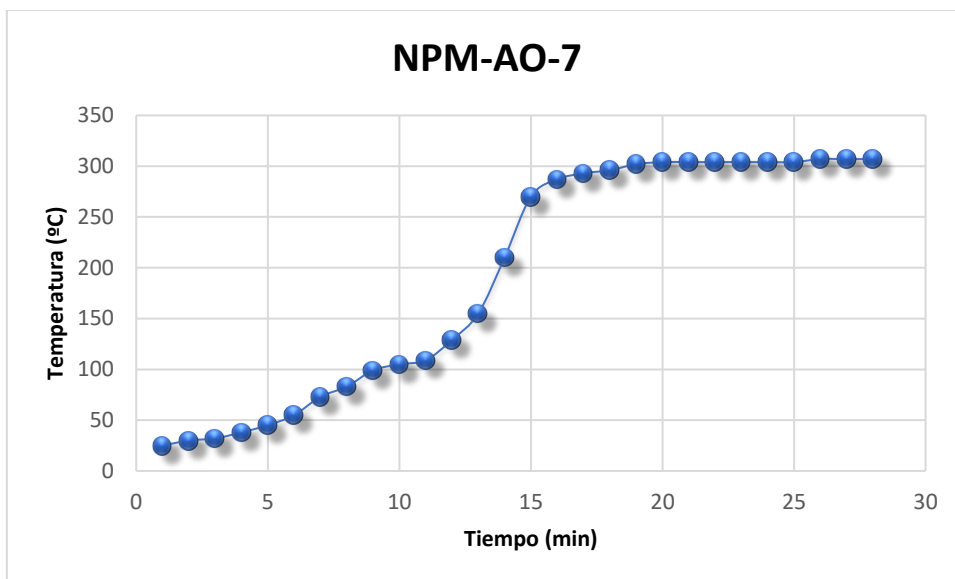
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
14,424124748491	2,7117940006845	497



**NPM-AO-7**

**Rampa de calentamiento:**



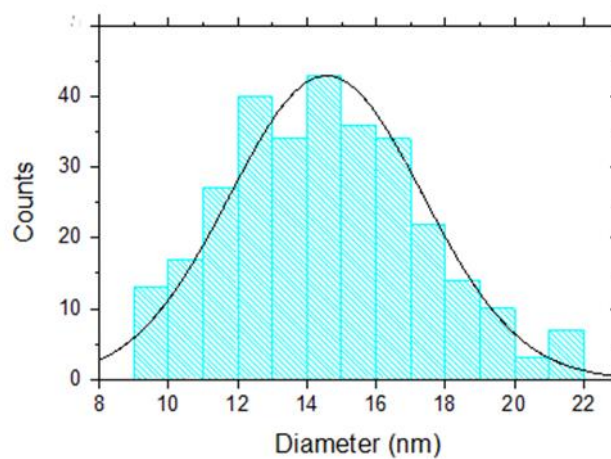
**Peso obtenido:** 220 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.6  $\nu(\text{C-O})$ ; 1429.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.0  $\nu(\text{Fe-O})$ .

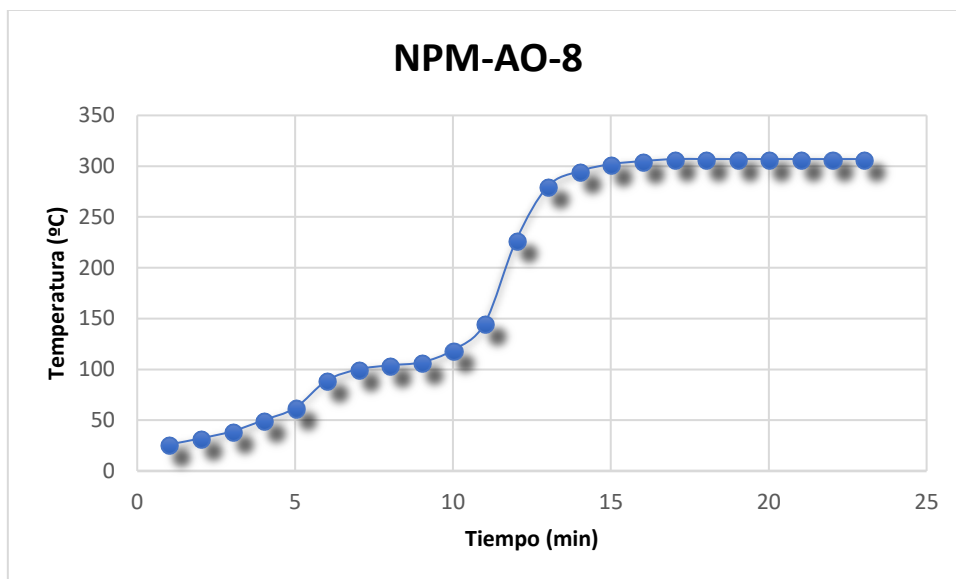
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
14,567733333333	2,7894037786518	300



**NPM-AO-8**

**Rampa de calentamiento:**



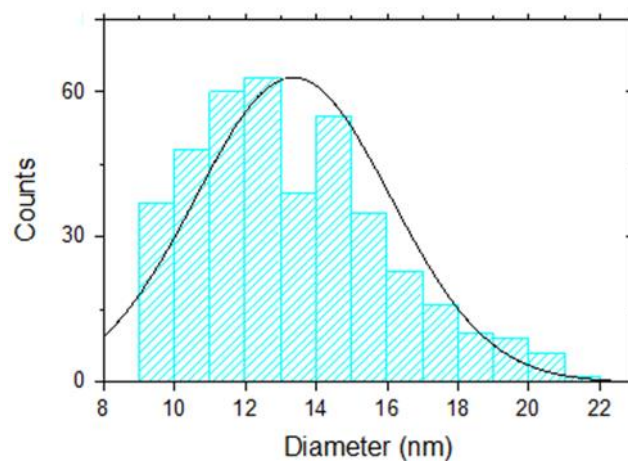
**Peso obtenido:** 203 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1621.1  $\nu(\text{C-O})$ ; 1429.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 581.5  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
13,359975186104	2,7455807547721	403



