



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE FÍSICA**

**“Acoplamiento Directo de Polifenoles Sobre
Nanopartículas de Magnetita y Ferritas de
Zinc Recubiertas con Vitis Vinifera,
Vaccinium Corymbosum o Punica
Granatum para Hipertermia Magnética”**

Tesis que presenta

Ana Eunice Matías Reyes

para obtener el Grado de

Doctora en Ciencias

en la Especialidad de

Física

Director de tesis: Dr. Jaime Santoyo Salazar

Ciudad de México

Septiembre, 2023

Contenido

Resumen.....	VIII
Abstract	IX
Justificación.....	1
Hipótesis.....	2
Objetivos_	3
1.Introducción.....	6
2. Polifenoles.....	9
2.1 Compuestos fenólicos	9
2.2 Aplicaciones	12
<u>2.2.a Síntesis de nanopartículas</u>	14
2.3 Frutos	15
<u>2.3.a <i>Vitis vinífera</i> (uva).....</u>	16
2.3.b <i>Vaccinium corymbosum</i> (Arándano azul)	17
2.3.c <i>Punica granatum</i> (Granada).....	17
3. Magnetismos	20
3.1 Materiales magnéticos	20
3.2.- Espinelas.....	23
3.2.a Magnetismo en espinelas MFe_2O_4	24
<u>3.2.b Magnetita.....</u>	25

<u>3.2.c</u> Maghemita.....	27
3.3 Anisotropía magnética.....	28
3.4 Histéresis.....	29
3.5 Dominios magnéticos.....	30
3.6 Superparamagnetismo.....	33
3.7 Relajación magnética.....	35
<u>3.7.a</u> Relajación de Néel.....	36
<u>3.7.b</u> Relajación de Brown.....	37
3.8 Hipertermia magnética.....	38
Método de la pendiente inicial o <i>Initial-slope</i>	45
Máximo de la derivada.....	46
4. Descripción de equipos.....	47
4.1 Difracción de Rayos-X (XRD).....	47
4.2 Espectroscopía Ultravioleta (UV-vis).....	50
4.3 Espectroscopía Fotelectrónica de Rayos X (XPS).....	51
4.4 Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	52
4.5 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), Microscopía de Fuerza Magnética (MFM).....	54
MFM.....	55
4.6 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	56

4.7 Microscopía Electrónica de Barrido de Doble Haz (SEM-FIB)	57
5. Materiales y métodos	59
5.1 Materiales.....	59
5.2 Preparación de los extractos naturales	59
5.3 Determinación de los grupos funcionales.....	60
5.4 Medición de la potencia específica de pérdida (SLP).....	60
Nanopartículas $Fe_{3-x}O_4$	61
Ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$	61
5.5 Determinación del contenido de hierro en los coloides magnéticos	61
5.6 Caracterización de propiedades físicas de MNPs	62
5.6.a EDS SEM.....	62
5.6.b TEM	63
5.6.c AFM-MFM	63
5.7 Cultivo celular.....	63
5.8 Ensayos de viabilidad celular	64
6. Síntesis y tratamientos	66
6.1. Métodos de síntesis de MFe_2O_4	66
6.1.a Síntesis por coprecipitación.....	66
6.1.b Mecanismo de formación de la biosíntesis.....	67
6.1.c Síntesis de las NPs mediante el método de coprecipitación	69

6.2 Método de sonoquímica	70
6.2.a Mecanismo de formación	71
6.2.b Síntesis sonoquímica	71
6.2.c Funcionalización de las ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$	72
7. Resultados MNPs@polifenoles	73
7.1 Caracterización fisicoquímica y estructural	73
7.1.b TEM.....	74
7.2 Caracterización química	77
7.2.a FTIR	77
7.2.b XPS	78
7.3 Caracterización magnética.....	81
7.2 Citotoxicidad.....	84
8. Resultados Propiedades magnéticas y estructurales de la ferrita $Zn_xFe_{3-x}O_4$	87
8.1 Caracterizaciones fisicoquímicas	87
8.1.1 Potencial Z	87
8.1.2 Microscopía por transmisión electrónica	87
8.1.3 Espectroscopia de energía dispersiva (EDS)	89
8.1.4 Determinación de la funcionalización de las nanoferritas.....	94
8.1.5 AFM-MFM	96
8.1.6 HRTEM.....	99

8.1.7 XPS	101
9. Hipertermia	108
9.1 Pérdida de potencia bajo campos magnéticos de CA en MNPs@polifenoles	108
9.2 Pérdida de potencia bajo campos magnéticos de CA en $Zn_xFe_{3-x}O_4$	109
10. Discusión.....	114
11. Conclusiones.....	118
12. Perspectivas	120
Referencias.....	121

Agradecimientos

A mi Dios, quien me provee de todas las cosas.

Con inmenso amor al ADJ Naasón Joaquín García, quien con sus palabras y ejemplo me ha motivado a realizar éste posgrado. Nuestra vida tiene un solo sentido, ¡Adelante!

Con gran estima y cariño agradezco al D.E. Leví Sainz y su esposa María Luz Ortíz, de Zaragoza, España, por el gran cuidado, apoyo y palabras que me dieron durante mi estancia en esa ciudad.

A mi asesor de tesis, el Dr. Jaime Santoyo por todo su confianza, conocimiento, apoyo y comprensión. Quien encabezó éste proyecto de manera eficiente, desde el comienzo hasta el final fue fundamental en mi formación, ya que me brindó un apoyo inestimable al proporcionarme congresos y la oportunidad de realizar una estancia en el laboratorio del INMA en España.

Quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Gerardo Goya Rossetti por su valioso apoyo durante mi estancia en su laboratorio (INMA-España). Él proporcionó las facilidades necesarias para utilizar las instalaciones y el equipo, así como su orientación durante la ejecución y análisis de los experimentos, en particular de hipertermia magnética.

A mis familias Matías Reyes y Ramírez Hernández, por todo su cariño y apoyo incondicional, por sus palabras, por ese amor sincero. Agradezco con todo mi corazón a mis hermanos Abner y Misael, quienes han estado siempre, siempre apoyándome y motivándome en todos los aspectos. ¡También son parte de mi inspiración!

A mi gran amiga Ishi Mercado, mi hermana del alma, porque siempre ha estado acompañándome.

A mis amigos y compañeros de APEM CDMX, quienes hicieron más amena mi estancia en ésta ciudad.

Al apreciado Comité Sinodal quiero expresar mi profundo agradecimiento por la dedicación de su valioso tiempo en la revisión de este manuscrito.

A todos mis profesores y compañeros del Cinvestav.

A CONACYT por el apoyo financiero que contribuyó a la realización de este posgrado.

Al CINVESTAV por el apoyo para la realización de este posgrado.

Un agradecimiento a la Dra. Vanina G. Franco por las mediciones de AFM-MFM en el Instituto de nanociencia y materiales de Aragón, España.

Un agradecimiento a Marcela Guerrero por las mediciones de DRX y FT-IR y a LANE y CINVESTAV-IPN por las instalaciones de AFM-MFM.

Resumen

Este trabajo presenta una alternativa para la síntesis directa de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) y magnetita dopadas con zinc ($Zn_xFe_{3-x}O_4$) con recubrimiento de polifenoles: *Vitis vinifera*, *Punica granatum* o *Vaccinium corymbosum* (MNPs@polifenoles). Se utilizó una ruta de coprecipitación modificada para obtener tamaños de partículas de 7 a 8 nm y recubrimientos orgánicos de polifenoles con un grosor inferior a 2 nm en MNPs@polifenoles. Las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ se obtuvieron por sonoquímica para alcanzar tamaños de ~20 nm. La funcionalización con los orgánicos *Vitis vinifera* y *Punica granatum*, se realizó por un procedimiento separado.

Estos grupos fenólicos tienen una función dual como agentes reductores y materiales de recubrimiento a través de su enlace –OH sobre la superficie de las MNPs. Las propiedades analizadas mostraron una orientación uniaxial de los dominios magnéticos únicos (SMDs) asociados a la estructura inversa de espinela Fe_3O_4 , un tamaño de partícula inferior a 20 nm, una forma semiesférica y un efecto de superficie como nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas direccionables (SPIONs). Las MNPs@polifenoles y nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ demuestran que pueden ser direccionadas y agitadas por un campo magnético. Los resultados de hipertermia magnética mostraron que la potencia específica de pérdida (SLP) de los SMDs está influenciada tanto por el tamaño promedio de la partícula como por la fuerza del campo magnético. En las MNPs@polifenoles, las tasas de calentamiento se midieron en coloides a base de agua (764 kHz, 28.9 kA m⁻¹) y los valores de SLP observados fueron mayores que los previamente reportados para las nanopartículas funcionalizadas de Fe_3O_4 (~8 nm). En las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ (~20 nm), las tasas de calentamiento se midieron en coloides a base de agua y matrices de gelatina. Se obtuvieron valores SLP mayores en coloides de agua (220 W/g) y matriz de gelatina (288 W/g).

Se espera que la encapsulación directa de las nanopartículas con superficies polifenólicas mejore su biocompatibilidad y su potencial terapéutico regulando las vías de señalización intracelular e intercelular. La viabilidad celular MNPs@polifenoles en las pruebas MTT y NRu estimó la actividad metabólica y la actividad de los lisosomas con la acción de las MNPs@polifenoles en K562 (leucemia mieloide crónica, ATCC).

Abstract

This work presents an alternative for the direct synthesis of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles (MNPs) and zinc-doped magnetite ($Zn_xFe_{3-x}O_4$) nanoparticles coated with polyphenol coating: *Vitis vinifera*, *Punica granatum* or *Vaccinium corymbosum* (MNPs@polyphenols). A modified co-precipitation route was used to obtain particle sizes from 7 to 8 nm and organic polyphenol coatings with thickness below 2 nm. The $Zn_xFe_{3-x}O_4$ nanoparticles were obtained by sonochemistry to achieve sizes of ~20 nm. Functionalization with *Vitis vinifera* and *Punica granatum* organics was performed separately. These phenolic groups serve a dual function as reducing agents and capping materials through their –OH bonding over MNPs surface. The analyzed properties showed a uniaxial orientation of single magnetic domains (SMDs) associated to Fe_3O_4 spinel inverse structure, particle size below 20 nm, semispherical shape and surface effect as addressable superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs). The MNPs@polyphenols and $Zn_xFe_{3-x}O_4$ nanoparticles demonstrate that they can be addressed and agitated by a magnetic field. The magnetic hyperthermia results showed the specific power absorption (SLP) of SMDs is influenced by both the average particle size and the magnetic field strength. In MNPs@polyphenols, heating rates were measured in water-based colloids (764 kHz, 28.9 kA m⁻¹) and the observed SLP values were higher than those previously reported for functionalized Fe_3O_4 nanoparticles (~8 nm). In $Zn_xFe_{3-x}O_4$ nanoparticles (~20 nm), heating rates were measured in water-based colloids and gelatin matrices. Higher SLP values were obtained in water-based colloids (220 W/g) and gelatin matrix (288 W/g).

Direct encapsulation of nanoparticles with polyphenolic surfaces is expected to improve their biocompatibility and therapeutic potential by regulating intra- and inter-cellular signaling pathways. The MNPs@polyphenols' cell viability in MTT and NRu tests estimated the metabolic activity and lysosomes activity with the action of MNPs@polyphenols in K562 (Chronic Myelogenous Leukemia, ATCC).

A quien me provee de todas las cosas

Justificación:

Los materiales nanométricos poseen propiedades que pueden ser modificadas para ampliar y mejorar sus aplicaciones. Dichas alteraciones mejorarían la funcionalización de materiales, por ejemplo, nanopartículas, resultando en un tipo de respuesta específica. Para aplicaciones biomédicas, se requiere de una buena biocompatibilidad y baja toxicidad, además del ser direccionables.

Las nanopartículas de magnetita son superparamagnéticas para tamaños menores a 30 nm, por lo que la aplicación de un campo magnético puede estimularlas para vibrar y convertir la energía de un campo magnético alternativo en calor, produciendo un incremento de la temperatura local. Este efecto es aprovechado en el tratamiento de hipertermia magnética contra tumores cancerosos, en el que se alcanzan temperaturas de hasta 46 °C en regiones específicas. A tales temperaturas se produciría un daño en las células, llevándolas a la muerte celular.

Los polifenoles son compuestos hidrosolubles con propiedades beneficiosas para la salud, como es la actividad antioxidante y anticancerígena. Adicionalmente, tienen la habilidad de unirse a diversas estructuras mediante uniones covalentes o no covalentes, posibilitando así si unión quelante a metales.

La composición de las nanopartículas MFe_2O_4 funcionalizadas con polifenoles mejoraría la biocompatibilidad y estabilidad para aplicaciones médicas, las cuales pueden ser una alternativa en el tratamiento por hipertermia magnética para tumores cancerosos.

Hipótesis:

Los grupos funcionales, presentes en los polifenoles, son compuestos capaces de reducir las sales de hierro durante la síntesis.

La funcionalización con polifenoles de *punica granatum*, *Vitis vinífera* o *Vaccinium corymbosum* mejorará la viabilidad de las nanopartículas en líneas celulares, ayudando a la introducción de las nanopartículas por las células cancerígenas. Además, la recubierta de estos compuestos ayudará en la disminución de la aglomeración de nanopartículas, condición necesaria para el tratamiento de hipertermia magnética.

Objetivos de ésta tesis

Objetivo general:

Sintetizar nanopartículas MFe_2O_4 (Fe, Zn) funcionalizadas con polifenoles de los extractos de *Vitis vinífera*, *Punica granatum* o *Vaccinium corymbosum*, y evaluar su acción como agentes de calentamiento para hipertermia magnética.

Objetivos particulares:

- a. Sintetizar nanopartículas MFe_2O_4 (Fe, Zn) de tamaño nanométrico (<30 nm).
- b. Realizar la funcionalización de las series de nanopartículas durante la síntesis o mediante métodos químicos.
- c. Caracterizar completamente las propiedades morfológicas y fisicoquímicas de las series de nanopartículas.
- d. Determinar las propiedades magnéticas en función del tamaño, forma y composición.
- e. Realizar un ensayo *in vitro* para determinar la viabilidad celular de MNPs@polifenoles en la línea celular K562.
- f. Analizar la capacidad de calentamiento de las nanopartículas que forman un coloide magnético cuando estas se encuentran bajo la acción de un campo magnético con diferentes amplitudes y frecuencias.

La estructura de la tesis será la siguiente:

En el primer capítulo se describirán los principios físicos y químicos a escalas nanométricas que motivaron el presente trabajo. Así mismo, los conceptos básicos de hipertermia magnética.

En el capítulo 2 se describirán los polifenoles, su definición, estructura y clasificación. De la misma forma, se mencionarán algunas de aplicaciones, ante todo en áreas biomédicas.

En el capítulo 3 se introducirán, de manera breve, los principales conceptos físicos en materiales magnéticos, principalmente en nanopartículas magnéticas. Así mismo, se resumirán los conceptos físicos y experimentales asociados con la hipertermia magnética.

En el capítulo 4 se introducirán brevemente las principales técnicas usadas para caracterizar las nanopartículas sintetizadas en el trabajo presente, incluyendo técnicas de caracterización estructurales, magnéticas y un análisis químico, al igual que las condiciones en las cuales se realizaron las mediciones.

En el capítulo 5 se describirán los materiales y métodos usados para la funcionalización de las nanopartículas MFe_2O_4 (Fe, Zn), la configuración para los experimentos de hipertermia magnética y las condiciones de preparación de nanopartículas y cultivos celulares para los ensayos *in vitro*.

En el capítulo 6 se explicarán los métodos de síntesis de nanopartículas, requerimientos y ventajas. También, se hará una breve descripción de los mecanismos y condiciones involucrados durante la formación de las nanopartículas.

Finalmente, se presentará la metodología para los ensayos *in vitro* con la línea celular K562.

En el capítulo 7 se analizarán los resultados obtenidos de los experimentos en las nanopartículas de magnetita recubiertas con polifenoles. Aquí se discutirán las propiedades físicas que dependen del tamaño, forma y estructura, para continuar con el análisis de la composición química de los recubrimientos en las nanopartículas. Por último, se examinará la viabilidad celular de las nanopartículas de magnetita.

En el capítulo 8 se presentarán los resultados de la caracterización de nanopartículas de $Zn_xFe_{3-x}O_4$, que incluye determinar la composición química de las ferritas para su correcta descripción. Por otro lado, las propiedades magnéticas y estructurales se analizarán y compararán con las obtenidas para las nanopartículas de magnetita.

En el capítulo 9 se describirán los mecanismos involucrados en la Potencia de pérdida específica en coloides magnéticos bajo la acción de un campo magnético alternativo. Se

presentarán los resultados y análisis de las mediciones experimentales con muestras de magnetita y ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$, y su dependencia del tamaño, amplitud y frecuencia del campo magnético aplicado y del líquido portador.

En el capítulo 10 se hará una discusión de los resultados obtenidos para las muestras de nanopartículas de magnetita y las ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$, así como una comparación entre las propiedades de ambas.

En los capítulos 11 y 12, las principales conclusiones y perspectivas del presente trabajo se presentarán, respectivamente.

Capítulo 1

Introducción

Las nanopartículas de Fe_3O_4 , también conocidas como nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro (SPIONs, por sus siglas en inglés), han permitido el desarrollo prometedor de funciones específicas de liberación de fármacos, diagnóstico y terapia aprovechando su interacción de monodominio magnético direccionable, en tamaños de partícula <30 nm [1]. Su forma, composición y propiedades de superficie han sido clave para adaptar la activación magnética de funciones fisicoquímicas en sistemas biológicos [2,3]. Las formulaciones teranósticas de SPIONs se han configurado como núcleo-coraza (core-shell) mediante la unión directa con una capa orgánica de afinidad en su superficie. Los grupos hidroxilo se unen covalentemente a la superficie con una estabilidad adicional en las nanopartículas de magnetita como Fe–OH. Los principales grupos funcionales que pueden acoplar a la superficie de SPIONs son: ácido fosfórico, ácido carboxílico, catecol, hidroxilo, amina, glicerol y siloxanos [4,5]. Las capas orgánicas en la superficie aumentan la posibilidad de transferencia de las SPIONs encapsuladas a medios acuosos para precisar el control del rendimiento de las nanopartículas en el entorno celular [6]. Las rutas de biosíntesis verde y química húmeda, como la coprecipitación y la sonicación con algunas modificaciones, han abierto nuevos horizontes en el procesamiento de SPIONs superparamagnéticas con polifenoles, que son compuestos aromáticos que tienen uno o más grupos hidroxilo [7–9].

