

## **TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

### **OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOCOMPUESTOS PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M= Fe, Ni, Co) Y PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/HAP PARA INDUCIR HIPERTERMIA LOCALIZADA**

Presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
Por el Br. Naranjo M., Claudio A.  
Para optar al Título  
De Ingeniero Químico.

Caracas, 2011.

## **TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

### **OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOCOMPUESTOS PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M= Fe, Ni, Co) Y PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/HAP PARA INDUCIR HIPERTERMIA LOCALIZADA**

Tutor Académico: Profa. Carmen Albano.

Tutor Industrial: Dra. Gema González.

Presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
Por el Br. Naranjo M., Claudio A.  
Para optar al Título  
De Ingeniero Químico.

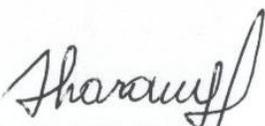
Caracas, 2011.

Caracas, noviembre de 2011

Los abajo firmantes, miembros del Jurado designado por el Consejo de Escuela de Ingeniería Química, para evaluar el Trabajo Especial de Grado presentado por el Bachiller Claudio Naranjo, titulado:

**“Obtención y caracterización de nanocompuestos PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M=Fe, Ni, Co) y PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/HAP para inducir hipertermia localizada”**

Consideran que el mismo cumple con los requisitos exigidos por el plan de estudios conducente al Título de Ingeniero Químico, y sin que ello signifique que se hacen solidarios con las ideas expuestas por el autor, lo declaran APROBADO.

  
Dr. Arquímedes Karam  
Jurado



  
Prof. Guillermo Arribas  
Jurado

  
Prof. Carmen Albano  
Tutor Académico

  
Dra. Gemma González  
Tutor Industrial

## DEDICATORIA

*A mis Padres por haberme dado la vida y por todo su cariño.*

*A mi Abuelo, que se que desde algún lugar me está observando sonriente.*

*A mi Abuela por llenarme de alegría cada vez que estoy con ella.*

*A mi hermana por apoyarme en todo momento.*

*A todos mis amigos con los cuales compartí muy buenos momentos, Jesary, Sinouhe,  
Emily, Adriana, Karina, Moisés y Alan.*

*Y muy especialmente dedicado a Aida, porque este momento no sería realidad si no  
te hubiera conocido en el instante preciso de mi vida. Eres un ángel. Gracias por  
estar siempre conmigo, por escucharme, por quererme, por brindarme esa calidez  
que solo he conocido en tus palabras, por ser tú. Te adoro.*

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Central de Venezuela, por haberme brindado la formación académica y parte de los momentos más valiosos de mi vida.*

*Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas por haberme recibido por más de un año y ofrecerme valiosas lecciones de aprendizaje.*

*A las Dras. Carmen Albano y Gema González por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo y su colaboración en todo momento.*

*Al Sr. Rafael Villalba por toda la colaboración prestada durante el desarrollo de mi trabajo, así como por la amistad que se ha formado y sus valiosas lecciones de vida.*

*Al personal del Departamento de Ingeniería del IVIC, y en especial a la Sra. Amaya, María Elena, Damaris, Lisbeth y Antonio por toda la ayuda que me brindaron en los ensayos de caracterización y la confianza que depositaron en mí al hacerme sentir como uno más de la familia.*

*Al Prof. Pedro Bautista por su colaboración en los ensayos de medición de propiedades magnéticas.*

*Al Laboratorio de polímeros del IVIC, y en especial a Vanessa, por la ayuda prestada en la realización de los ensayos de hipertermia.*

*A Eduardo Páez y al Instituto de Ingeniería del IDEA por su colaboración con los ensayos de hipertermia.*

*A todas las personas que de una forma u otra hicieron posible la realización de este trabajo.*

Naranjo M, Claudio A.

## **OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOCOMPUESTOS PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M= Fe, Ni, Co) Y PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/HAP PARA INDUCIR HIPERTERMIA LOCALIZADA**

**Tutor Académico: Profa. Carmen Albano. Tutor Industrial: Dra. Gema  
González. Tesis. Caracas, U.C.V. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería  
Química. Año 2011, p83.**

**Palabras claves:** PLLA, ultrasonido, nanopartículas magnéticas, ferritas, hipertermia maligna, hidroxiapatita, magnetita.

**Resumen:** Recientemente, existe un interés creciente en la producción de materiales compuestos a base de poliácido láctico cargados con nanopartículas magnéticas tipo ferrita que debido a sus propiedades es posible utilizarlas en el campo de la hipertermia. Partiendo de esta necesidad, en el presente trabajo se procede a la obtención y caracterización de partículas de magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), ferrita de cobalto (CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) y ferrita de níquel (NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), además de las mezclas de estas con poliácido L-láctico (PLLA) y poliácido L-láctico/magnetita/hidroxiapatita (PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-HAP) mediante la técnica de ultrasonido de alta frecuencia. Los análisis de Difracción de Rayos X (DRX) de las partículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> y NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> evidenciaron que se obtuvo la estructura cristalina de los materiales con un tamaño de partícula nanométrico. Asimismo, para las partículas de magnetita se demostró que al sintetizarlas en medios de reacción altamente básicos, se generan partículas de menor tamaño de cristal con una distribución homogénea. Las propiedades magnéticas de todas las nanopartículas fueron caracterizadas, obteniendo partículas superparamagnéticas de magnetita; la ferrita de cobalto presentó un comportamiento ferrimagnético. Por otro lado, Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) de los nanocompuestos laminares PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> reflejaron cierta interacción química entre la matriz y la carga. Asimismo, mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) se evidenció que un aumento de la carga de nanopartículas de magnetita en la lámina de PLLA ocasiona zonas de aglomeración del material sobre la matriz polimérica. Las propiedades magnéticas de los compuestos laminares arrojaron una atenuación de la magnetización con respecto a las partículas sin recubrir. Además, se obtuvieron nanocompuestos encapsulados PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> comprobando el recubrimiento de las partículas por análisis de FTIR y MET. Para finalizar, se realizó un recubrimiento de las nanopartículas de magnetita con hidroxiapatita, las cuales fueron caracterizadas por MET Y AFM para verificar cambios en la topografía de la ferrita.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>3</b>
<b>FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1    Planteamiento del problema.....	3
1.2    Antecedentes.....	5
1.3    Objetivos.....	10
1.1.1    Objetivo General.....	10
1.1.2    Objetivos Específicos.....	10
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>11</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
2.1    Sonoquímica.....	11
2.2    Hipertermia.....	13
2.2.1    Hipertermia localizada.....	15
2.2.2    Hipertermia regional.....	15
2.2.3    Hipertermia de cuerpo completo.....	16
2.3    Hipertermia magnética y por microondas.....	16
2.4    Biomateriales biodegradables.....	17
2.5    Poliácido láctico (PLA).....	19
2.6    Materiales magnéticos.....	21
2.5.1    Magnetización, permeabilidad y campo magnético.....	21
2.5.2    Tipos de comportamiento magnético.....	22
2.5.3    Ferritas.....	23
2.5.4    Magnetita y Ferritas de Cobalto y Níquel.....	24
2.5.5    Materiales magnéticos en organismos biológicos.....	26
2.7    Métodos de caracterización.....	27
2.6.1    Difracción de Rayos X (DRX).....	27
2.6.2    Microscopia Electrónica de Trasmisión (MET).....	28
2.6.3    Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR).....	30
2.6.4    Propiedades magnéticas (ciclo de histéresis magnética).....	30
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>32</b>
<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>32</b>
3.1    Síntesis de las nanopartículas magnéticas.....	32
3.1.1    Síntesis de las nanopartículas de Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).....	32
3.1.2    Síntesis de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ y $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ .....	34
3.2    Síntesis de los nanocompuestos laminares PLLA- $\text{MFe}_2\text{O}_4$ .....	35
3.3    Síntesis de los nanocompuestos encapsulados PLLA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .....	36
3.4    Síntesis de los nanocompuestos $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HAp}$ .....	37
3.5    Condiciones de los ensayos de caracterización.....	39
3.5.1.    Microscopia electrónica de Trasmisión (MET).....	39

3.5.2.	Espectroscopia infrarroja (FTIR).....	39
3.5.3.	Difracción de rayos X (DRX).....	40
3.5.4.	Propiedades magnéticas.....	40
3.5.5.	Hipertermia.....	41
<b>CAPÍTULO IV</b>	<b>.....</b>	<b>44</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>.....</b>	<b>44</b>
4.1.	Nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (magnetita).....	45
4.1.1.	Dependencia del tamaño de partícula con la variación de pH del medio de reacción (DRX).....	45
4.1.2.	FTIR.....	48
4.1.3.	MET.....	49
4.1.4.	Propiedades magnéticas.....	53
4.1.5.	Hipertermia.....	56
4.2.	Nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ (ferrita de cobalto).....	58
4.2.1.	DRX.....	58
4.2.2.	FTIR.....	59
4.2.3.	Propiedades magnéticas.....	60
4.2.4.	MET.....	62
4.3.	Nanopartículas de $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ (ferrita de níquel).....	63
4.3.1.	DRX.....	63
4.3.2.	FTIR.....	66
4.4.	Materiales compuestos laminares PLLA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .....	67
4.5.1.	FTIR.....	67
4.5.2.	Propiedades magnéticas.....	68
4.5.3.	MET.....	70
4.5.4.	Hipertermia.....	71
4.5.	Materiales compuestos encapsulados PLLA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .....	73
4.6.	Recubrimiento de Magnetita con Hidroxiapatita.....	75
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>.....</b>	<b>78</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>.....</b>	<b>80</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>.....</b>	<b>81</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura N° 1:** Imágenes de MET de las nanopartículas preparadas con 100mg PLLA, 20mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> y 5mg tamoxifen. Bar= 50nm para el interior. Imágenes de MET de las nanopartículas preparadas con 100mg PLLA, 20mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> y 5mg tamoxifen. Bar= 50nm para el interior. Fuente: Hu et al. (2006)..... 7
- Figura N° 2:** (A) MET micrografía de magnetita (bar = 100 nm). (B) MET micrografía de las NPM (formula C, velocidad de agitación = 22000 rpm; PVA concentración = 0,5%, m/v; (A) MET micrografía de magnetita (bar = 100 nm). (B) MET micrografía de las NPM (formula C, velocidad de agitación = 22000 rpm; PVA concentración = 0,5%, m/v; PLLA concentración = 4%, m/v) (bar = 50 nm). (C) MEE micrografía de las NPM (formula C, velocidad de agitación = 17500 rpm; PVA concentración = 0,5%, m/v; PLLA concentración = 4%, m/v) (bar = 2 μm). Fuente: Hamoudeh et al. (2007)..... 7
- Figura N° 3:** Curvas de calentamiento de las NPM de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/chitosan. (1) Montaje experimental. (2) Curvas de calentamiento para diferentes muestras a una corriente y concentración fija (I=300A) (C=10mg/ml) (a) NPM Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, (b) NPM Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan. (3) Curvas de calentamiento de NPM Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan a una corriente fija (I=300A) y a diferentes concentraciones. (4) Curvas de calentamiento a una concentración fija (C=20mg/ml) y a diferente intensidad de corriente. Fuente: Qu et al. (2010)..... 9
- Figura N° 4:** Rangos aproximados de frecuencia en el espectro sonoro. Fuente: <http://scienceblogs.com> ..... 11
- Figura N° 5:** Equipo estándar para el estudio de la sonoquímica a escala de laboratorio. Fuente: Measuring & Scientific Equipment.Hipertermia..... 13
- Figura N° 6:** Representación esquemática de os mecanismos de los mecanismos de relajación de Néel y Brown..... 16
- Figura N° 7:** Diferentes isómeros para el ácido láctico. (A) Ácido L-láctico. (B) Ácido D-láctico. Fuente: Gupta y Kumar (2007)..... 19
- Figura N° 8:** Ciclo de vida del PLA. Fuente. Gupta y Kumar (2007). ..... 20
- Figura N° 9:** (A) Sitio tetraédrico rodeado por cuatro iones de oxígeno. (B) sitio octaédrico enlazado a seis iones de oxígeno. (C) Estructura de espinel. (D) Dos octantes mostrando la distribución de los cationes y átomos de oxígeno. Fuente: Nlebedim, Snyder, Moses y Jiles, (2010). ..... 24

---

<b>Figura N° 10:</b> Esquema de la estructura cristalina de la magnetita. Fuente: Prieto, Rodríguez, Castañeda y Barrado (2002). .....	25
<b>Figura N° 11:</b> Interacción de refuerzo entre rayos X y la estructura cristalina de un material. Fuente: Askeland y Phulé (2004). .....	27
<b>Figura N° 12:</b> Esquema de un microscopio electrónico de transmisión. Fuente: Cheremisinoff (1996). .....	29
<b>Figura N° 13:</b> Ciclo de histéresis magnética para un material ferrimagnético. Fuente: es.wikipedia.or .....	31
<b>Figura N° 14:</b> Esquema general de metodología de investigación. Fuente: Elaboración propia. ....	38
<b>Figura N° 15:</b> Montaje experimental para la medición de la temperatura de la solución durante el proceso de hipertermia. ....	41
<b>Figura N° 16:</b> Configuración del ensayo de hipertermia de los nanocompuestos laminares. ....	42
<b>Figura N° 17:</b> Espectro de FTIR del PLLA con y sin sonicación. (a) PLLA con ultrasonido. (b) PLLA sin ultrasonido. ....	44
<b>Figura N° 18:</b> Difractogramas de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico Alfa Easer. (a) Magnetita reactivo analítico. (b) Magnetita pH= 9,16. (c) magnetita pH= 9,70. (d) Magnetita pH= 7,50. ....	46
<b>Figura N° 19:</b> Patrón de difracción de la Magnetita S. ....	48
<b>Figura N° 20:</b> Espectro de FTIR de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico Alfa Easer. (a) Magnetita pH= 9,16. (b) Magnetita pH= 9,70. (c) Magnetita pH= 7,50. (d) Magnetita reactivo analítico. ....	49
<b>Figura N° 21:</b> MET de la magnetita sintetizada con pH=7,50. ....	49
<b>Figura N° 22:</b> MET de la magnetita sintetizada con pH=9,17. ....	50
<b>Figura N° 23:</b> MET de la magnetita sintetizada con pH=9,70. ....	50
<b>Figura N° 24:</b> Distribución de tamaño de partícula de la magnetita sintetizada con pH=7,50. ....	51
<b>Figura N° 25:</b> Distribución de tamaño de partícula de la magnetita sintetizada con pH=9,17. ....	51

<b>Figura N° 26:</b> Distribución de tamaño de partícula de la magnetita sintetizada con pH=9,70.....	52
<b>Figura N° 27:</b> Curva de histéresis magnética obtenida para la magnetita sintetizada de 9,2nm (pH=9,70). .....	53
<b>Figura N° 28:</b> Curva de histéresis magnética obtenida para la magnetita sintetizada de 12,9nm (pH=7,50). .....	54
<b>Figura N° 29:</b> Curva de histéresis magnética obtenida para la magnetita sintetizada de 14,3nm (pH=9,16). .....	54
<b>Figura N° 30:</b> Curva de histéresis magnética obtenida para la Magnetita S.....	56
<b>Figura N° 31:</b> Curvas de calentamiento generadas por las nanopartículas de Magnetita S. (a) Tolueno 100ml. (b) 0,1g Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /100ml Tolueno (c) 0,3g Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /100ml Tolueno (d) 0,5g Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /100ml Tolueno .....	57
<b>Figura N° 32:</b> Difractograma de la Ferrita de Cobalto (CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ).....	58
<b>Figura N° 33:</b> Espectro de infrarrojo para la Ferrita de Cobalto (CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ).....	59
<b>Figura N° 34:</b> Curva de histéresis magnética obtenida para la ferrita de cobalto sintetizada.....	61
<b>Figura N° 35:</b> MET de las nanopartículas de Ferrita de Cobalto sintetizadas. ....	62
<b>Figura N° 36:</b> Distribución de tamaño de partícula de la ferrita de cobalto sintetizada. ....	63
<b>Figura N° 37:</b> Difractograma de la Ferrita de Níquel (70°C por 24h). ....	64
<b>Figura N° 38:</b> Difractograma de la Ferrita de Níquel (270°C por 24h). ....	65
<b>Figura N° 39:</b> Difractograma de la Ferrita de Níquel (300°C por 24h). ....	65
<b>Figura N° 40:</b> Espectro de infrarrojo de la Ferrita de Níquel (NiFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ). ....	66
<b>Figura N° 41:</b> Espectro de FTIR del material compuesto laminar PLLA-Magnetita. (a) Magnetita pH=9,17. (b) PLLA. (c) PLLA-Magnetita pH=9,17 con 22,5% en peso. ....	68
<b>Figura N° 42:</b> Curva de histéresis magnéticas del compuestos laminar PLLA-Magnetita 15% en peso. ....	69

---

<b>Figura N° 43:</b> Curva de histéresis magnéticas del compuestos laminar PLLA-Magnetita 30% en peso. ....	69
<b>Figura N° 44:</b> MET del nanocompuesto laminar PLLA/Magnetita pH=9,7 (15,0% en peso) (a): bar= 200nm; (b): bar= 500nm. ....	70
<b>Figura N° 45:</b> MET del nanocompuesto laminar PLLA/Magnetita pH=9,7 (22,5% en peso) (a): bar= 200nm; (b): bar= 500nm. ....	71
<b>Figura N° 46:</b> MET del nanocompuesto laminar PLLA/Magnetita pH=9,7 (30,0% en peso) (a): bar= 200nm; (b): bar= 500nm. ....	71
<b>Figura N° 47:</b> Ensayo de hipertermia de la lámina de PLLA sin carga de nanopartículas. (a) Antes de irradiar. (b) Despues de irradiar. ....	72
<b>Figura N° 48:</b> Ensayo de hipertermia de la lámina de PLLA-Magnetita 30% con una irradiación de 6GHz. (a) Antes de irradiar. (b) Después de irradiar. ....	72
<b>Figura N° 49:</b> Espectro de FTIR del material compuesto encapsulado PLLA-Magnetita.....	74
<b>Figura N° 50:</b> Micrografía del nanocompuesto encapsulado PLLA-Magnetita. ....	75
<b>Figura N° 51:</b> (a) Micrografía de la Magnetita S sin recubrir. (b) Micrografía del nanocompuesto recubierto Magnetita S-Hidroxiapatita a partir de 1,5SBF. ....	76
<b>Figura N° 52:</b> (a) Espectro FTIR de la magnetita S. (b) Espectro FTIR nanocompuesto recubierto Magnetita S-Hidroxiapatita a partir de 1,5SBF. ....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1:</b> Subtipos de hipertermia, ejemplos de aplicaciones clínicas y tipos de energía liberadas a los tumores. ....	14
<b>Tabla N° 2:</b> Materiales a utilizar en la síntesis de las nanopartículas magnéticas. ....	32
<b>Tabla N° 3:</b> Cantidades a emplear de cada reactivo para la síntesis de las nanopartículas de magnetita.....	33
<b>Tabla N° 4:</b> Cantidades a emplear de cada reactivo para la síntesis de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ y $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ .....	34
<b>Tabla N° 5:</b> Cantidades a emplear de cada ferrita para la preparación de los nanocompuestos con PLLA. ....	35
<b>Tabla N° 6:</b> Orden, cantidades y purezas de los reactivos para preparar 500ml de 1,5FCS.....	38
<b>Tabla N° 7:</b> Cantidades de magnetita y tolueno empleadas para el experimento de hipertermia. ....	42
<b>Tabla N° 8:</b> Lista de picos de observados en el difractograma de las magnetitas sintetizadas.....	47
<b>Tabla N° 9:</b> Tamaño de cristal promedio de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico. ....	47
<b>Tabla N° 10:</b> Tamaño promedio de partícula y cristal obtenidos por MET Y DRX para las magnetitas sintetizadas. ....	52
<b>Tabla N° 11:</b> Propiedades magnéticas a partir de las curvas de histéresis de las nanopartículas de magnetita sintetizadas. ....	55
<b>Tabla N° 12:</b> Lista de picos de observados en el difractograma de la ferrita de cobalto sintetizada.....	59
<b>Tabla N° 13:</b> Propiedades magnéticas a partir de la curva de histéresis de la nanopartícula de ferrita de cobalto sintetizadas. ....	61
<b>Tabla N° 14:</b> Lista de picos de observados en el difractograma de la ferrita de níquel sintetizada ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ). ....	66

## INTRODUCCIÓN

La utilización del calor para curar diferentes enfermedades ha captado el interés de muchos investigadores y durante las últimas décadas se han desarrollado métodos y técnicas sofisticadas para inducir calor. Una de las aplicaciones de la elevación de la temperatura se encuentra en oncología, donde existe una terapia conocida como hipertermia la cual se utiliza para disminuir el volumen tumoral.

El término hipertermia se refiere a un aumento en la temperatura del cuerpo humano inducido de manera artificial, ya sea de manera interna o externa, localizada o sistémica. Hoy en día, la hipertermia es utilizada como un agente sensibilizador de las radiaciones ionizantes (radiosensibilización) o quimioterapia (quimiosensibilización). Generalmente esto puede lograrse con temperaturas en el rango de 41-43°C.

Existe un considerable interés en el uso de la hipertermia con radiofrecuencias y microondas en el tratamiento de cáncer, ya sea utilizando sólo el calor provocado por la radiación, o una combinación con radiación ionizante o fármacos. Las investigaciones realizadas actualmente a nivel tecnológico para la aplicación local de hipertermia siguen la línea de utilización de materiales ferrimagnéticos para hacer intervenir esa radiación y lograr una mayor elevación de temperatura además de una localización de este calentamiento. Entre estos materiales ferrimagnéticos se encuentran las ferritas, que consisten en partículas compuestas por óxidos de hierro, las cuales se inyectan directamente en el tumor para producir un calentamiento.

Aunque los óxidos de hierro son biocompatibles, es importante dispersar las nanopartículas en un polímero biocompatible y biodegradable, con el fin de facilitar su posterior eliminación del organismo y lograr un calentamiento homogéneo sobre el tumor. En este sentido destacan el Poliácido Láctico y la hidroxiapatita. La hidroxiapatita es un compuesto mineral a base de calcio (fosfato de calcio), cuya

fórmula corresponde a  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ , que se encuentra en los huesos y dientes del cuerpo humano, demostrando así su biocompatibilidad con un grado adecuado de biodegradación y el PLLA es un poliéster biodegradable y biocompatible de baja toxicidad.

Partiendo de esta necesidad, en el presente proyecto se plantea obtener materiales compuestos basados en Poliácido L-Láctico cargados con nanopartículas de ferritas  $\text{MFe}_2\text{O}_4$  (M= Fe, Ni, Co) y ferrita recubierta con hidroxiapatita (PLLA- $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HAp}$ ), estudiando sus propiedades físicas y químicas, para ser aplicados en hipertermia localizada y así obtener mejores resultados en el tratamiento de tumores situados en regiones profundas del organismo.

La primera fase de la investigación consiste en la obtención de las nanopartículas de ferritas conocidas como magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), ferrita de cobalto ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) y ferrita de níquel ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ) empleando la técnica de ultrasonido de alta frecuencia, analizando características como tamaño de cristal, distribución de tamaño de partícula y propiedades magnéticas del material. Se realiza además un análisis de la capacidad del calentamiento de las nanopartículas en un medio líquido cuando se someten a radiación por microondas.

Una vez preparadas las diferentes cargas se procede a las mezclas con las matrices biodegradables y biocompatibles. En primer lugar se preparan láminas de PLLA cargadas con magnetita para analizar la distribución del material magnético sobre la matriz polimérica así como también el efecto del polímero sobre las propiedades magnéticas de las nanopartículas. Además de nanocompuestos laminares se elaboran nanopartículas de magnetita recubiertas con PLLA para generar un material encapsulado. Con respecto a la hidroxiapatita se realiza un recubrimiento de las nanopartículas de magnetita utilizando un método biomimético para provocar el crecimiento de un fosfato de calcio alrededor de la nanopartícula magnética y generar un material con mayor biocompatibilidad sobre zonas óseas. Los resultados obtenidos se discuten en profundidad con base a la naturaleza de la interacción matriz-carga y por último se exponen las conclusiones alcanzadas y las recomendaciones derivadas de esta investigación para trabajos futuros.

## CAPÍTULO I

### FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

#### *1.1 Planteamiento del problema.*

Los efectos del calor en las funciones fisiológicas humanas, y en particular en procesos curativos, han captado el interés de médicos e investigadores durante muchos años. Una de las aplicaciones de la elevación de temperatura en el cuerpo humano se encuentra en oncología, en donde es utilizada para disminuir el volumen tumoral y reducir la dosis de narcóticos utilizados en la fase paliativa del cáncer. Esta terapia es conocida como Hipertermia (Hernández, Chong, Leija, Hernández y Marchal, 2001).

La hipertermia es un procedimiento terapéutico empleado para incrementar la temperatura del cuerpo o de una región particular del organismo afectada por el cáncer. Consiste en aumentar la temperatura del tejido corporal liberando calor desde una fuente externa para destruir células cancerígenas o prevenir su futuro crecimiento. Dependiendo de la localización, profundidad, extensión y gravedad de la enfermedad cancerosa, existen tres métodos clínicos para la aplicación de altas temperaturas: hipertermia local, regional y de cuerpo completo. La hipertermia localizada se utiliza para tratar tumores pequeños localizados superficialmente o dentro de una cavidad accesible del cuerpo como el esófago o el recto, empleando comúnmente las microondas, radiofrecuencia y ultrasonido como fuente de energía (Chiche, Skowronek, Kubaszewska, y Kanikowsk, 2007).

Los resultados obtenidos actualmente a partir del calentamiento producido por campos electromagnéticos en materiales biológicos han llevado primordialmente al uso de las ondas de radiofrecuencia para el calentamiento terapéutico del tejido enfermo, debido a que pueden penetrar profundamente y producir calor en tejidos

subcutáneos. Sin embargo, el inevitable problema con la hipertermia es la dificultad en calentar únicamente la región tumoral a la temperatura requerida sin dañar los tejidos sanos circundantes (Hernández et al., 2001; Zhao, Wang, Zenga, Xiab, y Tang, 2009).