**Magnetismo:**

<b>Hc (Oe)</b>	<b>Ms (emu/g)</b>	<b>Mr (emu/g)</b>
8,9	64,246	1,374

**Método B: Adición de  $[(\text{Fe}(\text{acac})_3]$  a temperatura de reflujo.**

En un frasco lavador de gases, se ponen ácido oleico (2.7 mL, 8.50 mmol), oleilamina (1.5 mL, 3.86 mmol) en benciléter (20 mL) y se desoxigena durante 5 min. La mezcla se introduce en un matraz de tres bocas y se pone a calentar a reflujo. Una vez alcanzada la temperatura de reflujo, se añade  $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$  (1.42 g, 4.02 mmol) disuelto y se deja calentando durante 15 min. A continuación, la mezcla de reacción se enfría durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añade una mezcla de hexano/isopropanol (1:1) (100 mL) decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava 3 veces (3 x 100 mL) con la mezcla anterior decantando en cada lavado con ayuda de un imán.

La reacción se ha repetidos varias veces para comprobar su reproducibilidad.

**NPM-AO-9**

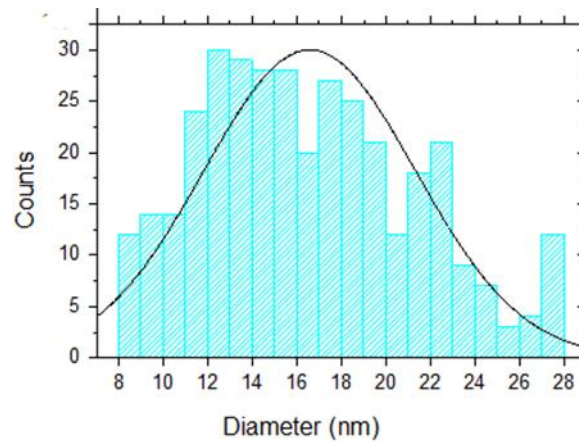
**Peso obtenido:** 232 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.4  $\nu(\text{C-O})$ ; 1410.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
16,579832402235	4,7641053989122	358



**NPM-AO-10**

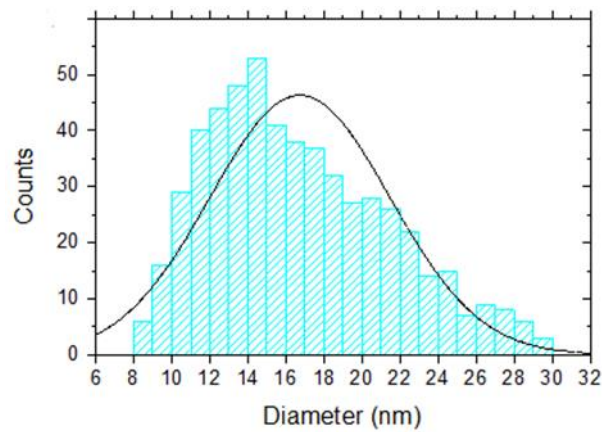
**Peso obtenido:** 240 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.6  $\nu(\text{C-O})$ ; 1429.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.0  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
16,740273224044	4,7313420070828	549



**NPM-AO-11**

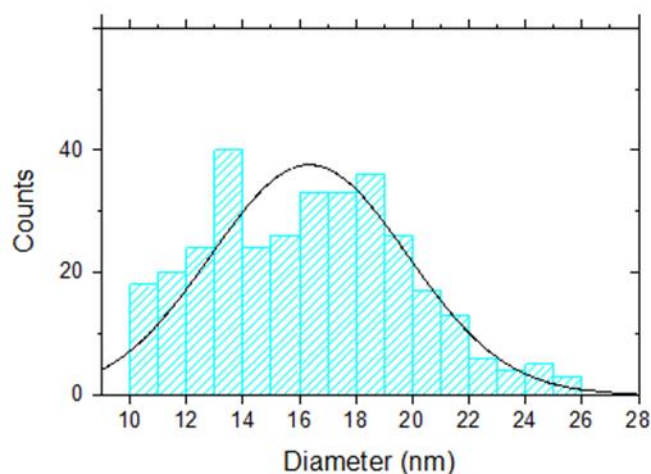
**Peso obtenido:** 201 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.4  $\nu(\text{C-O})$ ; 1405.7  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
16,346737804878	3,481548747365	328



**DRX ( $2\theta$ , % intensidad):** 30.1766 (39.18%); 35.5234 (100%); 40.8638 (0.94%); 43.1038 (33.53%); 53.7814 (0.19%); 57.0659 (49.02%); 57,1814 (58.05%); 62.7234 (34.85%); 71.2744 (0.86%); 74.3344 (2.31%).