Muchas de las partículas utilizadas en ensayos *in-vivo* son nanopartículas de magnetita o maghemita, debido a su baja toxicidad. Sin embargo, estas partículas tienden a aglomerarse incluso en ausencia de un campo magnético, lo que ha llevado a la adopción de diversas estrategias para evitar esta aglomeración, como el recubrimiento de las nanopartículas con diferentes elementos, incluyendo estratos y polímeros como dextrano, almidón o polietilenglicol. Además de prevenir la aglomeración, los agentes de recubrimiento también pueden proporcionar grupos funcionales específicos para fines particulares en medios biológicos [10].

El recubrimiento directo de polifenoles en la superficie de las nanopartículas de magnetita (MNPs) tiene potencial terapéutico adicional debido a las características fitoquímicas que ejercen importantes funciones biológicas como la eliminación de radicales libres, efectos antioxidantes y antiinflamatorios [11,12]. Las propiedades biológicas específicas de los polifenoles han sido reconocidas por su papel alternativo y preventivo en enfermedades crónicas como neurodegenerativas, cardiovasculares y osteoporosis. Además, sus componentes desempeñan un importante papel en la promoción de la salud natural, con actividades anti-tumorales, antihipertensivas, inhibidoras de la α -glucosidasa diabética, antihipertensivas y antitrombóticas [13]. La diversidad de estructuras de polifenoles incluye compuestos valiosos presentes en plantas, frutas, semillas, cereales, condimentos, chocolate, té, vino, aceites y organismos marinos para prevenir el daño de las especies reactivas de oxígeno (ROS), ya sea mediante la eliminación de radicales o previniendo la generación de estas especies mediante la unión del hierro [14]. La clasificación de los polifenoles incluye ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, estilbenos y lignanos [15]. Además, los compuestos polifenólicos se han clasificado según sus posiciones de enlace hidroxilo y variaciones en el esqueleto químico, como los grados de oxidación, hidroxilación, metilación, glucosilación y la posible unión a otras moléculas. La solubilidad es importante para minimizar el proceso de degradación, reducir la toxicidad y controlar la absorción activa y la respuesta biológica de los polifenoles [16,17]. Las actividades antioxidantes de los polifenoles y sus conjugados pueden determinarse por sus subclases, y se encontró una tendencia decreciente en el siguiente orden: flavonoles > flavanonas > flavonas. Aquí, las posiciones de los grupos hidroxilo son críticas en el desarrollo de la unión de coordinación con cationes metálicos como las nanopartículas de metal-polifenol, la cristalización compuesta y la gelación [18,19].

La nanoencapsulación directa de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPIONs) con superficies polifenólicas es una alternativa efectiva para mejorar su biocompatibilidad y su adhesión a la membrana celular, lo que es consistente con las diferentes etapas de un proceso activo de captación que aumenta sus posibilidades terapéuticas [20]. Además, los efectos SPIONs-polifenol pueden estar asociados a mecanismos bioquímicos y moleculares dentro de las vías de señalización intracelular e intercelular, como la regulación de los factores de transcripción nuclear y el metabolismo de grasas, y la modulación de la síntesis de mediadores inflamatorios [21].

Los compuestos polifenólicos de *Vitis vinifera*, *Vaccinium corymbosum* o *Punica granatum* correspondientes a las frutas de uva, arándanos y granada han sido considerados en este

trabajo para la síntesis y recubrimiento directo de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (MNPs) y nanopartículas de óxido de hierro dopadas con zinc.

Capítulo 2

Polifenoles

2.1 Compuestos fenólicos

Los polifenoles son compuestos químicos sintetizados por las plantas a través de los metabolismos secundarios. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, presente en flores, vegetales, frutas y semillas que consumimos diariamente. Estos compuestos son esenciales en la fisiología de las plantas, participando en funciones tales como crecimiento, lignificación y estructura, polinización, alelopatía, protección contra patógenos y depredadores. Además, los polifenoles, también conocidos como metabolitos secundarios vegetales, juegan un papel crítico en varias funciones biológicas de las plantas, incluyendo el aroma, pigmentación, protección contra parásitos y la radiación solar, crecimiento, reproducción, soporte estructural, resistencia a patógenos, nutrición, acciones antialimentarias contra animales herbívoros y la coordinación de metales, transporte de hierro y transmisión de señales. Por lo tanto, estos compuestos proporcionan propiedades físicas y químicas importantes durante el crecimiento y reproducción de las plantas.

Además, los polifenoles también se encuentran presentes en varios organismos marinos y actúan durante la respuesta antioxidante de microalgas y cianobacterias frente a la exposición a los rayos UV [16].

El término polifenol se define como una amplia colección de compuestos que se clasifican en varias subclases o subdivisiones según su fuente, función biológica o estructura química. Estos principios activos son considerados estructuralmente diversos, ya que varían desde moléculas simples hasta formaciones complejas. Los polifenoles se organizan como cualquier compuesto que contenga una o más estructuras formadoras de anillos aromáticos, generalmente de alto peso molecular, que pueden contener uno o más grupos hidroxilo unidos. Actualmente, se han identificado más de 8,000 ejemplos de estructuras fenólicas. La presencia y ubicación de estos grupos funcionales en la estructura determina su clasificación. Los grupos funcionales incluyen hidroxilos, carboxilos, carbonilo, entre otros.

La clasificación de los polifenoles depende de varios factores: la base de sus estructuras químicas y/o la unión de los grupos hidroxilo a la estructura del anillo aromático, las variaciones básicas del esqueleto químico, tales como los grados de oxidación, glicosilación, metilación, hidroxilación, así como las posibles conexiones con otras moléculas. Generalmente los polifenoles se clasifican en las categorías: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos y lignanos, aunque algunos artículos también consideran a las cumarinas como una clasificación. En la Figura 1 se encuentran representados las formas generales de las clasificaciones de los polifenoles, en donde (A) corresponde a los Flavonoides, (B) Estilbenos, (C) Cumarinas, (D) Ácidos fenólicos y (E) Ligninas.

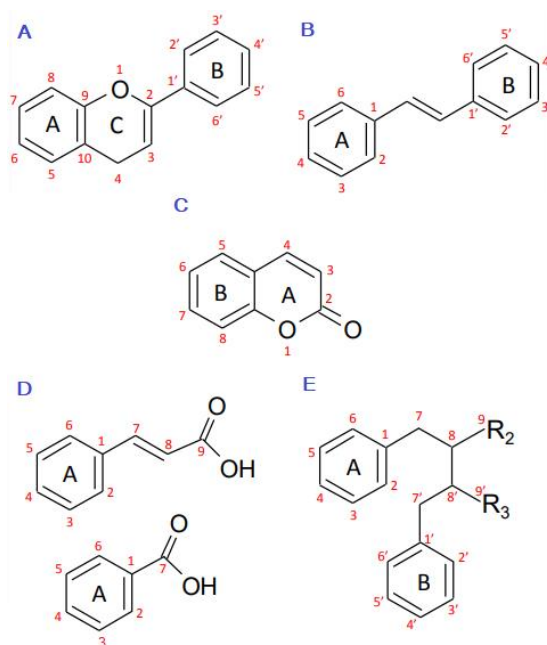


Figura 1 Estructuras de los compuestos polifenólicos. (A) Flavonoides, (B) Estilbenos, (C) Cumarinas, (D) Ácidos fenólicos y (E) Ligninas.

Los flavonoides son compuestos C₁₅ que se encuentran en frutas, verduras y otros alimentos vegetales, y son conocidos por su actividad antioxidante. Son los polifenoles más comunes, con más de 4000 ejemplos, lo que los convierte en uno de los grupos de compuestos fenólicos más comunes en los alimentos de origen vegetal. La estructura genérica de los flavonoides consta de quince átomos de carbono (C₆–C₃–C₆), formada por dos anillos aromáticos (A y B) unidos por tres carbonos que suelen estar en un anillo de pirano heterociclo oxigenado, o anillo C. La clasificación de los subgrupos de flavonoides depende de la posición de la unión del anillo B y C, la insaturación y grado de oxidación del

anillo C [22]. Por ejemplo, si la unión es en la posición 4, se les denomina neoflavonoides, si la unión es en la posición 3 del anillo C se les llama isoflavonas, y si la unión es en la posición 2, se conforman los subgrupos: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, flavonoides o catequinas, antocianinas y calconas [22]. Las antocianinas, uno de sus subgrupos más investigados, son responsables de los pigmentos rojo, azul, naranja, rosa y violeta presentes en frutos, plantas, tubérculos, etcétera, y también poseen actividad antioxidante.

Los ácidos fenólicos son compuestos aromáticos que contienen un anillo fenólico y una función de ácido carboxílico orgánico, y se dividen en dos grupos principales: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Los ácidos hidroxibenzoicos están presentes principalmente en forma ligada, pero también en forma de derivados del azúcar y ácidos orgánicos en los alimentos vegetales. Los derivados del ácido hidroxicinámico también están comúnmente presentes en forma unida a los componentes estructurales de la pared celular, y algunos ejemplos de este grupo son el cafeico, ferúlico, p-cumárico, protocatecúico y vanílico, que se encuentran presentes en casi todas las plantas. Estos compuestos también se encuentran en alimentos como el café y el té negro [23], y se dividen en compuestos de ácido hidroxibenzoico, como el ácido gálico, y en ácido hidroxicinámico, como el ácido cafeico y el ácido ferúlico [24]. Se encuentran de manera natural en fresas, semillas de mostaza, nuez moscada, canela, clavo, tomillo, salvia y otros, en formas libres o conjugadas con éteres, ésteres y en moléculas como ácidos orgánicos, azúcares simples y polímeros vegetales [25].

Los estilbenos, también conocidos como no-flavonoides, pertenecen al grupo de peso molecular bajo, de 210-270 g/mol [26]. Tienen una estructura C6-C2-C6, formada por dos anillos aromáticos unidos por una molécula de etanol o etileno. Los estilbenos tienen dos estructuras diferentes: trans-((E)-stilbenes) y cis-((Z)-stilbenes) 1,2-difeniletano [15]. Los compuestos estilbenos se encuentran en varias familias de plantas, pero el resveratrol es el polifenol más común de este grupo, se encuentra en las uvas, el vino tinto, los cacahuetes y algunas moras. La investigación de este compuesto ha mostrado que participa en diversas funciones biológicas, como la regulación de la proliferación celular, angiogénesis, actividad mitocondrial, estimulación del lipólisis de los adipocitos y supresión de la inflamación [27].

Las ligninas, también conocidas como no-flavonoides, son fitoestrógenos cuya estructura está formada por bifenoles unidos mediante un acoplamiento oxidativo. Los compuestos más comunes de este grupo son el secoisolariciresinol y el matairesino. Las ligninas se encuentran en buena concentración en las semillas de linaza (fuente más rica conocida) y en el aceite de las mismas [24], así como en semillas de girasol, sésamo y brócoli.

Los compuestos cumarínicos están ampliamente presentes en la naturaleza, por ejemplo, en plantas y frutos como los arándanos, moras y té verde. La canela china contiene una buena cantidad de derivados cumarínicos [15]. Las cumarinas son el compuesto más simple de los polifenoles y están estructuralmente formadas por un anillo de benceno unido a un anillo de α -pirona. Los compuestos cumarínicos y sus derivados muestran actividad antioxidante, antiinflamatoria, analgésica y antimutagénica [28].

2.2 Aplicaciones

Los polifenoles tienen un papel cada vez más importante en la dieta diaria debido a su relación con la reducción del riesgo de algunas enfermedades. Sus aplicaciones en medicina se han centrado en la investigación de ciertos componentes que han mostrado efectos positivos en actividades anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes. Los flavonoides, como la quercetina, kaempferol, miricetina, cianidina, pelargonidina, delphinidina, epicatequina y galato de epigallocatequina, han demostrado actividad anticancerígena mediante la modulación de las enzimas reguladoras de las especies reactivas de oxígeno (ROS), la detención del ciclo celular, la inducción de la apoptosis, la autofagia, la prevención del angiogénesis y la antiproliferación de las células cancerosas [29,30]. Asimismo, algunos ácidos fenólicos, como el ácido protocatequico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido p-cumárico, también tienen efectos beneficiosos en la salud, promoviendo la apoptosis, reduciendo la angiogénesis y la metástasis [25].

En cuanto a los efectos cardioprotectores, estudios han demostrado que los polifenoles como la catequina, quercetina, resveratrol, tocoferol y procianidina, tienen un efecto protector mediante la reducción de estrías grasas en las aortas, la disminución en el

desarrollo de lesiones en las arterias, la reducción de colesterol, la regulación de lípidos plasmáticos y el estrés oxidante.

Se han realizado diversas investigaciones sobre los polifenoles que han demostrado su capacidad para ejercer efectos biológicos en estudios *in vitro*, *in vivo* y clínicos [17]. Una de las áreas de investigación más relevantes en este campo es la acción antimicrobiana de ciertos polifenoles sobre diferentes microorganismos patógenos, especialmente en el contexto de la creciente preocupación por las nuevas cepas microbianas resistentes a los antibióticos actuales.

En algunas publicaciones se sugiere que los polifenoles poseen un efecto antibacteriano, y se cree que algunos flavonoides podrían actuar inhibiendo el crecimiento bacteriano [31]. Se han llevado a cabo estudios *in vitro* sobre el efecto de los polifenoles en microorganismos gram positivo y gram negativo, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* [32], sugiriéndose que el efecto antimicrobiano de los polifenoles depende de la dosis del agente en los organismos, así como de la cepa en cuestión.

Algunos investigadores sugieren que el efecto de un mismo polifenol puede variar en función de la cepa bacteriana, siendo positivo en una y negativo en otra [33]. Uno de los posibles mecanismos de acción de los flavonoides sería la inhibición de las funciones de la membrana citoplasmática y la síntesis de ácidos nucleicos [31].

En un estudio comparativo [34] se analizó el efecto de algunos polifenoles y antibióticos en una bacteria gram-negativa, encontrándose que los ácidos fenólicos mostraron resultados equiparables a los de los antibióticos en la cepa de Gram-negativas *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802.

Los polifenoles naturales han sido descritos como agentes con actividades anticancerígenas, antimetastásicas, antibacterianas, antivirales, antihelmínticas, antiinflamatorias, inhibidoras de β -amiloides, protectoras del miocardio e inmunorreguladoras, lo que justifica la importancia de consumir alimentos ricos en fenoles. Estas acciones podrían ser resultado de la interacción de los polifenoles con proteínas, enzimas y receptores de membrana, modulando su actividad de manera específica [35]. En particular, el galato de epigallocatequina (EGCG) y el ácido tánico (TA) han sido

ampliamente estudiados debido a su capacidad antioxidante, que se atribuye a la presencia de grupos terminales hidroxilo, así como a algunos grupos funcionales carbonilo y fenólicos [36].

La acción antioxidante resulta de la facilidad con la que un átomo de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático cede a un radical libre, y de la capacidad de la estructura aromática para tolerar un electrón desapareado debido a la deslocalización alrededor del sistema de electrones π , así como de su capacidad quelante de metales [37]. La propiedad antioxidante de los polifenoles es importante para proteger las células contra el daño inducido por la luz ultravioleta. La capacidad antioxidante de los polifenoles implica la donación de un átomo de hidrógeno y/o un electrón a los radicales libres, provocando la ruptura de la reacción en cadena de la oxidación. Dicho efecto depende del número y posición de los grupos hidroxilo. Existe otro mecanismo presente en la capacidad antioxidante, como la complejación molecular con proteínas pro-oxidantes, la quelación de iones metálicos o el atrapamiento directo de especies reactivas de oxígeno (ROS) [16]. Por lo tanto, la actividad antioxidante atribuida a los polifenoles depende de diversos factores, como la eliminación de radicales y/o las propiedades quelantes de metales de transición [38]. La actividad de reducción de radicales libres reactivos ha sido influenciada por el número y la posición de los grupos OH [39].

Entre las características fisicoquímicas únicas de los polifenoles se encuentra su estructura, responsable de establecer enlaces fuertes a través de (i) interacciones no covalentes, tales como enlaces de hidrógeno múltiples, hidrofóbicos, π - π e interacciones catión- π , y (ii) interacciones covalentes. Por lo tanto, los polifenoles pueden interactuar con diversas biomoléculas, como ácidos nucleicos (mediante la combinación de una o varias interacciones no covalentes) [40], iones metálicos, proteínas (tanto de forma covalente como no covalente), fármacos, polímeros y fosfolípidos. De hecho, los compuestos fenólicos presentes en las plantas pueden interactuar de forma covalente o no covalente con las proteínas. Asimismo, algunos polifenoles pueden unirse a moléculas de manera covalente o no covalente, aunque ciertos flavonoides presentan una afinidad especial por ciertos sitios [41].

2.2.a Síntesis de nanopartículas

Ciertas estructuras de los polifenoles tienen la capacidad de unirse a metales como el calcio (Ca), hierro (Fe), manganeso (Mn), cobalto (Co), magnesio (Mg), cobre (Cu) y el

zinc mediante un proceso llamado quelación, es decir que los polifenoles pueden formar enlaces químicos estables con estos metales, lo que los hace menos disponibles para reaccionar con otras moléculas. Debido a ello, se ha propuesto su uso durante el proceso de síntesis de biomateriales a base de polifenoles, algunos ejemplos son las nanopartículas, películas de polifenoles, nanocápsulas e hidrogeles [40]. En la fabricación de nanopartículas, los polifenoles podrían estar actuando como agentes reductores y estabilizantes, en donde la posición de los grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos juega un papel importante durante la formación de nanopartículas [41]. De hecho, algunos investigadores han demostrado que el pH es importante si uno está interesado en la carga positiva o negativa, que es importante para el proceso de endocitosis. En realidad, los polifenoles podrían tener la capacidad de mejorar esta capacidad. De manera similar, los polifenoles poseen la capacidad de actuar como agente reductor, como en el caso del hierro, reduciendo los iones Fe^{3+} a Fe^{2+} . Sin embargo, no pueden reducir Fe^{2+} a Fe^0 . Adicionalmente, los polifenoles pueden actuar como agentes estabilizadores durante la síntesis.

La estabilidad de las nanopartículas que se forman por capping conducen a un aumento de la repulsión electrostática y/o estérica entre las partículas, y una disminución de las interacciones de Van der Waals y fuerza magnética, por lo tanto, conduce a una aglomeración y oxidación reducida de las nanopartículas [41,42]. Un ejemplo del efecto de estabilización durante la síntesis verde de NPs de óxido de hierro, son las NPs sintetizadas usando *Bauhinia tomentosa* [42].