Investigaciones realizadas actualmente para la aplicación de hipertermia estudian el uso de materiales magnéticos para hacer intervenir el campo magnético y lograr una mayor elevación de temperatura además de una localización profunda de este calentamiento. La terapia consiste en la utilización de un implante magnético en el interior del tejido cancerígeno. Las partículas magnéticas incrustadas alrededor del sitio tumoral y colocadas en un campo magnético se calentarán hasta una cierta temperatura cuyo valor dependerá de las propiedades magnéticas del material, la fuerza del campo magnético, la frecuencia de oscilación y la capacidad de enfriamiento del flujo sanguíneo (Hernández et al., 2001; Van deer Zee, 2002).

En esta nueva terapia contra el cáncer, nanopartículas de ferrita (partículas con un tamaño menor a los 100 nm) son inyectadas directamente en el tejido tumoral y subsecuentemente calentadas, proveyendo una oportunidad para aumentar la gama de aplicaciones de la hipertermia localizada, logrando calentar tumores situados en regiones profundas del organismo como el cráneo (tumores cerebrales) o la pelvis (cáncer de cuello uterino y prostático) (Chiche et al., 2007).

Aunque los óxidos de hierro son biocompatibles, es importante dispersar las nanopartículas en un polímero biocompatible y biodegradable, con el fin de facilitar su posterior eliminación del organismo y lograr un calentamiento homogéneo sobre el tumor. Es por esto, que la superficie de las mismas debe ser recubierta con materiales biocompatibles, entre los que destacan el Poliácido L-Láctico (PLLA) y la Hidroxiapatita (HAp). La hidroxiapatita es un compuesto mineral a base de calcio que se encuentra en los huesos y dientes del cuerpo humano, demostrando así su biocompatibilidad con un grado adecuado de biodegradación y el PLLA es un poliéster biodegradable y biocompatible de baja toxicidad.

Partiendo de esta necesidad, en el presente proyecto se busca obtener materiales compuestos basados en Poliácido L-Láctico cargados con nanopartículas

de ferritas  $MFe_2O_4$  ( $M= Fe, Ni, Co$ ) y ferrita recubierta con hidroxiapatita (PLLA- $Fe_3O_4/HAp$ ), estudiando sus propiedades físicas y químicas, para ser aplicados en hipertermia localizada y así obtener mejores resultados en el tratamiento de tumores situados en regiones profundas del organismo.

## ***1.2 Antecedentes.***

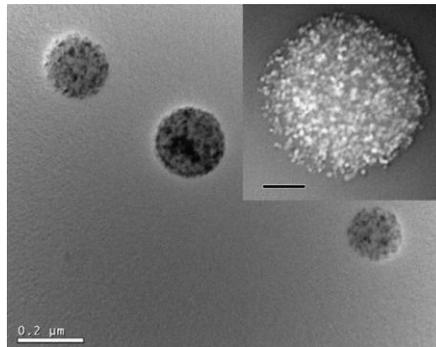
Es de particular interés para la investigación la obtención de compuestos a base de PLLA para aplicaciones en hipertermia, donde el éxito de esta terapia contra el cáncer depende de la habilidad para calentar localmente, lo cual se logra con nanocompuestos magnéticos. Estos consisten en partículas magnéticas que sometidas a un campo magnético externo generan calor local sobre el área afectada donde están colocados. Las propiedades más importantes que deben poseer las partículas magnéticas destinadas a aplicaciones biomédicas son biocompatibilidad, no tóxicas e inyectabilidad, aunque, la propiedad más importante entre las mencionadas es la no toxicidad (Ito, Shinkai, Honda y Kobayashi, 2005). Óxidos férricos y ferrosos constituyen la mayor parte de las partículas magnéticas, aunque metales como cobalto y níquel son también utilizados.

Los polímeros biodegradables tienen cada vez mayor interés dentro del campo de la investigación y la industria química. Biodegradable, en este sentido, significa hidrolizable a temperaturas no mayores de  $50^{\circ}C$  en un período que puede variar algunos meses o años. Otro importante requerimiento para cualquier aplicación es que los productos de degradación sean no tóxicos. Muchos poliésteres alifáticos poseen estas propiedades y entre los más estudiados hasta el momento, el poliácido láctico (PLA) ha demostrado ser un atractivo y útil poliéster biodegradable. El Poli L-Ácido Láctico (PLLA) es un termoplástico que, a causa de sus buenas propiedades mecánicas, biodegradabilidad y baja toxicidad, está siendo utilizado para aplicaciones biomédicas tales como: sistemas de liberación de drogas, farmacéuticos, ingeniería de tejidos, suturas, prótesis ortopédicas, hipertermia magnética, etc; (Gupta y Kumar, 2007).

Estudios recientes han sido enfocados hacia el empleo de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) como partícula magnética debido a su biocompatibilidad, habilidad para generar calor y estabilidad química. La ruta de síntesis más utilizada para la obtención de éste óxido consiste en el tratamiento de una solución de una de sales de hierro ( $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$ ) en medio básico. Fried, Shemer y Markovich (2001) prepararon magnetita por la técnica de precipitación acuosa a partir de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) y cloruro ferroso ( $\text{FeCl}_2$ ), añadiendo hidróxido de amonio bajo atmósfera de argón a  $80^\circ\text{C}$  durante 2h. La precipitación originó nanopartículas de magnetita con una estrecha distribución de tamaño (2-10nm). Li, Jiang, Huang, Ding y Chen (2008) prepararon también nanopartículas magnéticas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  por ultrasonido de alta frecuencia. Las partículas de magnetita fueron sintetizadas por el método hidrotermal con un complejo ferroso usando  $\text{H}_2\text{O}_2$  como agente oxidante. Los análisis de microscopía electrónica resultaron en que se obtuvieron esferas regulares de magnetita con un tamaño de partícula entre 23 y 25nm. Los patrones de difracción de rayos X indicaron que la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  era pura con una estructura de espinela.

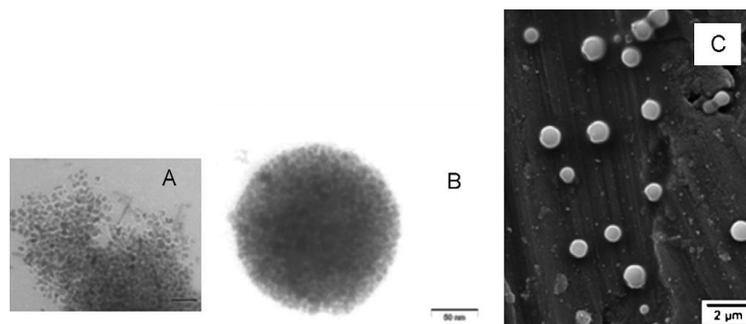
Muchas publicaciones se han enfocado principalmente en la producción de magnetita sobre matrices poliméricas. Hu, Neoh y Kang (2006) sintetizaron magnetita encapsulada con PLLA para inducir la liberación controlada de tamoxifen, una droga ampliamente utilizada en el tratamiento contra el cáncer de mama. Los nanocompuestos fueron sintetizados por una técnica extracción/evaporación de solvente en una emulsión aceite/agua (fase orgánica/fase acuosa) obteniendo partículas de un tamaño de 200nm aproximadamente. La fase orgánica estaba compuesta de magnetita, tamoxifen y PLLA en presencia de diclorometano (DCM) y, para obtener una buena dispersión de la magnetita en la fase orgánica, se introdujo la mezcla en un dispositivo de ultrasonido. La fase acuosa estaba compuesta de poli(vinil alcohol) (PVA) disuelto en agua. La fase orgánica se introduce dentro de la fase acuosa bajo agitación para formar la emulsión para luego evaporar el DCM en un evaporador rotatorio y separar las nanopartículas por ultracentrifugación. De acuerdo a análisis de microscopía de electrónica de transmisión (MET), se evidencia la buena dispersión de la magnetita sobre la matriz de PLLA, y se puede apreciar más

claramente en el recuadro de la Figura N°1, donde las partículas de magnetita aparecen de color blanco.



**Figura N° 1:** Imágenes de MET de las nanopartículas preparadas con 100mg PLLA, 20mg  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y 5mg tamoxifen. Bar= 50nm para el interior. Imágenes de MET de las nanopartículas preparadas con 100mg PLLA, 20mg  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y 5mg tamoxifen. Bar= 50nm para el interior. Fuente: Hu et al. (2006).

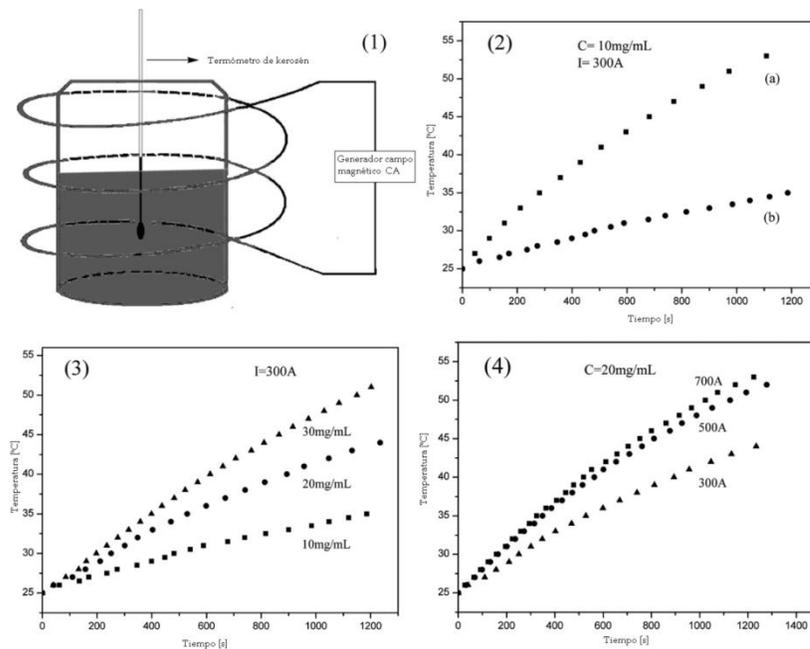
Un procedimiento similar fue aplicado por Hamoudeh, Al Faraj, Canet-Soulas, Bessueille, Léonard y Fessi (2007), quienes sintetizaron nanopartículas de magnetita encapsuladas con PLLA a partir de un método de evaporación del solvente. Para conocer el tamaño y la forma de la magnetita sintetizada y las nanopartículas magnéticas (NPM) se empleó la técnica de microscopía electrónica de transmisión (MET) y microscopía de escaneo electrónico (MEE), como se muestra en la Figura N°2, observando que las partículas de magnetita obtenidas fueron completamente esféricas y con una distribución de tamaño uniforme. Además se evidencia una buena dispersión sin presencia de aglomerados.



**Figura N° 2:** (A) MET micrografía de magnetita (bar = 100 nm). (B) MET micrografía de las NPM (formula C, velocidad de agitación = 22000 rpm; PVA concentración = 0,5%, m/v; (A) MET micrografía de magnetita (bar = 100 nm). (B) MET micrografía de las NPM (formula C, velocidad de agitación = 22000 rpm; PVA concentración = 0,5%, m/v; PLLA concentración = 4%, m/v) (bar = 50 nm). (C) MEE micrografía de las NPM (formula C, velocidad de agitación = 17500 rpm; PVA concentración = 0,5%, m/v; PLLA concentración = 4%, m/v) (bar = 2 μm). Fuente: Hamoudeh et al. (2007).

Además de la síntesis de compuestos encapsulados, se han obtenido láminas o películas de diferente espesor con diferentes tipos de polímeros. Thanki, Dellacherie y Six (2006) investigaron las características de la superficie de películas de PLLA y PLGA. Para ello disolvieron cada polímero en cloroformo y luego permitieron lentamente la evaporación del solvente a temperatura ambiente para así generar una lámina de polímero sobre un portaobjetos. Para el caso de las láminas de PLLA analizaron los cambios conformacionales que pueden generarse en las cadenas del polímero utilizando diferentes tipos de solventes: acetona, tolueno, acetato de etilo y furano tetrahidratado. Luego cada lámina de polímero fue analizada por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

El objetivo final al obtener las nanopartículas magnéticas consiste en analizar el efecto de calentamiento al ser sometidas a un campo magnético externo. Qu, Liu, Wang y Houg (2010) sintetizaron nanopartículas de magnetita recubiertas con chitosan, el cual es un biopolímero biocompatible y biodegradable, estudiando la propiedad de inducir calor del material compuesto. Para ello diseñaron un aparato de inducción de calor a baja frecuencia a temperatura ambiente como el que se muestra en la Figura N°3. Un termómetro de kerosén fue empleado para registrar la temperatura y la intensidad del campo magnético aplicado sobre las muestras fue de 80kHz. El objetivo de la investigación consistió en analizar el efecto de la concentración del material compuesto magnetita/chitosan, la intensidad del campo magnético aplicado y además las diferencias entre las nanopartículas recubiertas y sin recubrir con chitosan sobre el aumento de la temperatura. Obtuvieron que a menor concentración del material compuesto la temperatura alcanzada era menor y además que el efecto de calentamiento de las nanopartículas de magnetita sin recubrir era mayor que las nanopartículas recubiertas con chitosan, evidenciándose un efecto de apantallamiento del chitosan sobre la magnetita. Con relación al campo magnético aplicado, evidenciaron que a mayor intensidad de campo, mayor es el efecto de las nanopartículas de inducir un aumento de la temperatura.



**Figura N° 3:** Curvas de calentamiento de las NPM de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{chitosan}$ . (1) Montaje experimental. (2) Curvas de calentamiento para diferentes muestras a una corriente y concentración fija ( $I=300\text{A}$ ) ( $C=10\text{mg/ml}$ ) (a) NPM  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , (b) NPM  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-chitosan}$ . (3) Curvas de calentamiento de NPM  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-chitosan}$  a una corriente fija ( $I=300\text{A}$ ) y a diferentes concentraciones. (4) Curvas de calentamiento a una concentración fija ( $C=20\text{mg/ml}$ ) y a diferente intensidad de corriente. Fuente: Qu et al. (2010).

Aparte de recubrir magnetita con polímeros, se han realizado investigaciones para utilizar otros compuestos para tratar tumores en zonas más específicas del cuerpo humano, como el cáncer de hueso, en el cual se deben utilizar materiales afines a la composición de la zona afectada. En este sentido, uno de los componentes minerales dentro del hueso humano es la hidroxiapatita (HAP) que posee buena compatibilidad y un adecuado grado de degradación.

Uno de los métodos más utilizados para la síntesis de hidroxiapatita es el biomimético. Este consiste principalmente en la deposición de una capa de apatita similar al hueso sobre un sustrato por inmersión en fluido corporal simulado (SBF). Múzquiz, Cortés y Escobedo (2010) prepararon partículas de magnetita recubiertas con hidroxiapatita a partir de este método, siguiendo diferentes rutas de síntesis: 7 días en inmersión en SBF o 1,5SBF y 7 o 28 días usando un método de re-inmersión, en presencia de un disco de wollastonita para aumentar la efectividad de nucleación de la apatita. Después de una semana en tratamiento evidenciaron que una capa de apatita se había formado sobre las partículas de magnetita.

### **1.3 Objetivos.**

#### **1.1.1 Objetivo General.**

Obtener y caracterizar nanocompuestos PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M= Fe, Ni, Co) y PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/HAp para inducir hipertermia localizada.

#### **1.1.2 Objetivos Específicos.**

- Estudiar el efecto de la técnica de ultrasonido de alta frecuencia sobre las características físicas y químicas de la matriz polimérica.
- Sintetizar partículas nanométricas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> y NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> mediante la técnica de ultrasonido de alta frecuencia.
- Sintetizar partículas nanométricas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> recubiertas con hidroxiapatita.
- Caracterizar física y químicamente las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/HAp.
- Establecer el efecto de la variación del pH de la mezcla de reacción sobre el tamaño de partícula de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.
- Obtener nanocompuestos encapsulados y laminares de PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> mediante la técnica de ultrasonido de alta frecuencia.
- Obtener nanocompuestos laminares de PLLA-CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> y PLLA-NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> mediante la técnica de ultrasonido de alta frecuencia.
- Caracterizar física y químicamente los nanocompuestos PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.
- Establecer el efecto de la carga sobre las características magnéticas en los nanocompuestos laminares PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.
- Caracterizar el aumento de temperatura generado en las nanopartículas Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.
- Establecer el efecto de la carga sobre el aumento de temperatura generado en los nanocompuestos PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Sonoquímica.

La sonoquímica es la aceleración o mejoramiento de los procesos y reacciones químicas mediante el uso de ultrasonido. El ultrasonido se define como una onda, que es parte del espectro sonoro con un rango de frecuencia mayor de 20kHz, que transmite energía mecánica por causa de la vibración de partículas, sin ocasionar transporte de las mismas (Leighton, 2007). En la Figura N°4 se puede observar los rangos aproximados de frecuencia en el espectro sonoro.



**Figura N° 4:** Rangos aproximados de frecuencia en el espectro sonoro. Fuente: <http://scienceblogs.com>

El estudio de los efectos del ultrasonido es un área de investigación que ha crecido rápidamente, ya que este puede inducir un amplio rango de consecuencias físicas y químicas. Los efectos químicos del ultrasonido recaen en tres áreas: sonoquímica homogénea de líquidos, sonoquímica heterogénea de sistemas líquido-líquido o sólido-líquido, y la sonocatálisis. Los efectos físicos del ultrasonido de alta frecuencia incluyen: aumento de la transferencia de masa, emulsificación y calentamiento térmico. Todos estos efectos se derivan principalmente de un proceso conocido como cavitación acústica (Suslick y Price, 1999).

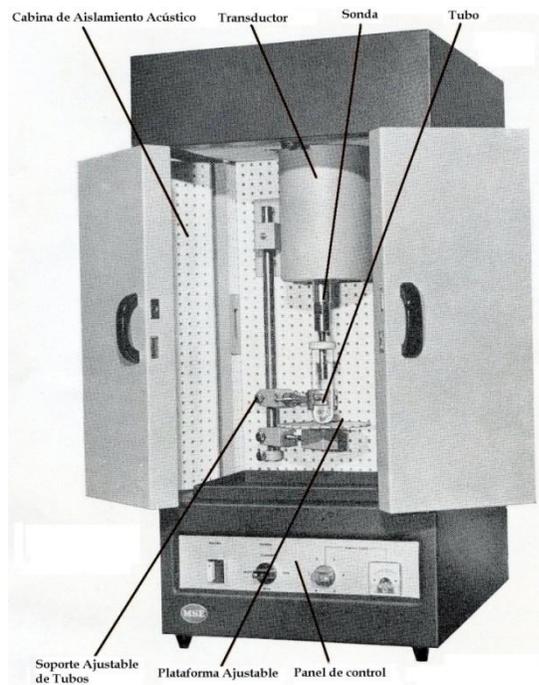
La cavitación acústica es un fenómeno físico que se genera cuando un líquido es irradiado con ondas de ultrasonido provocando la formación, crecimiento y colapso de burbujas de gas. Cuando un líquido es sometido a una intensidad de sonido por encima de un valor crítico, el movimiento de las ondas de sonido a través del líquido causa rápidas alteraciones de presión, resultando en la formación de una

masa de diminutas burbujas llenas de gas. Estas oscilan, aumentando de tamaño en la fase de expansión de la onda de sonido, y comprimiéndose en la fase contraria. En esta etapa, las burbujas se desintegran implosivamente, produciendo un calor intenso y altas presiones en zonas localizadas, generando puntos calientes de muy corto tiempo de vida. Estos puntos calientes alcanzan temperaturas de hasta 5000 °C, presiones de alrededor de 1000 atm y tasas de calentamiento y enfriamiento por encima de  $10^{10}$  K/s. Este proceso de cavitación puede ocasionar los siguientes efectos (Suslick y Price, 1999):

- Mejora de la transferencia de masa por mezclado turbulento y agitación acústica;
- Generación de daños en la superficie de interfase de sistemas líquido-sólido por ondas de choque;
- Generación de de colisiones entre partículas a muy alta velocidad; y
- Aumento del área superficial de sólidos por fragmentación.

La sonoquímica ha sido ampliamente utilizada para modificar materiales tanto física como químicamente, especialmente polímeros. Los efectos del ultrasonido sobre polímeros incluyen la dispersión de fibras y otros componentes en una matriz polimérica (como en el caso de la formulación de pinturas), encapsulación de partículas inorgánicas con polímeros, modificación de tamaño de partícula de polímeros en polvo y además, corte y soldadura de termoplásticos (Suslick y Price, 1999).

Una gran variedad de equipos comerciales están disponibles para la investigación sonoquímica. Sondas de ultrasonido de alta intensidad (50 a 500W/cm<sup>2</sup>) son la más confiable y efectiva fuente para la sonoquímica a escala de laboratorio, además de permitir un fácil control de la temperatura. En la Figura N°5 se puede apreciar un equipo estándar para el estudio de la sonoquímica a escala de laboratorio.



**Figura N° 5:** Equipo estándar para el estudio de la sonoquímica a escala de laboratorio. Fuente: Measuring & Scientific Equipment.Hipertermia.

## 2.2 Hipertermia.

La hipertermia es una de las terapias utilizadas para el tratamiento del cáncer, al igual que la cirugía, la radioterapia, quimioterapia y la inmunoterapia. Es considerada como un método artificial de incrementar la temperatura del tejido corporal, liberando calor obtenido de una fuente externa, para destruir células cancerígenas o prevenir su futuro crecimiento. Esta técnica es utilizada como una terapia adyuvante, es decir, un tratamiento que se administra después de la terapia principal. Combinada con otras técnicas, como la radioterapia, se obtiene como resultado una regresión más rápida del tumor en comparación si se trabajara con radioterapia exclusivamente (Chiche et al., 2007).

El rango de temperatura en el cual se practica esta terapia se encuentra entre los 42,5 y 44°C. Las células normales son dañadas a temperaturas mayores de 44°C. La destrucción de las células va a depender tanto del nivel de temperatura alcanzado como de la duración de la sesión. Mientras más alta sea la temperatura y más largo sea el tiempo de exposición del tumor al calor, mayor será el efecto letal sobre él. Sin

embargo, se debe garantizar un control continuo de la temperatura, ya que un aumento brusco de la misma puede provocar daño del tejido sano (Do Kyung et al., 2005; Chiche et al., 2007).

Existen tres métodos clínicos para la aplicación de la hipertermia, los cuales van a depender de la localización, profundidad y etapa evolutiva del tumor: hipertermia localizada, regional y de cuerpo completo, las cuales liberan calor hacia zonas localizadas, avanzadas o profundas y diseminadas del cuerpo respectivamente. Las energías utilizadas para aplicar calor a los tumores incluyen microondas, radiofrecuencia, ultrasonido, agua caliente, implantes ferromagnéticos, nanopartículas y la radiación infrarroja (Chiche et al., 2007). En la Tabla N°1 se presenta las aplicaciones clínicas de los diferentes tipos de hipertermia además del tipo de energía utilizada en cada caso.

**Tabla N° 1:** Subtipos de hipertermia, ejemplos de aplicaciones clínicas y tipos de energía liberadas a los tumores.

<b>Tipo de hipertermia</b>	<b>Localización del tumor</b>	<b>Aplicación clínica</b>
Localizada <ul style="list-style-type: none"> <li>• Superficial</li> <li>• Intracavital</li> <li>• Intraluminal</li> <li>• Intersticial</li> </ul>	Tumores superficiales Tumores intracavitales Tumores intraluminares Tumores intersticiales	Cáncer de cabeza Cáncer de mama Cáncer rectal Cáncer de esófago Glioma maligno Cáncer de cuello
Regional <ul style="list-style-type: none"> <li>• Abdominal</li> <li>• Pélvico</li> <li>• Extremidades</li> </ul>	Tumores situados profundamente Tumores avanzados	Cáncer cervical Cáncer rectal Cáncer prostático Cáncer de vejiga Cáncer ovárico Mesotelioma
De cuerpo completo	Tumores diseminados (metástasis)	Melanoma maligno Cáncer ovárico

### **2.2.1 *Hipertermia localizada.***

La hipertermia localizada es empleada para tratar pequeños tumores (de entre 3 y 6cm de diámetro) localizados superficialmente o en el interior de una cavidad accesible del cuerpo como el recto o el esófago (Chiche et al., 2007).

Tumores localizados en la piel o por debajo de esta pueden ser calentados con antenas, colocadas directamente o cerca del área de interés y para reunir información sobre la temperatura alcanzada se implantan agujas, que contienen pequeños termómetros, en el tejido anestesiado. Esta técnica se puede aplicar de la misma forma en tumores localizados en una cavidad del cuerpo humano que puede ser alcanzada por un orificio natural, como lo son la uretra, el reto, la cervix, la vagina o el esófago (Chiche et al., 2007).

Existe además otro método de calentamiento utilizando nanopartículas. Consiste en inyectar nanopartículas magnéticas de óxido de hierro directamente en el tumor para luego calentarlas empleando un campo magnético. Esto provee una oportunidad para calentar tumores situados en regiones profundas del cuerpo como el cráneo o la pelvis. La frecuencia utilizada para este fin está en el orden de los 50-100kHz (Zhao et al., 2009).

### **2.2.2 *Hipertermia regional.***

La hipertermia regional es un término empleado para calentar grandes áreas del cuerpo, como la cavidad abdominal, órganos particulares o las extremidades. Es empleada en la mayoría de los casos para tratar tumores avanzados situados en la pelvis, próstata, vejiga, colon, ovarios y muslos (Chiche et al., 2007).