**Magnetismo:**

Hc (Oe)	Ms (emu/g)	Mr (emu/g)
11,7	64,146	1,022



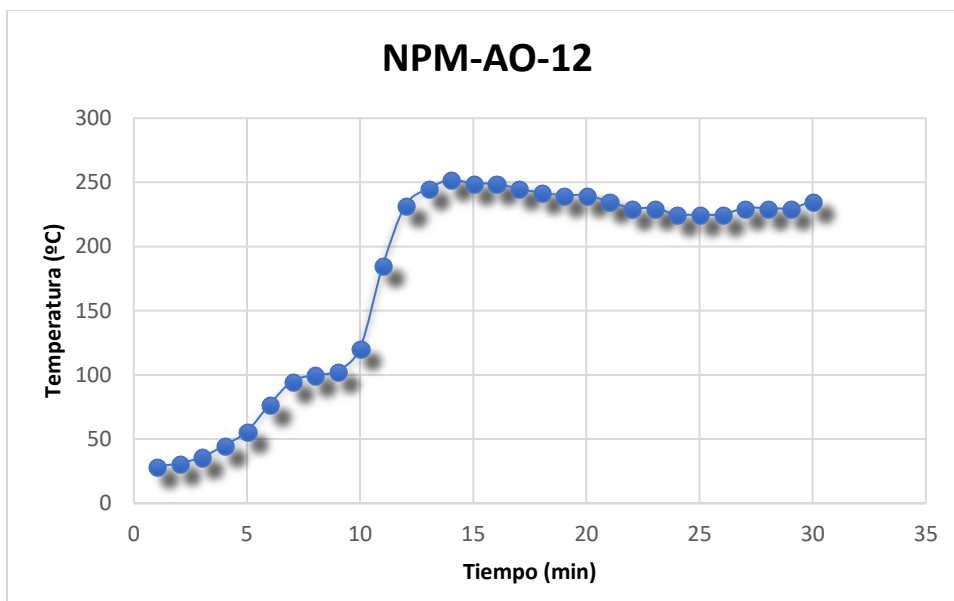
## **Otros métodos de síntesis.**

### **Método C.**

En un matraz de tres bocas, se disuelven [Fe(acac)<sub>3</sub>] (1.42 g, 4.02 mmol), en una mezcla de ácido oleico (2.8 mL, 8.82 mmol), oleilamina (2.7 mL, 6.95 mmol) y benciléter (20 mL) (peb 295 °C) desoxigenada previamente. La mezcla se calienta hasta llegar a temperatura constante (230 °C) controlando la rampa de calentamiento durante los primeros 30 min observando un cambio de color de naranja a negro y se deja calentando 2 h más. A continuación, se deja enfriar a temperatura ambiente durante 30 min. Pasado ese tiempo, se añade una mezcla de hexano/isopropanol (1:1) (100 mL) decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava con la mezcla anterior 3 veces (3 x 100 mL) decantando en cada lavado con ayuda de un imán.

**NPM-AO-12**

**Rampa de calentamiento:**



**Peso obtenido:** 226 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.4  $\nu(\text{C-O})$ ; 1410.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 581.5  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
48,779124087591	6,2697636312577	137

**Magnetismo:**

Hc (Oe)	Ms (emu/g)	Mr (emu/g)
106	72,065	11,846

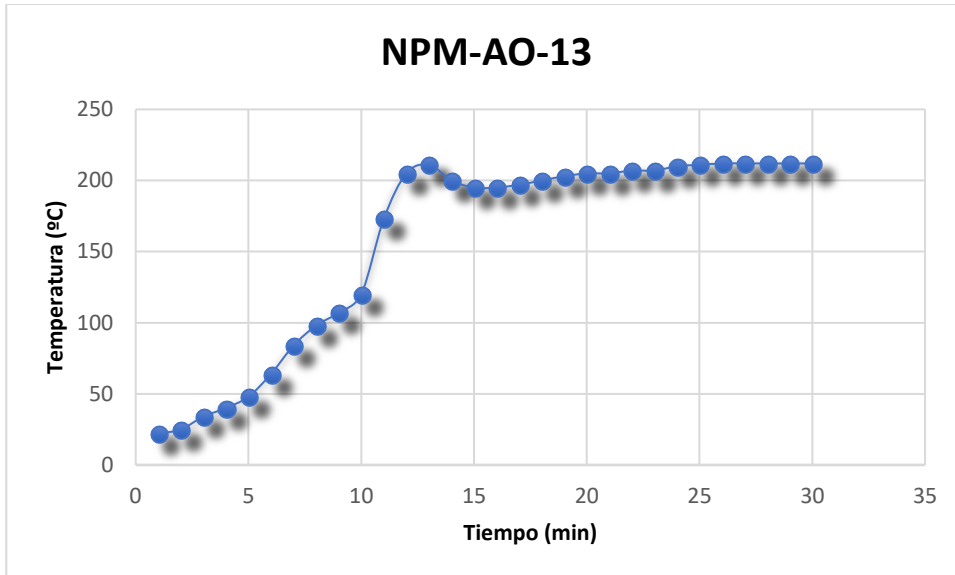
**Método D.**

En un matraz de tres bocas, se disuelven [Fe(acac)<sub>3</sub>] (1.42 g, 4.02 mmol), en una mezcla de ácido oleico (2.8 mL, 8.82 mmol), oleilamina (2.7 mL, 6.95 mmol) y benciléter (20 mL) (peb 295 °C) desoxigenada previamente. La mezcla se calienta hasta llegar a temperatura constante (230 °C) controlando la rampa de calentamiento durante 30 min observando un cambio de color de naranja a negro y se deja enfriando durante otros 30 min. A continuación, se pone a calentar durante 2 h y se deja enfriando durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añade una mezcla de hexano/isopropanol (1:1) (100 mL) decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava con la mezcla anterior 3 veces (3 x 100 mL) decantando en cada lavado con ayuda de un imán.

La reacción se ha repetido 2 veces para comprobar su reproducibilidad.