La utilización de estas nanopartículas cargadas con polifenoles en el tratamiento del cáncer es prometedora debido a su capacidad para dirigirse específicamente al sitio de acción, reducir la toxicidad en el resto del cuerpo, y mejorar la eficacia del tratamiento. Además, la liberación controlada de los polifenoles mediante las nanopartículas puede prolongar su efecto terapéutico y reducir los efectos secundarios no deseados [44]. En resumen, la combinación de nanopartículas y polifenoles ofrece una estrategia innovadora y efectiva para el tratamiento del cáncer [45].

2.3 Frutos

A continuación, se describe el contenido de polifenoles presentes en los frutos, donde el contenido fenólico promedio de 212.92 mg/100 g en los arándanos, 254.35 mg/100 g en uvas y 83.86 mg/100 g en la granada [46–48].

2.3.a *Vitis vinífera* (uva)

La uva es una fruta ampliamente consumida en todo el mundo y es rica en compuestos polifenólicos importantes, la mayoría de los cuales se encuentran en la piel y las semillas. Estos compuestos incluyen antocianinas, flavonoles, flavan-3-oles, ácidos hidroxicinámico e hidroxibenzoico, y estilbenos.

La *Vitis vinífera*, como otros frutos, contiene antocianinas, flavanoles (catequina, epicatequina), flavonoles (rutina, quercetina-3-o-glucósido, rihidroquercetina-3-O-ramnosido, isorhamnetina-3-O-hexosa, isorhamnetina y miricetina), flavonoides (compuestos por (+)-catequinas, (-)-epicatequina y polímeros de procianidina), ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos metilo, ácido dihidroxibenzoico, 1-O-vanilil- β -D-glucosa, ácido p-cumárico-4-glucósido y ácido cafeico) y estilbenos (resveratrol, resveratrol-3-oglucósido, viniferina, scripusina A y piceatanol) [49,50].

Estudios han demostrado que estos polifenoles tienen efectos farmacológicos, incluyendo protección de la piel, actividad antioxidante, actividad antibacteriana, propiedades anticancerígenas, efectos antiinflamatorios y propiedades antidiabéticas, así como efectos cardioprotectores y neuroprotectores en estudios experimentales [50,51].

En particular, el resveratrol, el estilbeno más común y estudiado, ha mostrado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiapoptóticas, anticancerígenas y anticarcinogénicas [52]. El resveratrol es un compuesto polifenólico estilbenoide compuesto por dos anillos fenólicos unidos por un puente de etileno. Su estructura química (trans-3,5,4'-trihidroxistilbeno) presenta dos formas isoméricas: cis- y trans-resveratrol [53] (

).

El resveratrol ha demostrado ser efectivo en la modulación de la función mitocondrial y la biología y dinámica redox en experimentos *in vitro* e *in vivo*. Estudios en ratas han

demostrado una disminución en el crecimiento tumoral en tejidos como piel, mama, próstata, tracto gastrointestinal, ovario, colon, hígado, leucemia y pulmón [54]. En [55,56], los autores muestran la implementación del resveratrol en la investigación de estas enfermedades, utilizando nanopartículas de magnetita.

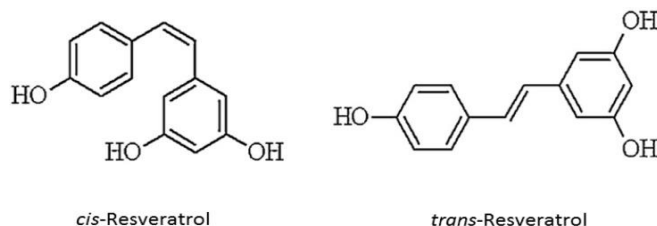


Figura 2 Estructuras del resveratrol.

2.3.b *Vaccinium corymbosum* (Arándano azul)

Vaccinium corymbosum es una fruta rica en polifenoles, incluyendo 27 tipos diferentes de antocianinas distintas, antocianidinas (delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina, malvidina), flavonoles (quercetina, isoquercetina, rutina), derivados oligoméricos de flavan-3-oles (procianidina A2, procianidina B1, procianidina B2), flavan-3-oles, ácidos hidroxicinámicos (catequina, epicatequina, epicatequina-galato), ácido gálico y procatecualdehído [57]. La quercetina es el flavonoide más abundante presente en esta fruta [57].

La alta concentración de polifenoles presente en *Vaccinium corymbosum* la hace efectiva en el tratamiento de enfermedades, ya que combaten el estrés oxidativo y la inflamación [58,59], ofreciendo propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y hepatoprotectoras [60], además de prevenir el cáncer [58]. Los polifenoles también tienen propiedades neuroprotectoras, cardioprotectoras y efectos antidiabéticos. Se ha estudiado la inhibición de la proliferación de células tumorales *in vitro* en células de colon (HT-29 y HCT116), próstata (LNCaP), mama, cuello uterino (HeLa), ovarios (A2780), piel (B16F10) [58] y boca [61].

2.3.c *Punica granatum* (Granada)

El fruto de la granada aporta beneficios nutricionales a la dieta humana a través de vitaminas y minerales, como el potasio, manganeso, hierro, cobre y fósforo, que juegan un papel importante en el mantenimiento de la calidad y el valor nutricional. Al igual que otros

frutos, su actividad biológica depende de algunos factores como la zona de cultivo, las condiciones climáticas, el estado de desarrollo y las modificaciones genéticas [62].

Punica granatum es una fruta rica en fitoquímicos con un contenido de 249.4 mg/g [63]. Contiene 124 polifenoles diferentes, incluyendo flavonoides como antocianinas y sus derivados, catequina, epicatequina y quercetina, así como taninos como elagitaninos, punicalagina, punicalina y pedunculagina, y ácidos fenólicos. La punicalagina es el polifenol con mayor peso molecular [64,65]. Estos fitoquímicos son no tóxicos y se han estudiado ampliamente por sus beneficios para la salud, incluyendo efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, antiinfecciosos, antidiabéticos y preventivos del cáncer [66–68]. Los estudios han demostrado efectos inhibitorios en las células HepmG2 y Hela, así como actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer de mama, colon, cervical y pulmonar [69–71].

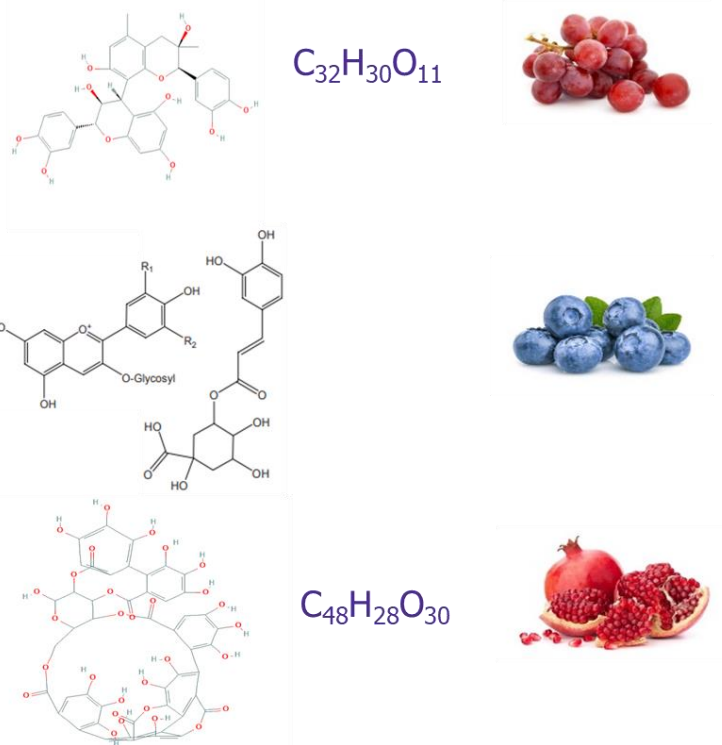


Figura 3 Estructura de los compuestos polifenólicos principales en *Vitis vinifera*, *Vaccinium corymbosum* y *Punica granatum*

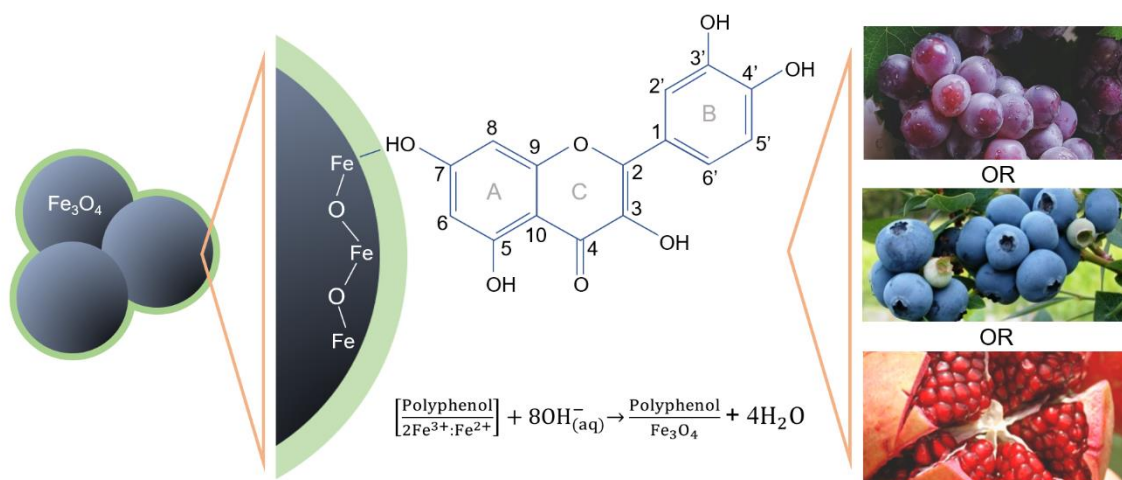


Figura 4 Estructura propuesta del mecanismo de formación de las nanopartículas

Capítulo 3.

Magnetismo

3.1 Materiales magnéticos

Los materiales magnéticos son importantes en el desarrollo de diversas tecnologías, incluyendo motores eléctricos, generadores, transformadores, dispositivos de almacenamiento de datos y sensores. Aunque la magnetita se ha utilizado desde la antigüedad para la orientación, el magnetismo como fenómeno científico fue descubierto por Tales de Mileto en el siglo IV a.C. Desde entonces, el estudio y aplicación de los materiales magnéticos se ha expandido, pero no fue hasta el siglo XIX que se comenzó a entender las leyes y principios que rigen su comportamiento y su relación con la electricidad.

El término "nanopartícula" se refiere a un material con un tamaño de partícula menor a 100 nm en al menos una de sus dimensiones, y que consta de aproximadamente 10⁵ átomos. La respuesta de un material a un campo magnético externo indica su tipo de material magnético, y esta respuesta depende de los constituyentes del material. A nivel atómico, el ordenamiento de los momentos atómicos de las partículas del material es la primera forma de identificar un material, aunque esto no considera la constitución microscópica del material. En realidad, la magnetización y la susceptibilidad magnética reflejan la respuesta del material a nivel microscópico, siendo la magnetización una medida de la densidad de los momentos magnéticos en un volumen determinado y la susceptibilidad magnética (χ) una medida de la capacidad del material para ser magnetizado en relación con el campo H.

Existen tres respuestas magnéticas que un material puede tener bajo un campo magnético externo: ferromagnética, paramagnética y diamagnética (Figura 5).

El paramagnetismo y diamagnetismo son comportamientos magnéticos en los que los momentos se alinean parcialmente en dirección paralela y antiparalela, respectivamente, en presencia de un campo magnético externo. Este alineamiento depende de la magnitud y dirección del campo. En los materiales diamagnéticos se forma una pequeña

magnetización en dirección contraria al campo H , mientras que en los materiales paramagnéticos se forma una magnetización en la misma dirección del campo H . Sin embargo, el alineamiento de los momentos se contrarresta por su tendencia al alineamiento aleatorio debido a la dependencia térmica. En general, la magnetización inducida en un material paramagnético es muy pequeña en comparación con los materiales ferromagnéticos.

En los materiales ferromagnéticos, la respuesta magnética es compleja debido a su alto ordenamiento de los momentos, lo que resulta en una fuerte interacción entre ellos incluso en ausencia de un campo externo. Esto hace que los momentos estén acoplados y se alineen cooperativamente bajo la aplicación de un campo magnético externo. La magnetización resultante en un material ferromagnético es varios órdenes de magnitud superior que en los materiales paramagnéticos. Además, en los materiales ferromagnéticos, los momentos permanecen alineados después de retirar el campo magnético externo, y para desmagnetizarlos es necesario aplicar un campo en dirección contraria. El ciclo de histéresis es útil para entender este proceso. La respuesta magnética de los materiales ferromagnéticos también tiene una dependencia térmica, y existe una temperatura crítica, la Temperatura de Curie (T_c), por encima de la cual el material pierde su comportamiento ferromagnético y se comporta como un paramagneto. Además de estos materiales, también existen los materiales antiferromagnéticos y los materiales ferrimagnéticos, cada uno con propiedades magnéticas específicas.

El comportamiento magnético de los materiales sin la presencia de un campo magnético externo puede ser ferromagnético, antiferromagnético o ferrimagnético. En los dos primeros, no hay momentos magnéticos inherentes, mientras que en el último sí hay una interacción entre los momentos atómicos. En los materiales antiferromagnéticos y ferrimagnéticos, los momentos magnéticos están ordenados de tal manera que la suma de todos los momentos no es cero, incluso en ausencia de un campo magnético aplicado. Estos materiales se caracterizan por un alto ordenamiento de sus momentos y se acoplan entre sí de manera cooperativa.


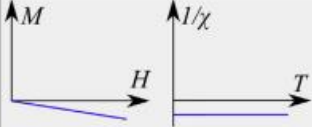

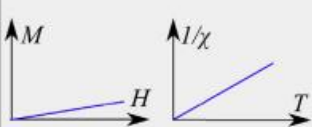
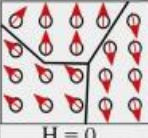
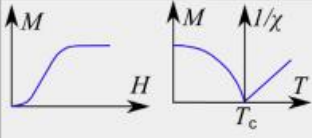
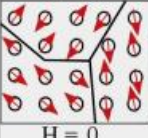
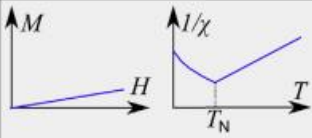

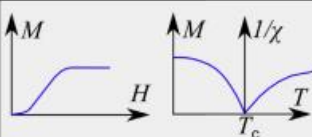
Magnetism	Examples	Magnetic behaviour	
Diamagnetism	Bi, Si, Cu, inert gases Susceptibility small and negative (-10^{-6} to -10^{-5})	 H = 0	Atoms have no magnetic moments. 
Paramagnetism	Al, O ₂ , MnBi Susceptibility small and positive (10^{-5} to 10^{-3})	 H = 0	Atoms have randomly oriented magnetic moments. 
Ferromagnetism	Fe, Ni, Co, Gd Susceptibility large (generally > 100)	 H = 0	Atoms are organized in domains which have parallel aligned magnetic moments. 
Antiferromagnetism	Cr, MnO, FeO Susceptibility small and positive (10^{-5} to 10^{-3})	 H = 0	Atoms are organized in domains which have antiparallel aligned magnetic moments. 
Ferrimagnetism	Fe ₃ O ₄ , MnFe ₂ O ₄ , NiFe ₂ O ₄ Susceptibility large (generally > 100)	 H = 0	Atoms are organized in domains which have a mixture of unequal antiparallel aligned magnetic moments. 

Figura 5 Comportamiento de los materiales magnéticos [72].

En un material magnético, cuando se le aplica un campo H , los momentos magnéticos se alinean formando arreglos antiparalelos, dando lugar al comportamiento antiferromagnético. En las sustancias antiferromagnéticas, las susceptibilidades varían con la temperatura, alcanzando un máximo en la temperatura de Néel, T_N . Por encima de esta temperatura, la sustancia se comporta como un paramagnético.

Por otro lado, los materiales ferrimagnéticos presentan una formación de momentos magnéticos de tal manera que los arreglos son antiparalelos, pero el momento total no es cero. Estos materiales poseen una estructura cristalina en la que los momentos magnéticos de los átomos están alineados, produciendo campos magnéticos opuestos en diferentes partes del cristal. A temperatura ambiente, se produce una magnetización espontánea en estos materiales, pero este efecto desaparece a temperaturas superiores a la temperatura crítica o temperatura de Curie, momento en el cual el material se comporta como un paramagnético. A pesar de esto, los materiales ferrimagnéticos se utilizan en diversas aplicaciones.

Dentro de los materiales ferrimagnéticos se encuentran los materiales magnéticos de óxido, como las ferritas (no todas), en las que el número de espines asociados a los sitios cristalográficos específicos no es igual [73], y en sus subredes, los momentos se acoplan de forma antiferromagnética, de manera que los momentos magnéticos están asociados con los sitios cristalográficos específicos. A nivel macroscópico, el comportamiento de los ferrimagnetos es similar al ferromagnético [74].

Las ferritas son compuestos químicos con fórmulas $MOFe_2O_3$ o MFe_2O_4 , que presentan estructuras cristalinas cúbicas o hexagonales. El ion M representa un ion metálico bivalente con un radio de 0.06-0.1 nm, y la mayoría de las ferritas son magnéticamente suaves, lo que significa que el movimiento en sus dominios ocurre a campos magnéticos débiles ($H \leq 10^3$ A/m). Las principales ferritas se componen de metales de transición como Co, Mn, Ni, Zn, Fe, o una mezcla de varios iones con una valencia promedio de 2, como en el caso de la maghemita. Además, el ion Fe^{+3} puede ser parcial o completamente sustituido por otro ion trivalente, lo que da lugar a ferritas mixtas con fórmula $M_xFe_{3-x}O_4$, donde x representa el porcentaje de ion sustituido.