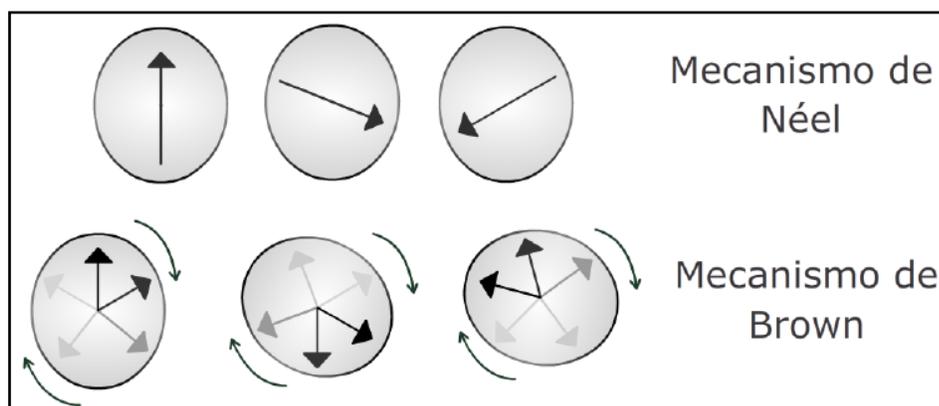
La aplicación más común de esta técnica consiste en utilizar un arreglo de antenas pares alrededor del paciente. Estas antenas emiten energía de microondas o radiofrecuencia que son enfocadas al área tumoral, con las cuales se pueden alcanzar temperaturas de hasta 41-42°C con una amplitud de 70 a 150MHz (Chiche et al., 2007).

### 2.2.3 *Hipertermia de cuerpo completo.*

La hipertermia de cuerpo completo es una oportunidad para pacientes con enfermedad en fase de metástasis. Las células suelen ser más sensibles a las drogas, y por lo tanto más fácil de destruir, cuando se aumenta la temperatura corporal. Para lograr este objetivo se utilizan cámaras térmicas o mantas de agua caliente, lo cual permite una mejor distribución del calor en todo el cuerpo con algunos efectos secundarios como lo es el estrés térmico del corazón, pulmones, hígado o cerebro (Chiche et al., 2007).

### 2.3 *Hipertermia magnética y por microondas.*

El proceso por el cual se transforma las nanopartículas absorben energía en un tratamiento de hipertermia localizada transformándola en calor dependerá del tipo de energía utilizada. Cuando un sistema de nanopartículas se somete a un campo magnético oscilante, estas absorben energía que luego se transforma en calor por varios procesos, siendo los principales los procesos de relajación, que ocurren por los mecanismos de Néel y Brown (Mojica, 2009). En la Figura N°6 se aprecia ambos procesos de relajación.



**Figura N° 6:** Representación esquemática de los mecanismos de los mecanismos de relajación de Néel y Brown.

Cuando se somete un material magnético a un campo magnético las partículas reciben energía del campo que impulsa a los momentos magnéticos a rotar para alinearse con el campo. Esta rotación se puede dar por dos métodos diferentes. Por una parte se puede presentar en la nanopartícula una rotación del vector del momento magnético sin que haya una rotación mecánica de la misma, lo que se conoce como mecanismo de relajación de Néel y por otro lado la partícula puede rotar manteniendo su momento en la misma dirección respecto a ella por efecto del torque ejercido por el campo magnético sobre el momento, conocido como mecanismo de relajación de Brown. La elección de uno u otro mecanismo depende del tamaño de las partículas. Para partículas pequeñas está gobernada por la relajación de Néel y para partículas grandes por la relajación de Brown (Mojica, 2009).

Sin embargo, cuando se realiza un proceso de calentamiento de partículas magnéticas por microondas, este se debe al par de electrones desapareados de los iones de hierro presentes en la mayor parte de estos materiales magnéticos. Estos electrones son excitados por la absorción de las microondas hasta un estado de alta energía. Los electrones excitados cambian su dirección de spin y luego se relajan hasta su estado fundamental emitiendo fonones. Los fonones son cuasipartículas que se originan en redes cristalinas y generan vibraciones en toda la red. Debido a esto se convierte la energía de microondas en calor (Do Kyung et al., 2005).

#### ***2.4 Biomateriales biodegradables.***

Un biomaterial está definido como un material destinado a interactuar con sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función del cuerpo. El requisito esencial para calificar un material como biomaterial es su biocompatibilidad, que es la habilidad de un material de llevar a cabo con su huésped una aplicación específica. De acuerdo a su degradación, se considera un biomaterial como biodegradable cuando se produce ruptura de los enlaces del material debido a un proceso hidrolítico o enzimático que origina la erosión del material (Nair y Laurenci, 2007).

Algunas de las propiedades más importantes de un biomaterial biodegradable son las siguientes:

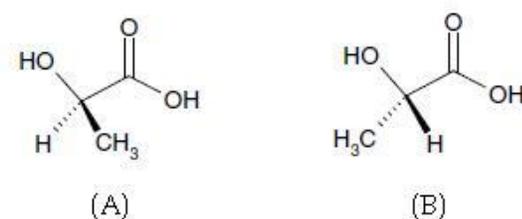
- El material no debe provocar ninguna respuesta inflamatoria o tóxica al implantarse en el cuerpo;
- El material debe tener una vida útil aceptable;
- El tiempo de degradación del material debe coincidir con el tiempo de curación o regeneración;
- El material debe tener propiedades mecánicas apropiadas para la aplicación indicada y la variación en las propiedades mecánicas con la degradación debe ser compatible con la curación o el proceso de regeneración; y
- Los productos de degradación deben ser no tóxicos y capaces de ser metabolizados y eliminados del cuerpo.

Entre los biomateriales más utilizados se pueden encontrar los biopolímeros. Algunas de las aplicaciones biomédicas de estos materiales incluyen: fabricación de implantes para tejidos óseos como tornillos y placas, nano y micro estructuras para sistemas de liberación de drogas, membranas para guiar la regeneración celular entre otras. De acuerdo a su biodegradabilidad, los biopolímeros se dividen en dos grupos: los biopolímeros degradables hidrolíticamente y los degradables enzimáticamente. Los biopolímeros degradables hidrolíticamente son los más utilizados en la fabricación de implantes debido a que son asimilados por el organismo con mayor facilidad y las variaciones que se generan entre los pacientes son mínimas (Nair y Laurenci, 2007).

Los biopolímeros degradables hidrolíticamente son polímeros que poseen enlaces químicos hidrolíticamente inestables en su cadena. Los grupos funciones susceptibles a hidrólisis son los ésteres, ortoésteres, anhídridos, carbonatos, amidas, uretanos y ureas (Nair y Laurenci, 2007).

### 2.5 Poliacido láctico (PLA).

Entre los biopolímeros biodegradables ampliamente estudiados en los últimos años se encuentra el poliacido láctico. Es un poliéster alifático biodegradable y un termoplástico, derivado de fuentes renovables como el almidón y el azúcar. El PLA está compuesto por bloques de ácido láctico (ácido 2-hidroxy propanoico), el cual posee dos configuraciones ópticamente activas, los isómeros L y D (Lim, Auras y Rubino, 2008). En la Figura N°7 se muestran los diferentes isómeros del monómero utilizado para la producción del PLA.

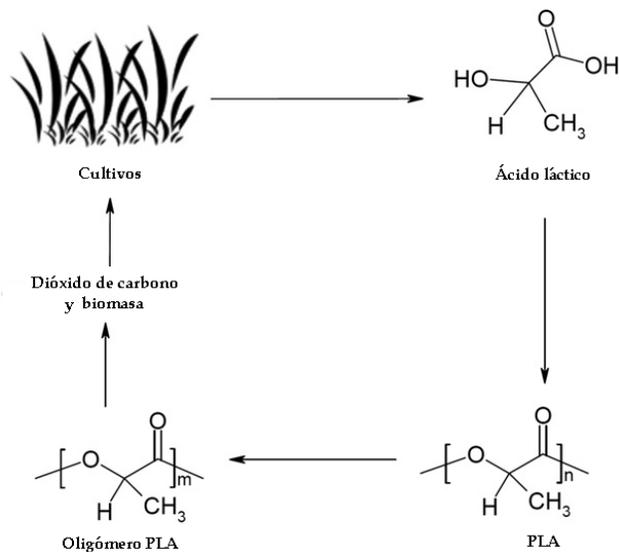


**Figura N° 7:** Diferentes isómeros para el ácido láctico. (A) Ácido L-láctico. (B) Ácido D-láctico.  
Fuente: Gupta y Kumar (2007).

El ácido láctico puede ser sintetizado por métodos biológicos o químicos. La ruta química generalmente produce una mezcla racémica de ambos isómeros. A partir del proceso biológico se obtiene un producto más selectivo hacia un isómero en particular y se basa en la fermentación del almidón u otros polisacáridos disponibles con facilidad, como el maíz, azúcar de remolacha, azúcar de caña, papas y la biomasa. La mayoría de los productores comerciales del mundo producen ácido láctico por fermentación bacteriana, donde variables como pH, temperatura, atmósfera y agitación son constantemente monitoreadas (Gupta y Kumar, 2007).

El monómero más empleado para la obtención del PLA es la L-Lactida, generando el poliacido L-láctico o PLLA. El PLLA es un polímero que posee aproximadamente un 37% de cristalinidad, una temperatura de transición vítrea entre 60 y 65°C y una temperatura de fusión de 175°C (Nair y Laurenci, 2007). Además es un compuesto que sufre degradación hidrolítica. Este proceso comienza cuando el

agua penetra la matriz polimérica e hidroliza sobre los grupos ésteres, disminuyendo la longitud de la cadena carbonada y generando oligómeros y monómeros. Seguidamente, los oligómeros son arrastrados de la matriz por los fluidos corporales (Gupta y Kumar, 2007). En la Figura N°8 se presenta en forma esquemática el ciclo de vida del PLA.



**Figura N° 8:** Ciclo de vida del PLA. Fuente. Gupta y Kumar (2007).

Los usos principales del PLA han sido limitados hacia aplicaciones médicas en la fabricación de implantes, soporte para tejidos, sistemas de liberación de drogas y suturas internas por causa de su alto costo, baja disponibilidad y peso molecular limitado. Sin embargo, nuevas técnicas han permitido una producción económica y de alto peso molecular ampliando sus usos. Desde la obtención del PLA a partir de fuentes sostenibles, se ha visto como un material prometedor para reducir el problema de los desechos sólidos. Su baja toxicidad unida con sus características amigables con el ambiente, han hecho del PLA un material ideal para empaques de comida u otros productos de consumo (Lim et al., 2008).

## 2.6 *Materiales magnéticos.*

Todo material responde a la presencia de un campo magnético. Los materiales magnéticos de más amplio uso se basan en metales y aleaciones ferromagnéticas, como lo son el hierro, el níquel y el cobalto, o de materiales cerámicos ferrimagnéticos, incluyendo ferritas y granates (Askeland y Phulé, 2004).

### 2.5.1 *Magnetización, permeabilidad y campo magnético.*

Cuando se hace pasar una corriente eléctrica a través de una bobina, se produce un campo magnético  $H$ . La intensidad del campo magnético viene dada por la siguiente ecuación:

$$H = \frac{n \cdot I}{l} \quad (\text{Ecuación I})$$

donde  $n$  es el número de vueltas de la espira,  $l$  es la longitud de la bobina [m], e  $I$  es la corriente [A]. Las unidades de  $H$  son A/m (Askeland y Phulé, 2004).

Cuando un campo magnético se aplica en el vacío, se inducen líneas de flujo magnéticos. El número de líneas de flujo, conocidas como densidad de flujo o como inductancia  $B$ , K está relacionado con el campo magnético aplicado mediante:

$$B = \mu_0 \cdot H \quad (\text{Ecuación II})$$

donde  $B$  [Tesla] es la inductancia,  $H$  es el campo magnético y  $\mu_0 [4\pi \times 10^{-7}$  weber/(A·m)] es una constante conocida como permeabilidad magnética en el vacío (Askeland y Phulé, 2004).

Cuando se coloca un material dentro del campo magnético, la densidad del flujo magnético queda determinada por la forma en que los dipolos magnéticos inducidos y permanentes interactúan con el campo y se origina un fenómeno

conocido como magnetización. La magnetización  $M$  representa el incremento de la inductancia debido al material del núcleo, por lo que la ecuación de la inductancia se reescribe como:

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

La primera parte de la ecuación representa el efecto del campo magnético aplicado, la segunda parte es el efecto del material magnético presente. Si los momentos magnéticos aplicados refuerzan el campo se crean un mayor número de líneas de flujo que pueden efectuar trabajo y se amplifica el campo magnético (Askeland y Phulé, 2004).

### 2.5.2 Tipos de comportamiento magnético.

El comportamiento magnético de un material queda determinado por su estructura electrónica que crea dipolos magnéticos y las interacciones entre dichos dipolos determinan el tipo de comportamiento observado. Entre los tipos de comportamiento magnético que se pueden encontrar en la naturaleza se tienen el diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo, ferrimagnetismo y superparamagnetismo. Para la investigación se realizará un énfasis en los dos últimos antes mencionados (Askeland y Phulé, 2004).

- **Ferimagnetismo:** Se evidencia en materiales cerámicos, donde los iones presentes poseen momentos magnéticos diferentes. En un campo magnético, los dipolos del catión A pueden alinearse con el campo, en tanto los dipolos del catión B se oponen al campo. Pero, debido a que la intensidad no es igual, el resultado es una magnetización neta, ocasionando una amplificación del campo impuesto. Un material con este tipo de comportamiento son las ferritas.
- **Superparamagnetismo:** Cuando el tamaño del grano de los ferromagnéticos y ferrimagnéticos disminuye por debajo de un cierto

tamaño crítico, estos materiales se comportan como si fueran paramagnéticos. La energía del dipolo magnético de cada partícula se vuelve comparable a la energía térmica, cambiando aleatoriamente la dirección del momento magnético y haciendo que el material no posea un momento magnético neto.

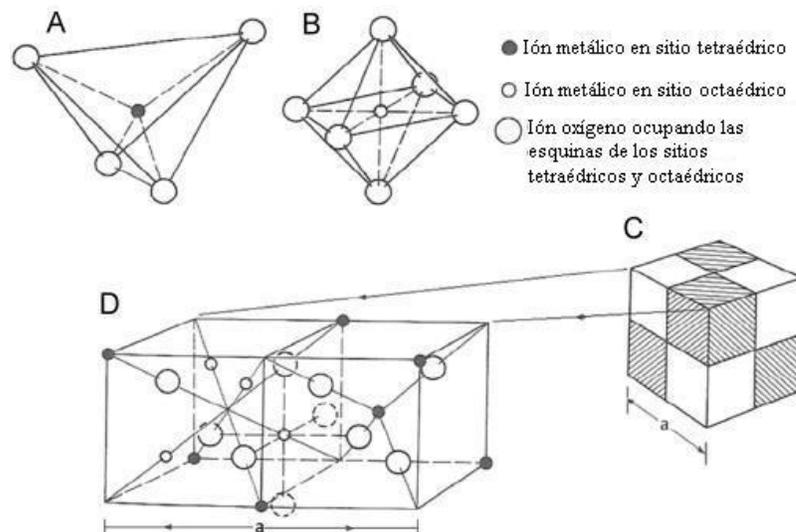
Las partículas con propiedades superparamagnéticas tienen un tamaño menor de 10nm y entre las más utilizadas se encuentran los óxidos de hierro. El término superparamagnetismo relaciona el comportamiento de una partícula de tamaño nanométrico con el pequeño momento magnético de un átomo. Es decir, en un material superparamagnético las partículas nanométricas se comportan como si fueran átomos individuales. Las partículas superparamagnéticas expuestas a un campo magnético alterno son empleadas para inducción de calor. A través de la oscilación del momento magnético dentro de las partículas, la energía del campo magnético es liberada en forma de calor y conducida a través del medio donde se encuentran localizadas (Neuberger et al., 2005).

La ventaja principal de un material superparamagnético con respecto a un ferrimagnético radica en la absorción de la energía magnética. Las partículas superparamagnéticas poseen mucha mayor tasa de absorción comparada con partículas magnéticas más grandes y por lo tanto son más predestinadas a ser utilizadas en el campo de la hipertermia (Neuberger et al., 2005).

### **2.5.3 Ferritas.**

De entre todos los tipos de materiales magnéticos, la más resaltante para la investigación son las ferritas, las cuales son óxidos de hierro que poseen una estructura cristalina de espinel. Una estructura típica de espinel se aprecia en la Figura N°9, la cual tiene una celda unitaria que se puede visualizar como una formación de ocho cubos más pequeños. En cada uno de estos cubos menores se localizan iones de oxígeno en las posiciones normales de una red cúbica centrada en

las caras. Dentro de los cubos pequeños hay cuatro sitios intersticiales octaédricos y ocho sitios intersticiales tetraédricos, de los cuales los cationes ocupan tres. En espinel normal los iones bivalentes ocupan sitios tetraédricos y los trivalentes, los octaédricos. En los espineles inversos, el ion bivalente y la mitad de los iones trivalentes se localizan en los sitios octaédricos. Esta estructura la tienen muchos cerámicos eléctricos y magnéticos importantes, incluyendo el  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , conocido como magnetita (Askeland y Phulé, 2004).



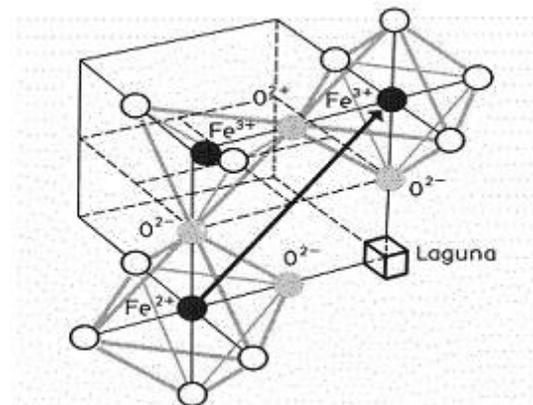
**Figura N° 9:** (A) Sitio tetraédrico rodeado por cuatro iones de oxígeno. (B) sitio octaédrico enlazado a seis iones de oxígeno. (C) Estructura de espinel. (D) Dos octantes mostrando la distribución de los cationes y átomos de oxígeno. Fuente: Nlebedim, Snyder, Moses y Jiles, (2010).

#### 2.5.4 Magnetita y Ferritas de Cobalto y Níquel.

La magnetita es un óxido de hierro que posee tanto  $\text{Fe}^{+2}$  como  $\text{Fe}^{+3}$  en su estructura ( $\text{Fe}^{+2}\text{Fe}_2^{+3}\text{O}_4^{-2}$ ), por lo tanto, no es termodinámicamente estable. Para cristales suficientemente grandes, como la magnetita en rocas, la tasa de oxidación a condiciones atmosféricas es suficientemente lenta para que no se necesite protección contra este proceso. Es un material con una estructura de espinela cúbica que presenta propiedades de ferrimagnetismo a temperaturas menores de  $585^\circ\text{C}$  y que de forma natural muestra un comportamiento magnético. Este material ha venido cobrando importancia debido a sus amplios usos en grabación magnética, ferrofluidos, catálisis

y aplicaciones biomédicas, como bioseparación, orientación de drogas e hipertermia. Para aplicaciones biomédicas, la magnetita es tratada a menudo modificando su superficie, la cual puede mejorar su estabilidad química, y muchos materiales como metales preciosos, sílice, carbón y biopolímeros han sido empleados para este fin (Gubin, Koksharov, Khomutov, y Yurkov, 2005; Qu et al., 2010; Chiche et al., 2007).

Un esquema de la celda unitaria de la estructura de espinel de la magnetita se presenta en la Figura N°10. Los iones en los sitios tetraédricos de la magnetita se alinean de forma tal que sus momentos se oponen al campo magnético aplicado. Los iones en los sitios octaédricos refuerzan el campo. En consecuencia, los iones  $\text{Fe}^{+3}$  se neutralizan entre sí. Sin embargo, el ión  $\text{Fe}^{+2}$  del sitio octaédrico no encuentra oposición y refuerza el campo (Askeland y Phulé, 2004).



**Figura N° 10:** Esquema de la estructura cristalina de la magnetita. Fuente: Prieto, Rodríguez, Castañeda y Barrado (2002).

Cuando se reemplazan los iones  $\text{Fe}^{+2}$  por otros, es posible cambiar el comportamiento magnético. Cuando un ion  $\text{Fe}^{+2}$  se sustituye con mezclas diversas de zinc, manganeso, níquel, cobre o cobalto, se obtienen imanes eléctricos suaves. Los iones de níquel tienen momentos magnéticos que cancelan parcialmente el efecto de los dos iones de hierro, pero obteniendo un comportamiento ferrimagnético neto con un ciclo de histéresis más pequeño que el de la magnetita. Este mismo comportamiento se ve reflejado con la sustitución por iones cobalto pero en mayor

intensidad comparado con el níquel, ya que el cobalto posee un mayor momento magnético (Askeland y Phulé, 2004).

### 2.5.5 *Materiales magnéticos en organismos biológicos.*

Ha sido encontrado que algunas partículas magnéticas, entre las que destacan algunos óxidos de hierro, juegan un papel importante en el metabolismo y funcionamiento de organismos vivos. Entre las partículas que comúnmente se encuentran en estos organismos se tienen la magnetita y la ferrihidrita (mineral básico de la ferritina) (Gubin et al., 2005).

Nanopartículas de magnetita con algunas impurezas de maghemita están presentes en la bacteria *Magnetotactic spirillum* y juegan un rol funcional garantizando la orientación de la bacteria interactuando con el campo magnético de la tierra. Sin embargo, estas nanopartículas no solo se encuentran en bacterias, sino también en las células de organismos superiores. Se considera que nanopartículas de magnetita presentes en las células interactúan con el polo magnético terrestre y transmiten información a otros bioreceptores del organismo. Este mecanismo está relacionado con las migraciones estacionales de peces y aves y su habilidad para localizarse con respecto al campo magnético de la tierra en cualquier instante (Gubin et al., 2005).

La ferritina es la forma más abundante de hierro en animales y plantas. Es una proteína soluble en agua que consiste en un núcleo formado por el mineral ferrihidrita de unos 7nm de diámetro y una coraza proteínica de 6nm de espesor, la cual garantiza la biocompatibilidad de la ferritina. Su rol principal es el de preservar la reserva de hierro del organismo (Gubin et al., 2005).

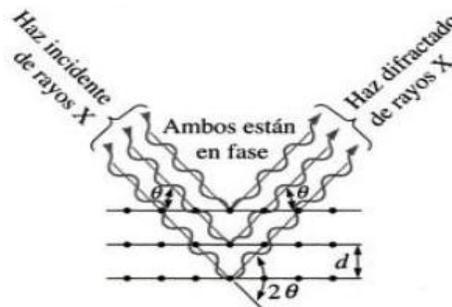
## 2.7 Métodos de caracterización.

### 2.6.1 Difracción de Rayos X (DRX).

Se puede obtener información relacionada con la estructura cristalina de un material utilizando difracción de rayos X. Cuando un haz monocromático (de una sola longitud de onda) golpea un material, los rayos X se dispersan en todas direcciones. La mayor parte de la radiación dispersa por un átomo anula la dispersada por otros. Sin embargo, los rayos X que golpean ciertos planos cristalográficos en ángulos específicos se ven reforzados en vez de eliminados. Este fenómeno se conoce como difracción. Los rayos X han sido difractados o el haz ha sido reforzado, cuando las condiciones satisfacen la ley de Bragg,

$$\text{sen}(\theta) = \frac{\lambda}{2 \cdot d} \quad (\text{Ecuación IV})$$

donde el ángulo  $\theta$  es la mitad del ángulo entre el haz difractado y la dirección original del haz,  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X y  $d$  es la distancia interplanar entre los planos que causan el refuerzo del haz (Askeland y Phulé, 2004). Una representación gráfica de este fenómeno se puede apreciar en la Figura N°11.



**Figura N° 11:** Interacción de refuerzo entre rayos X y la estructura cristalina de un material. Fuente: Askeland y Phulé (2004).

Cuando el material se prepara en forma de polvo fino, siempre habrá algunas partículas de polvo cuyos planos queden orientados en el ángulo  $\theta$  adecuado para

satisfacer la ley de Bragg. Por lo tanto, se producirá un haz difractado, a un ángulo de  $2\theta$  en relación con el haz incidente. En un difractómetro, un detector móvil de rayos X registra los ángulos  $2\theta$  en los cuales se difracta el haz, dando un patrón característico de difracción. Si se conoce la longitud de onda de los rayos X, se pueden determinar los espaciamentos interplanares  $y$ , finalmente la identidad de los planos que causan la difracción, obteniendo la red cristalina del material (Askeland y Phulé, 1998).

Además de la estructura cristalina de la muestra, se puede determinar el tamaño de partícula de cristales muy pequeños, a partir del ancho medido de las curvas de difracción. Esto se puede lograr a partir de la ecuación de Scherer,

$$dp = \frac{0,9 \cdot \lambda}{b \cdot \cos(\theta)} \quad (\text{Ecuación V})$$

donde  $dp$  es el diámetro de partícula,  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación,  $\theta$  es el ángulo de difracción y  $b$  es la anchura del pico a media altura (Cullity, 1967).

### 2.6.2 Microscopia Electrónica de Trasmisión (MET).

Un microscopio electrónico de transmisión es un equipo de observación basado en el uso de ondas de electrones para producir imágenes de alta resolución. El microscopio posee lentes que refractan la fuente de iluminación y la hacen converger sobre un punto, haciendo uso de una serie de lentes electromagnéticos donde la fuente de iluminación es proporcionada por electrones. En cada lente electromagnético, los electrones en virtud a su carga son forzados a seguir una determinada trayectoria mediante la aplicación de un campo electromagnético (Bozzola y Russell, 1998). En la Figura N°12 se presenta un esquema simplificado de un microscopio electrónico de transmisión.

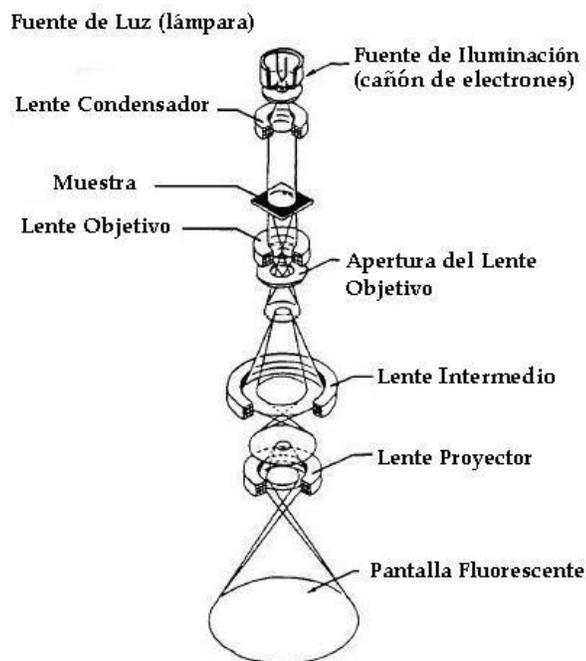
Un análisis de microscopía electrónica de transmisión se emplea cuando el dominio de los tamaños de la muestra a analizar es menor a  $1\mu m$ . Entre la información que se puede obtener a partir de este método se encuentra (Gubin et al., 2005):

- a) Presencia de nanopartículas en el material y el arreglo relativo entre ellas;

- b) Determinación de las dimensiones de nanopartículas; y
- c) Composición de la fase de las nanopartículas derivadas del registro de patrón de difracción de electrones.