**NPM-AO-13**

**Rampa de calentamiento:**



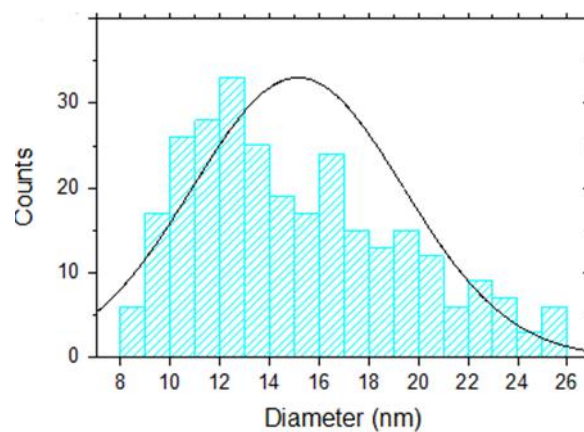
**Peso obtenido:** 231 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla, cm<sup>-1</sup>):** 2952  $\nu$ (CH); 1621.5  $\nu$ (C-O); 1410.6  $\nu$ (CH<sub>2</sub>); 571.7  $\nu$ (Fe-O).

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
15,145765124555	4,256596334975	281

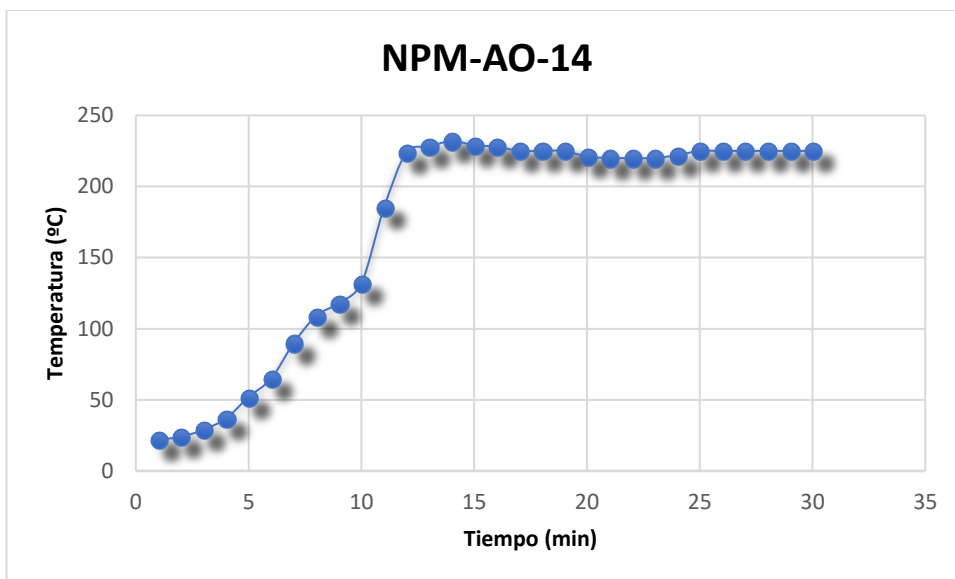


**Magnetismo:**

<b>Hc (Oe)</b>	<b>Ms (emu/g)</b>	<b>Mr (emu/g)</b>
63,2	80,93	7,811

**NPM-AO-14**

**Rampa de calentamiento:**



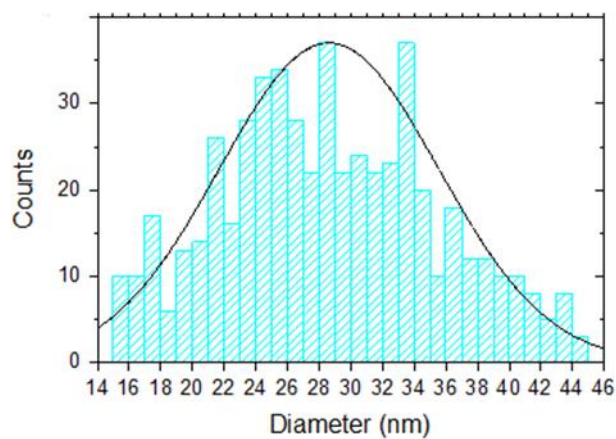
**Peso obtenido:** 298 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1626.4  $\nu(\text{C-O})$ ; 1405.7  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
28,624510166359	6,922780563606	541