3.2.- Espinelas

El mineral $MgAl_2O_4$ se conoce como espinela y es el origen del nombre para las ferritas espinela, cuya fórmula general es MFe_2O_4 . La estructura de la espinela consta de dos tipos de sitios de iones metálicos en la celda unidad: sitios tetraédricos (A) y octaédricos (B), con aniones de oxígeno O^{2-} en una red cúbica compacta. La fórmula de las ferritas espinela se representa como $[M_{1-y} Fe_y]_A [M_y Fe_{2-y}]_B O_4$, donde y es el grado de inversión ($0 \leq y \leq 1$). La estructura de la espinela tiene una celda unidad que contiene 32 aniones de oxígeno, 64 sitios tetraédricos y 32 sitios octaédricos, de los cuales 8 y 16, respectivamente, se ocupan. Los arreglos de los iones en las subredes A y B dan lugar a las formaciones tetraédricas y octaédricas. La espinela puede ser normal o inversa (Figura 6) según el acomodo de los iones metálicos en los sitios A y B. La espinela normal tiene una fórmula $[A]_I [B_2]_O O_4$ y se forma con iones bivalentes M^{+2} en los sitios tetraédricos y iones trivalentes Fe^{+3} en los sitios octaédricos disponibles. Un ejemplo de espinela normal es la ferrita $MnFe_2O_4$.

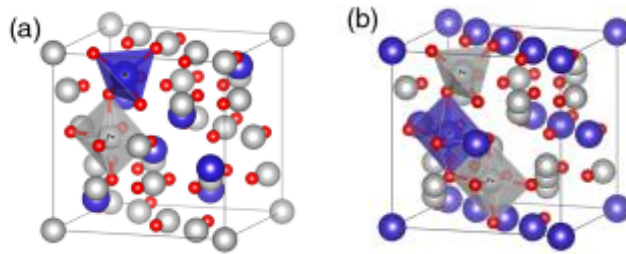


Figura 6 Estructura de espinela (a) normal e (b) inversa [167].

La estructura de la espinela inversa depende del acomodo de los iones trivalentes en las subredes A y B, y de los iones bivalentes en la subred A. Su fórmula general es $[B]_t [A, B]_o O_4$. Por otro lado, la espinela mixta se forma cuando hay una combinación de iones metálicos de diferentes tipos en ambas subredes, y su fórmula general es dada como $[A_{1-x} B_x]_t [A_x B_{1-x} B]_o O_4$, donde x es el porcentaje de iones que fueron parcialmente reemplazados. El acomodo de los iones en las subredes se ve afectado por el campo cristalino, el tamaño del catión y la valencia. De acuerdo con lo reportado por Navrotsky y Kleppa [75], los cationes tienden a ocupar sitios tetraédricos u octaédricos de acuerdo con sus preferencias. Lo cual no significa que los cationes sólo se ubican en una determinada subred, sino que los cationes tienen afinidad por ordenarse más en una subred, por ejemplo, el ion trivalente Fe^{+3} tiende a estar en la subred tetraedra, mientras que Fe^{+2} en la octaeter dral [76]. Además, no todas las ferritas son ferrimagnéticas, y su comportamiento magnético depende de los tipos de cationes y su distribución en las subredes A y B. Por ejemplo, $ZnFe_2O_4$ tiene un comportamiento paramagnético debido a que los iones en B no están ordenados de forma antiferromagnética.

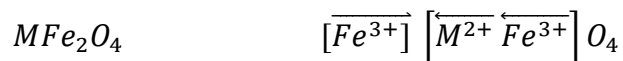
3.2.a Magnetismo en espinelas MFe_2O_4

Las propiedades magnéticas de las ferritas con estructura de espinelas se deben al acomodo de los iones en las subredes A y B, así como a la interacción entre ellos. Los iones en la subred A y B se magnetizan en una sola dirección, pero en sentido opuesto entre ellas, y sus momentos magnéticos no tienen la misma magnitud.

Por otro lado, la interacción de intercambio de los electrones de valencia de los cationes en las subredes A y B es un factor importante que influye en el momento magnético y en las propiedades magnéticas de los óxidos metálicos [77]. En cuanto a los metales de transición u óxidos 3d, el momento magnético está dado por el número de espines desapareados. Sin

embargo, existen discrepancias entre los valores teóricos y experimentales de los momentos magnéticos, que podrían deberse a interacciones de superintercambios complejos entre los iones bivalentes mediante los iones O^{2-} .

La distribución de los iones en las subredes A y B tiene efectos en el comportamiento magnético, particularmente en la magnetización. En una ferrita inversa, la saturación de magnetización es igual al momento del ion bivalente, ya que los iones Fe^{3+} están distribuidos igualmente en las subredes A y B, cancelándose sus momentos. Para ilustrar esto, se presenta a continuación la fórmula general con los espines correspondientes de los iones:



En algunos materiales, los valores de los momentos netos obtenidos teórica y experimentalmente son muy cercanos. Esta discrepancia puede deberse a dos factores principales: (i) los momentos orbitales no se satisfacen completamente o (ii) la estructura no es una espinela inversa pura. En el segundo punto, se considera que el tratamiento térmico puede influir en la distribución de los iones en los sitios A y B. De hecho, factores como la temperatura, velocidad de enfriamiento y tratamiento térmico durante la síntesis del material pueden variar el ordenamiento de los iones.

La saturación magnética en las ferritas depende de la temperatura. En la literatura, se han reportado resultados de experimentos donde se miden tanto a temperatura ambiente como cerca del 0 °K, y se ha observado que hay una mayor saturación a dicha temperatura. En esta temperatura, se puede calcular la saturación conociendo el momento de cada ion, la distribución de los iones en las subredes y teniendo en cuenta la interacción entre las subredes A y B, que es negativa, y entre los iones dentro de cada subred.

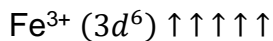
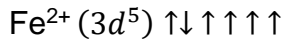
3.2.b Magnetita

El óxido de hierro presenta varias fases, entre las cuales se destacan la maghemita ($\gamma-Fe_2O_3$), hematita ($\alpha-Fe_2O_3$) y magnetita, que exhiben un comportamiento magnético. La hematita es un material antiferromagnético, mientras que la maghemita y la magnetita son ferrimagnéticos. Como se mencionó anteriormente, los materiales ferrimagnéticos se

comportan de manera similar a los ferromagnéticos, con remanencia, dependencia de la magnetización en la historia magnética y temperatura de ordenamiento magnético.

La magnetita es una de las ferritas más utilizadas, con una estructura de espinela cúbica inversa cuya fórmula es $[Fe^{3+}]_T [Fe^{2+} Fe^{3+}]_O O_4$, donde los subíndices T y O corresponden a los sitios intersticiales tetraédricos y octaédricos, respectivamente, que describen la ubicación de los iones bivalentes Fe^{2+} y trivalentes Fe^{3+} en la estructura de la espinela.

Cada unidad de fórmula de la magnetita se puede describir como dos subredes antiparalelas A y B, donde A está formada por un ion Fe^{3+} y B por un ion de Fe^{2+} y un ion Fe^{3+} . La estructura se compone de 8 iones Fe, 16 iones O^{2-} y 32 iones O^{2-} . De acuerdo con las reglas de Hund:



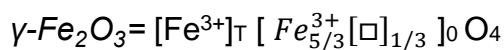
Los iones de transición $3d$, $Fe^{2+} (3d^5)$ y $Fe^{3+}(3d^6)$, son iones del hierro con estados de oxidación +2 y +3, respectivamente. Como se mencionó anteriormente, en los óxidos $3d$ el momento magnético (incluyendo el atómico y el momento neto) está determinado por el espín. Este momento, en términos de μ_B , es igual al número de espines desapareados. En el caso de la magnetita, cada unidad contiene 2 iones férricos Fe^{3+} antiparalelos y un ion ferroso Fe^{2+} , donde un ion Fe^{3+} está ubicado en la subred A y otro ion está en la subred B con un ion Fe^{2+} . Claramente, ambas subredes son antiparalelas. Por lo tanto, el momento de la magnetita es el correspondiente al ion Fe^{2+} , que contiene 4 espines desapareados, es decir, el momento es $\mu = 4 \mu_B$. Una buena aproximación para el valor experimental es $\mu = 4.1 \mu_B$ [73].

La magnetita bulk se vuelve superparamagnética en nanopartículas con tamaños menores a 20 nm, y presenta propiedades ferromagnéticas a una temperatura de Curie de 585 °C. El momento magnético, así como el comportamiento de la magnetita, dependen de la estructura cristalina que se forma. En este caso, la estructura formada es una espinela cúbica inversa que crea la dirección $[1,1,1]$, perteneciente al grupo espacial $Fd\bar{3}m (227)$, donde el parámetro de red reportado para la magnetita es $a = 8.39 \text{ \AA}$. La saturación magnética reportada para la magnetita es $M \approx 84 \text{ emu/g}$ a 300 °K, debajo del bulto y disminuye en función de la disminución de tamaño, su valor que depende de diversos factores, como distribución de tamaño, forma, superficie, composición, entre otros.

En algunos óxidos, ocurre un proceso conocido como intercambio indirecto. En el caso específico de la magnetita, se produce un mecanismo especial llamado superintercambio, que se describe mediante la ecuación $J_{ij} = J(R_j) - J(R_i) < 0$. Este proceso es mediado por los electrones $2p$ de los iones de oxígeno O^{2-} , los cuales separan los cationes Fe^{2+} . El superintercambio A-O-B presenta un ángulo de formación de 125° entre los enlaces y es antiferromagnético. Además, en algunos óxidos con diferentes valencias, también es posible que ocurra otro mecanismo importante conocido como doble intercambio. En el caso de la magnetita, los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} son considerados como dos iones Fe^{3+} más un electrón, y este electrón salta entre los alrededores de Fe^{3+} . Esta interacción está sujeta a las reglas de intercambio ferromagnético de Hund [73].

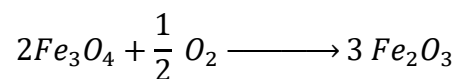
3.2.c Maghemita

La maghemita $\gamma-Fe_2O_3$ es una de las formas minerales del óxido de hierro (III). Se presenta cuando la magnetita se oxida y, al igual que ésta, posee una estructura de espinela cúbica. Sin embargo, a diferencia de la magnetita, no contiene iones Fe^{2+} en su estructura, sino que se da la formación de vacancias en la subred B. En su estructura, los iones Fe^{3+} se ubican de manera desigual en los sitios tetraédricos y octaédricos, por lo que se puede escribir con la fórmula



donde $[\square]$ representa los espacios vacantes.

La maghemita presenta un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente. Como se mencionó antes, el acomodo de los iones en las redes, así como la interacción entre las mismas, son un determinante para el comportamiento magnético en los materiales. En el caso de la maghemita, debido a la desigualdad en la distribución de iones en las subredes A y B, ésta se comporta en forma ferrimagnética. Como en los espines Fe^{3+} están desapareados y considerando la desigualdad de la distribución de los iones en las redes tetraédrica y octaédrica, el momento magnético es de $5 \mu_B$ por molécula, con una saturación magnética menor que la magnetita debajo del bulbo 74 emu/g .



3.3 Anisotropía magnética

La anisotropía es una propiedad física que depende de la dirección y se manifiesta en la preferencia de orientación de la magnetización, conocida como anisotropía magnética. En esta propiedad, los parámetros de permeabilidad y susceptibilidad pueden depender de la magnetización y la dirección del campo aplicado. La importancia de esta propiedad radica en que es el origen de la histéresis y la coercitividad [73]. Los tipos de anisotropía magnética incluyen:

- Anisotropía cristalina o magnetocristalina
- Anisotropía de forma
- Anisotropía por estrés
- Anisotropía por intercambio
- Anisotropía inducida (por irradiación, alineamiento magnético, deformación) [78].

En un material, puede haber varios tipos de anisotropía, aunque a veces uno de ellos puede ser más importante que los demás. Algunas anisotropías son causadas por factores externos, mientras que la anisotropía cristalina es intrínseca al material.

En un material magnético, la densidad de energía de anisotropía, K , se refiere a la cantidad de energía necesaria para cambiar la dirección de magnetización en una dirección particular, en relación con la estructura física del material [79]. En nanopartículas magnéticas, la anisotropía se refiere a la energía necesaria para cambiar la dirección de magnetización en 180 grados. Esta energía proviene de los efectos de la estructura cristalina y las interacciones magnéticas en ella. Por lo tanto, la anisotropía en nanopartículas magnéticas se refiere a la relación entre las propiedades magnéticas de las nanopartículas y la dirección, ya sea debido a su estructura cristalina o su forma.

El modelo fenomenológico más sencillo de anisotropía es la anisotropía uniaxial de segundo orden. En este modelo, hay un eje de preferencia en la orientación del momento magnético que puede estar alineado de forma paralela o antiparalela con la misma probabilidad. La anisotropía uniaxial en un magneto de volumen V está representada por la ecuación $E_a/V = k_1 \sin^2\theta$, donde k_1 es la constante de anisotropía. Si $k_1 > 0$, la energía tiene un mínimo en $\theta = 0, \pi$ y se le conoce como anisotropía de eje fácil, que es paralelo al eje de simetría. Si

$k_1 < 0$, el mínimo de la energía está en $\theta = \pi/2$, y se le conoce como anisotropía de plano fácil.

La generalización de la densidad de energía de anisotropía en un magneto de volumen V es

$$\frac{E_a}{V} = k_1 \sin^2\theta + k_2 \sin^4\theta + k_3 \sin^6\theta \quad (1)$$

donde k_i son las constantes de aproximación de la anisotropía uniaxial de i -ésimo orden. El signo de k_1 indica la forma de la energía superficial. Si $k_1 > 0$, se tiene un esferoide oblató y si $k_1 < 0$, se tiene un esferoide prolato a lo largo del eje z .

En ausencia de un campo externo, la magnetización tiende a orientarse en la dirección donde se tiene una energía mínima. Para $k_1 > 0$, la magnetización se orienta a lo largo del eje z , y para $k_1 < 0$, la magnetización puede estar en cualquier dirección sobre el plano x - y . La anisotropía de mayor orden ocurre en los ángulos entre $0 < \theta < \pi/2$, y se le conoce como magnetismo de cono fácil, que ocurre cuando $k_1 < 0$ y $k_2 > -k_1/2$ [73].

En el caso de materiales con estructura cristalina cúbica, la forma de la densidad de energía está dada por

$$\frac{E_a}{V} = k_1 (S_x^2 S_y^2 + S_y^2 S_z^2 + S_x^2 S_z^2) \quad (2)$$

donde la dirección preferencial $[uvw]$ se encuentra en planos identificados como (hkl) [73]. Aunque en la mayoría de los casos, la anisotropía uniaxial es una buena aproximación, existen estructuras cuya forma no es uniaxial, sino que, al ser cristalina, puede ser cúbica o hexagonal.

3.4 Histéresis

La aplicación de un campo externo en un material produce un efecto distintivo que permite identificar materiales magnéticos. Los materiales magnéticos, tales como los diamagnéticos, paramagnéticos, ferromagnéticos y ferrimagnéticos, tienen una orientación específica de sus momentos magnéticos en ausencia de un campo externo. Al aplicar un campo externo H , se observa un incremento en la magnetización. Si el campo H es lo suficientemente intenso, el material alcanzará su magnetización de saturación, estado en el cual el material magnético alcanza su máxima magnetización posible en un campo

magnético dado, y no puede ser magnetizado más independientemente de la magnitud de campo magnético aplicado.

Si se reduce el campo aplicado a un valor $H=0$ después de alcanzar la magnetización de saturación, se observa que la magnetización del material magnético no desaparece por completo, sino que se mantiene una cierta cantidad, llamada remanencia. Luego se reduce el campo magnético a un valor negativo y finalmente se retorna al punto inicial, completando un ciclo, denominado ciclo de histéresis. Dicho ciclo varía en tamaño y forma dependiendo del material magnético (Figura 7). Por lo tanto, el ciclo de histéresis es una herramienta útil para caracterizar los materiales magnéticos y su comportamiento bajo diferentes campos magnéticos.

La histéresis se caracteriza por la retención de una cierta cantidad de magnetización en el material después de retirar el campo magnético externo. Es una propiedad que permite observar un retraso en la disminución de la magnetización del material con respecto a la disminución del campo externo aplicado [79]. La formación de la histéresis también depende de la manera en que se forman los dominios magnéticos, es decir, si el material es monodominio o multidominio. Al aplicar el campo magnético oscilante en una muestra multidominio, las paredes de los dominios pueden moverse o puede haber una reorganización de los dominios, mientras que, en el caso de un monodominio, la aplicación del campo favorecería la rotación de los momentos, y esta misma sería reversible [79].

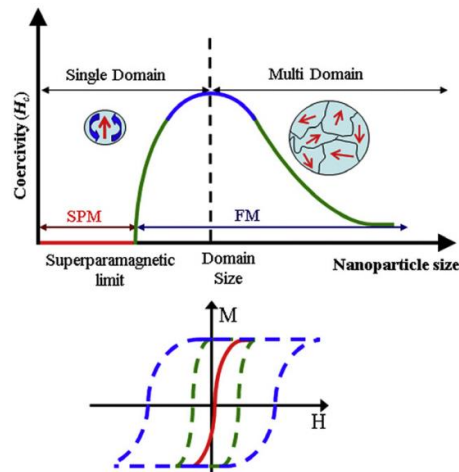


Figura 7 Comportamiento magnético y estructuras de dominio magnético dependientes del tamaño [168].

3.5 Dominios magnéticos

Los dominios magnéticos se forman como una configuración de reducción de la energía magnetostática de un sólido, ya que de lo contrario sería demasiado grande [80].

Estos dominios son áreas dentro de un material donde la magnetización tiene direcciones diferentes, pero en promedio la magnetización del material es cero [76]. Las áreas están separadas por paredes finas llamadas paredes de dominio, que pueden ser de dos tipos: paredes de Bloch o paredes de Néel. Las paredes de Néel se forman entre dos dominios magnéticos con orientaciones opuestas, mientras que las paredes de Bloch se forman entre dos dominios magnéticos con orientaciones similares.

En materiales uniaxiales, el grosor de las paredes se estima como

$$\delta_B = \pi \sqrt{\frac{A}{k_1}}, \quad (3)$$

donde A es la energía de intercambio y k_1 es la constante de anisotropía. El valor de la constante de anisotropía, k_1 , es determinante para el ancho de la pared. Las paredes finas se forman en presencia de grandes gradientes en la magnetización. En general, la amplitud de los dominios depende de varios factores en cada material magnético, pero su rango oscila entre 5 y 100 nm para materiales magnéticos duros y blandos, respectivamente [73].

La formación de los dominios magnéticos implica un gasto de energía magnetostática, lo que significa que no es posible formar un número ilimitado de dominios en un sistema [73]. Además, la formación de dominios implica la generación de paredes de dominio, las cuales almacenan energía por unidad de área. La distribución de los dominios también puede afectar la cantidad de energía gastada o almacenada.