En general, la microscopía electrónica de transmisión se ha vuelto un método de investigación muy usado y aceptado, para analizar propiedades microestructurales a escalas manométricas. Sin embargo, presenta algunas desventajas (Askeland y Phulé, 1998):

- a) La preparación de las muestras que sean casi transparentes al haz de electrones ocupa tiempo;
- b) Se requiere mucho tiempo y destreza para analizar los datos obtenidos, ya que una muestra delgada y tridimensional se representa en una imagen bidimensional;
- c) Solo se examina un volumen muy pequeño de la muestra; y
- d) El equipo es relativamente costoso y requiere mucho cuidado en su uso.



**Figura N° 12:** Esquema de un microscopio electrónico de transmisión. Fuente: Cheremisinoff (1996).

### **2.6.3 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR).**

Los espectros de infrarrojo surgen como resultado de las interacciones de los sólidos con la radiación electromagnética (infrarrojo), las cuales implican vibración y rotación de moléculas y están asociadas con la deformación de los enlaces interatómicos y de los ángulos interenlaces. Parte de esa radiación infrarroja es absorbida por el sólido y otra pasa a través del mismo (transmitida) y el resultado de esto representa un espectro de absorción y transmisión molecular, creando una huella de la muestra. Como dos materiales no pueden ser iguales, y cada uno está constituido por diferentes combinaciones de átomos, implica que dos materiales no pueden producir el mismo espectro infrarrojo. Por lo cual, esta técnica ha resultado ser positiva para identificar de manera cualitativa cualquier material (Thermo Nicolet Corporation, 2001; Chiche et al., 2007).

Un espectro de transmisión de infrarrojo es un esquema donde se representa el porcentaje de radiación transmitida contra la frecuencia de la radiación absorbida dada en  $\text{cm}^{-1}$ . Para aumentar la resolución de los espectros se emplea la Transformada de Fourier (FTIR), el cual promedia un gran número de espectros y da una señal mejorada disminuyendo los efectos del ruido y por lo tanto una mayor sensibilidad en comparación con la espectroscopia de infrarrojo convencional. Además FTIR permite una recolección de los datos de forma mucho más rápida (Chiche et al., 2007).

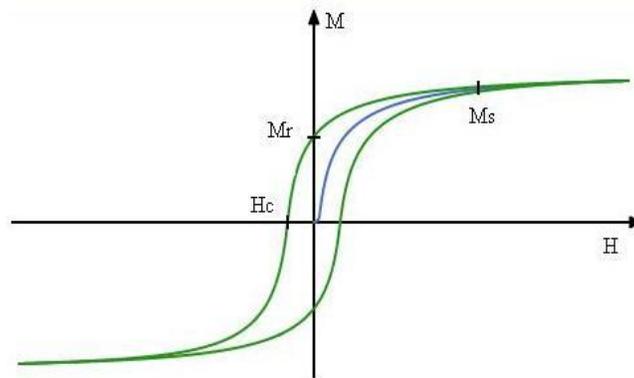
### **2.6.4 Propiedades magnéticas (ciclo de histéresis magnética).**

El ciclo de histéresis magnética es una representación gráfica de la relación entre magnetización y campo. Este se realiza imponiendo un campo magnético sobre un determinado material y se completa en tres etapas, tal como se puede evidenciar en la en la Figura N°13.

1. Etapa uno: Cuando se impone un campo magnético sobre un material, los dominios (regiones dentro de un material donde los dipolos están ordenados en una dirección) que están alineados en relación al campo crecen a expensas de los no alineados. Conforme aumenta la intensidad del campo, los dominios

con orientación favorable crecen con mayor facilidad. Eventualmente, los dominios con orientación desfavorable desaparecen y la rotación completa la alineación de los dominios del campo. La magnetización de saturación ( $M_s$ ), que se produce cuando todos los dominios están orientados en la misma dirección al campo magnético, es la magnetización más elevada que puede lograrse con el material (Askeland y Phulé, 2004).

2. Etapa dos: Cuando se elimina el campo magnético, la resistencia que ofrecen las paredes de los dominios impide que los dominios vuelvan a crecer con orientaciones aleatorias. Como resultado, gran parte de los dominios quedan orientados en la dirección original del campo y una magnetización residual, que se conoce como remanencia ( $M_r$ ) se encuentra presente en el material (Askeland y Phulé, 2004).
3. Etapa tres: Si ahora se aplica un campo magnético opuesto al inicial, los dominios crecen con una alineación en la dirección inversa. Se requiere un campo coercitivo  $H_c$  para obligar a los dominios a que se cancelen entre sí. Con incrementos adicionales en la intensidad del campo, los dominios finalmente se alinearán hasta la saturación en la dirección opuesta (Askeland y Phulé, 2004).



**Figura N° 13:** Ciclo de histéresis magnética para un material ferrimagnético. Fuente: es.wikipedia.or

Con este análisis se pretende analizar la respuesta del material a los campos magnéticos, a partir de parámetros como la magnetización de saturación, el campo coercitivo, la magnetización residual y así verificar su aplicación en el campo de la hipertermia.

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Síntesis de las nanopartículas magnéticas.

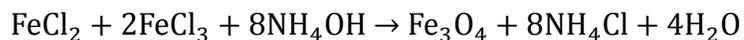
La primera fase de la investigación consistió en la síntesis de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  a partir de sales metálicas, empleando la técnica de ultrasonido de alta frecuencia. Los materiales utilizados se describen en la Tabla N°2.

**Tabla N° 2:** Materiales a utilizar en la síntesis de las nanopartículas magnéticas.

Nombre	Fórmula	Pureza (%)
Cloruro de Hierro (II)	$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	99,00
Cloruro de Hierro (III)	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	99,00
Cloruro de Cobalto (II)	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	99,00
Cloruro de Níquel (II)	$\text{NiCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	98,00
Hidróxido de Amonio	$\text{NH}_4\text{OH}$	29,17
Hidróxido de Sodio	$\text{NaOH}$	99,00

##### 3.1.1 Síntesis de las nanopartículas de Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

Para la síntesis de la magnetita se empleó cloruro de hierro (II) tetrahidratado ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y cloruro de hierro (III) hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) como fuentes de hierro, con una relación molar de  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$  de 1:2 respectivamente. Las sales de hierro se disolvieron en 50ml de agua destilada. Luego se añadió cierto volumen de  $\text{NH}_4\text{OH}$  e inmediatamente se sometió la mezcla a condiciones de ultrasonido de alta frecuencia (20kHz) con ayuda de un desintegrador ultrasónico MSE de 150Watt por 30min. El proceso de reacción fue el siguiente:



Terminado el tiempo de reacción las nanopartículas se hicieron precipitar por magnetización y se midió el pH final de la solución. Finalmente las nanopartículas fueron lavadas continuamente con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro para luego ser secadas a 70°C.

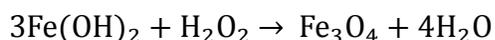
Se realizaron tres síntesis a diferente pH variando la cantidad de NH<sub>4</sub>OH en la mezcla de reacción para verificar la dependencia del tamaño de partícula con el pH de la solución. Las cantidades empleadas de cada reactivo se presentan en la Tabla 3.

**Tabla N° 3:** Cantidades a emplear de cada reactivo para la síntesis de las nanopartículas de magnetita.

Nombre	Fórmula	Síntesis 1	Síntesis 2	Síntesis 3
Cloruro de Hierro (II)	FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	2,01g	2,01g	2,01g
Cloruro de Hierro (III)	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	5,46g	5,46g	5,46g
Hidróxido de Amonio	NH <sub>4</sub> OH	8ml	16ml	12ml

Finalmente se realizó la caracterización de las muestras obtenidas a partir de los métodos de Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR), Difracción de Rayos X (DRX), Microscopía Electrónica de Transmisión (MET). Además de los métodos mencionados, se caracterizaron propiedades magnéticas y la capacidad de inducir calor de las partículas a partir de un experimento de hipertermia.

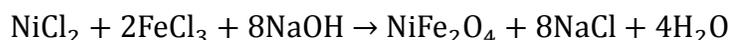
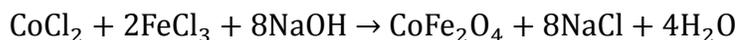
Como síntesis adicional por falta de reactivos e insuficiencia de magnetita para la realización de las pruebas de hipertermia y los recubrimientos con hidroxiapatita, se prepararon partículas de magnetita a partir de Sulfato de hierro (II) heptahidratado (99% de pureza) y peróxido de hidrógeno siguiendo el procedimiento presentado por Li et al. (2008). Una cantidad de 2,5g de FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O se disolvieron en 30ml de agua destilada para seguidamente añadir 12ml de NH<sub>4</sub>OH introduciendo la mezcla en ultrasonido por 5min. Al finalizar la sonicación se añadieron 2ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la mezcla de reacción se sometió a ultrasonido por 20min más. El proceso de reacción es el siguiente:



Al finalizar la reacción las nanopartículas se recolectaron en un beaker y se precipitaron con un imán. Fueron lavadas con agua destilada para neutralizar el pH y secadas al vacío para eliminar los rastros de humedad. La magnetita obtenida a partir de este método se denominó “Magnetita S”.

### 3.1.2 Síntesis de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ y $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ .

Para la síntesis de ambas espinelas se empleó cloruro de cobalto (II) hexahidratado ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) y cloruro de níquel (II) monohidratado ( $\text{NiCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) como fuentes de cobalto y níquel respectivamente. Dependiendo del caso, la sal de cobalto o níquel se disolvió junto con  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en 50ml de agua destilada con una relación molar de  $\text{Co}^{+2}/\text{Ni}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$  de 1:2 respectivamente. Luego se añadió cierto volumen de NaOH e inmediatamente se sometió la mezcla a condiciones de ultrasonido de alta frecuencia (20kHz) con ayuda de un desintegrador ultrasónico MSE de 150Watt por 30min. El proceso de reacción fue el siguiente:



Terminado el tiempo de reacción las nanopartículas se precipitaron por centrifugación y fueron lavadas continuamente con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro para luego ser secadas a 70°C. Las cantidades empleadas de cada reactivo se indican en la Tabla N°4:

**Tabla N° 4:** Cantidades a emplear de cada reactivo para la síntesis de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ .

Nombre	Fórmula	Síntesis $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ [g]	Síntesis $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ [g]
Cloruro de Hierro (III)	$\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2,73	2,73
Cloruro de Cobalto (II)	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,20	-
Cloruro de Níquel (II)	$\text{NiCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	1,22
Hidróxido de Sodio	NaOH	2,00	2,00

Para la caracterización de estas nanopartículas se realizaron los mismos análisis que para la síntesis de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ): FTIR, DRX, MET, propiedades magnéticas e hipertermia.

### 3.2 Síntesis de los nanocompuestos laminares PLLA- $\text{MFe}_2\text{O}_4$ ( $M = \text{Fe}, \text{Ni}, \text{Co}$ ).

La segunda etapa de la investigación consistió en la obtención de compuestos laminares de PLLA recubriendo las nanopartículas de ferrita sintetizadas en la primera parte. La finalidad fue la de obtener láminas de polímero cargadas con diferente cantidad de ferrita: 15,00%, 22,50% y 30,00% en peso. El PLLA a utilizar se encuentra en forma de pellets y posee un peso molecular promedio de  $120 \times 10^4$  g/mol (Signori, Coltelli y Bronco; 2009).

La síntesis de estos nanocompuestos se realizó de la siguiente manera. En primer lugar se pesaron 100mg del polímero, los cuales fueron disueltos en 20ml de cloroformo bajo agitación continua. Una vez disuelto se procedió a añadir la respectiva masa de ferrita y se sometió la solución a ultrasonido de alta frecuencia con ayuda de un desintegrador ultrasónico MSE de 150Watt (20kHz) por 5min, para garantizar un buen soporte de la nanopartícula sobre la matriz polimérica. Finalizado el tiempo se procedió a trasvasar la solución a una cápsula para evaporar el solvente a condiciones ambientales durante 24h. La lámina formada en las paredes de la cápsula se separó y almacenó.

Los nanocompuestos se obtuvieron para las magnetitas sintetizadas a diferente pH y las ferritas de níquel y cobalto. Las cantidades a emplear para cada concentración se muestran en la Tabla N°5:

**Tabla N° 5:** Cantidades a emplear de cada ferrita para la preparación de los nanocompuestos con PLLA.

Concentración (%) [p/p]	Masa de $\text{MFe}_2\text{O}_4$ ( $m_{\text{MFe}_2\text{O}_4}$ ) [mg]
15,00	17,65
22,50	29,03
30,00	42,86

Para la caracterización se utilizaron las siguientes técnicas: FTIR, DRX, MET, propiedades magnéticas e hipertermia.

### 3.3 *Síntesis de los nanocompuestos encapsulados PLLA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.*

La tercera etapa de la investigación consistió en obtener nanocompuestos de magnetita encapsulados con PLLA. Para ello se realizaron dos procedimientos de obtención.

En primer lugar se realizó una encapsulación por el método de emulsión aceite/agua descrito por Hu et al. (2006). Para ello se preparó una solución fase aceite la cual estuvo compuesta por 100mg de PLLA y 20mg de magnetita disueltos en 20ml de cloroformo. La fase acuosa fue una solución de PVA (Polialcohol vinílico) 1% m/v. La fase aceite se sonicó por 5min y luego se trasvasó a la fase acuosa, para luego la mezcla resultante ser sonicada por otros 5min. Ambas fases fueron separadas por centrifugación por 10min haciendo lavados continuos con agua destilada caliente para disolver el exceso de PVA.

El segundo método consistió en disolver 100mg de PLLA en 20ml de cloroformo bajo agitación continua. Seguidamente, 20mg de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> fueron añadidos a la solución de polímero para luego someter la mezcla a un proceso de ultrasonido con ayuda de un desintegrador ultrasónico MSE de 150Watt por 5min para garantizar un buen soporte de la nanopartícula sobre la matriz polimérica. Finalizado el tiempo, las nanopartículas se precipitaron con ayuda de un magneto, para así separarlas de la solución y obtener exclusivamente la magnetita recubierta, procediendo a retirar el exceso de polímero y cloroformo. Posteriormente se procedió a realizar un lavado de las nanopartículas con agua destilada, garantizando una suspensión de las mismas con ayuda de un dispersador por ultrasonido Cole-Palmer 8891 para evitar aglomeración. Finalmente las nanopartículas fueron secadas en un desecador al vacío.

Para la caracterización se utilizaron las técnicas de MET y FTIR.

### 3.4 Síntesis de los nanocompuestos $Fe_3O_4/HAp$ .

La última etapa de la presente investigación consistió en la obtención de nanocompuestos de magnetita recubiertos con hidroxiapatita empleando el método biomimético. Para ello se preparó una solución de fluido corporal simulado concentrado, siguiendo el procedimiento original descrito por Kokubo y Takadama (2006) para preparar SBF. La intención es la de obtener 500ml de una solución de SBF concentrado 1,5 veces en todos sus iones (1,5SBF). Las cantidades empleadas de cada reactivo, junto con el orden de adición en la solución, son las mostradas en la Tabla N°6.

El procedimiento general se describe a continuación. En un beaker se añadieron 200ml de agua destilada bajo condiciones de calentamiento y agitación continua a 37°C. El pH de la solución contenida en el beaker fue constantemente monitoreado. Luego se añadió cada una de los reactivos en el orden indicado en la Tabla N°6, uno a uno, garantizando la completa disolución de cada uno de ellos antes de la adición del siguiente hasta llegar al reactivo 8, lo cual se logró verificando que el pH de la solución no fluctúe después de cada adición. En ese momento se añadió poco a poco el tris controlando el pH hasta alcanzar un valor cercano a 9,24. Una adición brusca de este reactivo puede generar cambios bruscos de pH y ocasionar la precipitación de los sulfatos y fosfatos presentes en la solución, lo que provocaría repetir el procedimiento. Al obtener el pH final deseado, la solución se trasvasó a un balón aforado de 500ml para completar el volumen con agua destilada y luego se almacenó en un refrigerador para evitar la degradación del producto.

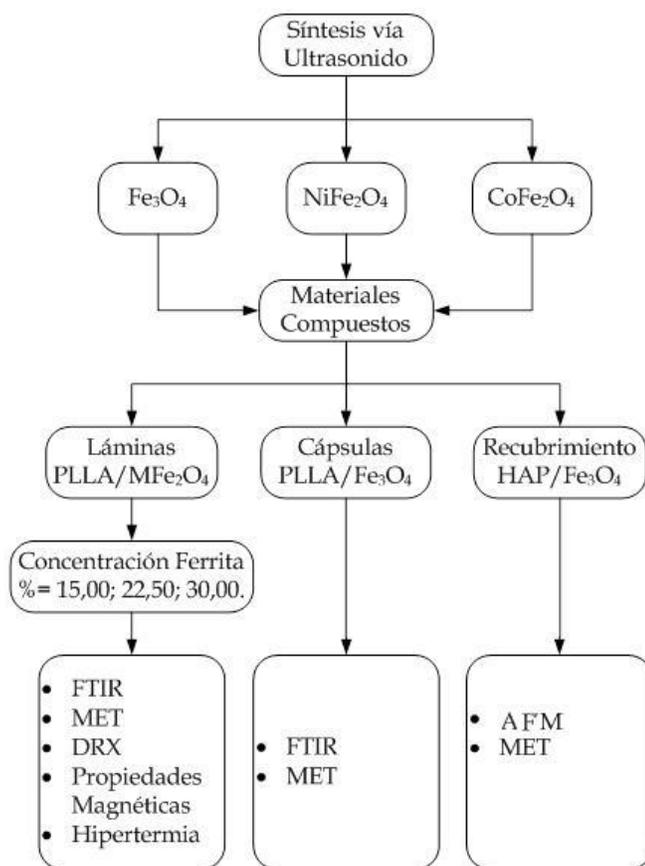
Para la realización del método biomimético, se mezcló 150mg de magnetita con un 50ml de 1,5SBF en un reactor herméticamente sellado. Luego se sumergió el reactor en un equipo térmico para mantener la temperatura de la solución a 37°C e iniciar la deposición de la hidroxiapatita sobre la magnetita. Se realizaron cambios en la solución de 1,5SBF cada cierto tiempo para garantizar una concentración uniforme de las sales a lo largo de toda la reacción por 11 días. Al finalizar el proceso se

desmontó el reactor y se realizaron 3 lavados con agua destilada y uno final con acetona. Luego se dejó secar la magnetita en un desecador al vacío.

**Tabla N° 6:** Orden, cantidades y purezas de los reactivos para preparar 500ml de 1,5SBF.

Orden	Reactivo	Cantidad	Pureza (%)
1	NaCl	6,027g	99,50
2	NaHCO <sub>3</sub>	0,266g	99,50
3	KCl	0,169g	99,60
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,131g	99,80
5	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,234g	98,00
6	HCl	29,25ml	-
7	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,279g	99,00
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,054g	99,00
9	Tris	csp	-

Para la caracterización se utilizaron las técnicas de MET y AFM. En la Figura N°14 se presenta un esquema general de la metodología de investigación.



**Figura N° 14:** Esquema general de metodología de investigación. Fuente: Elaboración propia.

### **3.5 Condiciones de los ensayos de caracterización**

#### **3.5.1. Microscopía electrónica de Transmisión (MET).**

Los análisis por microscopía electrónica de transmisión se realizaron en el Laboratorio de Polímeros de la Universidad Simón Bolívar en un microscopio JEOL 1220 con un voltaje acelerador de 100kV. Las muestras en polvo se prepararon por la técnica de suspensión húmeda, en la cual una pequeña cantidad de la muestra se colocó en un vial, con una mezcla de 70% de etanol y 30% de agua y posteriormente se sometieron a ultrasonido por cinco minutos para lograr una dispersión adecuada de las partículas. Seguidamente con una pipeta pasteur se tomó una alícuota y se colocó sobre una rejilla de cobre de 100 mesh con soporte de colodión, recubiertas con una fina capa de carbono, la cual se ionizó con una lámpara UV.

Las muestras laminares se prepararon por el método de corte. Para ello las láminas se embebieron en resina epóxica por 72 horas. Al finalizar este tiempo se introdujeron en moldes, se cubrieron con resina epóxica nuevamente y se llevaron a la estufa a 60°C por 48 horas. Luego se procedió a cortar con una cuchilla de diamante en un ultramicrotomo RMC modelo Power Tome X.

#### **3.5.2. Espectroscopia infrarroja (FTIR).**

Este análisis se realizó en un espectrofotómetro Perkin Elmer IR100 en los rangos de frecuencia comprendidos entre 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$  ubicado en el Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología del IVIC. Para analizar las muestras en polvo se prepararon las patillas a partir de ioduro de cesio (CsI). Se pesaron 200 mg de esta sal, 0.8 mg de muestra y la mezcla resultante se trituroó en un mortero de ágata. Posteriormente se agregó en un troquel y se sometió a alta presión, aplicando vacío por tres minutos aproximadamente. Finalmente se obtuvo la pastilla y se procedió a tomar los espectros infrarrojos, mediante el software Spectrum v6.3.4.

Por su parte, las películas de los polímeros no requirieron ningún tipo de preparación de la muestra, ya que el espectro se obtuvo simplemente colocando la película a analizar.

### **3.5.3. Difracción de rayos X (DRX).**

Para la obtención del difractograma se tomó una pequeña porción de aproximadamente 10 mg de cada una de las muestras en polvo. Las películas de los polímeros no requirieron ningún tipo de preparación de la muestra, ya que el difractograma se obtuvo simplemente colocando la película a analizar. Se empleó la radiación proporcionada por un tubo de cobre y el experimento se llevó a cabo entre 20 y 80° con un paso de 0,02 °/0.52 seg.

### **3.5.4. Propiedades magnéticas.**

Para obtener el ciclo de histéresis magnética de las muestras se empleó un magnetómetro. El equipo consta de dos electroimanes (Varian modelo 155), una fuente de poder (Magnet Power Supplies. Varian V-7900), un gaussímetro (5180 Gauss/Tesla meter) y un magnetómetro (Vibrating simple Magnetometer 155 Princeton Applied Research). Para la recolección de los datos y el control del equipo se contó con una interfaz computarizada que utiliza el lenguaje Visual Basic, obteniendo los datos en formato analógico desde el magnetómetro y transformándolo a digital. El resultado del análisis fue una gráfica de Magnetización contra Campo magnético aplicado.

Las muestras fueron preparadas en cápsulas (las cuales no interactúan con el campo magnético aplicado). Dentro de las mismas se colocó una cantidad aproximada de 30mg de muestra y se sellaron con un poco de algodón. Al comenzar el análisis, se calibró el gaussímetro en cero y se procedió a asegurar la muestra justo en el centro de los electroimanes. Estos poseen cuatro bobinas y se debió garantizar que la muestra esté equidistante de cada una. Luego se inició el programa de

computadora. El barrido de cada muestra se realizó en un lapso de una hora y media aproximadamente.

### 3.5.5. *Hipertermia.*

Para las mediciones de hipertermia se siguió un procedimiento similar al aplicado por Do Kyung et al. (2005). Para ello se utilizó un horno de microondas operando al 50% de su potencia máxima de 1000W (Panasonic modelo NNS431WL). En recipientes de Teflón se colocó una solución de tolueno seco conteniendo nanopartículas de magnetita a diferentes concentraciones para luego ser insertados en la cavidad del horno de microondas. Las mediciones de temperatura fueron realizadas después de cierto tiempo de expuestas las nanopartículas a la radiación mediante una termocupla, midiendo directamente la temperatura de la solución como se muestra en la Figura N°15.



**Figura N° 15:** Montaje experimental para la medición de la temperatura de la solución durante el proceso de hipertermia.

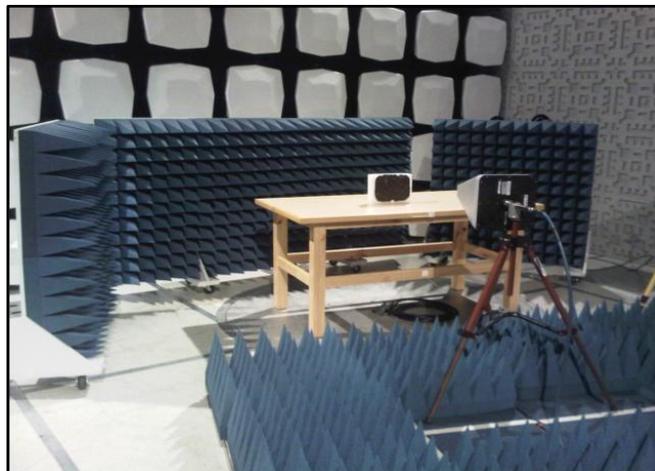
A continuación, en la Tabla N°7 se presentan las concentraciones de magnetita en tolueno empleadas para el experimento.

**Tabla N° 7:** Cantidades de magnetita y tolueno empleadas para el experimento de hipertermia.

Masa de Magnetita [mg]	Volumen de Tolueno [ml]
100	100
300	100
500	100

Además de caracterizar el incremento de la temperatura generado por las nanopartículas, se realizó el estudio de los nanocompuestos laminares PLLA-“Magnetita S” en colaboración con el Instituto de Ingeniería en el IDEA. En este sentido se prepararon láminas de polímero de 15x20cm cargadas con magnetita en concentraciones de 15%, 22,5% y 30% y un blanco de PLLA sin magnetita. Para cada lámina se utilizaron 10g de polímero disueltos en 1L de cloroformo siguiendo el procedimiento descrito anteriormente en la metodología.