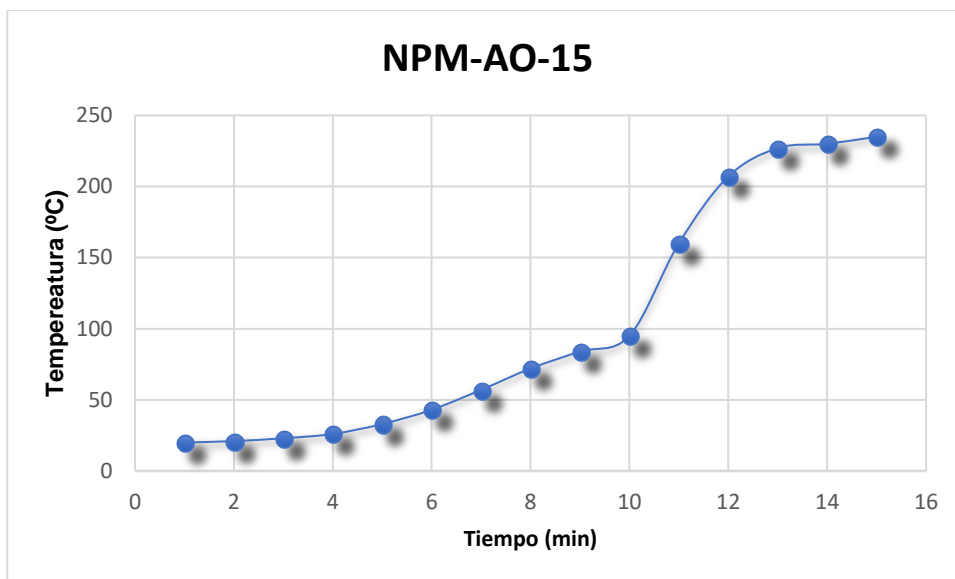
### **Método E.**

En un matraz de tres bocas, se disuelven [Fe(acac)<sub>3</sub>] (1.42 g, 4.02 mmol), en una mezcla de ácido oleico (2.8 mL, 8.82 mmol), oleilamina (2.7 mL, 6.95 mmol) y benciléter (20 mL) (peb 295 °C) desoxigenada previamente. La mezcla se calienta hasta llegar a temperatura constante (235 °C) controlando la rampa de calentamiento durante 15 min y se enfría con un baño de agua fría durante otros 30 min. A continuación, se pone a calentar durante 1 h y se enfría con un baño de agua fría durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añade una mezcla de hexano/isopropanol (1:1) (100 mL) decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava con la mezcla anterior 3 veces (3 x 100 mL) decantando en cada lavado con ayuda de un imán.

La reacción se ha repetido 2 veces para comprobar su reproducibilidad.

**NPM-AO-15**

**Rampa de calentamiento:**



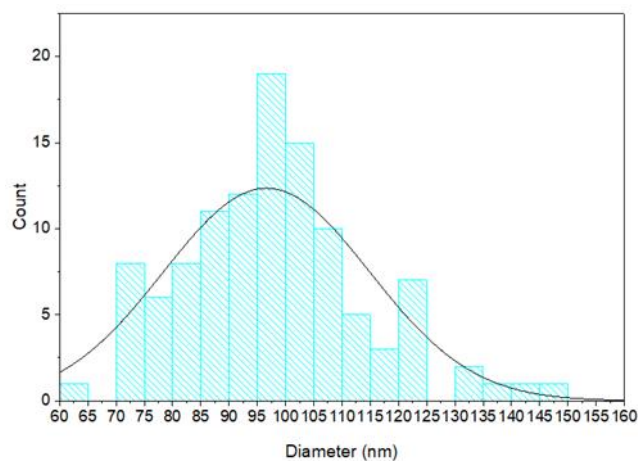
**Peso obtenido:** 238 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla, cm<sup>-1</sup>):** 2952  $\nu$ (CH); 1621.4  $\nu$ (C-O); 1413.7  $\nu$ (CH<sub>2</sub>); 576.6  $\nu$ (Fe-O).

**Distribución de tamaño:**

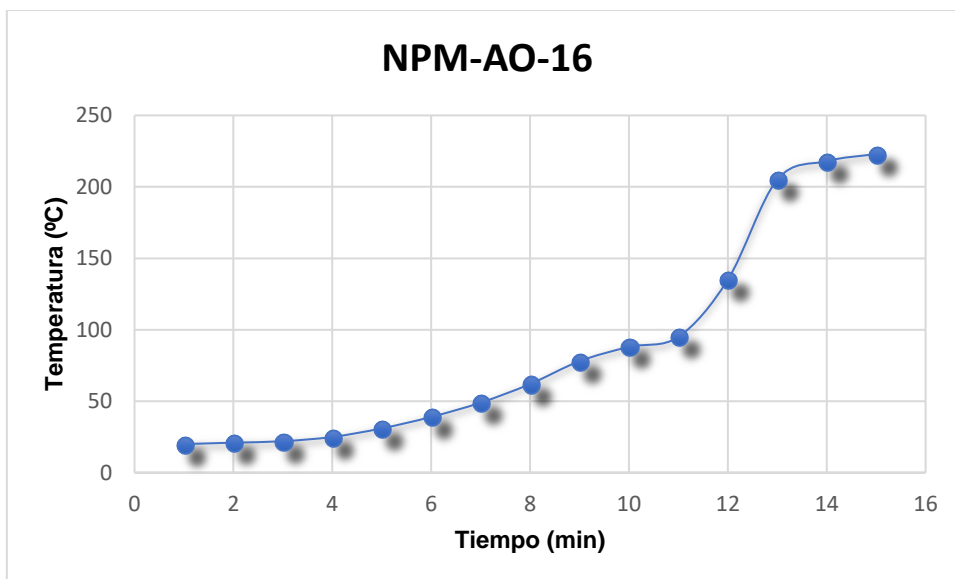
Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
92,80	19,79	117





**NPM-AO-16**

**Rampa de calentamiento:**



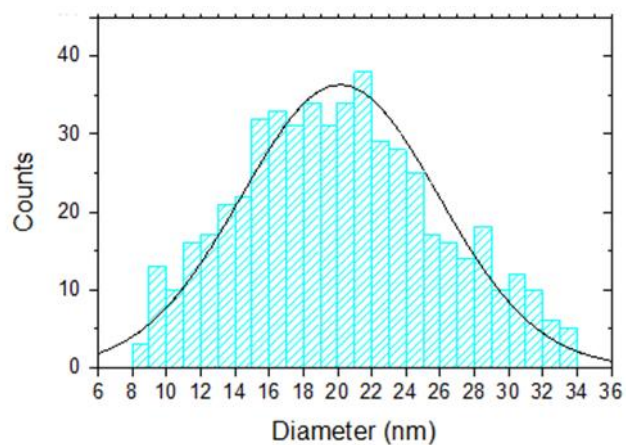
**Peso obtenido:** 249 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1621.5  $\nu(\text{C-O})$ ; 1410.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño:**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
20.33	5.99	258



**Método F.**

En un frasco lavador de gases, se mezclan ácido oleico (2.7 mL, 8.50 mmol), oleilamina (1.5 mL, 3.86 mmol) en benciléter (20 mL) y se desoxigena durante 5 min. La mezcla se introduce en un matraz de tres bocas y se pone a calentar a reflujo. Una vez alcanzada la temperatura de reflujo, se añade el [Fe(acac)<sub>3</sub>] (1.42 g, 4.02 mmol) sólido y se calienta durante 15 min. A continuación, la mezcla se enfría durante 30 min. Pasado ese tiempo, se añade una mezcla de hexano/isopropanol (1:1) (100 mL) decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava con la mezcla anterior 3 veces (3 x 100 mL) decantando en cada lavado con ayuda de un imán.