La configuración de multidominios magnéticos puede verse afectada por la aplicación de un campo externo, lo que puede alterar, desplazar o eliminar las paredes entre los dominios y cambiar su forma o estructura (Figura 8). Este movimiento se debe a que los momentos magnéticos son inducidos a cambiar su dirección hacia la del campo aplicado, lo que hace que las paredes se desplacen o desaparezcan [78].

El material magnético puede tener monodominios o multidominios, dependiendo de sus características, composición química y estructural, tamaño y temperatura. Cuando el tamaño del material magnético es muy pequeño, se requiere más energía para formar los dominios, lo que resulta en un material monodominio en el que todos los momentos están orientados en la misma dirección sin la necesidad de un campo externo [79].

Las partículas monodominio son partículas magnéticas de tamaño suficientemente pequeño (entre 2 y 100 nm) que contienen un solo dominio magnético. Para ser un monodominio, una partícula debe cumplir ciertos requisitos, esencialmente que su diámetro sea menor que el grosor de las paredes de dominio. Si el diámetro excede el grosor, puede formarse una pared y, por lo tanto, la partícula tendrá más de un dominio magnético.

El diámetro crítico para la formación de la partícula monodominio es

$$D_c \approx 9 \frac{\sqrt{A k_u}}{\mu_0 M_s^2}, \quad \text{para } k_u \text{ grande} \quad (4)$$

$$D_c \approx \sqrt{\frac{9A}{\mu_0 M_s^2}} \quad \text{para } k_u \text{ pequeña.} \quad (5)$$

La determinación del diámetro crítico no es una tarea fácil, ya que está influenciado por varios factores, como la energía magnetostática que depende de la saturación magnética de la partícula y su geometría. No existe una única fórmula para su cálculo, y su valor puede variar en función de la constante de anisotropía. Además, su cálculo depende tanto de las propiedades intrínsecas del material como de la forma de la partícula, ya sea esférica, alargada, entre otras.

Sin embargo, obtener partículas con características definidas es difícil experimentalmente debido a la variabilidad en tamaño y forma que puede surgir debido a factores como la temperatura y el proceso de preparación.

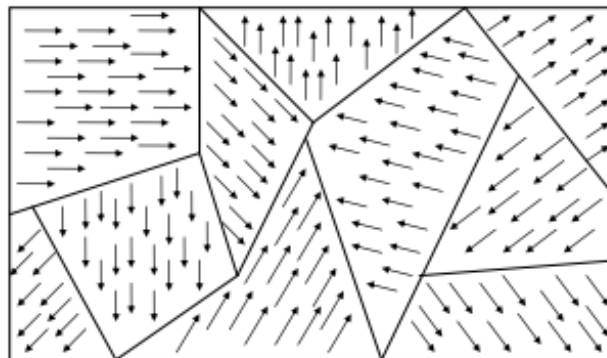


Figura 8 Representación esquemática de los multidominios.

La aplicación de un campo externo en sistemas de múltiples dominios a menudo provoca cambios en los dominios, mientras que en las partículas monodominio, solo genera una rotación de los momentos dentro del dominio. Este proceso de devolver los momentos a su estado original antes de la aplicación del campo externo es reversible, pero se requiere un campo más fuerte para hacerlo en comparación con el campo necesario para mover una pared de dominio. Como resultado, se obtiene una mayor intensidad del campo coercitivo en comparación con los materiales en bulto. La transición de un estado multidominio a un estado monodominio también aumenta la intensidad del campo coercitivo.

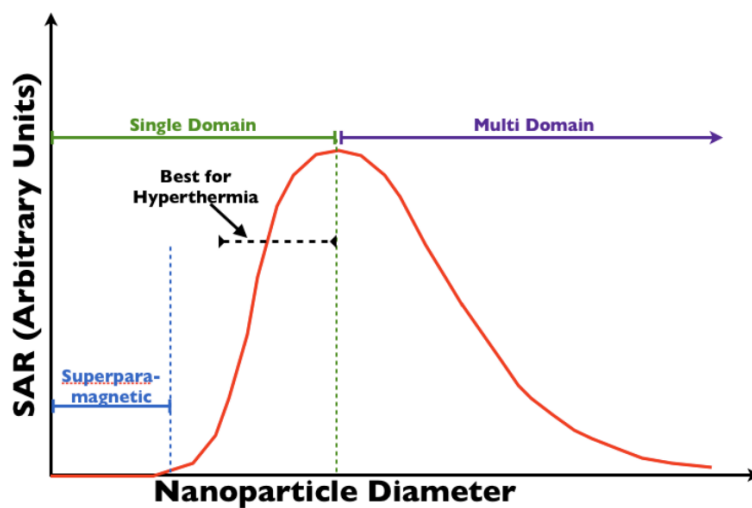


Figura 9 Dependencia del tamaño de partícula para su uso en hipertermia magnética.

3.6 Superparamagnetismo

En un ferromagneto de gran tamaño, se busca reducir la energía interna a través de la formación espontánea de dominios magnéticos. Sin embargo, cuando se reduce el tamaño de una partícula, esta puede convertirse en un monodominio si se alcanza el radio crítico. En ese estado, la partícula está magnetizada de manera uniforme y se puede describir como un "súper espín". La reducción en el tamaño de la partícula puede continuar hasta llegar a una partícula con solo cientos de átomos. Es importante destacar que un monodominio no siempre es superparamagnético.

Las partículas superparamagnéticas, por definición, carecen de coercitividad y magnetización remanente [79]. En una partícula superparamagnética, la dirección de la

magnetización cambia constantemente y ya no está determinada por factores como la anisotropía o la forma de la partícula, sino que puede ser afectada por los efectos térmicos. La temperatura a la que una partícula se comporta como superparamagnética se conoce como temperatura de bloqueo y depende del tipo de material/partícula y del campo magnético aplicado. El valor de la temperatura de bloqueo se puede calcular con la fórmula $T_B = KV/(25k_B)$. Mientras la temperatura sea menor que la temperatura de bloqueo, la magnetización aumentará con la temperatura [77].

Si la temperatura es elevada ($T > T_B$), puede provocar que la dirección de la magnetización de la partícula cambie entre dos direcciones sin necesidad de un campo magnético externo [76]. Cuando se aplica un campo externo, los momentos magnéticos intentan alinearse en la dirección del campo, pero la energía térmica los desalinea.

Aunque la configuración superparamagnética puede parecerse a la de un material paramagnético, existen dos diferencias clave: (i) no hay histéresis y (ii) el comportamiento de la magnetización se rige por la ley de Langevin en lugar de la saturación. Como se mencionó anteriormente, debido a la falta de histéresis, la desmagnetización no requiere un campo coercitivo. Es decir, cuando se retira el campo externo, las partículas se desmagnetizan y no se agrupan.

El tamaño de partícula necesario para un comportamiento superparamagnético estable se estima en

$$r_0 \approx \left(10 \frac{K_B T}{K}\right)^{1/3} \approx 7.3 \text{ nm} \quad (6)$$

donde K_B es la constante de Boltzmann, K es la constante de anisotropía y T es la temperatura.

Las partículas superparamagnéticas tienen una susceptibilidad magnética mucho mayor que las partículas paramagnéticas. En un campo magnético externo, actúan como paramagnetos monodominios, pero con una mayor susceptibilidad.

Para que una partícula sea considerada superparamagnética según la relajación de Néel, su tiempo τ_N debe ser menor a 10^2 s . Esto limita el tamaño máximo de la partícula a $v = 25 K_B T / K_u$. La magnetización de un sistema de nanopartículas superparamagnéticas se puede estimar como una agregación de nanopartículas paramagnéticas con un momento

magnético grande. En el caso clásico, la función de Langevin, que depende del campo magnético aplicado H , se usa para calcular el momento total M_{SPM}

$$M_{SPM} = N_{SPM}\mu_{SPM} \left\{ \coth \left[\frac{\mu_0\mu_{SPM}H}{k_B T} \right] - \frac{k_B T}{\mu_0\mu_{SPM}H} \right\}, \quad (7)$$

donde μ_{SPM} es el momento magnético por partícula, N_{SPM} es el número de partículas con momento μ_{SPM} [79].

3.7 Relajación magnética

La relajación magnética es un fenómeno que se observa en materiales magnéticos, donde la magnetización de los mismos se vuelve paralela a un campo magnético externo. Este proceso ocurre debido a la tendencia de los momentos magnéticos de las partículas a alinearse con la dirección del campo externo. Al aplicar un campo magnético H de alta frecuencia a partículas magnéticas, se provoca un cambio en su magnetización M , alineando los momentos con la dirección de H . Cuando el campo se reduce a cero, la magnetización disminuye debido a la energía térmica de las partículas, generando calor por la oscilación de las nanopartículas. Este proceso se puede describir matemáticamente utilizando ecuaciones que describen la interacción de los momentos magnéticos con el campo externo y la energía térmica de las partículas.

Existen dos tipos principales de relajación magnética: la relajación Néel y la relajación Brown (Figura 10). La relajación Néel se produce en nanopartículas magnéticas y es causada por la rotación de los momentos magnéticos para ajustarse al campo externo.

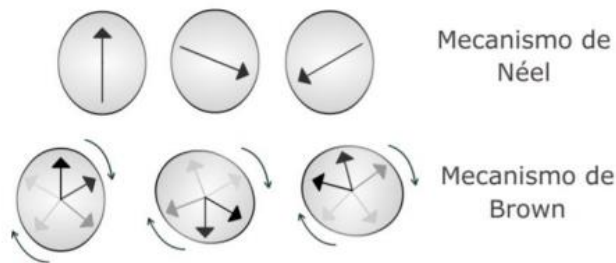


Figura 10 Mecanismos de relajación magnética

3.7.a Relajación de Néel

Según la propuesta de Néel, la relajación sólo ocurre en partículas monodominio suficientemente pequeñas (del orden de nanómetros) que están en una transición hacia el estado superparamagnético. Durante este proceso, el momento magnético de las nanopartículas gira internamente para alinearse con la dirección del campo H [81]. La energía magnética se convierte en energía térmica a través de la rotación del momento de la partícula, que oscila entre dos orientaciones estables antiparalelas dentro de un campo magnético. Estas orientaciones están separadas por una barrera de energía. El tiempo de oscilación entre los dos estados, denotado por τ_N , se puede calcular utilizando la siguiente fórmula:

$$\tau_N = \tau_A \left(\frac{\sqrt{\pi}}{2} \right) \sqrt{\frac{k_B T}{V_M K}} \exp \left(V_M K / k_B T \right) \quad (8)$$

donde τ_A es la frecuencia de intento, V_M es el volumen magnético, T es la temperatura y K es la anisotropía. La fórmula incluye todas las contribuciones de la anisotropía, incluso si no hay un campo magnético presente. Si hay un campo magnético presente, se utiliza la siguiente fórmula:

$$\tau_N = \tau_A \left(\frac{\sqrt{\pi}}{2} \right) \sqrt{\frac{k_B T}{V_M K - H M \cos \theta}} \exp \left(V_M K - H M \cos \theta / k_B T \right) \quad (9)$$

donde θ es el ángulo entre la magnetización M y el campo magnético aplicado H [79]. En un caso más simple, cuando el eje de simetría está alineado con el eje polar, el tiempo se simplifica a:

$$\tau_N = \tau_0 \exp \left(kV / k_B T \right) \quad (8)$$

donde V es el volumen de las partículas y τ_0 está en el rango de $10^{-9} - 10^{-11}$ s para sistemas superparamagnéticos. El término kV se refiere a la barrera de anisotropía magnética que las partículas magnéticas deben superar para cambiar de dirección durante su rotación. Sin embargo, el mecanismo de relajación Néel no es adecuado para la hipertermia debido a las frecuencias dominantes [82].

3.7.b Relajación de Brown

El mecanismo que produce el efecto es la rotación física de las nanopartículas en un fluido bajo la acción de un campo magnético alterno externo. Durante este proceso, los momentos magnéticos de las partículas pueden alinearse con el campo aplicado, y la rotación ocurre cuando el momento magnético está anclado al eje cristalino y rota junto con la partícula.

Por otro lado, la relajación de Brown ocurre en materiales magnéticos debido a la transferencia de energía térmica desde las partículas hasta su entorno. El tiempo de relajación de Brown se puede calcular utilizando la ecuación:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \quad (9)$$

donde η es la viscosidad del fluido y V_H el volumen hidrodinámico, que puede ser más grande que el núcleo de la partícula magnética si hay un posible recubrimiento. Esta ecuación es válida siempre y cuando el campo aplicado sea pequeño.

Se define el tiempo de relajación efectivo, τ_R , dado como

$$\frac{1}{\tau_R} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N} \quad (10)$$

que tiene en cuenta la relajación de Brown y Néel, y se calcula como la inversa de la suma de las inversas de los tiempos de relajación de cada mecanismo. Aunque ambos procesos pueden ocurrir de forma independiente, según [83], también pueden ocurrir en paralelo. En general, en partículas suficientemente pequeñas combinadas con altas frecuencias, predomina la relajación de Néel [84], mientras que, en partículas grandes, predomina la relajación de Brown [85]. De la gráfica en la Figura 11 se puede observar que, para partículas magnéticas muy grandes, el tiempo de relajación es aproximadamente igual a τ_B .

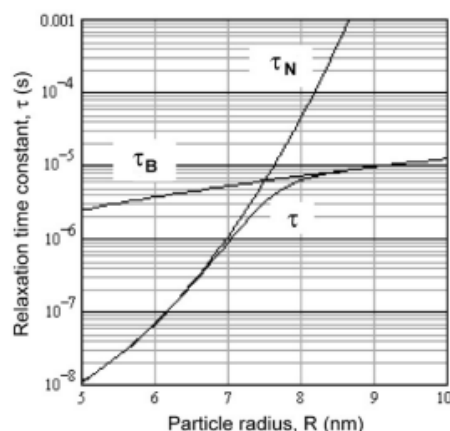


Figura 11 Tiempo de relajación dependiente del tamaño de partícula [83].

En términos de potencia de calentamiento, el mecanismo de relajación más rápido es el que prevalece, aunque distinguir entre ambos mecanismos no es fácil [86]. Hasta ahora, se han considerado sistemas de partículas idénticas no interactuantes.

3.8 Hipertermia magnética

La técnica de Hipertermia fue desarrollada por Gilchrist y su equipo en 1957. Se basa en el uso de MNPs que son dirigidas a tumores específicos. Bajo la acción de un campo magnético alternativo de frecuencia comprendida entre 100KHz y 1MHz, las MNPs generan calor en el interior del cuerpo [87]. Gracias a esto, se logra una temperatura de 40-44°C en las células, lo que puede causar apoptosis o necrosis en las células cancerosas sin dañar los tejidos circundantes. Esta técnica resulta eficaz en aplicaciones biomédicas de partículas magnéticas de escala macroscópica.

La hipertermia es una técnica en desarrollo para el tratamiento de células malignas. Consiste en el uso de MNPs bajo el efecto de un campo magnético alterno que generan calor y actúan como nanocalentadores, convirtiendo la energía del campo en calor [88].

El tratamiento con hipertermia magnética contra el cáncer ofrece varias ventajas. Algunas de estas son: la ausencia de radiación ionizante, la capacidad de penetrar profundamente en el cuerpo sin limitaciones, el calentamiento localizado y el cuidado de los tejidos circundantes, su naturaleza no invasiva y la posibilidad de tratar un tumor completo. Antes de profundizar en la metodología de esta técnica, es importante entender los principios físicos detrás de la generación de calor por parte de las partículas utilizadas.

El superparamagnetismo se produce cuando la reducción en el tamaño de las partículas provoca un cambio aleatorio en la dirección de magnetización entre dos estados estables, incluso sin un campo magnético externo. Sin embargo, bajo un campo alterno, las nanopartículas actúan como paramagnetos monodominio con mayor susceptibilidad magnética. La aplicación de un campo alterno hace que las partículas oscilen entre los dos estados, causando pérdida en la histéresis y generación de calor. El proceso que lleva a la generación de calor a través de la conversión de energía fue descrito por Néel. Según el mecanismo de relajación de Néel, se libera energía cuando el dipolo magnético de la partícula oscila entre las dos orientaciones estables dentro de un campo magnético. Mientras que el mecanismo de relajación de Brown tiene en cuenta la colisión y la rotación aleatoria de las partículas bajo el campo magnético alterno [89].

Consideremos un conjunto de partículas magnéticas que están bajo la acción de un campo magnético alterno ($\mu_0 H_{max}$) de frecuencia f . El calor liberado por las partículas, denotado como SAR, está dado como el producto de f por el área del ciclo de histéresis. Se debe tener en cuenta que dicha área no solo refleja la pérdida de energía debido a la generación de calor, sino también la pérdida de histéresis. En la literatura existe un debate sobre esta cuestión, ya que no existe un único método para describir la histéresis. De hecho, el cálculo del área del ciclo de histéresis depende de diversos parámetros. Aunque hay varios modelos teóricos para determinar el área, la elección depende de la magnitud de la anisotropía, la frecuencia del campo externo, la temperatura, el tamaño de las partículas, etc. Por lo cual, el modelo más adecuado dependerá del rango de valores que tengan los factores anteriores. Los modelos más conocidos incluyen las funciones de equilibrio, el modelo de Stoner-Wohlfarth, el modelo de partículas monodominio uniaxiales en un campo magnético y la teoría de respuesta lineal. Cada uno de estos modelos se basa en diferentes consideraciones y son válidos bajo ciertas circunstancias. El modelo Stoner-Wohlfarth es una de las teorías más utilizadas cuando la anisotropía de las partículas es pequeña, mientras que la teoría de respuesta lineal es la otra teoría válida para valores grandes de K .

El modelo de histéresis de Stoner-Wohlfarth (1948) o modelo de rotación coherente, considera agitaciones térmicas para obtener la dependencia temporal de la magnetización $M(t)$ de un sistema ordenado de nanopartículas magnéticas idénticas y no interactuantes, de volumen V , anisotropía constante y magnetización de saturación M_s , cuyos ejes de anisotropía están alineados con un campo externo H_0 , se puede descomponer en dos términos: la energía de anisotropía E_k y la energía de Zeeman E_h [90]. El modelo considera

esferoides elipsoidales con un momento permanente $m = MsV$ y un eje de magnetización preferencial (eje fácil) a lo largo del cual la energía de anisotropía $E_k = KV \sin^2 [\delta]$ es mínima, donde δ es el ángulo entre m y el eje fácil (Figura 12). La energía del sistema está dada como

$$E = E_k + E_h \quad (11)$$

$$= KV \sin^2 \theta - \mu MsV \cos \theta \quad (12)$$

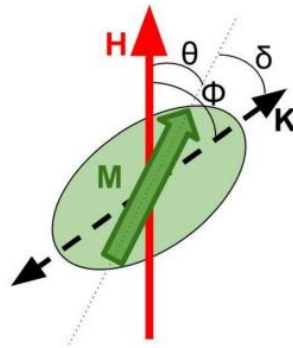


Figura 12 Representación del modelo una nanopartícula magnética [90].