El ensayo consistió en irradiar la muestra con una onda plana con un nivel repetible de 20V/m. En la Figura N°16 se presenta la configuración del ensayo de caracterización del incremento de temperatura de los nanocompuestos laminares.

**Figura N° 16:** Configuración del ensayo de hipertermia de los nanocompuestos laminares.

Para realizar esta prueba se necesitó:

- Cámara semianecoica.
- Software de control EMC32.
- Antena logarítmica de 600MHz a 10GHz STPL9149.

- Amplificador doble banda MILMEGA 1 GHz – 6 GHz.
- Generador de señales SMA 100AROHDE&SCHWARZ.
- Sensores de potencia Z91 R&S.
- Power meter R&S.
- Cámara termográfica FLICKR.

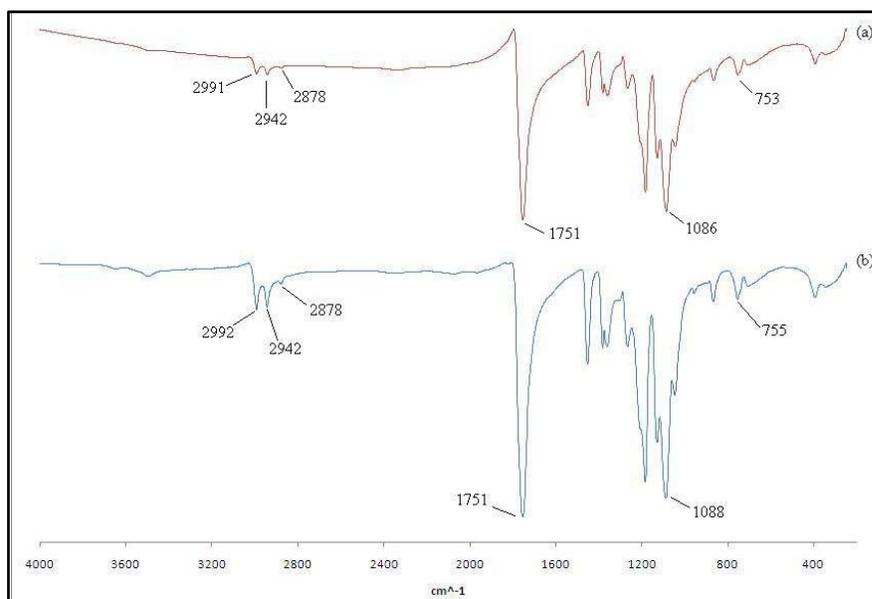
La muestra se colocó a una distancia de 1m de la antena y fue irradiada con una intensidad de campo de 20V/m por etapas. El ensayo se realizó en un rango de frecuencias de 1 a 6 GHz con paso de 500 MHz cada 50 segundos. Al finalizar cada paso se midió la temperatura de la lámina utilizando la cámara termográfica.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En vista de que uno de los objetivos fundamentales del presente trabajo es obtener el material compuesto PLLA-ferrita mediante sonicación, es importante observar el efecto de la técnica de ultrasonido de alta frecuencia sobre las características físicas y químicas del polímero. En este sentido la matriz polimérica (PLLA) fue procesada en solución con y sin sonicación y luego ambas muestras analizadas mediante FTIR.

En la Figura N°17 se presenta el espectro de infrarrojo del PLLA empleado en la investigación con sonicación y sin sonicación.



**Figura N° 17:** Espectro de FTIR del PLLA con y sin sonicación. (a) PLLA con ultrasonido. (b) PLLA sin ultrasonido.

Entre las bandas de absorción más importantes se encuentran las asociadas a la vibración de los enlaces C-H ubicadas en los números de onda de 2995, 2945 y 2880 cm<sup>-1</sup>. Además se observa un fuerte pico a 1756 cm<sup>-1</sup> el cual corresponde a la

vibración del grupo carbonilo (C=O) de la fracción éster del polímero. Asimismo se tiene una banda a  $1080\text{cm}^{-1}$  asignada a la tensión asimétrica entre los enlaces C-O-C y, finalmente otra a  $757\text{cm}^{-1}$  la cual corresponde a la vibración por flexión de los grupos carbonilo (Krikorian y Pochan, 2005).

Se puede apreciar en los espectros de absorción que la integridad química del polímero no se ve alterada durante el proceso de sonicación empleando cloroformo como disolvente, por lo tanto es posible preparar los compuestos con esta técnica.

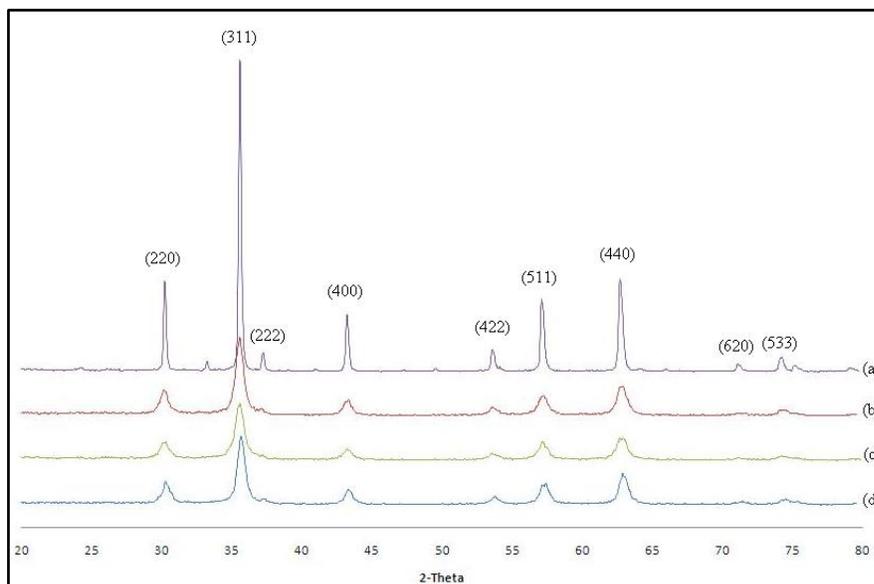
#### ***4.1. Nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (magnetita).***

##### ***4.1.1. Dependencia del tamaño de partícula con la variación de pH del medio de reacción (DRX).***

Como se indicó anteriormente en la metodología, la magnetita fue sintetizada utilizando ultrasonido de alta frecuencia y como precursores de los iones de hierro se utilizó  $\text{FeCl}_3$  y  $\text{FeCl}_2$ . Además se realizaron tres síntesis a diferente pH variando la cantidad de  $\text{NH}_4(\text{OH})$ . El producto de cada una de las reacciones fue caracterizado por las técnicas de DRX y FTIR.

En primer lugar se realizó la caracterización por DRX para verificar la estructura cristalina del producto obtenido así como también conocer el tamaño de partícula promedio de cada una de las muestras. En la Figura N°18 se presenta el difractograma de cada una de las magnetitas sintetizadas y de magnetita reactivo analítico Alfa Easer con 99% de pureza.

La estructura cristalina de tipo ferrita de las magnetitas sintetizadas se comprueba comparando cualitativamente su difractograma con el de la magnetita reactivo analítico. Se puede apreciar que cada uno de los difractogramas concuerda con el del reactivo analítico corroborando de esta manera la obtención de la estructura cristalina típica de la magnetita.



**Figura N° 18:** Difractogramas de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico Alfa Easer. (a) Magnetita reactivo analítico. (b) Magnetita pH= 9,16. (c) magnetita pH= 9,70. (d) Magnetita pH= 7,50.

Además se comprueba mediante la comparación de los picos de difracción observables, con el de las sustancias conocidas registradas en la base de datos de la JCPDS. En este caso se confirma la fase cristalina tipo espinel de la magnetita en virtud de la presencia de fuertes picos de difracción correspondientes a los planos cristalográficos (311), (440) y (220), sistema cúbico con parámetro de red  $a = 8.396 \text{ \AA}$ .

En la Tabla N°8 se muestran los valores de ángulos de difracción correspondientes a los distintos picos observados, así como las distancias interplanares y planos cristalográficos asociados. Además se presenta, para fines comparativos, la carta de difracción de la base de datos de la JCPDS N° 19-629, correspondiente a la magnetita.

Además de comprobar la estructura cristalina de la magnetita, se establece la dependencia del tamaño de cristal con la variación del pH del medio de reacción. Para ello se obtiene el tamaño de cristal promedio de cada magnetita sintetizada a partir de la ecuación de Scherer (Ecuación V), midiendo el ancho de la banda de mayor intensidad de cada uno de los difractogramas, a media altura, y el respectivo ángulo de difracción. En la Tabla N°9 se presentan los tamaños de cristal promedio de cada una de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico.

**Tabla N° 8:** Lista de picos observados en el difractograma de las magnetitas sintetizadas.

Distancia Interplanar d [Å]			Índices de Miller	
Medido			JCPDS	JCPDS
pH= 7,50	pH=9,16	pH= 9,70	N° 19-629	N° 19-629
2,9444	2,9584	2,9580	2,9670	220
2,5146	2,5220	2,5219	2,5320	311
2,4097	2,4202	2,4203	2,424	222
2,0857	2,0901	2,0893	2,0990	400
1,7039	1,7076	1,7100	1,7150	422
1,6061	1,6084	1,6095	1,6160	511
1,4757	1,4782	1,4774	1,4850	440
1,3192	1,3153	1,3243	1,328	620
1,2718	1,2739	1,2765	1,2810	533

**Tabla N° 9:** Tamaño de cristal promedio de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico.

Magnetita	Tamaño promedio de cristal [nm]
Reactivo Analítico	27,4
pH=7,50	12,9
pH=9,16	14,3
pH=9,70	9,2

Se aprecia un ligero aumento del tamaño de cristal de las magnetitas sintetizadas, entre las franjas de pH de 7,50 y 9,16. Sin embargo, con un pequeño aumento del pH a partir de 9,16 se obtiene una disminución significativa del tamaño, logrando cristales de 9,2nm con un pH de reacción de 9,70, concluyendo que es conveniente tener medios de reacción con un pH altamente básico para obtener tamaños de cristal más pequeños. Además se comprueba que las partículas son nanométricas. Comparadas las magnetitas obtenidas experimentalmente con la magnetita comercial se obtiene una disminución del tamaño de partícula, lo que representa una gran ventaja para su uso en hipertermia. Tamaños de grano mayor a los 10nm no son recomendables ya que los procesos de imanación resultan muy costosos debido a los múltiples dominios magnéticos presentes en cada partícula del material (Neuberger et al.; 2005).

La Magnetita S presentó un tamaño de cristal de 12nm y su patrón de difracción se presenta en la Figura N°19, el cual concuerda con los patrones presentados anteriormente para las demás magnetitas.

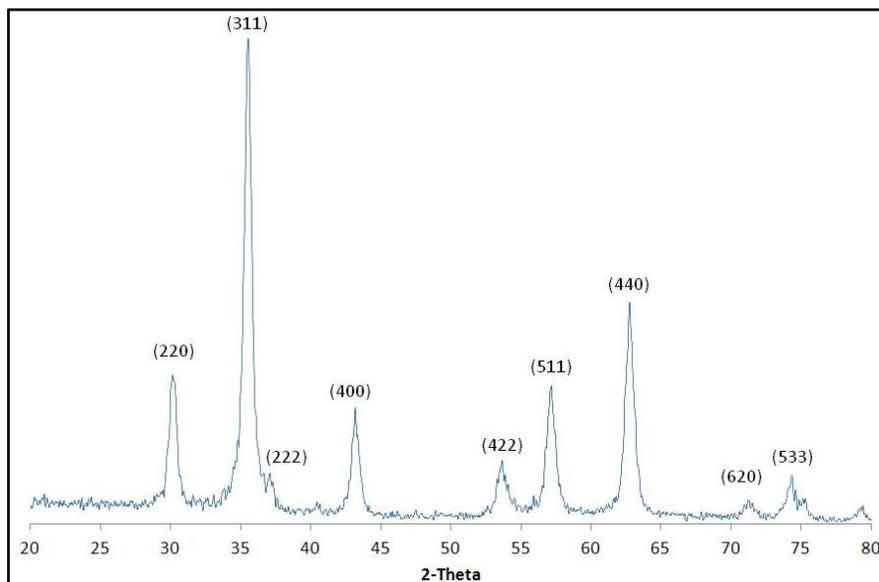
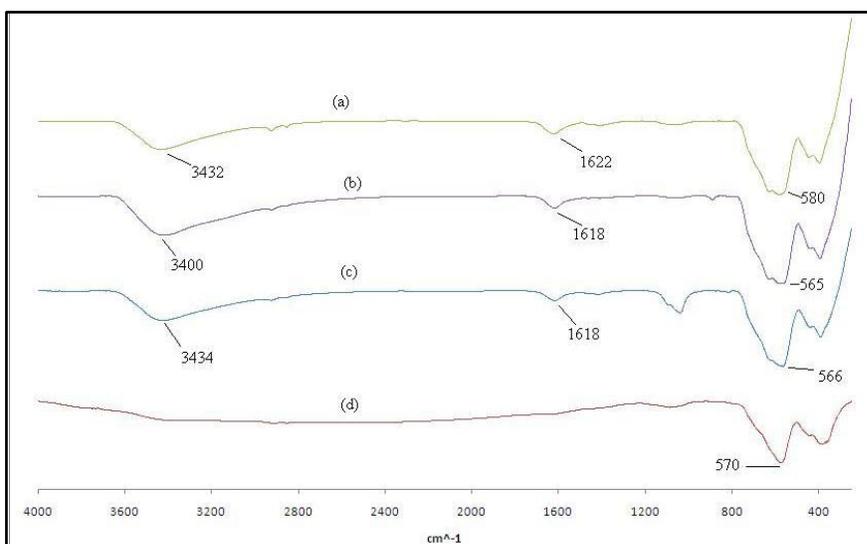


Figura N° 19: Patrón de difracción de la Magnetita S.

#### 4.1.2. FTIR.

En segundo lugar las nanopartículas de magnetita fueron caracterizadas por FTIR. En el espectro de infrarrojo de las magnetitas sintetizadas así como también de la magnetita reactivo analítico, como se observa en la Figura N°20, coinciden específicamente todos los picos principales.

Para los espectros de las nanopartículas sintetizadas, el pico característico de la magnetita a  $570\text{cm}^{-1}$  puede ser apreciado en todas las curvas, el cual es adscrito al grupo Fe-O. Los picos observados alrededor de  $3400\text{cm}^{-1}$  y  $1632\text{cm}^{-1}$  son debidos al agua absorbida por las muestras (Waldron, 1955; Li, 2008; Qu, 2010).

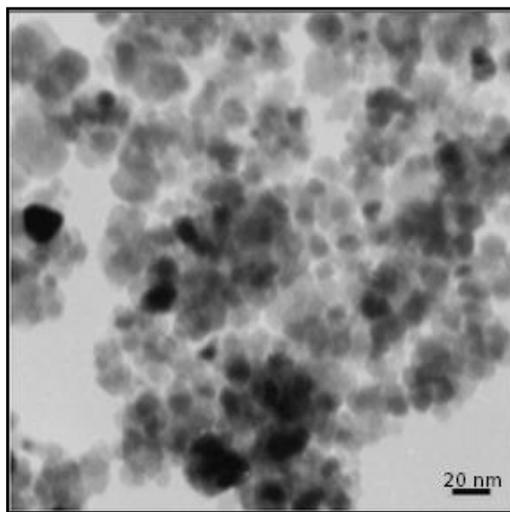


**Figura N° 20:** Espectro de FTIR de las magnetitas sintetizadas y magnetita reactivo analítico Alfa Easer. (a) Magnetita pH= 9,16. (b) Magnetita pH= 9,70. (c) Magnetita pH= 7,50. (d) Magnetita reactivo analítico.

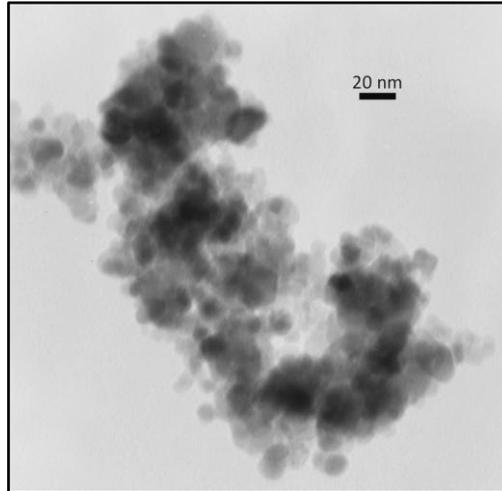
#### 4.1.3. MET.

Para analizar la distribución y morfología de las partículas de magnetita sintetizadas se empleó la técnica de microscopía electrónica de transmisión. A continuación se presenta las micrografías obtenidas para la magnetita sintetizada con pH= 7,50 (Figura N°21), con pH= 9,17 (Figura N°22) y pH=9,70 (Figura N°23).

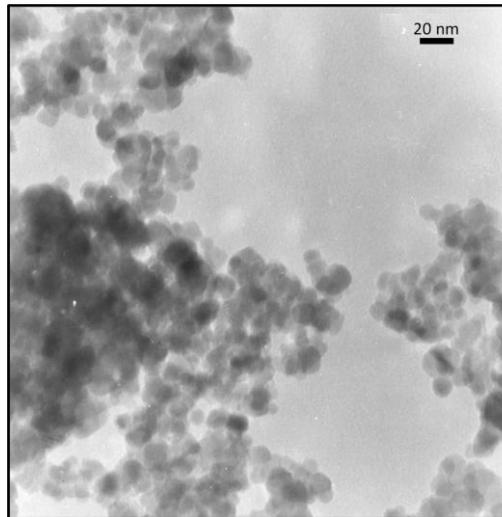
Se observa que las nanopartículas son esféricas. Para todas las magnetitas sintetizadas se evidencian las partículas con una morfología esférica.



**Figura N° 21:** Imagen MET de la magnetita sintetizada con pH=7,50



**Figura N° 22:** Imagen MET de la magnetita sintetizada con pH=9,17



**Figura N° 23:** Imagen MET de la magnetita sintetizada con pH=9,70

La distribución de tamaño de partícula se determinó midiendo los diámetros de sesenta nanopartículas seleccionadas al azar de cada una de las respectivas micrografías. A continuación se presenta la distribución de tamaño de partícula obtenida para la magnetita sintetizada con pH= 7,50 (Figura N°24), con pH= 9,17 (Figura N°25) y pH=9,70 (Figura N°26).

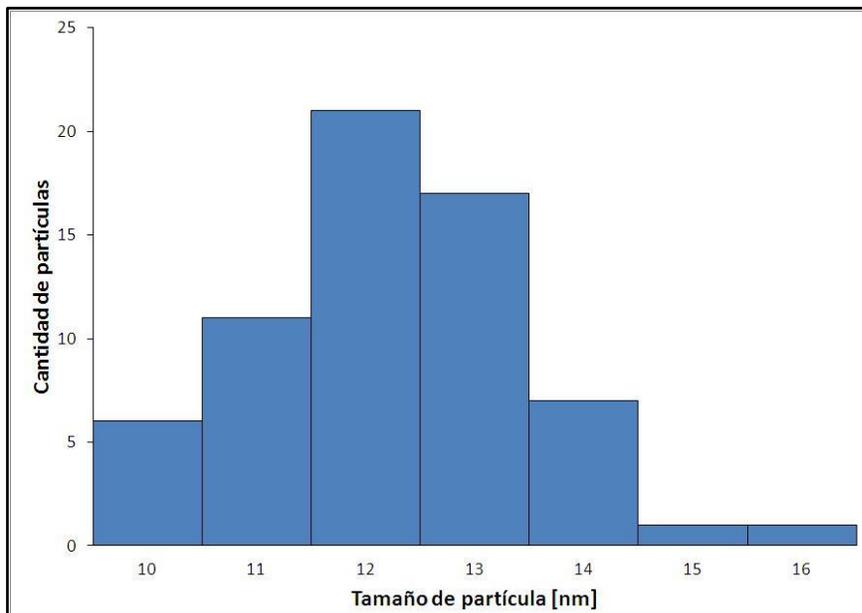


Figura N° 24: Distribución de tamaño de partícula de la magnetita sintetizada con pH=7,50

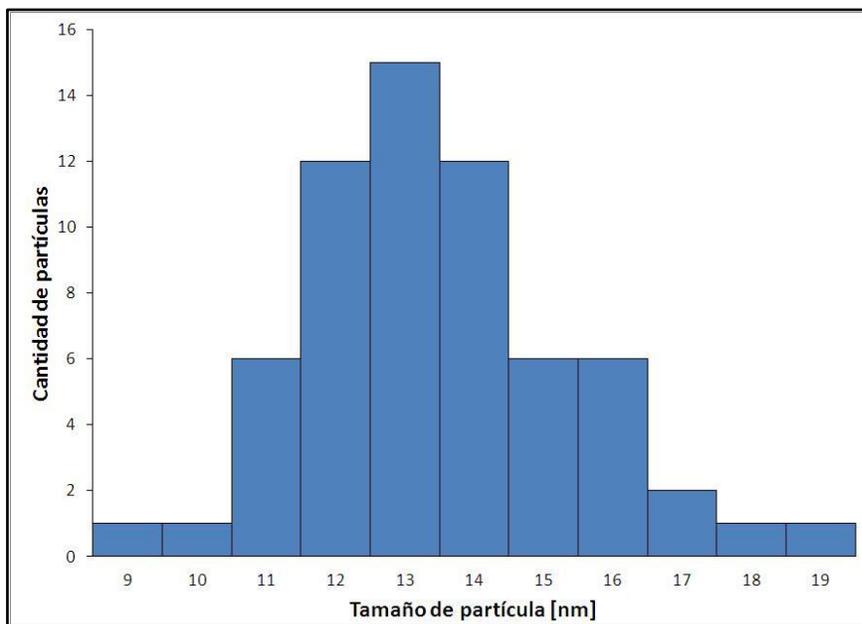
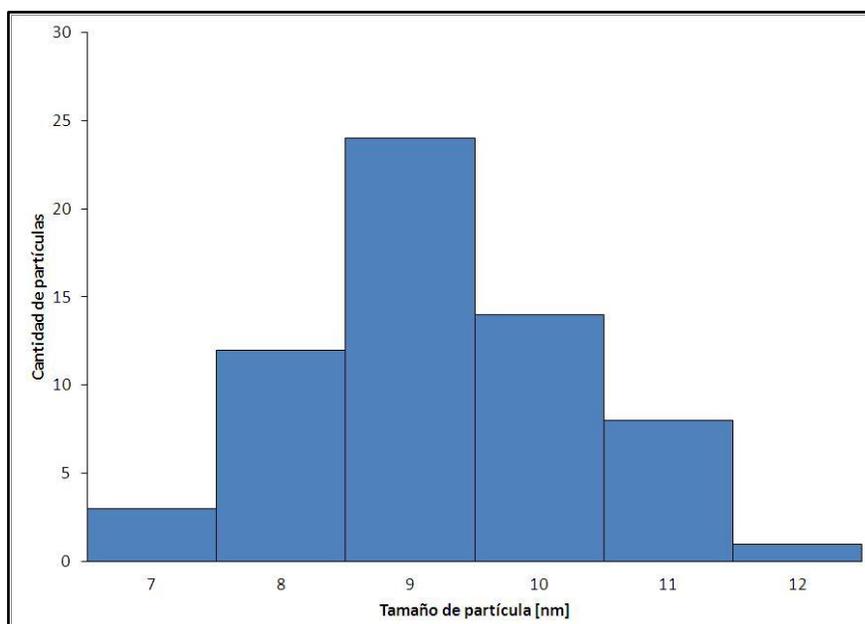


Figura N° 25: Distribución de tamaño de partícula de la magnetita sintetizada con pH=9,17



**Figura N° 26:** Distribución de tamaño de partícula de la magnetita sintetizada con pH=9,70

Se evidencia una distribución estrecha de tamaño de partícula para la magnetita sintetizada con pH=9,70; lo que indica que el tamaño es homogéneo en la muestra con una predominancia de tamaño de partícula de 9nm. Para el caso de la magnetita sintetizada con pH=7,50 y 9,16 se evidencia una distribución de tamaño más ancha, con una predominancia de tamaño de partícula de 12 y 13nm respectivamente, lo que indica que las partículas difieren mucho de tamaño unas de otras y no es uniforme en la muestra. Comparando los resultados obtenidos a partir del análisis por DRX y MET se obtuvieron los tamaños de partícula y cristal promedios que se presentan en la Tabla N°10.

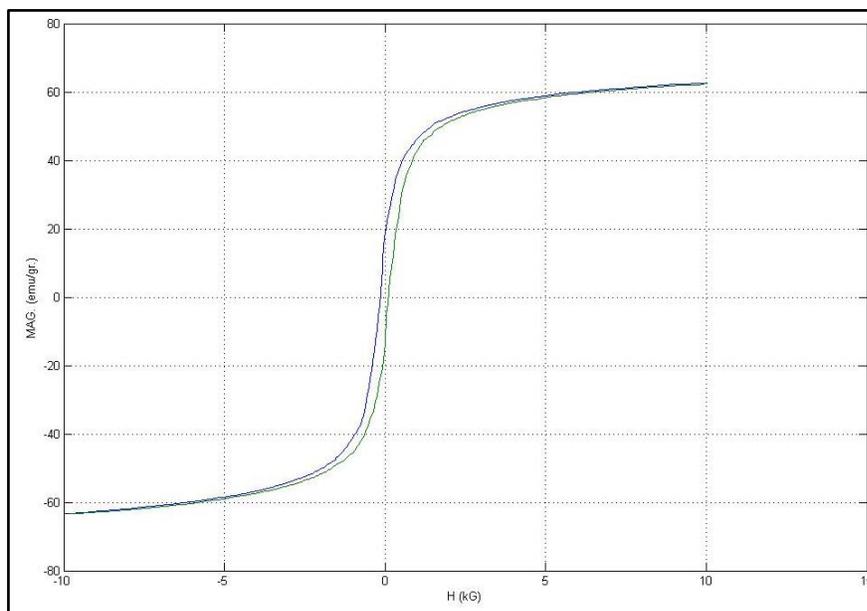
**Tabla N° 10:** Tamaño promedio de partícula y cristal obtenidos por MET Y DRX para las magnetitas sintetizadas.