La reacción se ha repetido 2 veces para comprobar su reproducibilidad.

**NPM-AO-17**

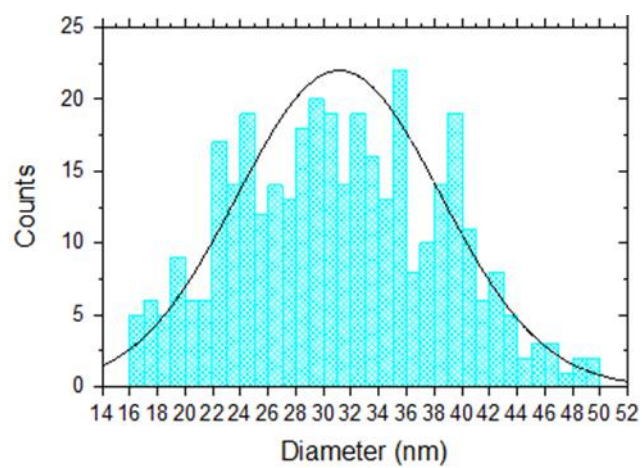
**Peso obtenido:** 242 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1631.3  $\nu(\text{C-O})$ ; 1410.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
31,137257617729	7,3394024100213	361



**NPM-AO-18**

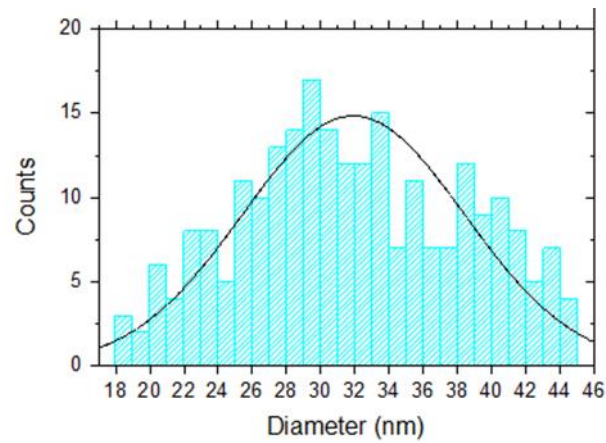
**Peso obtenido:** 256 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2952  $\nu(\text{CH})$ ; 1631.3  $\nu(\text{C-O})$ ; 1400.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

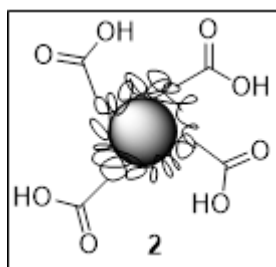
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
31,904771784232	6,4812800344685	241



#### 4.3.2. Síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita recubiertas de ácido poli(acrílico)

En un matraz de 100 mL, se añaden las NPM-AO (100 mg) con un exceso de PAA en DMSO (10 mL) y se mantiene a temperatura ambiente en un baño de ultrasonido durante 4 h controlando la temperatura. Pasado ese tiempo, se añade agua destilada decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava 3 veces con agua destilada y 3 veces con etanol decantando en cada lavado con ayuda de un imán y se seca a vacío.



La reacción se ha repetido varias veces para comprobar su reproducibilidad.

**NPM-PAA-1**

**Reactivo de partida:** NPM-AO-2.

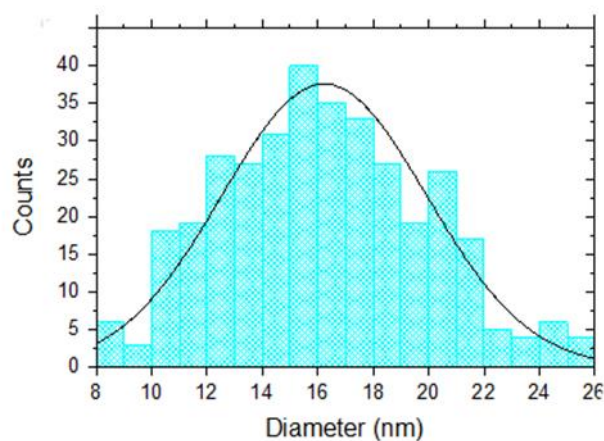
**Peso obtenido:** 96 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2920.7  $\nu(\text{CH})$ ; 1712.3  $\nu(\text{COOH})$  libres; 1450.5  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 1418.4  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 579.5  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
16,236149425287	3,6951041837297	348



**NPM-PAA-2**

**Reactivo de partida:** NPM-AO-6.

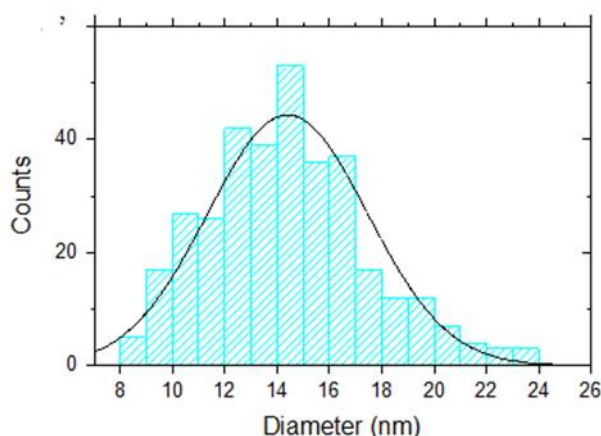
**Peso obtenido:** 83 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2960.3  $\nu(\text{CH})$ ; 1714.7  $\nu(\text{COOH})$  libres; 1449.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 1410.6  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 571.7  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
14,397764705882	3,0579148723112	340



**DRX ( $2\theta$ , % intensidad):** 14.9241 (98.21 %); 17.7584 (72.90%); 30.3599 (58.06%); 35.3853 (100%); 41.8419 (66.75%); 53.4924 (0.65%); 57.2834 (0.65%); 60.9495 (71.40%); 62.8542 (42.69 %); 73.1614 (1.82%); 77.0884 (0.65%).