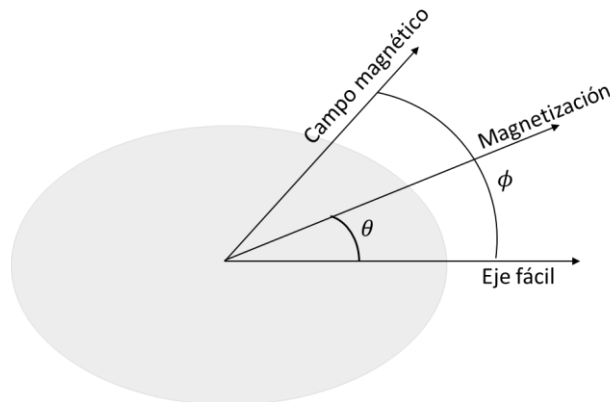


Figura 13 Representación esquemática de una partícula monodominio uniaxial.

A continuación, se describirá de manera muy breve las bases de las teorías mencionadas. En el modelo de nanopartículas ferromagnéticas uniaxiales en un campo magnético externo ($\mu_0 H_0$), se considera una partícula de volumen V con una magnetización espontánea M_s y

anisotropía magnétocristalina. La energía magnética de las MNPs bajo la acción del campo externo tiene una energía dada como

$$\frac{E(\theta, \phi)}{k_B T} = \sigma \sin^2 \theta - \xi \cos(\theta - \phi) \quad (13)$$

donde θ es el ángulo entre el eje fácil y el vector de magnetización, ϕ es el ángulo entre el campo magnético y el eje fácil (Figura 13), y los parámetros adimensionales $\sigma = K_{\text{eff}}V/k_B T$ y $\xi = \mu_0 M_s V H_{\text{max}}/k_B T$. La magnetización es modelada como magneto gigante con un momento magnético $\mu = M_s V$ con anisotropía uniaxial efectiva K_{eff} . En particular, la ecuación de energía magnética tiene un mínimo cuando el campo $\mu_0 H_0$ es más grande que el campo de anisotropía $\mu_0 H_k = 2K_{\text{eff}}/M_s$ [91].

La teoría de respuesta lineal fue un primer intento de aproximar el área del ciclo de histéresis, fue introducido por Rosensweig [83]. En el análisis se supone que el sistema de

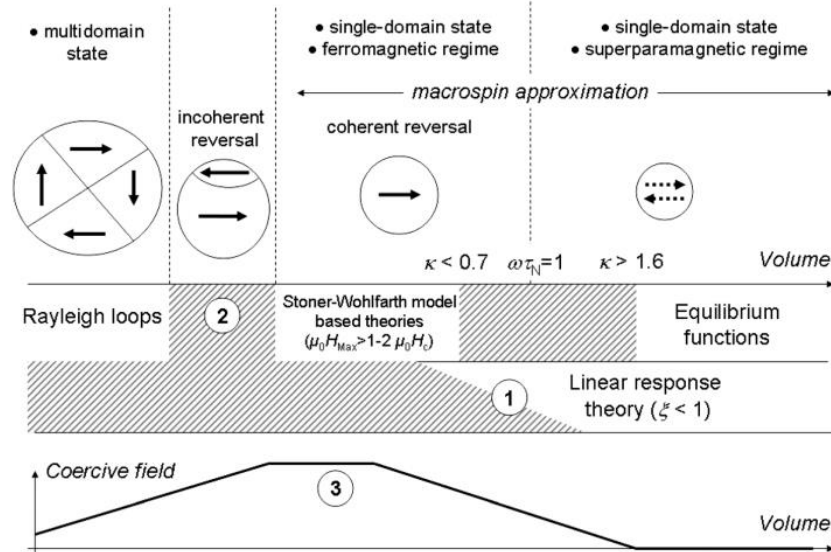


Figura 14 Régimen de validez de los modelos de las funciones de equilibrio, Stoner-Wohlfarth, partículas monodominio uniaxiales en un campo magnético y la teoría de respuesta lineal [91].

partículas monodominio no interactúan entre sí y tienen un tiempo de relajación dado por Néel-Brown, siendo éste la única fuente de disipación en las MNPs. La suposición principal de esta teoría es que el sistema magnético responde de manera lineal al campo magnético, y su magnetización está dada como

$$M(t) = \chi H(t) \quad (14)$$

donde χ es la susceptibilidad compleja, la cual no depende del valor del campo aplicado, se considera que es constante a través de la amplitud del campo aplicado, y está dada como

$$\chi = \chi' - i \chi'' \quad (15)$$

donde

$$\chi' = \frac{\chi_0}{1+(\omega\tau_R)^2} \quad (16)$$

$$\chi'' = \frac{\chi_0 \omega\tau_R}{1+(\omega\tau_R)^2}, \text{ con } \omega = 2\pi f. \quad (17)$$

En la teoría, χ_0 representa la susceptibilidad estática y τ_R es el tiempo que le toma al sistema regresar a su estado de equilibrio después de estar bajo el campo magnético un tiempo corto. Este modelo implica que los campos magnéticos aplicados deben de ser menores en relación con la anisotropía magnetocristalina de las partículas y la frecuencia f , es decir, el modelo es válido cuando se cumple la condición $\xi < 1$ (

Figura 14), y se consideran pequeñas deformaciones en la barrera entre los dos estados de equilibrio, es decir, cuando $\mu_0 H_0 \ll \mu_0 H_k$ [92] para la validez del tiempo τ_R [79]. Finalmente, la potencia de disipación es

$$P = f\Delta U \quad (18)$$

$$P = \mu_0 \pi \chi'' f H_0^2 \quad (19)$$

Por lo tanto, la ecuación no lineal para la disipación de la potencia de pérdida específica está dada como [83]

$$SLP(H_0, f) = \chi_0 \pi H_0^2 \mu_0 \frac{2\pi f^2 \tau_R}{1 + (2\pi f^2 \tau_R)^2} \quad (20)$$

Si se cumple la aproximación de LRT, el valor SLP se espera que tenga una dependencia cuadrática con respecto a H_0 . Para evaluar las desviaciones de LRT, se ha definido el parámetro φ como la potencia en $SLP \propto H_0^\varphi$, y un valor de $\varphi = 2$ indica que se encuentra en el régimen de LRT [88].

En una revisión de los métodos utilizados para determinar la generación de calor en nanopartículas para hipertermia magnética, se observó que los artículos que emplearon métodos calorimétricos para medir el SLP presentaron una mayor cantidad de publicaciones en comparación con los métodos magnéticos teóricos [93].

La cuantificación de la energía térmica liberada por las nanopartículas magnéticas en hipertermia se puede obtener midiendo la tasa de absorción específica (SAR) o la potencia de pérdida específica (SLP). En una configuración adiabática que no permita la transferencia de calor de las nanopartículas magnéticas hacia su entorno, el valor SLP se puede expresar como:

$$SLP = \frac{P}{m_{NPS}} \quad (21)$$

donde P define la potencia térmica disipada y m_{NPS} la masa del material magnético. Los métodos calorimétricos utilizados para determinar el valor SLP pueden verse afectados por diversos factores, como la evolución de la temperatura de la muestra, las propiedades térmicas de la muestra y el sistema, y las características de las nanopartículas magnéticas [93].

Los métodos calorimétricos utilizados para determinar el valor SLP pueden verse afectados por diversos factores, como la evolución de la temperatura de la muestra, las propiedades térmicas de la muestra y el sistema, y las características de las nanopartículas magnéticas, la ubicación espacial (\vec{r}) y la potencia térmica por unidad de volumen (P/V), que se expresa como

$$\rho \cdot c \frac{\partial T(\vec{r}, t)}{\partial t} = \kappa \cdot \nabla^2 T(\vec{r}, t) + P/V \quad (22)$$

donde ρ son la densidad de masa, c el calor específico ($J/g \cdot K$) y κ la conductividad térmica de la muestra (en $W/m \cdot K$), considerada homogénea al interior de la muestra. Para resolver la ecuación de la temperatura en una muestra, se necesitan condiciones de frontera tanto para la muestra como para su entorno. En los modelos térmicos, se asume que no hay gradientes de temperatura dentro de la muestra y que las condiciones son isoperibólicas ideales, lo que significa que la temperatura de la muestra puede cambiar, pero la temperatura de su entorno permanece constante [93]. La mayoría de los métodos calorimétricos que se basan en la curva de calentamiento para evaluar la potencia específica de pérdida de las nanopartículas magnéticas consideran que la pérdida de calor depende linealmente de la diferencia de temperatura entre la muestra y su entorno [94].

Teniendo en cuenta estas suposiciones, el aumento de temperatura se puede describir como:

$$C \frac{dT}{dt} = P - L\Delta T, \text{ con } \Delta T = t - t_0 \quad (23)$$

la capacidad calorífica C se define como la suma de la capacidad calorífica (c_i) de cada parte de la muestra (m_i), es decir, $C = \sum c_i m_i$. L es la constante que cuantifica la

proporcionalidad que hay entre la temperatura y las pérdidas. La solución a la ecuación diferencial anterior es

$$T(t) = t_0 + \Delta T_{max} \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \right), \quad (24)$$

donde t_0 es la temperatura a $t=0$, $\Delta T_{max} = P/L$ y $\tau = C/L$.

La medición del calor también depende de la capacidad para mantener las condiciones necesarias para el sistema y asegurar que sean reproducibles.

A continuación, se describen los métodos analíticos utilizados para estimar el valor de la potencia específica de pérdida en la hipertermia. El método de la pendiente inicial es uno de los más comúnmente empleados, mientras que el método del máximo de la derivada es menos utilizado.

Método de la pendiente inicial o *Initial-slope*

El método de la pendiente inicial, también conocido como *Initial-slope*, es válido al comienzo del proceso para calcular el valor SLP. Este método trata de aproximar el valor de la pendiente al inicio del calentamiento y se basa en dos premisas: (i) la temperatura de la muestra es uniforme durante la aplicación del campo AC y aumenta linealmente, y (ii) la pérdida de calor al inicio del proceso es despreciable en un intervalo de tiempo corto (10-20 segundos) [95]. Durante este tiempo se garantiza que el sistema esté en condiciones adiabáticas, es decir, sin transferencia de calor con el entorno [96].

Considerando lo anterior, la derivada de la Teniendo en cuenta estas suposiciones, el aumento de temperatura se puede describir como:

$$C \frac{dT}{dt} = P - L\Delta T, \text{ con } \Delta T = t-t_0 \quad (23, \text{ indica que el}$$

calor es

proporcional a la tasa de cambio de la temperatura, de manera que la ecuación queda como:

$$SLP = \frac{m_{NP}c_{NP} + m_l c_l}{m_{NP}} \left(\frac{\Delta T}{\Delta t} \right)_{max} \quad (25)$$

donde C_l y C_{NP} son las capacidades caloríficas del solvente y las MNPs, respectivamente, y m_l y m_{NP} son sus respectivas masas. El término $\Delta T/\Delta t$ es la tasa de calentamiento de la muestra medido en los primeros segundos, aunque algunos consideran hasta los primeros 60 s de la exposición al AMF.

Máximo de la derivada

SLP cuantifica la capacidad de las MNP para convertir la energía de un campo magnético alterno (AMF) en calor. Para muestras de coloides magnéticos con masa de MNPs (m_{NP}) dispersos en un portador líquido (m_l), el valor SLP se calcula utilizando la relación calorimétrica:

$$SLP = \frac{m_{NP}c_{NP} + m_l c_l}{m_{NP}} \left(\frac{\Delta T}{\Delta t} \right)_{max} \quad (26)$$

en la que c_{NP} y c_l representan las capacidades caloríficas específicas de las MNPs y del portador líquido, respectivamente. Para concentraciones de MNPs inferiores a $\approx 7-9$ mg/mL, el término $m_{NP}c_{NP} + m_l c_l$ puede aproximarse a $m_l c_l$. La expresión entre paréntesis representa la velocidad de calentamiento del sistema, que se evalúa en la pendiente máxima. Los valores de SLP se obtuvieron a partir de la derivación de la curva $T(t)$, utilizando el criterio del máximo de la derivada dT/dt , y empleando la concentración de la muestra como $\phi = m_{NP}/V_l$, donde V_l y δ_l son el volumen y la densidad del soporte líquido, como sigue:

$$SLP = \frac{C_l \delta_l}{\phi} \left(\frac{dT}{dt} \right)_{max}$$

El término dT/dt se obtiene a partir de los primeros segundos del incremento inicial de la temperatura [56], para aproximar las condiciones experimentales a un entorno cuasi-adiabático [57].

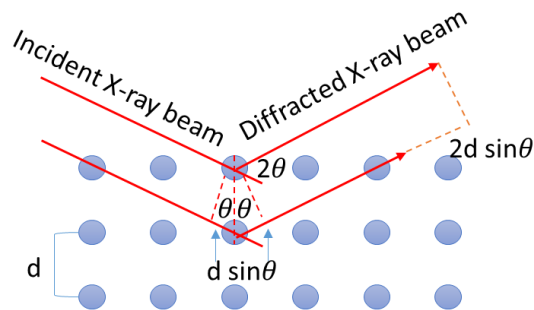
Capítulo 4

Descripción de equipos

4.1 Difracción de Rayos-X (XRD)

La difracción de rayos X en polvo fue realizada en el departamento de Física del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) en la Unidad de Zacatenco, utilizando un equipo Siemens D5000 X-ray diffractometer. Este equipo cuenta con un difractómetro que contiene una fuente de radiación de cobre (Cu K α) con una longitud de onda de 1.5406 Å operando a 35 kV y una corriente de 25 mA.

La difracción de rayos X en polvo (XRD) es una técnica ampliamente utilizada para la caracterización de materiales cristalinos. Esta técnica permite determinar los parámetros de red, la presencia de diferentes fases cristalógicas y el tamaño promedio de los cristalitos. El principio básico de la difracción de rayos X se basa en la ley de Bragg, que establece que las reflexiones observadas en los patrones de difracción son resultado de la interferencia constructiva de los rayos X incidentes con la red cristalina. La ley de Bragg se puede expresar como $n\lambda=2d \sin\theta$, donde λ es la longitud de onda del haz de rayos X (0.5-2.4 Å), d es el espacio interplanar en la red cristalina, θ es el ángulo de incidencia del haz respecto al plano de la red cristalina (o ángulo de Bragg) y n es el número entero que describe el orden de la difracción. La Figura 15 ilustra el funcionamiento de la difracción de rayos X, donde se observa que los haces que forman un ángulo de Bragg con el haz incidente son los que se difractan y producen un pico señal en el patrón de difracción.



Para Figura 15 Ilustración de la ley de Bragg en la difracción de rayos X

llevar a cabo una difracción de rayos X, se necesita un equipo experimental que permita medir la intensidad de los haces dispersados como función del ángulo incidente. La configuración del equipo consta de una fuente generadora de rayos X y un detector, los cuales están ubicados en una geometría de reflexión a un ángulo y una distancia conocidos de la muestra. La

Figura 16 muestra una representación de la configuración del equipo.

El detector de rayos X utilizado en un difractómetro de polvo puede ser un contador Geiger o de centelleo y permite variar el ángulo 2θ para recoger los datos de la difracción. Cuando los ángulos dispersados cumplen la condición de la ley de Bragg, se forma un pico en el patrón de difracción. Este patrón es utilizado para determinar información sobre la estructura cristalina del material, como los parámetros de red, la presencia de diferentes fases cristalográficas y el tamaño promedio de los cristalitas.

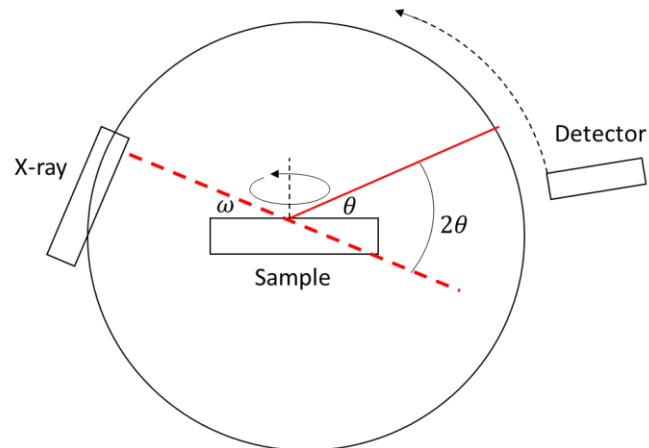


Figura 16 Representación de un difractómetro de rayos X.

La XRD también puede utilizarse para estimar el tamaño promedio de los cristalitas en un material. Esto se logra a través de la ecuación de Paul Scherrer, que relaciona el tamaño promedio (T) con la longitud de onda (λ) de la fuente de rayos X, el ángulo de Bragg (θ) y β la anchura a media altura (FDWH) del pico (medido en radianes). El cálculo se realiza a partir de la ecuación de Scherrer

$$T = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (27)$$

El factor de forma (K) es un valor constante con valores entre 0.8-1.39 (usualmente cercano a la unidad). En este caso se usó $K=0.95$ debido a que las nanopartículas son semiesféricas. El espectro de XRD se midió en un rango de ángulos 2θ de 20 a 80 grados. Para calcular el tamaño promedio de los cristalitas a partir de los datos obtenidos, se utilizó la ecuación de Scherrer.

4.2 Espectroscopía Ultravioleta (UV-vis)

La técnica de espectroscopía UV-vis es ampliamente utilizada para analizar las propiedades ópticas de muestras líquidas. La muestra es expuesta a un haz de luz y se mide y cuantifica la absorción y dispersión de la luz por la muestra. El equipo puede emitir diferentes longitudes de onda y medir la absorción de la muestra por la luz. La muestra se coloca entre la fuente de luz y el detector fotográfico para medir la intensidad del haz UV-vis antes y después de pasar a través de la muestra. Las moléculas presentes en la muestra pueden absorber diferentes longitudes de onda. Si la absorción se encuentra en la región ultravioleta (200-400 nm) o visible (400-800 nm) del espectro electromagnético, es posible determinar las longitudes de onda que son absorbidas por el compuesto mediante el uso de un espectrofotómetro UV-Vis.