Magnetita	Tamaño promedio DRX [nm]	Tamaño promedio MET [nm]
pH=7,50	12,9	12,3
pH=9,16	14,3	13,5
pH=9,70	9,2	9,2

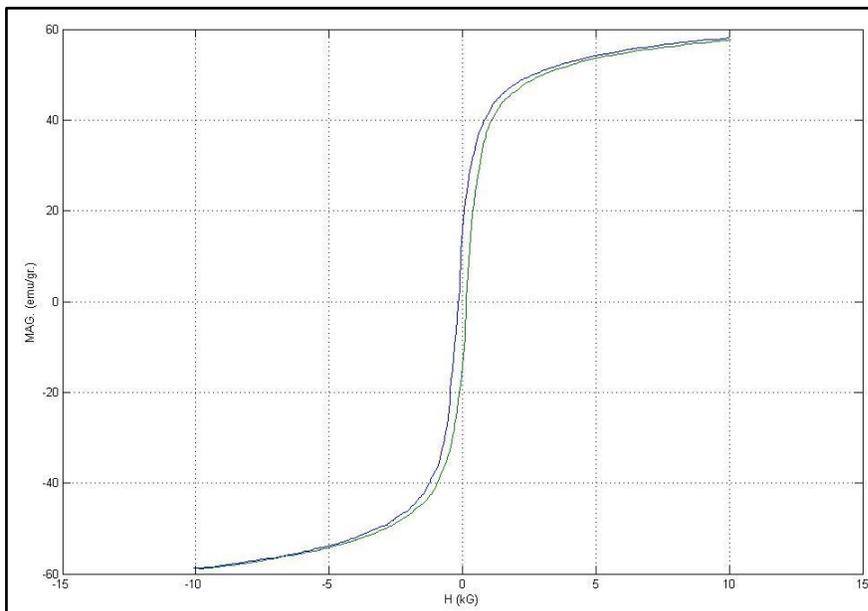
Se evidencia que los resultados obtenidos por MET concuerdan con los arrojados por DRX, comprobando un mismo resultado por dos métodos diferentes.

#### 4.1.4. *Propiedades magnéticas.*

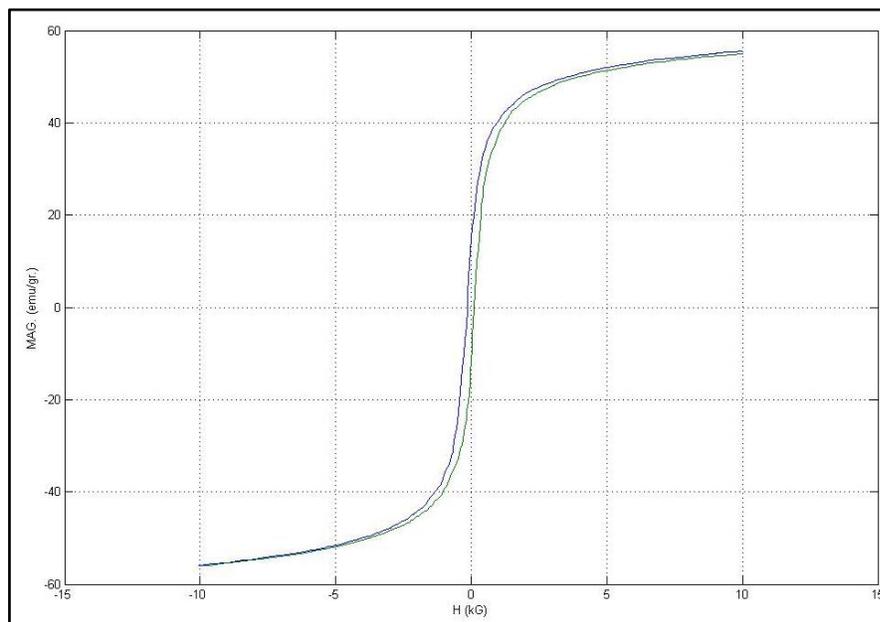
Los materiales ferrimagnéticos sintetizados en el presente proyecto se utilizarán para mejorar la densidad de flujo magnético producida cuando se hace pasar un campo magnético a través del material. Para ello se deben cumplir con ciertas características que se pueden analizar a través de la curva de histéresis magnética de cada uno de los materiales. Es de esperar que posean una magnetización de alta saturación, pequeño campo coercitivo, pequeña remanencia y una rápida respuesta a campos magnéticos. (Askeland y Phulé, 2004). En la Figura N°27 a la 29 se presentan las curvas de histéresis magnéticas obtenidas para cada una de las nanopartículas de magnetita sintetizadas.



**Figura N° 27:** Curva de histéresis magnética obtenida para la magnetita sintetizada de 9,2nm (pH=9,70).



**Figura N° 28:** Curva de histéresis magnética obtenida para la magnetita sintetizada de 12,9nm (pH=7,50).



**Figura N° 29:** Curva de histéresis magnética obtenida para la magnetita sintetizada de 14,3nm (pH=9,16).

Se aprecian en las curvas de histéresis magnéticas que las magnetitas sintetizadas poseen una saturación alta. Además se evidencia que el valor de saturación se puede alcanzar con campos magnéticos de valor reducido, lo que indica

que el material posee una alta permeabilidad magnética y favorece su aplicación en el campo de la hipertermia al no someter al paciente al estrés de grandes campos magnéticos. Asimismo se observan campos coercitivos pequeños que también indican que los dominios magnéticos se pueden reorientar utilizando campos magnéticos reducidos. Se evidencia además una alta magnetización remanente en comparación con la saturación del material. Sin embargo, al poseer un campo coercitivo pequeño, la energía remanente se libera muy rápidamente en el material. Cada una de las magnetitas obtenidas condujo a un ciclo de histéresis pequeño y bastante cerrado, lo que indica que las pérdidas de energía a través del ciclo son mínimas. (Askeland y Phulé, 2004; Hofmann-Antenbrink, Von Rechenberg y Hofmann, H, 2009). En la Tabla N°11 se muestran los valores de las propiedades observadas en el ciclo de histéresis de las magnetitas sintetizadas.

**Tabla N° 11:** Propiedades magnéticas a partir de las curvas de histéresis de las nanopartículas de magnetita sintetizadas.

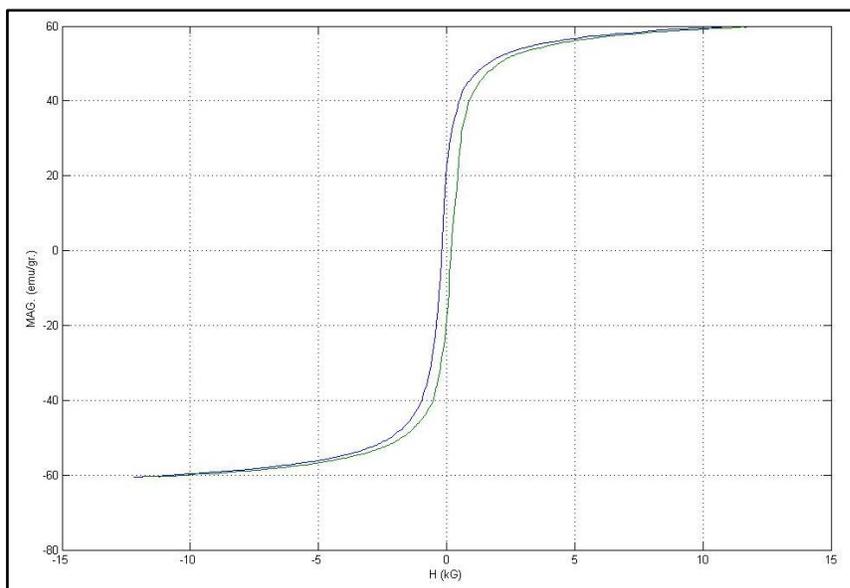
Propiedad	Nanopartículas de Magnetita		
	pH= 9,70 (9,2nm)	pH= 7,50 (12,9nm)	pH= 9,17 (14,3nm)
<b>Magnetización de saturación</b>	63 emu/g	58 emu/g	55 emu/g
<b>Campo coercitivo</b>	170 G	170 G	170 G
<b>Magnetización remanente</b>	20 emu/g	18 emu/g	15 emu/g

Se analiza a través de la comparación de las propiedades medidas la relación existente entre el tamaño de partícula y las propiedades magnéticas del material. Se evidencia que a medida que el tamaño de partícula disminuye aumenta la saturación magnética del material. La misma relación se presenta con la magnetización remanente. Para el campo coercitivo los valores se mantienen constantes e independientes del tamaño de partícula.

Comparando las tres magnetitas sintetizadas, la que presenta mejores propiedades magnéticas es la sintetizada con pH=9,7 priorizando en obtener una mayor magnetización a la hora de aplicar los tratamientos respectivos de hipertermia y liberar la mayor cantidad de energía.

A partir de las caracterizaciones realizadas a las magnetitas se concluye que la que presenta mejores propiedades morfológicas, químicas y magnéticas es la magnetita sintetizada a partir de  $\text{pH}=9,70$ .

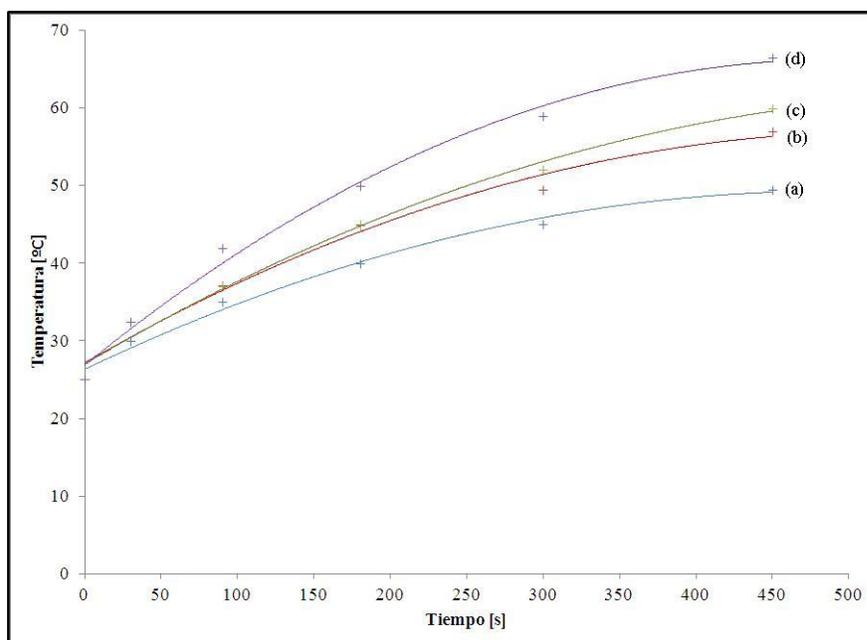
El análisis de histéresis magnética de la magnetita S se presenta en la Figura N°30. Comparando con las magnetitas sintetizadas a diferente pH presenta las mismas características magnéticas y por ende pueden ser utilizadas en el proceso de hipertermia.



**Figura N° 30:** Curva de histéresis magnética obtenida para la Magnetita S.

#### **4.1.5. Hipertermia.**

Para evaluar la capacidad de calentamiento de las nanopartículas de magnetita se diseñó un experimento como se describe en la metodología. Se dispersaron diferentes cantidades de magnetita en tolueno seco utilizando recipientes de teflón para ser sometidos a energía de microondas y estudiar la variación de la temperatura de la solución con el tiempo de exposición a las microondas. En la Figura N°31 se presenta las curvas de calentamiento generado por las nanopartículas de magnetita S generadas a diferentes concentraciones.



**Figura N° 31:** Curvas de calentamiento generadas por las nanopartículas de Magnetita S. (a) Tolueno 100ml. (b) 0,1g Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/100ml Tolueno (c) 0,3g Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/100ml Tolueno (d) 0,5g Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/100ml Tolueno

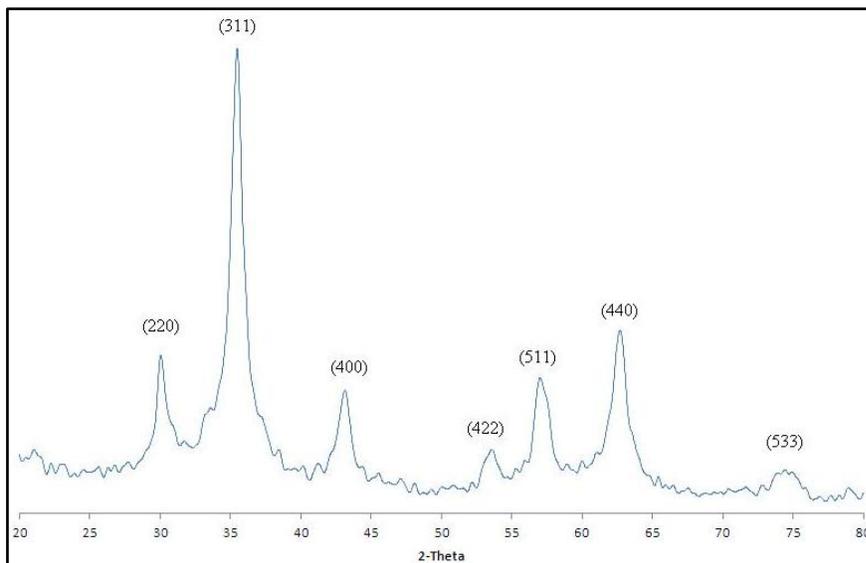
Se observa que la solución de tolueno seco presenta un calentamiento espontáneo al ser sometido a la influencia de las microondas. Sin embargo, al contener nanopartículas de magnetita presenta una mayor elevación de la temperatura a consecuencia de la energía desprendida por las nanopartículas y se evidencia un mayor incremento de la temperatura con el aumento de la concentración de nanopartículas en la solución. Para el tratamiento de hipertermia se necesita alcanzar temperaturas entre 42,5 y 44°C, las cuales se pueden alcanzar a los 150 segundos de exposición con una concentración de 0,1g y 0,3 de magnetita por cada 100ml de tolueno y a los 100 segundos con una concentración de 0,5g. En este sentido las nanopartículas pueden ser empleadas en el tratamiento de hipertermia ya que se alcanzan las temperaturas deseadas.

Cabe destacar que el experimento presenta ciertas limitaciones ya que la radiación de microondas no es constante en el tiempo debido al diseño del equipo. Además al tomar cada una de las medidas de temperatura el tolueno gana cierto grado de humedad la cual puede interferir con los resultados.

## 4.2. Nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ (ferrita de cobalto).

### 4.2.1. DRX.

Como partícula magnética, además de la magnetita, se sintetizaron partículas de ferrita de cobalto. Las cuales una vez obtenidas por la técnica de ultrasonido de alta frecuencia y sometidas a un tratamiento térmico a la temperatura de  $70^\circ\text{C}$  se realizaron los respectivos análisis de DRX y FTIR para comprobar la estructura cristalina e identificar los principales grupos funcionales que se encuentran presentes. En la Figura N°32 se presenta el difractograma de la ferrita de cobalto sintetizada.



**Figura N° 32:** Difractograma de la Ferrita de Cobalto ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ).

Del espectro se corrobora la estructura tipo ferrita del  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  mediante la comparación de los picos de difracción observables con la base de datos de la JCPDS. Además se confirma la fase cristalina tipo espinel de la ferrita de cobalto en virtud de la presencia de fuertes picos de difracción correspondientes a los planos cristalográficos (311), (440) y (220), sistema cúbico con parámetro de red  $a = 8.391 \text{ \AA}$ .

En la Tabla N°12 se muestran los valores de ángulos de difracción de los distintos picos observados, así como las distancias interplanares y planos

cristalográficos asociados. Además se presenta, para fines comparativos, la carta de difracción de la base de datos de la JCPDS N° 22-1086, correspondiente al  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ .

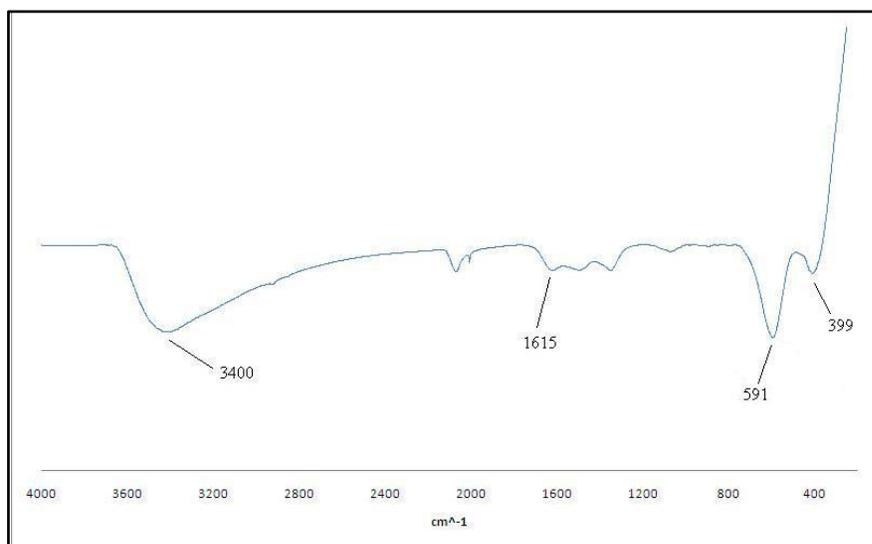
**Tabla N° 12:** Lista de picos de observados en el difractograma de la ferrita de cobalto sintetizada.

Distancia Interplanar d [Å]		Índices de Miller
Medido	JCPDS N° 22-1086	JCPDS N° 22-1086
2,9732	2,9680	220
2,5272	2,5310	311
2,0950	2,0990	400
1,7119	1,7130	422
1,6168	1,6150	511
1,4809	1,4830	440
1,2750	1,2798	533

Y por último, a partir de la ecuación de Scherrer (Ecuación V) se obtuvo que el tamaño de cristal promedio es de 9nm.

#### 4.2.2. FTIR.

Conjuntamente al análisis de DRX, las nanopartículas de ferrita de cobalto fueron caracterizadas por FTIR. En la figura N°33 se presenta el espectro de infrarrojo obtenido para el  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  sintetizado.



**Figura N° 33:** Espectro de infrarrojo para la Ferrita de Cobalto ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ).

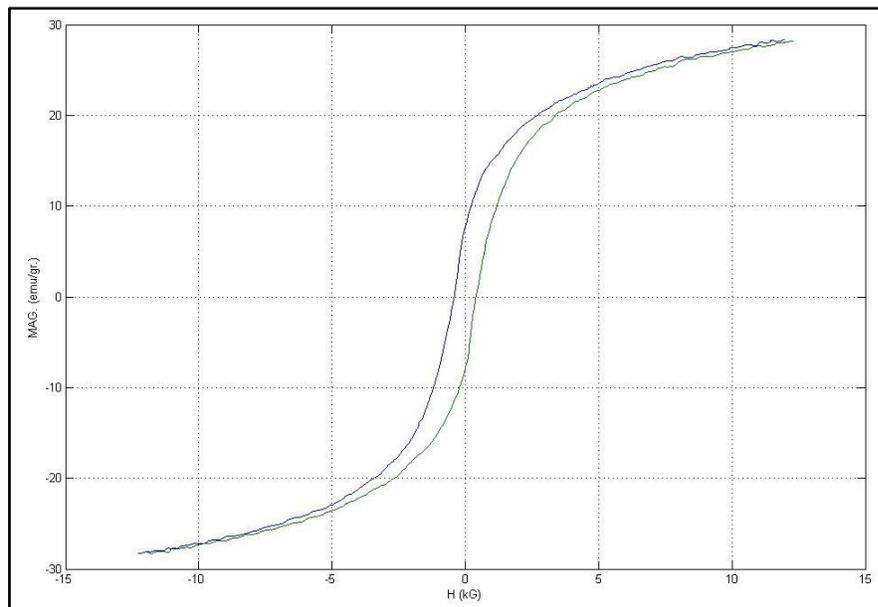
Para el espectro de la nanopartícula sintetizada, el pico característico de la ferrita de cobalto a  $575$  y  $374\text{cm}^{-1}$  puede ser apreciado, el cual es asignado al grupo Metal-O (Waldron, 1955). Se observa un corrimiento de ambos picos hasta una frecuencia de  $591$  y  $399\text{cm}^{-1}$  respectivamente. Este desplazamiento puede ser ocasionado debido a un cambio en la estequiometría del compuesto. La ferrita de cobalto estequiométrica posee un ión  $\text{Co}^{+2}$  y dos iones  $\text{Fe}^{+3}$  pero, como ocurre con la mayor parte de las síntesis de ferritas mixtas, al estar presentes una gran cantidad de sitios octaédricos es difícil hacer que únicamente los iones  $\text{Co}^{+2}$  ocupen dichos sitios. Es por esto que en ocasiones iones  $\text{Fe}^{+2}$  ocupan sitios octaédricos dentro del cristal, además de los ya ocupados por los iones  $\text{Co}^{+2}$ , obteniendo una estequiometría  $\text{Co}_a^{+2}\text{Fe}_b^{+2}\text{Fe}_2^{+3}\text{O}_4^{-2}$ , y esta característica es la que puede estar ocasionando el corrimiento en el pico de absorción de la ferrita. Sin embargo, el patrón de absorción de infrarrojo presenta las bandas características entre la región de  $300$  a  $700\text{cm}^{-1}$  asignadas a las vibraciones fundamentales de los iones de la red cristalina (Waldron, 1955).

#### 4.2.3. *Propiedades magnéticas.*

Para conocer las características magnéticas de la ferrita de cobalto se realiza la curva de histéresis magnética. En la Figura N°34 se presenta la curva de histéresis magnética obtenida para las nanopartículas de ferrita de cobalto sintetizadas.

Se aprecia en la curva de histéresis magnética que las nanopartículas de cobalto poseen menor saturación magnética comparada con la magnetita. Esto se debe a que ambas ferritas tienen momentos magnéticos diferentes. El momento magnético total de una celda de magnetita equivale a cuatro magnetores de Bohr, que es el momento magnético del ión  $\text{Fe}^{+2}$  que es el único que contribuye a reforzar el campo. En cambio, para el caso de la ferrita de cobalto el ión que contribuye a reforzar el campo es el  $\text{Co}^{+2}$ , que posee un momento magnético de tres magnetores de Bohr. Por esta razón la ferrita de cobalto presenta una menor saturación magnética y un ciclo de histéresis más pequeño (Askeland y Phulé, 2004). Aún sin haber obtenido

una ferrita estequiométrica, el momento magnético será menor al de la magnetita debido a la mezcla de iones  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Co}^{+2}$ . La ferrita de cobalto presenta un comportamiento magnético de tipo ferromagnético, ya que el ciclo de histéresis no es cerrado y presenta una alta remanencia y coercitividad, ya que no se alcanzó el tamaño de cristal crítico y existen sitios con multidominios magnéticos (Khorrami et al.; 2010).



**Figura N° 34:** Curva de histéresis magnética obtenida para la ferrita de cobalto sintetizada.

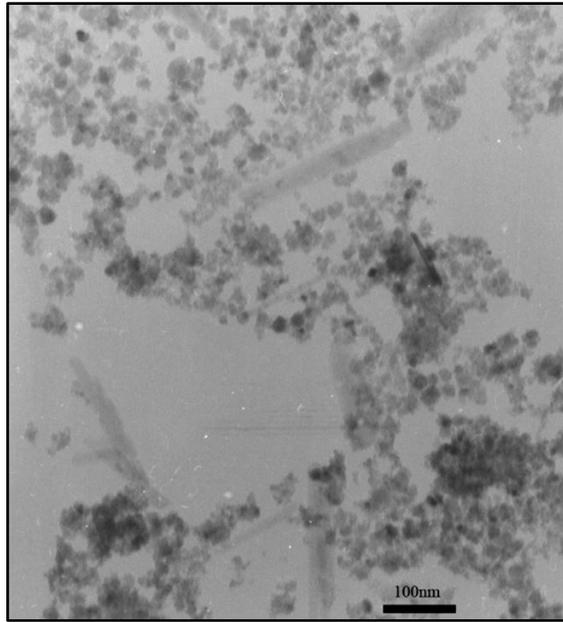
En la Tabla N°13 se presentan los valores de coercitividad, magnetización y remanencia para las nanopartículas de ferrita de cobalto.

**Tabla N° 13:** Propiedades magnéticas a partir de la curva de histéresis de la nanopartícula de ferrita de cobalto sintetizadas.

Propiedad	Ferrita de Cobalto
<b>Magnetización de saturación</b>	28 emu/g
<b>Campo coercitivo</b>	500 G
<b>Magnetización remanente</b>	8 emu/g

#### 4.2.4. MET.

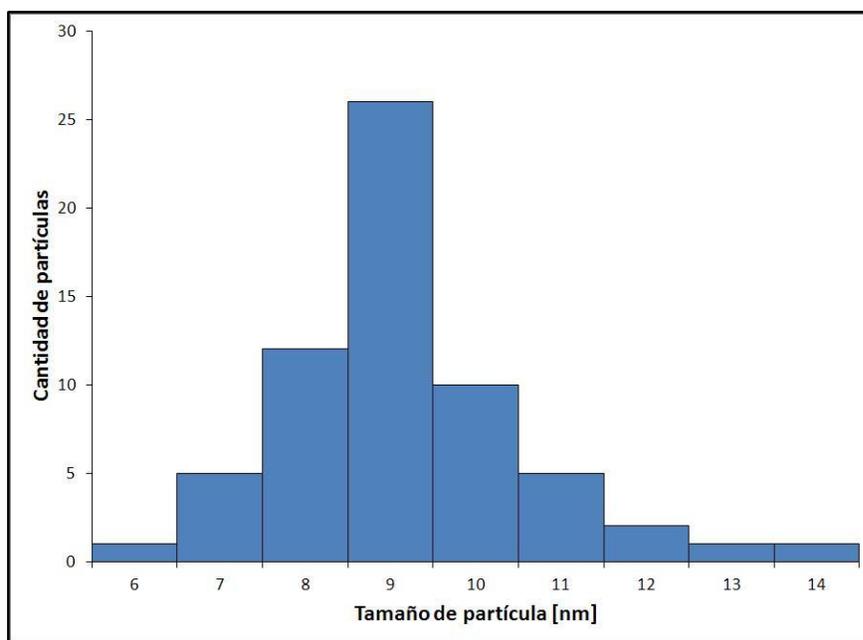
Para analizar la distribución y morfología de las nanopartículas de ferrita de cobalto sintetizadas se empleó la técnica de microscopía electrónica de transmisión. En la Figura N°35 se presenta la micrografía obtenida de las nanopartículas.