**Magnetismo:**

Hc (Oe)	Ms (emu/g)	Mr (emu/g)
15,6	55,352	1,409

**NPM-PAA-3**

**Reactivo de partida:** NPM-AO-7.

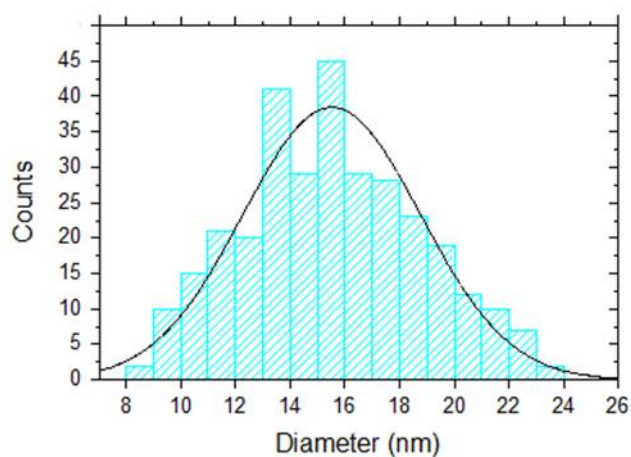
**Peso obtenido:** 93 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2960.3  $\nu(\text{CH})$ ; 1714.7  $\nu(\text{COOH})$  libres; 1449.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 1405.5  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 581.5  $\nu(\text{Fe-O})$ .

**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
15,515750798722	3,2488160804944	313





**NPM-PAA-4**

**Reactivo de partida:** NPM-AO-10.

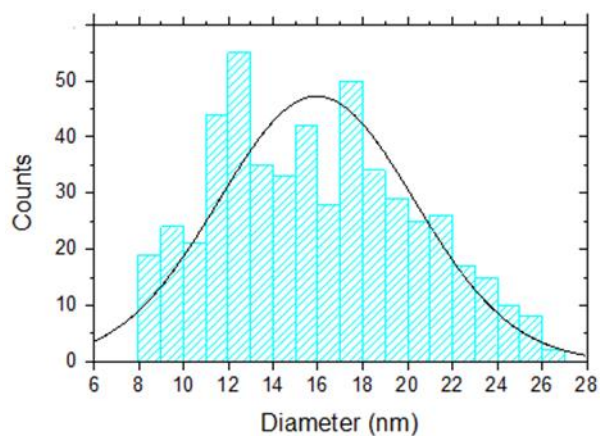
**Peso obtenido:** 93 mg.

**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2960.3  $\nu(\text{CH})$ ; 1709.8  $\nu(\text{COOH})$  libres; 1454.7  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 1400.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 576.6  $\nu(\text{Fe-O})$ .

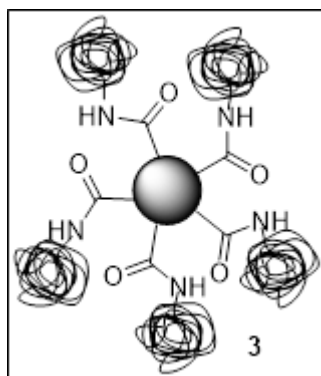
**Distribución de tamaño (TEM):**

Promedio (nm)	Desviación típica	Nº medidas
15,946460348162	4,3678911286455	517



### 4.3.3. Síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita funcionalizadas con neutravidina

En un eppendorf especial para proteínas, se introducen 5 mg de nanopartículas magnéticas, 100  $\mu$ L de una disolución preparada previamente de NHS (6 mg/ 50 mL), 60  $\mu$ L de una disolución preparada previamente de EDC (3 mg/ 25 mL) y se agita a temperatura ambiente durante 30 min. A continuación, se adicionan 50  $\mu$ L de una disolución de NAV (10 mg/ mL) y se agita durante 2 h y 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añade agua destilada decantando con la ayuda de un imán. El sólido obtenido, se lava 3 veces con agua destilada y 3 veces con etanol decantando en cada lavado con ayuda de un imán y se seca a vacío.



**Color:** Negro.

**IR (KBr pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1651.6  $\nu(\text{C}=\text{O})$ ; 1556.9  $\nu(\text{N}-\text{H})$ ; 1455.2  $\nu(\text{CH}_2)$ ;  
1400.8  $\nu(\text{CH}_2)$ ; 579.1  $\nu(\text{Fe}-\text{O})$ .

---

# CONCLUSIONES

---

## **5. CONCLUSIONES**

- La síntesis de NPs por descomposición térmica es un método eficiente para la síntesis de nanopartículas superparamagnéticas.
- Se han controlado la forma y el tamaño de las nanopartículas a través de la proporción de reactivos y rampa de calentamiento de manera que se ha conseguido que el método sea reproducible.
- El intercambio de ligando de ácido oleico por PAA es eficaz ya que la forma, el tamaño y el magnetismo del núcleo cristalino no se ha modificado en el proceso.
- Las NPs recubiertas con grupos carboxilo pueden ser funcionalizadas con péptidos, moléculas y polímeros que contengan un grupo amino a temperatura ambiente utilizando NHS y EDC como activadores.