La técnica de espectroscopía UV-Vis es utilizada para determinar la concentración de compuestos en una muestra líquida. La luz monocromática es enfocada a través de una rejilla y su intensidad inicial (I_0) llega a la muestra, la cual absorbe una cantidad de luz dependiendo de su concentración (Figura 17). La luz restante (I) es luego medida por un detector. La relación entre I_0 y I se conoce como absorbancia (A) y permite estimar la concentración de la muestra. Al graficar la absorbancia contra la longitud de onda, se puede obtener el espectro de absorción de un compuesto específico [97]. El espectrofotómetro UV-1280 – Shimadzu fue empleado en el trabajo en el Instituto de Nanociencia y materiales de Aragón.

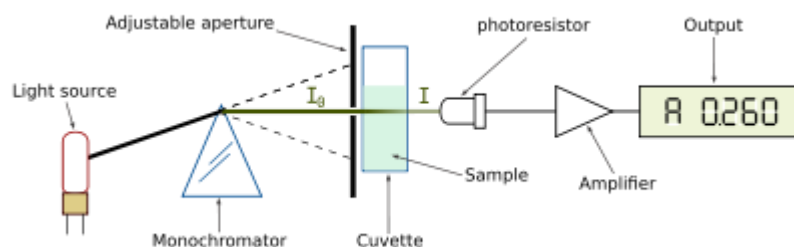


Figura 17 Configuración de un espectrofotómetro UV-Vis.

4.3 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS)

La Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS, por sus siglas en inglés) es una técnica de análisis de superficies que utiliza la energía de los rayos X para excitar a los electrones en la superficie de una muestra y analizar su composición química. La técnica de espectroscopía XPS fue llevada a cabo con el equipo AXIS Supra⁺. Este método es efectivo para realizar análisis químicos, determinar los estados de oxidación y los grupos funcionales en muestras en polvo. La técnica funciona al incidir un haz de rayos X en la superficie de la muestra, lo que provoca la emisión de electrones de los niveles internos de la muestra. Estos electrones emitidos son acelerados por un campo eléctrico y luego son energizados por un haz secundario de rayos X antes de ser direccionados hacia un detector, donde se mide su energía. La energía de los electrones emitidos depende de la composición química de la superficie de la muestra y de la profundidad a la que se encuentran los electrones emitidos. La energía cinética de los electrones, E_k , se determina a partir de la energía de la radiación X, $h\nu$, y la energía de enlace, E_b , mediante la relación dada como:

$$E_k = h\nu - E_b - E_w, \quad (28)$$

En la configuración del equipo espectrómetro, la función de trabajo del equipo (E_w) es una medida de la energía mínima necesaria para liberar un electrón de la muestra. El equipo incluye una fuente de rayos X, un detector de electrones y un analizador de energía para fotoelectrones (Figura 18). Para que los últimos dos dispositivos puedan funcionar, la muestra debe ser colocada en una cámara de alto vacío. El analizador de energía se encarga de analizar la energía de los fotoelectrones. La Espectroscopía XPS es una técnica no destructiva que no altera la superficie de la muestra durante el análisis. Esta técnica es útil para caracterizar la superficie de una amplia variedad de materiales, incluyendo metales, polímeros, compuestos cerámicos y materiales orgánicos. Además, puede ser utilizada para estudiar la estructura y la composición de las interfaces y capas delgadas.

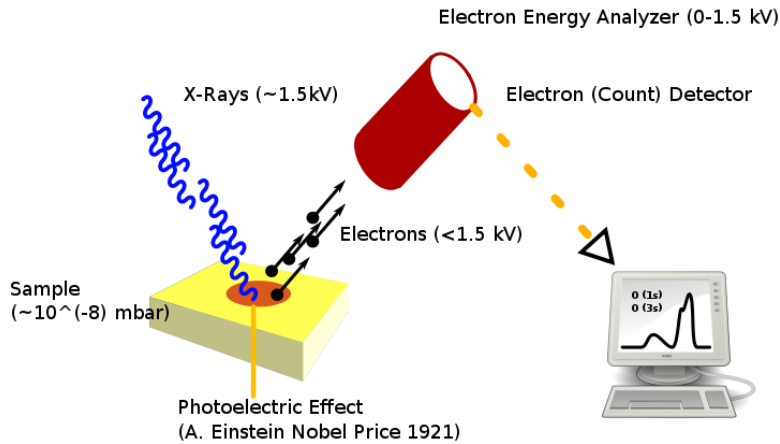


Figura 18 Configuración de un equipo XPS.

4.4 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) es una técnica altamente versátil que se utiliza para analizar la morfología, el tamaño, la estructura cristalina y la composición de diferentes materiales. A diferencia de los microscopios ópticos convencionales, que utilizan luz visible para ampliar las imágenes, el microscopio TEM utiliza un haz de electrones para producir imágenes detalladas de la muestra en estudio. Esta técnica permite caracterizar materiales a nivel nanométrico y atómico, lo que proporciona una comprensión más profunda de su estructura y comportamiento [98]. Además, la microscopía electrónica de transmisión es una herramienta valiosa en diversas aplicaciones en áreas como la de materiales, la biología, la electrónica, entre otras.

El equipo de TEM funciona mediante el uso de un haz de electrones generados por un filamento o por una punta de emisión de campo, que es enfocado por medio de lentes electromagnéticas hacia una muestra extremadamente delgada. La muestra debe ser lo suficientemente fina para permitir la transmisión del haz de electrones, es decir, su espesor debe ser menor a 100 nm. La radiación ionizante, que se utiliza en la microscopía electrónica de transmisión, tiene la capacidad de remover los electrones de las capas internas de los núcleos atómicos de la muestra, lo que produce una amplia gama de señales secundarias que son útiles para el análisis estructural y composicional de la muestra. Estas

señales secundarias son de diferentes energías y proporcionan una amplia gama de información sobre la muestra en estudio, como se muestra en la Figura 19 [98].

La fuente de radiación se encuentra en la parte superior de una columna formada por tres conjuntos de lentes: las lentes condensadoras, las lentes objetivo y las lentes proyectoras. Estas lentes son esenciales para el funcionamiento de un microscopio TEM.

Las lentes condensadoras tienen como función enfocar el haz de electrones primario sobre la muestra que se desea observar. Una vez que los electrones han pasado a través de la muestra, se recogen y se enfocan con las lentes objetivo. La imagen real, magnificada, es entonces proyectada por las lentes proyectoras en el dispositivo de visión ubicado en la parte inferior de la columna de lentes.

Estas lentes trabajan juntas para permitir la obtención de imágenes detalladas de la estructura y composición de los materiales. La columna de lentes es un componente esencial de los microscopios electrónicos de transmisión y su correcto funcionamiento es esencial para obtener resultados precisos y confiables (Figura 20)

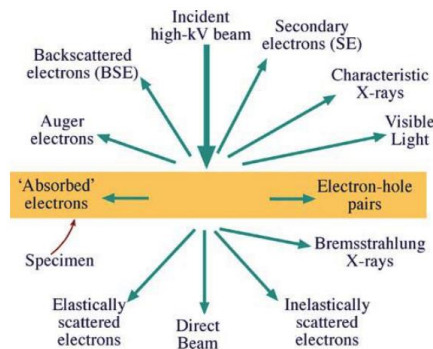


Figura 19 Señales obtenidas por el bombardeo del haz electrónico sobre una muestra.

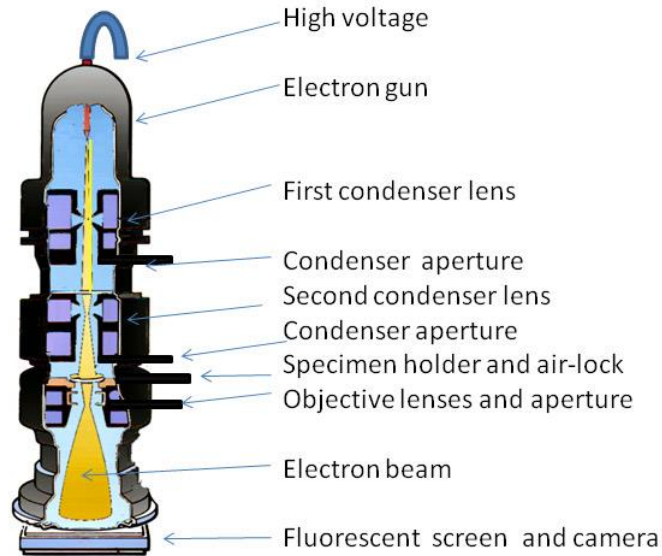


Figura 20 Componentes de un microscopio electrónico de transmisión

4.5 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), Microscopía de Fuerza Magnética (MFM)

El Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) es una herramienta de gran utilidad que permite el análisis de superficies de películas delgadas. Su funcionamiento es capaz de realizar mediciones en tiempo real tanto en ambiente normal como en alto vacío. Su capacidad de proporcionar imágenes de alta resolución a escala nanométrica, lo hace ideal para una amplia gama de aplicaciones, desde imágenes a escala micrométrica hasta sub-nanométrica.

El principio de funcionamiento del AFM se basa en la interacción de una fuerza mecánica de una punta de longitud nanométrica en un cantiléver con la superficie de la muestra (Figura 21). Este nivel de interacción está controlado por un sistema que monitorea los desplazamientos tanto de la punta como de la muestra. El sistema consta de un haz láser que incide sobre el cantiléver y su deflexión óptica permite medir las interacciones de fuerza. El desplazamiento de la muestra se controla con precisión mediante la deformación precisa de los cristales piezoeléctricos o piezo-escaneros ubicados en el soporte de la muestra y el cantiléver.

La microscopía AFM cuenta con tres modos de operación principales: contacto, no-contacto y tapping o intermitente. En el modo de contacto, la punta está en contacto constante con la superficie de la muestra, mientras que en el modo de no-contacto, la punta se mantiene ligeramente alejada de la superficie durante el barrido. En el modo de tapping, el cantiléver toca la superficie de forma intermitente. Esto permite una amplia variedad de

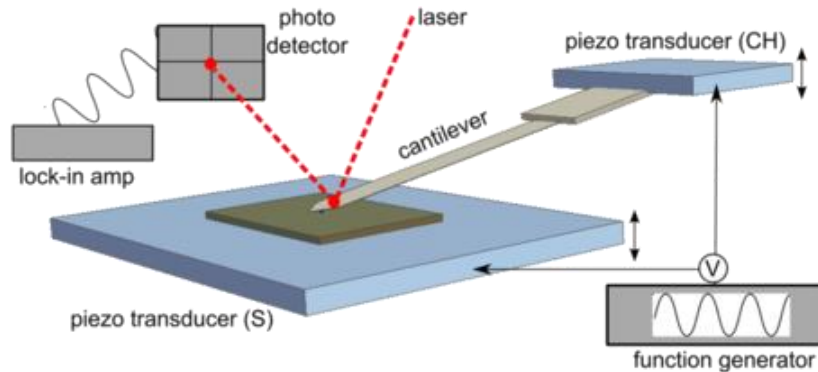


Figura 21 Esquema de los componentes del microscopio de fuerza atómica.

aplicaciones, como la medición de la topografía y la rugosidad superficial, la caracterización de la dureza y elasticidad de la muestra, y la detección de defectos de superficie, entre otros.

MFM

La Microscopía de Fuerza Magnética (Magnetic Force Microscopy, MFM) es una técnica utilizada para el análisis de superficies de muestras. En este método, una punta magnética se aproxima a la superficie de la muestra y se ve influenciada por las interacciones magnetostáticas locales en la superficie (Figura 22). Estas interacciones determinan el movimiento vertical de la punta durante el escaneo de la superficie.

La MFM permite la creación de imágenes detalladas a escala nanométrica de la superficie de la muestra a través del escaneo de las interacciones entre el campo electrostático y la superficie de la muestra. Se espera que las muestras presenten dominios de diferentes formas y orientaciones debido a su comportamiento magnético. La presencia de anisotropía y un plano perpendicular conduce a la formación de líneas cuasi-paralelas, debido al acoplamiento de los dipolos atómicos en una dirección preferencial en cada dominio [99,100].

Esta técnica es ampliamente utilizada en la investigación de materiales y la ingeniería electrónica para comprender la nanoescala estructura y propiedades de los materiales, y para desarrollar nuevas aplicaciones en una variedad de industrias.

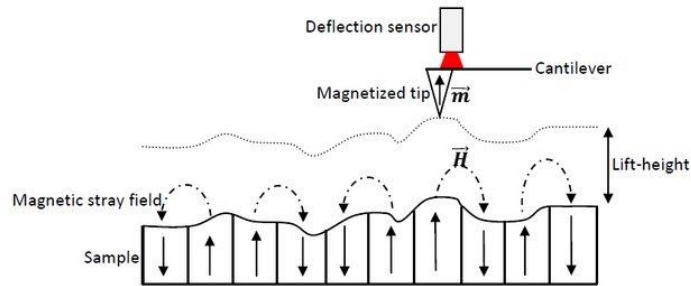


Figura 22 Principios esquemáticos de la microscopía de fuerza magnética [101].

4.6 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) se utiliza para analizar la composición química y detectar grupos funcionales en polvos y coloides. Se mide la absorción de radiación infrarroja por las moléculas de la muestra, y la respuesta se observa en modos de vibración específicos en un rango de longitudes de onda del espectro infrarrojo ($400-4000 \text{ cm}^{-1}$), que son característicos de la masa de los átomos y la fuerza de los enlaces químicos en las moléculas [102]. La vibración armónica única de cada molécula es como su huella digital. La absorción de la estructura molecular y sus grupos funcionales en el rango infrarrojo es reproducible. Los modos normales de vibración se presentan como bandas en el espectro de transmitancia y se asocian con enlaces químicos. Las variaciones en la amplitud y ancho de las bandas pueden indicar cambios en la creación o rotura de enlaces durante un proceso.

El equipo FTIR consta de una fuente luminosa que emite radiación en todo el rango infrarrojo. El haz colimado se dirige hacia un divisor del haz, el cual separa la luz en dos haces. Luego, los dos haces son reconducidos por el interferómetro para que se recombinen y produzcan un patrón de interferencia que es medido por el detector (Figura 23). Esta información se utiliza para determinar la estructura, composición y funcionalización de las muestras sintetizadas.

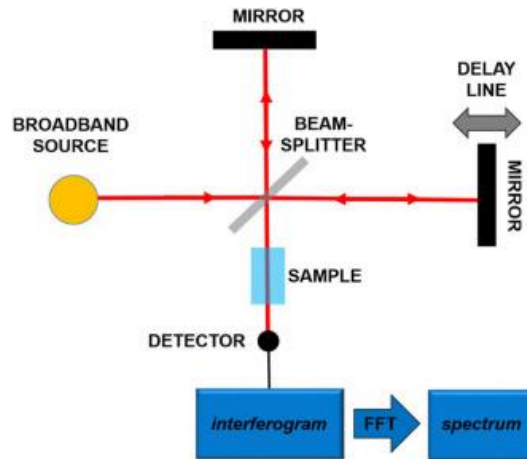


Figura 23 Representación de un espectrómetro por transformada de Fourier.

4.7 Microscopía Electrónica de Barrido de Doble Haz (SEM-FIB)

La técnica de Microscopía Electrónica de Barrido con Haz Iónico Focalizado (SEM-FIB) es una técnica combinada que integra dos dispositivos en un solo equipo: el microscopio electrónico de barrido (SEM) y el haz de iones enfocados (FIB). La muestra se coloca en el punto de convergencia de ambos haces, con el haz FIB situado a un ángulo de 52° con respecto a la columna del microscopio.

El SEM es un dispositivo que analiza una muestra mediante el escaneo con un haz de electrones en vacío sobre la superficie de la muestra. La columna del equipo consta de una fuente de electrones, un sistema óptico, un sistema de vacío y electrónico (Figura 24). El haz de electrones es enfocado con un sistema de lentes y pasa por bobinas de escaneo y una lente objetiva que refleja el haz horizontal y verticalmente, escaneando así la superficie de la muestra línea por línea.

Las interacciones entre el haz de iones enfocado y la muestra permiten realizar procesos de corte y deposición en la muestra. La eliminación selectiva de la muestra mediante el FIB permite la realización de cortes transversales y secciones finas de la muestra para su análisis en el SEM. Además, la deposición de materiales mediante el FIB permite la creación

de estructuras en la muestra y la realización de mediciones de conductividad en dispositivos electrónicos.

A diferencia del microscopio electrónico de transmisión (TEM), en el SEM los electrones interactúan con la superficie de la muestra, lo que permite utilizar voltajes en el rango de 2-50 kV, y alcanzar una resolución de 0.6 nm a 5 kV.

La técnica SEM-FIB permite realizar estudios en HRTEM, analizar la composición química de una muestra y cortar estructuras biológicas para ensamblar su estructura 3D. Además, se pueden realizar análisis de alta resolución de materiales y hacer cortes transversales precisos para estudiar la estructura interna de las muestras.

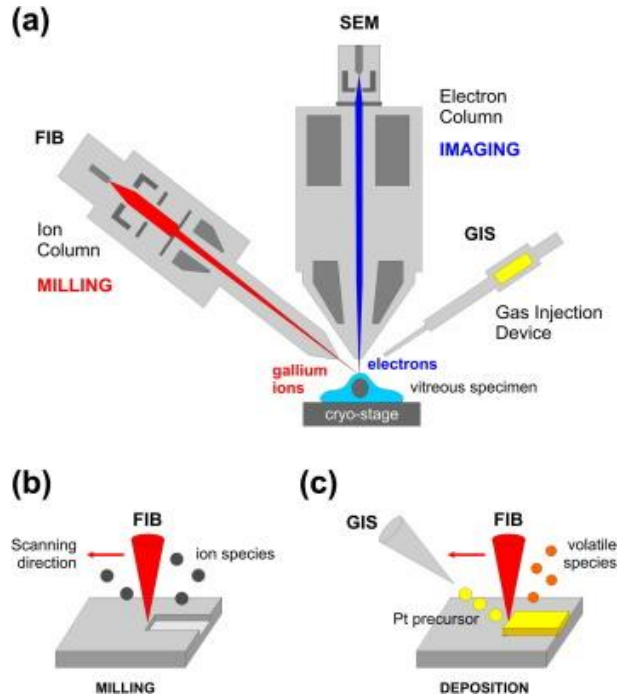


Figura 24 Principio de funcionamiento de un microscopio FIB/SEM. (b) Se realiza el escaneo múltiple del haz de iones sobre la superficie objetivo para una eliminación gradual del material. (c) El haz de iones se usa para depositar moléculas liberadas de una aguja de inyección de gas en la superficie de la muestra [169].