**Figura N° 35:** MET de las nanopartículas de Ferrita de Cobalto sintetizadas.

Se observan partículas cuasiesféricas de ferrita de cobalto. La distribución de tamaño de partícula se determinó midiendo los diámetros de sesenta nanopartículas seleccionadas al azar de cada una de las respectivas micrografías. En la Figura N°36 se muestra la distribución de tamaño de partícula obtenida para la ferrita de cobalto sintetizada.

Se evidencia una distribución estrecha de tamaño de partícula para la ferrita de cobalto sintetizada, lo que indica que el tamaño es homogéneo en la muestra con una predominancia de tamaño de partícula de 9nm. Comparando con el tamaño de cristal obtenido por DRX se evidencia que los resultados obtenidos por MET concuerdan con los arrojados por el método antes mencionado, comprobando un mismo resultado por dos técnicas diferentes.



**Figura N° 36:** Distribución de tamaño de partícula de la ferrita de cobalto sintetizada.

El nanocompuesto laminar fue obtenido para esta nanopartícula. Sin embargo, los resultados respectivos de MET no han sido obtenidos para la fecha de entrega de este trabajo debido a problemas en el funcionamiento de los diferentes equipos.

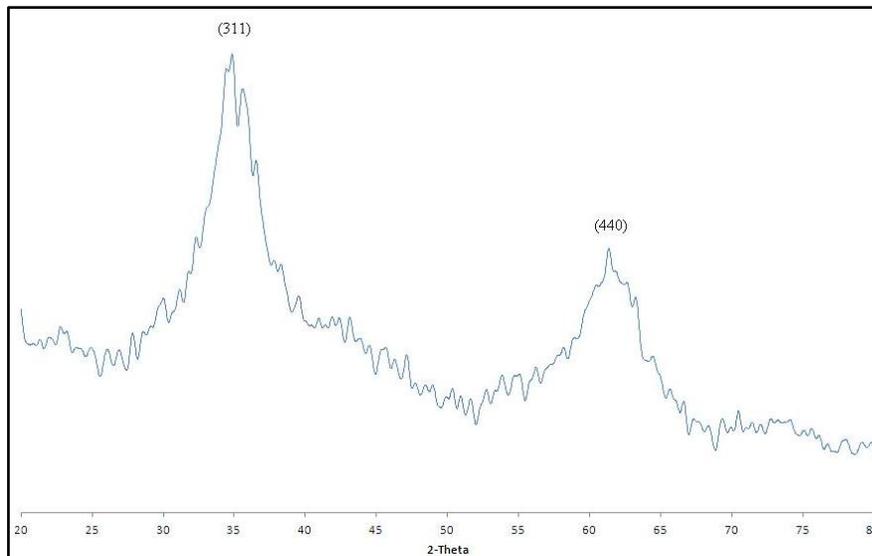
### ***4.3. Nanopartículas de $NiFe_2O_4$ (ferrita de níquel).***

#### ***4.3.1. DRX.***

Como partícula magnética, además de las anteriores mencionadas, se obtuvo ferrita de níquel. Primeramente se realizó un ensayo sintetizando la partícula con asistencia de ultrasonido de alta frecuencia y luego se dejó en tratamiento térmico a 70°C. Posteriormente se obtuvo el patrón (Figura N°37) de difracción de rayos X para comprobar la estructura cristalina del producto de reacción.

Se observa en el difractograma que los picos son extremadamente ensanchados, debido a un tamaño muy pequeño de cristalito (1,9nm) calculado por la ecuación de Scherer (Ecuación V). Sin embargo se pueden apreciar las reflexiones correspondientes a la estructura típica de espinel de la ferrita. Se evidencian dos

picos importantes correspondientes a los picos cristalográficos (311) y (440), registrado en la base de datos JCPDS N°19-629. Sin embargo, se puede inferir la presencia de otros picos debido a bandas anchas que se forman en la base de los picos más definidos, correspondientes a los planos cristalográficos (220) y (400) a  $31^\circ$  y  $43^\circ$  aproximadamente.

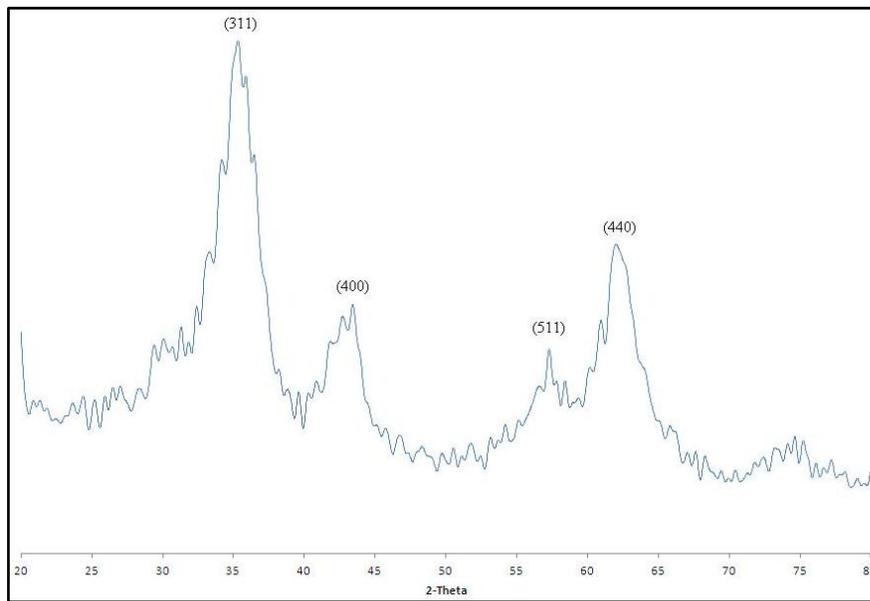


**Figura N° 37:** Diffractograma de la Ferrita de Níquel (70°C por 24h).

Para obtener un cristal mejor definido se procedió a realizar un tratamiento térmico a mayor temperatura. El nuevo tratamiento térmico se llevó a cabo a  $270^\circ\text{C}$  por 24 horas y se obtuvo el diffractograma que se muestra en la Figura N°38.

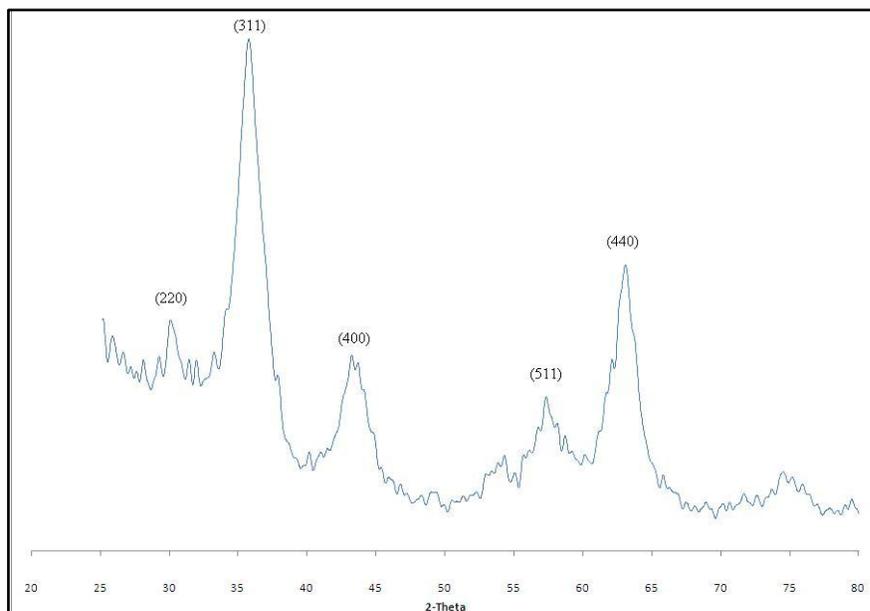
Se puede observar un patrón de difracción mucho más definido debido al aumento del tamaño del cristal, el cual se estimó en 2,5 nm por la ecuación de Scherer (Ecuación V). Se visualiza con facilidad los picos cristalográficos correspondientes a los planos (400) y (511), que se verifican en la base de datos JCPDS y corresponden a los datos de la ferrita de níquel.

También se procedió a un último tratamiento térmico llevado a cabo a  $300^\circ\text{C}$  por 24 horas como se aprecia en la Figura N°39.



**Figura N° 38:** Difractograma de la Ferrita de Níquel (270°C por 24h).

Con el tratamiento a 300°C se aprecia un patrón de difracción con reflexiones más definidas, debido a un incremento en el tamaño de cristal, cuya dimensión promedio alcanzó los 3,6 nm estimado por la ecuación de Scherer (Ecuación V). Se puede evidenciar que se obtuvo la estructura cristalina típica de espinel también con este último tratamiento térmico.



**Figura N° 39:** Difractograma de la Ferrita de Níquel (300°C por 24h).

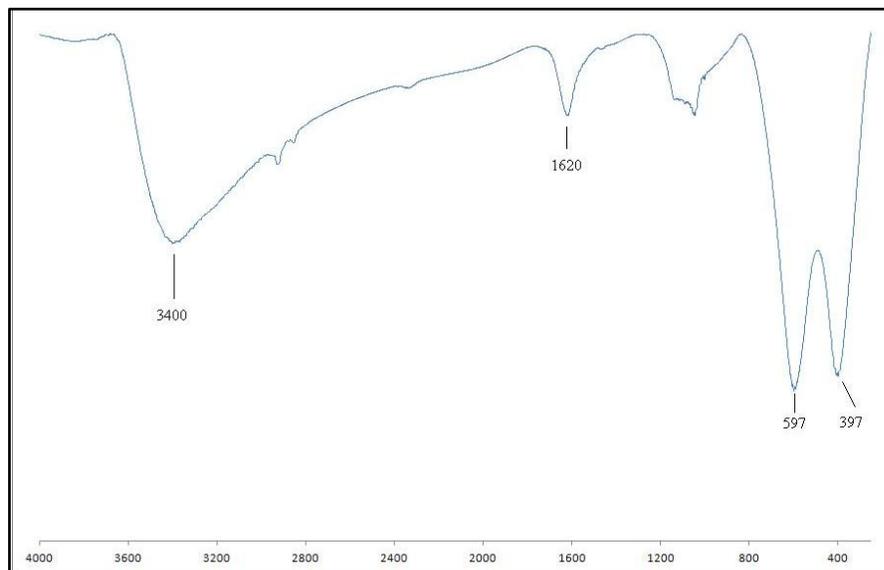
En la Tabla N°14 se muestran los valores de ángulos de difracción de los distintos picos observados, así como las distancias interplanares y planos cristalográficos asociados. Además se presenta, para fines comparativos, la carta de difracción de la base de datos de la JCPDS N° 19-629, correspondiente al  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ , sistema cúbico con parámetro de red  $a= 8.339\text{Å}$ .

**Tabla N° 14:** Lista de picos de observados en el difractograma de la ferrita de níquel sintetizada ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ).

Distancia Interplanar d [Å]			Índices de Miller	
Medido			JCPDS	JCPDS
70°C	270°C	300°C	N° 19-629	N° 19-629
-	-	2,9688	2,9480	220
2,5685	2,5451	2,5041	2,5130	311
-	2,0768	2,0898	2,0850	400
-	1,6051	1,6049	1,6051	511
1,4795	1,4986	1,4736	1,4760	440

### 4.3.2. FTIR.

Además de DRX, las nanopartículas de ferrita de níquel fueron caracterizadas por FTIR. En la Figura N°40 se presenta el espectro de infrarrojo obtenido para el  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  sintetizado con tratamiento térmico a 300°C.



**Figura N° 40:** Espectro de infrarrojo de la Ferrita de Níquel ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ).

Para el espectro de la nanopartícula sintetizada, los picos característicos de la ferrita de níquel se encuentran a una frecuencia de 587 y 396  $\text{cm}^{-1}$  (Waldron, 1955). Se evidencia un corrimiento del primer pico hasta una frecuencia de 597  $\text{cm}^{-1}$ . Este desplazamiento puede ser ocasionado debido a un cambio en la estequiometría del compuesto al igual como ocurre con la ferrita de cobalto, obteniendo una estequiometría  $\text{Ni}_a^{+2}\text{Fe}_b^{+2}\text{Fe}_2^{+3}\text{O}_4^{-2}$ , y esta característica es la que puede estar ocasionando el corrimiento en el pico de absorción de la ferrita. Sin embargo, el patrón de absorción de infrarrojo presenta las bandas características entre la región de 300 a 700  $\text{cm}^{-1}$  asignadas a las vibraciones fundamentales de los iones de la red cristalina (Waldron, 1955).

El nanocompuesto laminar fue obtenido para esta nanopartícula. Sin embargo, los resultados respectivos de MET y Magnetización no han sido obtenidos para la fecha de entrega de este trabajo debido a problemas en el funcionamiento de los diferentes equipos.

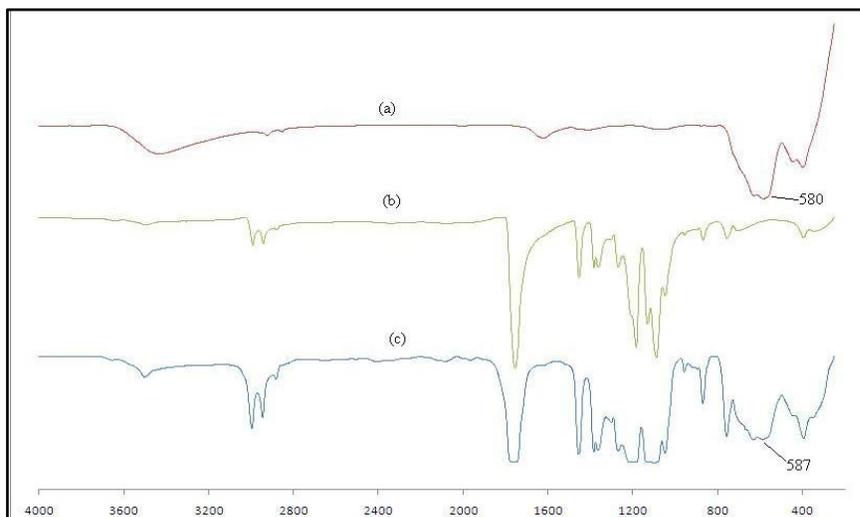
#### ***4.4. Materiales compuestos laminares PLLA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .***

Además de la obtención de las nanopartículas, en el presente trabajo se prepararon materiales compuestos PLLA-ferrita para su aplicación en hipertermia. En este sentido se obtuvieron materiales compuestos laminares PLLA-magnetita y se analizaron por las técnicas de FTIR, MET, propiedades magnéticas e hipertermia.

##### ***4.5.1. FTIR.***

Debido a la sensibilidad de esta técnica es posible comprobar si se sintetizó el material esperado determinando en cada uno de los espectros realizados a las muestras si poseen las bandas características del PLLA y si se observan desplazamientos que ocurren cuando el polímero interacciona con la fase metálica. En la Figura N°41 se presenta el espectro de infrarrojo obtenido para el nanocompuesto laminar PLLA-Magnetita pH=9,17 con una concentración de 22,5%

en peso. Se evidencia un pequeño desplazamiento de la banda característica de la magnetita desde  $581\text{cm}^{-1}$  hasta  $587\text{cm}^{-1}$  lo cual indica que existe una ligera interacción entre la matriz polimérica y la nanopartícula de magnetita.

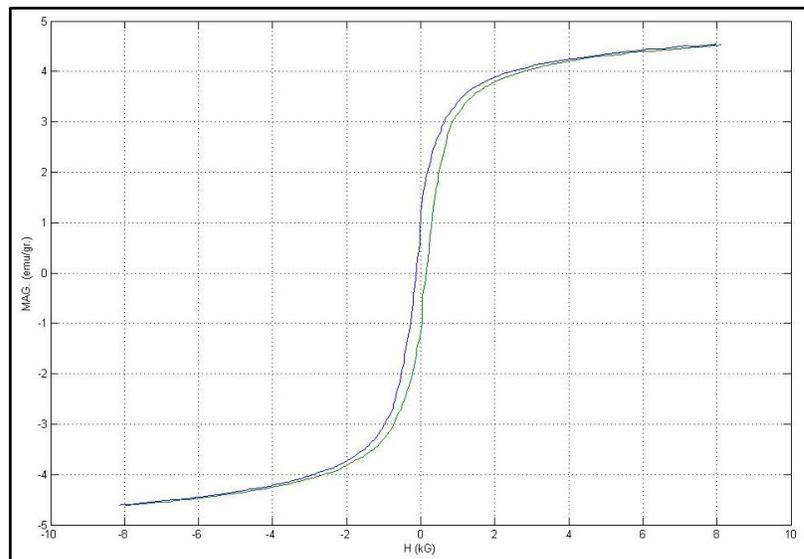


**Figura N° 41:** Espectro de FTIR del material compuesto laminar PLLA-Magnetita. (a) Magnetita pH=9,17. (b) PLLA. (c) PLLA-Magnetita pH=9,17 con 22,5% en peso.

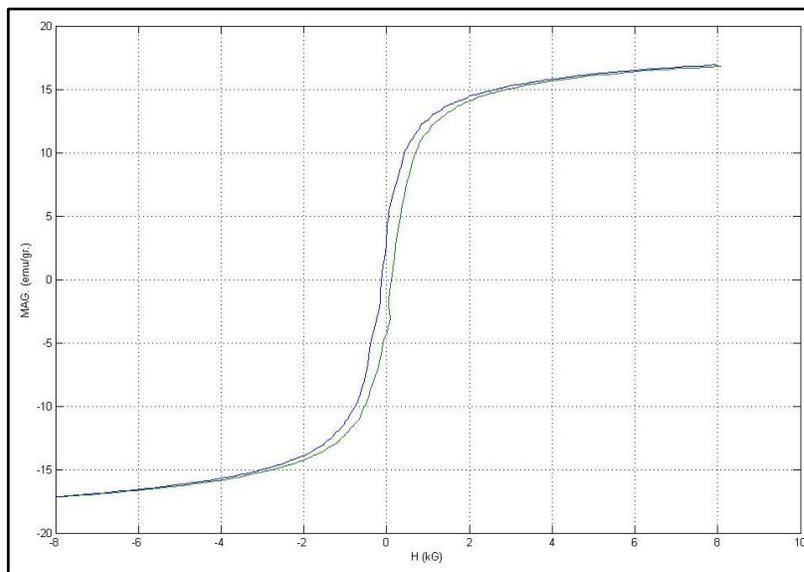
#### 4.5.2. *Propiedades magnéticas.*

A partir del análisis de la curva de histéresis de los compuestos laminares se puede evidenciar el efecto de la matriz polimérica sobre las características magnéticas de las nanopartículas. En la Figura N°42 y 43 se presentan las curvas de histéresis magnética de los compuestos laminares PLLA-Magnetita.

En este sentido se aprecia que la saturación magnética del material se ve reducida por efecto del polímero. Este genera un efecto de pantalla que atenúa la propiedad magnética de la magnetita. El promedio de saturación magnética del polvo de las magnetitas sintetizadas es  $60,0\text{emu/g}$  y este se ve reducido cuando las partículas están embebidas en el PLLA, hasta  $17,0\text{emu/g}$  para el caso de 30% de concentración y  $4,5\text{emu/g}$  para el caso de 15%. Además se observa que al disminuir la concentración de nanopartículas disminuye la saturación magnética.



**Figura N° 42:** Curva de histéresis magnéticas del compuestos laminar PLLA-Magnetita 15% en peso.



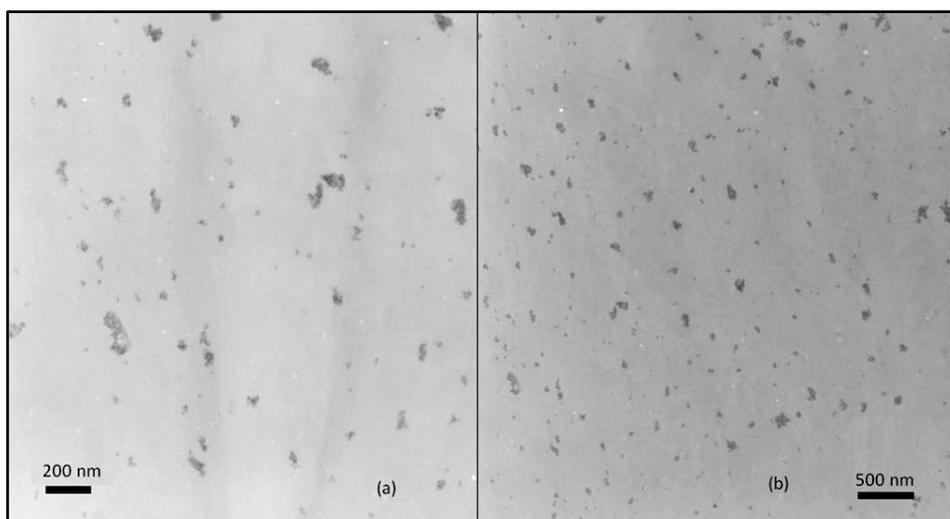
**Figura N° 43:** Curva de histéresis magnéticas del compuestos laminar PLLA-Magnetita 30% en peso.

A partir de estos resultados es una opción viable el uso de láminas PLLA-Magnetita en lugar de las nanopartículas sin recubrir para alcanzar la temperatura deseada en el proceso de hipertermia, debido a que se puede lograr un calentamiento homogéneo del tumor y además controlar la temperatura aplicada a partir de la concentración de las nanopartículas.

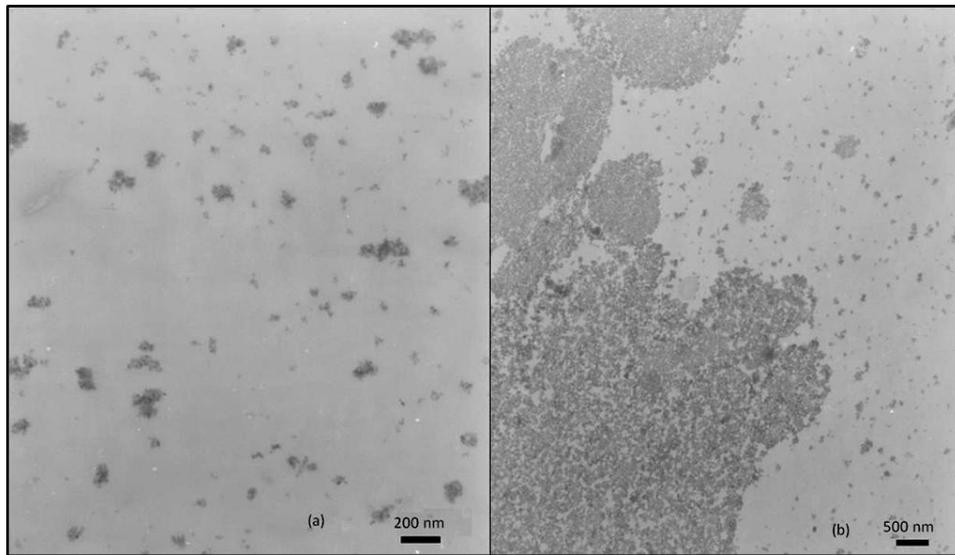
### 4.5.3. MET.

Para analizar la distribución de las partículas de magnetita sobre el PLLA en los nanocompuestos laminares se empleó la técnica de microscopía electrónica de transmisión. En las Figuras 44 a la 46 se presentan las micrografías obtenidas para los nanocompuestos laminares cargados con magnetita sintetizada a partir de  $\text{pH}=9,7$  para las cargas de 15% en peso, 22,50% en peso y 30% en peso respectivamente.

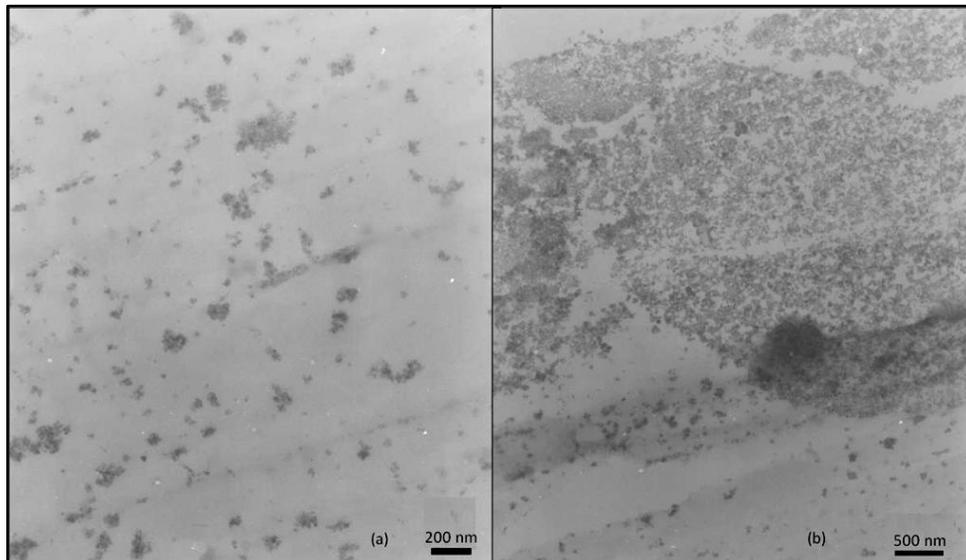
En la micrografía del nanocompuesto laminar con 15% de concentración se aprecia que el material magnético se encuentra disperso a través de toda la matriz polimérica sin presencia de aglomeraciones. Por el contrario, para las concentraciones de 22,5 y 30% se observan zonas donde las nanopartículas no están distribuidas uniformemente. El aumento en la concentración genera un aumento en la aglomeración de las nanopartículas de magnetita sobre la lámina del PLLA, creando zonas donde la distribución no es uniforme. Sin embargo, a bajas concentraciones se obtiene una dispersión homogénea del material. Esto influye en el tratamiento de hipertermia ya que se requiere que toda la lámina se caliente uniformemente a la misma temperatura y la presencia de aglomerados genera puntos calientes.