---

# **BIBLIOGRAFÍA**

---

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. C. Sun, J. S. H. Lee, M. Zhang, *Adv. Drug. Del. Rev.* **2008**, *60*, 1252–1265.
2. W. J. Parak, D. Gerion, T. Pellegrino, D. Zanchet, C. Micheel1, S. C. Williams, R. Boudreau, M. A Le Gros, C. A Larabell, A.P. Alivisatos, *Nanotechnology* **2003**, *14*, 15–27.
3. A. Akbarzadeh, M. Samiei, S. Davaran, *Nanoscale Res. Lett.* **2012**, *7*, 1-13.
4. G. Cao, *Nanostructures and Nanomaterials. Editorial Imperial College Press USA*, **2004**; p 1-4.
5. L. González Vivas, Magnetismo en la nanoescala. Tesis doctoral, Universidad de los Andes, Enero 2013.
6. G. Cao, *Nanostructures and Nanomaterials. Editorial Imperial College Press USA*, **2004**; p 51-52.
7. M. Masteri-Farahani, S. Shahsavarifar, *Appl. Organometal. Chem.* **2017**, *32*, 1-7.
8. C. Kokkinos, A. Economou, *Anal. Chim. Acta* **2017**, *961*, 12-32.
9. L. Dinga, A. M. Bonda, J. Zhaib, J. Zhanga, *Anal. Chim. Acta.* **2013**, *797*, 1-12.
10. M. Mahmoudi, S. Sant, B. Wang, S. Laurent, T. Sen, *Adv. Drug. Del. Rev.* **2011**, *63*, 24–46.
11. C. Alexiou, W. Arnold, R. J. Klein, F. G. Parak, P. Hulin, C. Bergemann, W. Erhardt, S. Wagenpfeil, A. S. Lübbe, *Cancer Research* **2000**, *60*, 6641–6648.

12. S. Mumtaz, L-S. Wang, S. Zajif Hussain, M. Abdullah, Z. Huma, Z. Iqbal, B. Creran, V. M. Rotello, I. Hussain, *Chem. Commun.* **2017**, 53, 12306-12308.
13. H. Fatima, K-S. Kim, *J. Chem. Eng.* **2017**, 34, 589-599.
14. R. A. Revia, M. Zhang, *Materials Today* **2016**, 19, 157-168.
15. M. Muthana, A. J. Kennerley, R. Hughes, E. Fagnano, J. Richardson, M. Paul, C. Murdoch, F. Wright, C. Payne, M. F. Lythgoe, N. Farrow, J. Dobson, J. Conner, J. M. Wild, C. Lewis, *Nature Communications* **2015**, 1-11.
16. A. Grillone, G. Ciofani, *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 16109-16114.
17. A. Singh, S. K. Sahoo, *Drug Discovery Today* **2013**, 19, 474-480.
18. J. Biscay, M. B. González García, A. Costa García, *Sensors and Actuators B* **2014**, 205, 426-432.
19. J. Biscay, M. B. González García, A. Costa García, *Electroanalysis* **2015**, 27, 2773-2777.
20. J. Biscay, M. B. González García, A. Costa García, *Electroanalysis* **2014**, 26, 1893-1900.
21. W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, W-S Kim, *Sci. Technol. Adv. Mater.* **2015**, 16, 023501.
22. C. Corot, P. Robert, J-M Idée, M. Port, *Adv. Drug. Del. Rev.* **2006**, 58, 1471-1504.
23. S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R. N. Muller, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2064-2110.
24. B. Wang, B Wang, P. Wei, X. Wang, W. Lou, *Dalton Trans.* **2012**, 41, 896.

25. H. Yang, T. Ogawa, D. Hasegawa, M. Takahashi, *J. Appl. Phys.* **2008**, *103*, 07D526.
26. A. G. Roca, M. P. Morales, C. J. Serna, *IEEE Transactions on Magnetics* **2006**, *42*, 3025.
27. M. K. Yu, J. Park, S. Jon, *Theranostics* **2012**, *2*, 3-44.
28. K. Hayashi, K. Ono, H. Suzuki, M. Sawada, M. Moriya, W. Sakamoto, T. Yogo, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 3768–3772.
29. S. Fun Chin, S. Cem Pang, C. Hong Tan, *J. Mater. Environ. Sci.* **2011**, *2*, 299-302.
30. H. Xie, J. Wang, T. Xi, Y. Liu, F. Ai, *J. Appl. Phys.* **2002**, *91*, 4568-4572.
31. S. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang, G. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273-279.
32. T. Hyeon, S. Seong Lee, J. Park, Y. Chung H. Bin Na, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12798-12801.
33. M. Abareshi, E. K. Goharshadi, S. Mojtaba Zebarjad, H. Khandan Fadafan, A. Youssefi, *J. Magn. Magn. Mater.* **2010**, *322*, 602-614.
34. S. Sun, H. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8204-8205.
35. Y. Xu, Y. Qin, S. Palchoudhury, Y. Bao, *Langmuir* **2011**, *27*, 8990–8997.
36. D. Lago-Cachón, M. Oliveira-Rodríguez, M. Rivas, M. C. Blanco-López, J. C. Martínez-García, A. Moyano, M. Salvador, J. A. García, *IEEE Magnetics Letters* **2017**, *8*, 1506305.
37. D. Lago-Cachón, M. Rivas, C. López-Larrea, A. López-Vázquez, G. Martínez-Paredes, J. A. García, *Phys. Status Solidi C* **2014**, *11*, 1043–1047.