**Figura N° 44:** MET del nanocompuesto laminar PLLA/Magnetita  $\text{pH}=9,7$  (15,0% en peso) (a): bar= 200nm; (b): bar= 500nm.



**Figura N° 45:** MET del nanocompuesto laminar PLLA/Magnetita pH=9,7 (22,5% en peso) (a): bar= 200nm; (b): bar= 500nm.



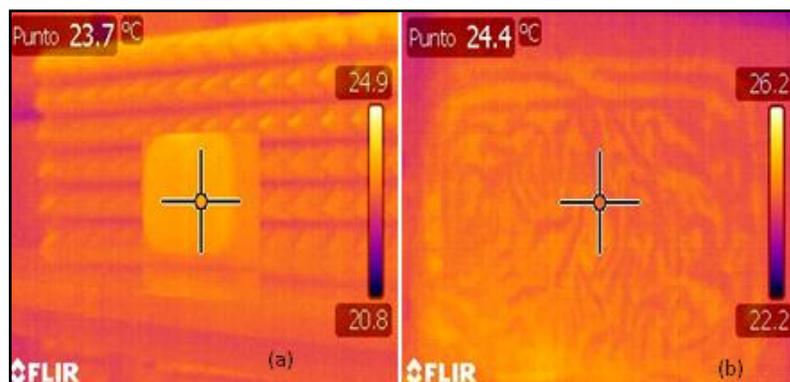
**Figura N° 46:** MET del nanocompuesto laminar PLLA/Magnetita pH=9,7 (30,0% en peso) (a): bar= 200nm; (b): bar= 500nm.

#### ***4.5.4. Hipertermia.***

Para caracterizar el incremento de la temperatura de los nanocompuestos laminares PLLA -“Magnetita S” se prepararon láminas de 20x15cm de área con concentraciones de nanopartículas de 15%, 22,5% y 30% y un blanco de PLLA sin

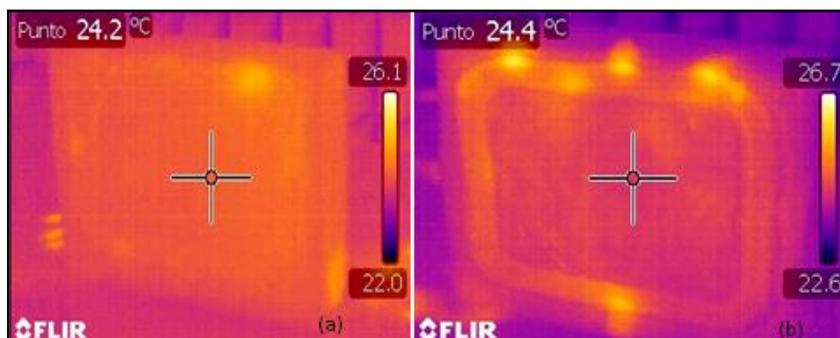
carga de nanopartículas. Se utilizó la muestra con mayor concentración bajo la premisa de que habrá mayor absorción electromagnética en las frecuencias donde hubiese.

Antes de irradiar las muestras se sometió a ensayo el polímetro base de las partículas, para descartar que el posible calentamiento no se deba a la matriz polimérica sino propiamente al material nanoestructurado. Los resultados se muestran en la Figura N°47.



**Figura N° 47:** Ensayo de hipertermia de la lámina de PLLA sin carga de nanopartículas. (a) Antes de irradiar. (b) Después de irradiar.

Se observa que el polímero base no absorbe energía electromagnética. De modo pues, que cualquier elevación de temperatura percibida durante el ensayo a las muestras indicadas sería consecuencia de la absorción de microondas por el material nanoestructurado. En la Figura N°48 se muestran los resultados obtenidos con la muestra de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  con 30% de concentración para una irradiación de 6GHz.



**Figura N° 48:** Ensayo de hipertermia de la lámina de PLLA-Magnetita 30% con una irradiación de 6GHz. (a) Antes de irradiar. (b) Después de irradiar.

No se evidencia un cambio de temperatura sobre la superficie del compuesto y se puede concluir que no ocurre absorción considerable de energía electromagnética debido a que es muy poca la densidad de potencia disponible en la superficie de la muestra, la cual está en el orden de  $1\text{W}/\text{m}^2$ , ó el material nanoestructurado no absorbe energía electromagnética en este rango. Debido a esto no se continuó el estudio para las demás láminas de menor concentración. Sin embargo, el efecto de calentamiento es proporcionado por las nanopartículas de magnetita y se comprobó que estas sí generan calor.

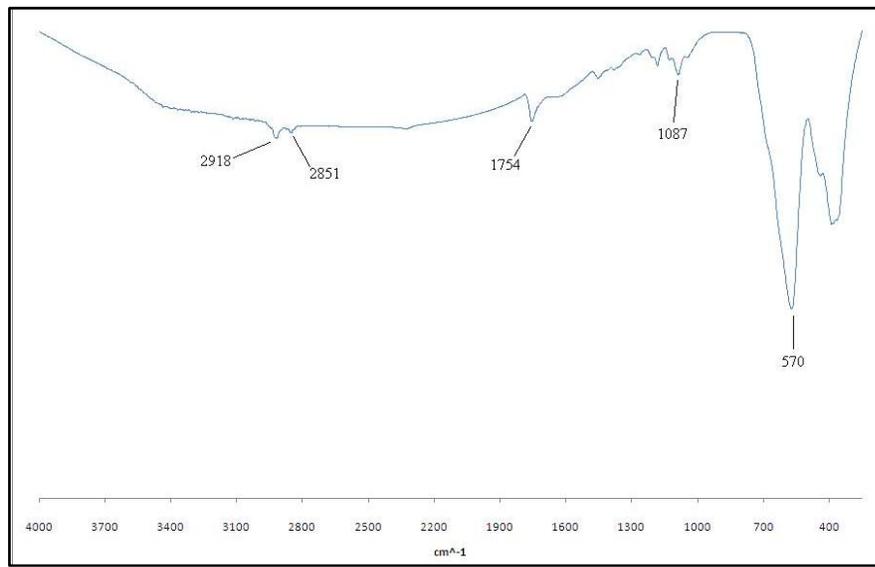
#### ***4.5. Materiales compuestos encapsulados PLLA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .***

Como objetivo en el presente trabajo no solo se tiene la obtención de materiales compuestos laminares, sino además, materiales compuestos encapsulados PLLA-magnetita. Para ello se realizaron dos procedimientos de obtención de los nanocompuestos.

En el método de emulsión aceite/agua el rendimiento fue bastante bajo y parte de la muestra de polímero quedó adherida en las paredes de los tubos de centrífuga, perdiendo la mayor parte de la solución aceite. El proceso de recuperación de los nanocompuestos fue deficiente y no se pudo obtener el material deseado.

Siguiendo el segundo procedimiento se obtuvo una mejora significativa en el rendimiento de la preparación de los nanocompuestos, evitando el uso del PVA y del riguroso proceso de recuperación de los nanocompuestos, los cuales fueron analizados por FTIR y MET.

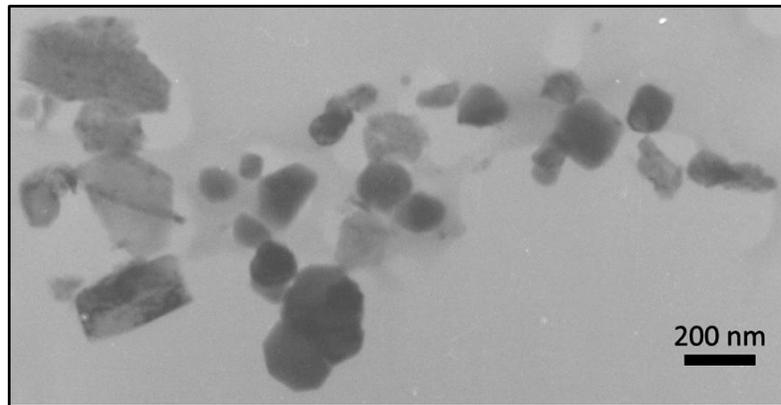
En primer lugar se realizó el análisis de FTIR para verificar la presencia del polímero en la nanopartícula de magnetita. En la Figura N°49 se presenta el espectro de infrarrojo obtenido.



**Figura N° 49:** Espectro de FTIR del material compuesto encapsulado PLLA-Magnetita.

Se observa la presencia de polímero alrededor de la nanopartícula de magnetita debido a la vibración de los enlaces característicos del PLLA y la magnetita, obteniendo así una interacción polímero-ferrita. Entre las bandas de absorción más importantes se encuentran las asociadas a la vibración de los enlaces C-H ubicadas en los números de onda 2918 y 2851  $\text{cm}^{-1}$ , en las cuales se evidencia un corrimiento significativo referente al patrón de polímero. El pico observado a 1754  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la vibración del grupo carbonilo (C=O) de la fracción éster del polímero. Asimismo se tiene una banda a 1087  $\text{cm}^{-1}$  asignada a la tensión asimétrica entre los enlaces C-O-C y, finalmente otra a 570  $\text{cm}^{-1}$  la cual corresponde a la vibración del grupo Fe-O.

Para corroborar la presencia del PLLA alrededor de la magnetita y la morfología de las nanopartículas se empleó la técnica de microscopía electrónica de transmisión. En la Figura N°50 se presenta la micrografía obtenida para el nanocompuesto encapsulado PLLA/  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

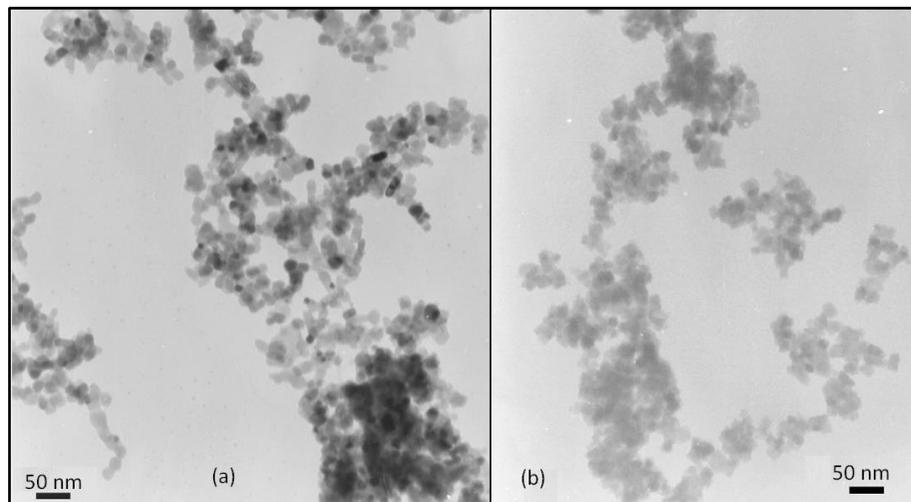


**Figura N° 50:** Micrografía del nanocompuesto encapsulado PLLA-Magnetita.

En la micrografía se observa la presencia de material recubierto por el polímero, el cual ha incrementado el tamaño de las partículas. El compuesto presenta una morfología no uniforme y no se obtuvo el recubrimiento como cápsulas esféricas. Esto se debe posiblemente a la técnica que se utilizó para separar las nanopartículas de la solución. Al utilizar un magneto y precipitar bruscamente las partículas suspendidas se puede incurrir en un cambio en la morfología al aglomerar muchas partículas. Sin embargo, alrededor de la magnetita se exhibe una capa de polímero indicando que si existe un recubrimiento.

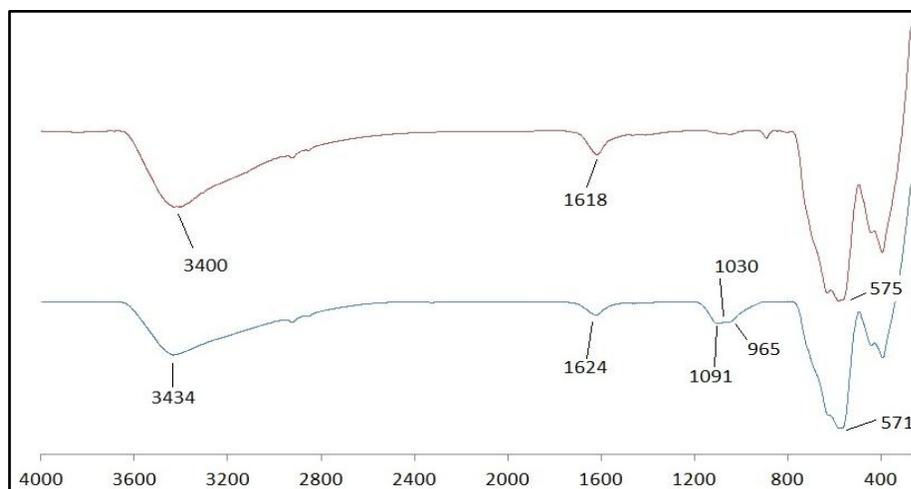
#### ***4.6. Recubrimiento de Magnetita con Hidroxiapatita.***

Otro de los materiales obtenidos son las nanopartículas de magnetita recubiertas con hidroxiapatita. Con el fin de obtener un compuesto más biocompatible con el hueso humano se procedió a recubrir las partículas magnéticas con este fosfato de calcio y así tratar tumores cancerígenos en la zona ósea, utilizando para ello el método biomimético como se explica en la metodología. Las nanopartículas obtenidas fueron analizadas por la técnica de microscopía electrónica de transmisión para así visualizar la distribución de las partículas y el cambio en la morfología de las mismas a causa de la formación de la hidroxiapatita. En la Figura N°51 se presenta la micrografía obtenida para el compuesto obtenido Magnetita S-HAp.



**Figura N° 51:** (a) Micrografía de la Magnetita S sin recubrir. (b) Micrografía del nanocompuesto recubierto Magnetita S-Hidroxiapatita a partir de 1,5SBF.

No se evidencia un cambio significativo en la superficie de las nanopartículas después del recubrimiento. La resolución de la técnica no permite apreciar la formación de una capa fina de fosfato de calcio alrededor de la magnetita. Sin embargo, para analizar las nanopartículas con mayor detalle y verificar la presencia de algún recubrimiento se realizó un análisis por infrarrojo. En la Figura N°52 se muestra el espectro de infrarrojo obtenido para el compuesto sintetizado.



**Figura N° 52:** (a) Espectro FTIR de la magnetita S. (b) Espectro FTIR nanocompuesto recubierto Magnetita S-Hidroxiapatita a partir de 1,5SBF.

Las bandas de absorción presentes alrededor de 1400 y 1600 corresponden al agua absorbida por la muestra. Se puede apreciar además las bandas correspondientes a la vibración de los grupos fosfato. El pico a  $1099\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración de tensión del enlace P-O, el cual presenta un sitio adicional a  $1033\text{ cm}^{-1}$ . Por su parte, el pico a  $962\text{ cm}^{-1}$  se asigna al modo de tensión simétrica del enlace P-O en los grupos fosfato con lo cual se puede evidenciar la formación de una fina capa de hidroxiapatita alrededor de la magnetita. La vibración correspondiente a los grupos hidroxilo presente en la hidroxiapatita en la banda de  $3567\text{ cm}^{-1}$  no se evidencia en el espectro debido a su poca intensidad y su solapamiento con la banda de absorción del agua. Otras bandas correspondientes a la vibración del enlace O-P-O en 635, 604 y  $565\text{ cm}^{-1}$  no se evidencian debido a la intensidad del pico correspondiente al enlace Fe-O de la magnetita en  $570\text{ cm}^{-1}$  (Koutsopoulos, 2002). Debido a que el análisis no es totalmente concluyente no se realizaron los compuestos PLLA-  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -HAp ya que se obtendrían los mismos resultados que para los compuestos laminares PLLA-Magnetita.

---

## CONCLUSIONES

En las siguientes líneas se presentan las conclusiones más importantes alcanzadas en la investigación:

1. Se obtuvieron partículas nanométricas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  mediante la técnica de ultrasonido de alta frecuencia.
2. El aumento del pH del medio de reacción en las síntesis de las magnetitas, entre un pH de 7,50 y 9,16, genera un incremento del tamaño de cristal de la ferrita.
3. El aumento del pH del medio de reacción de las magnetitas sintetizadas a partir de 9,16 genera una disminución del tamaño de partícula.
4. La disminución del tamaño de cristal de la magnetita generó un incremento de la saturación magnética del material y la magnetización remanente.
5. El campo coercitivo de las nanopartículas de magnetita fue un parámetro independiente del tamaño de cristal.
6. Las nanopartículas de magnetita generan calor al ser sometidas a radiación de microondas a una potencia de 500W, comprobando su utilidad en el campo de la hipertermia.
7. Se obtuvieron partículas nanométricas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  no estequiométricas, a partir de la técnica de ultrasonido de alta frecuencia.
8. Las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  presentaron un comportamiento ferrimagnético.
9. Las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  exhibieron una saturación magnética menor que la magnetita.
10. Se obtuvieron nanopartículas de ferrita de cobalto con una estrecha distribución de tamaño.

11. Un incremento de la carga de nanopartículas de magnetita sobre los nanocompuestos laminares con PLLA genera un aumento de la aglomeración del material sobre la matriz polimérica.
12. Un incremento de la carga de nanopartículas de magnetita sobre los nanocompuestos laminares con PLLA genera un incremento sobre la saturación magnética del material.
13. No se evidencia un cambio de temperatura sobre la superficie del compuesto laminar PLLA-Magnetita a partir del método de caracterización empleado.
14. La técnica de encapsulado por emulsión aceite/agua no generó nanocompuestos encapsulados PLLA/magnetita debido a deficiencias en el proceso de recolección de los nanocompuestos.
15. Se obtuvieron nanocompuestos encapsulados PLLA/magnetita sin emplear el método aceite/agua y evitando el empleo de PVA, lo que dificultaba la separación de los compuestos.
16. Se infiere que existe un recubrimiento de las nanopartículas de magnetita con una fina capa de hidroxiapatita, aunque el análisis no es concluyente.

## RECOMENDACIONES

A continuación se presentan las recomendaciones más importantes a ser consideradas en próximos trabajos:

- Optimizar el proceso de separación de los nanocompuestos encapsulados en el método por emulsión aceite/agua, para analizar el efecto de la técnica sobre la morfología de las nanopartículas y la eficiencia de encapsulación.
- Realizar análisis de degradación hidrolítica sobre la matriz polimérica (PLLA) para analizar la cinética de reacción y el mecanismo de degradación.
- Conducir estudios de degradación hidrolítica sobre los diferentes materiales compuestos PLLA-MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, con miras a determinar el efecto de la carga sobre la cinética de reacción.
- Realizar pruebas *in vitro* sobre los diferentes materiales compuestos para estudiar la interacción de los mismos con tejido biológico.
- Obtener nanocompuestos laminares con menor concentración de nanopartículas para analizar el efecto de la carga sobre la distribución del material a través de toda la matriz polimérica.
- Diseñar un método para la caracterización del aumento de la temperatura sobre los compuestos laminares PLLA/magnetita y comparar el incremento de la temperatura generado con el de las nanopartículas sin recubrir.
- Incrementar el tiempo de inmersión de las nanopartículas de magnetita en el SBF para incrementar la formación de hidroxiapatita alrededor de las nanopartículas magnéticas.

---

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Askeland, D. y Phulé P. (1998). *Ciencia e ingeniería de los materiales*. México: International Thompson Editores.

Bozzola, J. y Russel L. (1998). *Electron Microscopy*. Estados Unidos de América: Jones & Bartlett Learning Editores.

Cheremisinoff, N. (1996). *Polymer Characterization: Laboratory Techniques and Analysis*. United States of America: Noyes Publications Editores.

Chiche, A; Skowronek, J; Kubaszewska, M. y Kanikowsk, M. (2007). Hyperthermia – description of a method and a review of clinical applications. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*. 12 (5) 267-275.

Cullity, B. (1967). *Elements of X-Ray diffraction*. United States of America: Addison-Wesley Editores.

Do Kyung, K; M. Shahrooz, A; Shihab, E; Se-Hee, L; Yüksel, K; Markus, Z. y Mamoun, M; (2005) Energy absorption of superparamagnetic iron oxide nanoparticles by microwave irradiation. *Journal of Applied Physics*. (97) 10J510 - 10J510-3.

Fried, T; Shemer, G. y Markovich, G. (2001). Ordered Two-Dimensional Arrays of Ferrite Nanoparticles. *Advanced Materials*. 13 (15) 1158-1161.

Gubin, S; Koksharov, Y; Khomutov, G. y Yurkov, G. (2005). Magnetic nanoparticles: preparation, structure and properties. *Russian Chemical Reviews*. 74 (6) 489-520.

Gupta, A. y Kumar, V. (2007). New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique. *European Polymer Journal*. (43) 4053–4074.

Hamoudeh, M; Al Faraj, A; Canet-Soulas, E; Bessueille, F; Léonard, D. y Fessi, H. (2007). Elaboration of PLLA-based superparamagnetic nanoparticles: Characterization, magnetic behaviour study and in vitro relaxivity evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*. (338) 248-257.

- Hernández, A; Chong, J; Leija, L ; Hernández, Y. y Marchal C. (2001). Hipertermia electromagnética, una alternativa para el tratamiento del cáncer: antecedentes, aspectos físicos y biológicos. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*. 22 (2) 78-88.
- Hofmann-Antenbrink, M; Von Rechenberg, B y Hofmann, H. (2009). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications. *Nanostructured Materials for Biomedical Applications*. 119-149.
- Hu, F; Neoh, K. y Kang, E. (2006). Synthesis and in vitro anti-cancer evaluation of tamoxifen-loaded magnetite/PLLA composite nanoparticles. *Biomaterials*. (27) 5725-5733.
- Ito, A; Shinkai, M; Honda, H. y Kobayashi, T. (2005). Medical Application of Functionalized Magnetic Nanoparticles. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 100 (1) 1-11.
- Khorrami, A; Mahmoudzadeh, G; Madani, S; Sepehr, S; Manie, S; Moradi, Sh; Gharib, F; Sharif, M. y Azar, A. (2010). Determination of magnetic properties of nano-size CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> particles synthesized by combination of sol-gel auto-combustion and ultrasonic irradiation techniques. *Journal of Theoretical and Applied Physics*. (4-2) 1-4.
- Kokubo, T. y Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*. (27) 2907-2915.
- Koutsopoulos, S. (2002). Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. *Wiley Periodicals, Inc*.
- Krikorian, V. y Pochan, D. (2005). Crystallization Behavior of Poly(L-lactic acid) Nanocomposites: Nucleation and Growth Probed by Infrared Spectroscopy. *Macromolecules*. (38) 6520-6527.
- Leighton; T. (2007). What is ultrasound? *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. (93) 3-83.
- Li, G; Jiang, Y; Huang, K; Ding, P. y Chen, J. (2008). Preparation and properties of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan nanoparticles. *Journal of alloys and Compounds*. (466) 451-456.
- Lim, L; Auras R. y Rubino M. (2008). Processing technologies for poly(lactic acid). *Progress in Polymer Science*. (33) 820–852.
- Nair, A. y Laurenci, C. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*. (32) 762-798.

- Neuberger, T; Schöpf, B; Hofmann, H; Hofmann, M. y Von Rechenberg, B. (2005). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. (293) 483–496.
- Nlebedim, I; Snyder, J; Moses, A. y Jiles, D. (2010). Dependence of the magnetic and magnetoelastic properties of cobalt ferrite on processing parameters. *Journal of Magnetism and Magnetic Material*. (322) 3938–394.
- Mojica, M. (2009). Estudio del proceso de calentamiento de nanopartículas magnéticas con campos magnéticos AC para su utilización en tratamiento de tumores con hipertermia. Trabajo de Grado de Maestría. Universidad Nacional de Cuyo. Instituto Balseiro. Disponible: [http://ricabib.cab.cnea.gov.ar/159/1/1Mojica\\_Pisciotti.pdf](http://ricabib.cab.cnea.gov.ar/159/1/1Mojica_Pisciotti.pdf) [Consulta: Noviembre 2011].
- Múzquiz, E; Cortés, D. y Escobedo, J. (2010). Biomimetic apatite coating on magnetite particles. *Materials Letters*. (64) 1117-1119.
- Prieto, F; Rodríguez, J; Castañeda, A. y Barrado E. (2002). Síntesis hidrotermal de ferritas de plata: una opción para depurar aguas residuales y recuperar plata en la industria minera. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*. 22 (1) 26-37. [Consulta: Mayo 2011]: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0255-69522002000100007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0255-69522002000100007&lng=es&nrm=iso)
- Qu, J; Liu, G; Wang, Y. y Houng, R. (2010). Preparation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan nanoparticles used for hyperthermia. *Advanced Powder Technology*. (21) 461-467.
- Schwertmann, U. Cornell, R. M. (2000). *Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization*. Alemania: Wiley-VCH Editores.
- Signori, F; Coltelli, M. y Bronco, S. (2009). Thermal degradation of poly(lactic acid) (PLA) and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBTA) and their blends upon melt processing. *Polymer Degradation and Stability*. (94) 74-82.
- Suslick, K. y Price, G. (1999). Applications of ultrasound to materials chemistry. *Annual Review of Materials Science*. (29) 295-326.
- Thanki, P; Dellacherie, E. y Six J-L. (2006). Surface characteristics of PLA and PLGA films. *Applied Surface Science*. (253) 2758–2764.
- Thermo Nicolet Corporation. (2001). *Introduction to fourier transform infrared spectrometry*. Citado 30 Mayo 2011 [online]: <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf>
- Van deer Zee, J. (2002). Heating the patient: a promising approach?. *Annals of Oncology*. (13) 1173-1184.

Waldron, R. (1955). Infrared spectra of ferrites. *Physical Review*. (99) 1727-1735.

Zhao, D; Wang, X; Zeng, W; Xiab, Q. y Tang, J. (2009). Preparation and inductive heating property of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan composite nanoparticles in an AC magnetic field for localized hyperthermia. *Journal of Alloys and Compounds*. (477) 739-743.