Capítulo 5

Materiales y métodos

5.1 Materiales

Los reactivos empleados para la síntesis fueron el Hidróxido de sodio (NaOH, grado reactivo $\geq 98\%$), ácido clorhídrico (HCl) al 37% de pureza, Ácido nítrico, cloruro de hierro tetrahidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, pureza, p.a., $\geq 99\%$), cloruro de hierro hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, grado reactivo, $\geq 98\%$), Sulfato de hierro (II) heptahidratado $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, (grado reactivo, $\geq 99\%$), y Sulfato de zinc heptahidratado, adquiridos en Sigma Aldrich, Co.

Los frutos de *Punica granatum*, *vitis vinífera* y *Vaccinium corymbosum* se adquirieron de mercados locales en México y en España. Para los procedimientos se empleó agua desionizada y agua milliQ.

5.1.a Materiales para la viabilidad celular

Las fuentes de los productos químicos fueron: dimetilsulfóxido (DMSO) (Cat. D2650; pureza del 100%), MTT y NR de Sigma Chemical Co; medios RPMI-1640 y DMEM, FBS, fitohe-maglutinina, aminoácidos no esenciales (100 mM), L-glutamina, piruvato sódico, antibiótico-antimicótico de Invitrogen-Gibco. Otros reactivos se obtuvieron de J.T. Baker, Inc, según se indica.

5.2 Preparación de los extractos naturales

La preparación de estos extractos depende del método de síntesis y de la materia vegetal utilizada. En la mayoría de los casos, se realiza un secado de la materia para obtener una mayor concentración de antioxidantes y polifenoles.

En este estudio, se empleó el extracto del fruto completo. Los frutos fueron lavados varias veces con agua desionizada y luego se trituraron para obtener 20 mL de jugo. El jugo fue filtrado para evitar cualquier residuo y se mantuvo a temperatura ambiente para su posterior

uso. Cada uno de los frutos utilizados fue lavado con agua milliQ y luego triturado completamente en una licuadora comercial. El extracto resultante se liofilizó y almacenó a 4°C para su posterior medición en el equipo de infrarrojo.

5.3 Determinación de los grupos funcionales

Los grupos funcionales presentes en los frutos y las nanopartículas en polvo $Zn_xFe_{3-x}O_4$, se determinaron por la Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier mediante una reflexión total atenuada (ATR) en el equipo Perkin Elmer 1000. Las mediciones se llevaron a cabo en el rango de 4000 a 650 cm^{-1} , con una resolución de 2 cm^{-1} .

5.4 Medición de la potencia específica de pérdida (SLP)

Para evaluar la eficiencia del calor producido por las nanopartículas en función de la intensidad y la frecuencia del campo magnético aplicado.

Los experimentos de calorimetría se llevaron a cabo en un equipo aplicador de campo magnético comercial (Figura 25), y se realizaron por triplicado en 1 mL de solución de las nanopartículas magnéticas.

Los valores SLP se miden utilizando un aplicador comercial (D5 de nB nanoscale Biomagnetics, España). Los experimentos se realizaron dentro de un rango de intensidades de campo magnético, con valores comprendidos entre 14.9 y 28.9 kA/m, a una frecuencia fija de 764 kHz. La temperatura se midió in situ utilizando un sensor de fibra óptica. Durante los experimentos se utilizó agua Milli-Q como portador líquido. Antes de cada medición, la concentración del fluido magnético se ajustó a aproximadamente a 5 mg/mL.

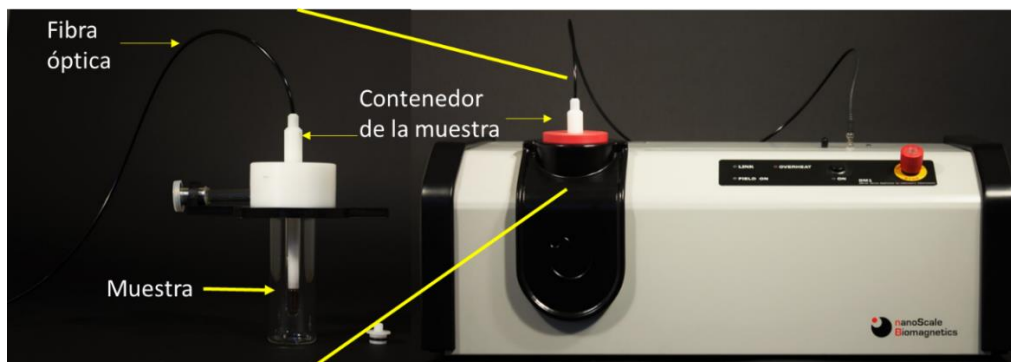


Figura 25 Equipo de hipertermia.

Nanopartículas $Fe_{3-x}O_4$

En un vial de rosca para cromatografía de 2 mL se preparó una solución con 5 mg de las nanopartículas en 1 mL de agua milliQ. La solución se sonicó por unos segundos para que las partículas se dispersaran. A continuación, se realizó la medición del SLP en el equipo aplicador de campo magnético comercial Dm100 a un campo de 300 Gauss y 570 kHz.

Ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$

La medición del calor producido por las nanopartículas se realizó en agua milliQ, para esto, en un vial de 2 mL se adicionó 1 mL de solución de nanopartículas, y se lavaron 3 veces con agua milliQ. Luego de esto, en el equipo aplicador de campo magnético comercial DM-5 se realizó la medición a diferentes campos.

5.5 Determinación del contenido de hierro en los coloides magnéticos

Se llevaron a cabo experimentos para evaluar la eficiencia del calentamiento de la suspensión magnética de $Zn_xFe_{3-x}O_4$ en una solución de concentración desconocida de hierro, por lo cual se realizó una cuantificación del hierro mediante espectroscopia UV-vis. En cada vial de solución de las nanopartículas magnéticas se adicionaron 500 μ L de ácido nítrico (65 %, HNO_3) y 500 μ L de ácido clorhídrico (6M) y se dejaron por 2 h hasta ser digeridas para asegurar que los iones fueron oxidados a Fe^{3+} . Luego, se enrazó la solución a 10 mL completando con ácido clorhídrico 6M. Para la medición de la absorbancia se

tomaron $10 \mu\text{L}$ de la solución final de las partículas digeridas, $500 \mu\text{L}$ de tiocianato de potasio KSCN 1.5 M y $490 \mu\text{L}$ de HCL 6M en una cubeta de cuarzo. La adición de tiocianato de potasio a la solución de Fe^{3+} formó un complejo de hierro-tiocianato, que tiene una absorbancia a una longitud de onda de 478 nm. Las absorbancias medidas se utilizaron para determinar la concentración de hierro comparando con la curva de calibración (Figura 26).

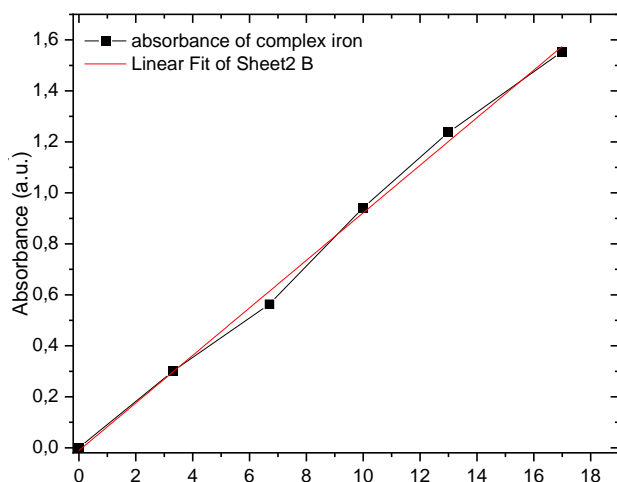


Figura 26 Curva de calibración del hierro obtenida en el equipo UV-1280 – Shimadzu.

5.6 Caracterización de propiedades físicas de MNPs

5.6.a EDS SEM

La microscopía SEM se utilizó para determinar la cantidad de zinc en las nanopartículas $\text{Zn}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ mediante un análisis elemental. Para ello, se realizó EDS SEM para determinar el porcentaje de zinc en cada muestra (con aproximadamente 5, 10 y 20 % de zinc). Se colocó en un sustrato una gota de la muestra de $\text{Zn}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ y se dejó secar por 24 h. Las mediciones y toma de imágenes se realizaron en el equipo SEM-Quanta FEG-250, ESEM del Laboratorio de Microscopias Avanzadas (LMA) en el Instituto de Nanociencia y Materiales de Aragón (INMA), Universidad de Zaragoza, a una magnificación de 4000x y a una energía de 20 kV. Cada medición se realizó por triplicado y se tomó el promedio de los resultados para determinar el contenido de hierro y zinc en cada muestra.

5.6.b TEM

Los detalles de la morfología y las características estructurales de las nanopartículas fueron obtenidos mediante el microscopio electrónico de transmisión. Para ello, se tomaron 10 μL de la solución de las muestras de la ferrita con zinc, se suspendieron en 15 mL de agua milliQ y se aplicó una gota de la suspensión en una rejilla de cobre Lacey 179. Después de dejarla secar durante 24 horas, se obtuvieron imágenes TEM de las muestras de magnetita y zinc utilizando el microscopio de cañón de emisión de campo TECNAI F30 (empresa FEI) en el INMA, España, que opera a un voltaje de aceleración de 300 kV. Las observaciones de las nanopartículas de magnetita se realizaron en el microscopio electrónico de transmisión (TEM) JEOL, JEM2010, a 200 keV del CINVESTAV-IPN. El tamaño de las partículas se determinó a partir de los histogramas de tamaños obtenidos al medir 150 partículas. Además, se obtuvieron patrones de difracción por área selecta de electrones (SAED).

5.6.c AFM-MFM

Las características topológicas determinadas mediante AFM permiten determinar el tamaño de las partículas, mientras que la formación de dominios magnéticos es caracterizada mediante MFM. Para las muestras en polvo (PG-NP, VV-NP y VC-NP), se utilizó aproximadamente 0.1 g de muestra para formar una película delgada utilizando una prensa mecánica. La película se colocó sobre el soporte del equipo con la ayuda de una pinza de teflón. Las mediciones de AFM y MFM se llevaron a cabo con un Lift de 50 μm y un spot de 5 μm . Las imágenes fueron procesadas en el software Gwydeon.

Para las muestras Zn20, Zn20-U y Zn20-G, se tomó una cantidad de 20 μL de cada muestra y se diluyó en 1 mL de agua MilliQ. Luego se tomó una gota de la dilución correspondiente y se dejó caer en un portaobjetos. Los portaobjetos se mantuvieron en un ambiente de vacío durante 24 horas para que se secaran.

5.7 Cultivo celular

La línea celular humana que utilizamos fue K562 (leucemia mielógena crónica, ATCC), la primera línea celular de leucemia mielógena humana inmortalizada, derivada de una paciente de 53 años de edad en crisis blástica.

La línea celular humana K562 (leucemia mielógena crónica, ATCC) se cultivó en medio RPMI suplementado con un 10% de FBS, un 1% de aminoácidos no esenciales (100 mM), un 1% de L-glutamina (100 mM) y un 1% de antibiótico-antimicótico (100x) en una cámara humidificada a 37 °C y un 5% de CO₂. Para los ensayos de viabilidad celular, las células se resuspendieron en medio fresco y se sembraron 3×10^4 células en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 24 h.

Se prepararon soluciones stock y diluciones seriadas de nanopartículas no recubiertas (NPsD), nanopartículas recubiertas con extracto de *Punica granatum* (PG-NP), nanopartículas recubiertas con extracto de *Vaccinium corymbosum* (VC-NP) o nanopartículas recubiertas con extracto de *Vitis vinifera* (VV-NP) a 0, 12.5, 25, 50 y 100 µg/mL se prepararon en medio RPMI utilizando un procesador ultrasónico (GEX 130 PB) durante 30 segundos (130 vatios, 20 kHz con un 40% de amplitud) y se prepararon extractos frescos de *P. granatum* (PG), *V. corymbosum* (VC) o *V. vinifera* (VV) en medio RPMI y se hicieron diluciones seriadas a 0, 12.5, 25, 50 y 100 µl/mL excepto el extracto de VC que estaba en µg/mL.

5.8 Ensayos de viabilidad celular

Se añadieron inmediatamente diluciones seriadas de NPsD o PG-NP, VC-NP o VV-NP (previamente sonicadas) y extractos de PG, VC o VV a los cultivos celulares y se incubaron durante un total de 48 h. Para determinar la viabilidad celular mediante biotransformación de MTT en formazán, se añadieron 20 µl de MTT (5 mg/mL en PBS; 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10.1 mM Na₂HPO₄, 1.8 mM KH₂PO₄, pH 7.4) a los pocillos y se incubaron durante 3 h. A continuación, se desechó el medio y se lavaron las placas con PBS. Los cristales de formacina se disolvieron con DMSO (100 µL/pocillo) y la absorbancia se determinó con un espectrofotómetro (Multiskan FC, Thermo scientific) a 492 nm.

Para determinar la viabilidad mediante el ensayo de NRu, se añadieron 25 µl de solución de NR (0.34 mg/mL en PBS, pH 6) a los pocillos y se incubaron durante 3 h. A continuación, se desechó el medio y las células se lavaron dos veces con PBS. Se añadieron 100 µL de una solución ácida (agua/etanol/ácido acético 49:50:1 v/v/v) para disolver el NR dentro de las células y se determinó la absorbancia a 540 nm.

Los valores obtenidos en ambos ensayos se compararon con el valor de control, que se consideró como el 100% de la viabilidad celular. La concentración inhibitoria al 50% de la viabilidad (IC50) se determinó utilizando la Calculadora IC50 (AAT Bioquest, Inc. (2023, 10 de julio). Calculadora de IC50 Quest Graph™. AAT Bioquest. <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>).

Los datos se presentan como la media \pm desviación estándar de tres experimentos independientes por triplicado. Los datos se consideraron significativos cuando los valores de p fueron < 0.05 mediante la prueba t de Student.

Capítulo 6

Síntesis y tratamientos

6.1. Métodos de síntesis de MFe_2O_4

Hay diversos métodos desarrollados para la síntesis de nanopartículas de ferrita MFe_2O_4 , como dry y wet-milling, coprecipitación, sol-gel, microemulsión, deposición láser pulsada, electrodeposición, reacción térmica en estado sólido, enfoque de cavitación ultrasónica y sonoquímica. En general, se pueden obtener nanoestructuras a través de dos metodologías de fabricación: físicas y químicas. En los métodos físicos, se divide un material de tamaño nanométrico a partir del mismo material en bulto, lo que puede resultar en nanoestructuras sin un control total de características como el tamaño y la forma. En contraste, los métodos químicos proporcionan un mayor control sobre el tamaño y la forma de las nanoestructuras sintetizadas, ya que se basan en el acomodo de los núcleos atómicos hasta el tamaño nanométrico.

En este trabajo, las nanopartículas de ferrita Fe_3O_4 y $ZnFe_2O_4$ se sintetizaron mediante los métodos de coprecipitación y sonoquímica, respectivamente. Para la síntesis de $ZnFe_2O_4$, se utilizaron sulfatos de hierro y zinc.

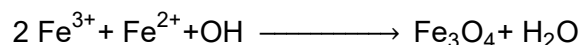
6.1.a Síntesis por coprecipitación

El método de coprecipitación es uno de los procedimientos más usados en la síntesis de las nanopartículas, en particular de las nanopartículas Fe_3O_4 [103]. Esta técnica es sencilla y económica, por lo que se utiliza ampliamente en la síntesis de nanopartículas y una variedad de materiales, incluyendo metales, metales de transición y óxidos. Sin embargo, las nanopartículas producidas mediante esta técnica pueden tener una distribución heterogénea en cuanto a su tamaño.

En este método, las nanopartículas se pueden sintetizar a partir de sales y polifenoles, los cuales reaccionan para formar un precipitado de nanopartículas de metal. El tamaño y la forma de las nanopartículas se pueden controlar ajustando las condiciones de reacción, como la concentración de los reactivos y el pH. Es importante destacar que el control del

pH es un factor crucial durante la síntesis [104]. Aunque el pH requerido puede alcanzarse mediante la biosíntesis o por la adición de una base.

La síntesis de nanopartículas de magnetita se puede lograr utilizando sales de hierro, como cloruros, nitratos y sulfatos. En este método, el éxito de la reacción está en satisfacer la proporción de iones Fe^{2+} y Fe^{3+} (1:2), como se describe a continuación:



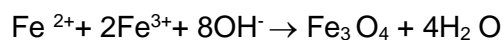
La síntesis de nanopartículas de magnetita puede llevarse a cabo mediante varios métodos, cada uno con diferentes condiciones. El método ideal dependerá de las características que se requieran en las partículas, como su tamaño, forma, composición y carga. En este sentido, es posible realizar variaciones en las partículas mediante la modificación de los compuestos y las condiciones de la reacción [105,106].

En el presente trabajo, se sintetizaron nanopartículas Fe_3O_4 mediante el método de coprecipitación con ciertas modificaciones [107,108]. En la síntesis se emplearon sales de cloruro de hierro (II) ($FeCl_2$) y cloruro de hierro (III) ($FeCl_3$), así como extractos de *Punica granatum*, *Vitis vinífera*, y *Vaccinium corymbosum*.

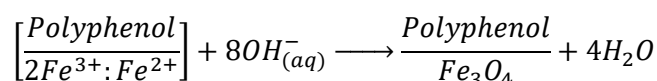
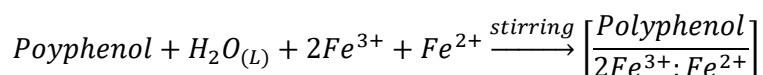
6.1.b Mecanismo de formación de la biosíntesis.

La biosíntesis de nanopartículas con polifenoles es un proceso en el cual se utilizan ciertos microorganismos, como bacterias y hongos, para producir nanopartículas a partir de polifenoles naturales. Las nanopartículas obtenidas a través de la biosíntesis con polifenoles, generalmente de tamaño nano, tienen una alta estabilidad y biocompatibilidad. Los polifenoles son fitoquímicos con atributos antioxidantes/reductores que permiten mediar en la reducción de varias sales a sus correspondientes nanopartículas. También, estas biomoléculas contienen una serie de metabolitos solubles en agua. El uso de fitoquímicos como agentes de recubrimiento/estabilización podría para disminuir los efectos secundarios y aumentar la biocompatibilidad de nanopartículas inorgánicas para aplicaciones biomédicas. Las condiciones de reacción como temperatura, concentración de precursores de hierro, la cantidad de extracto vegetal, la duración de la reacción, el tipo de moléculas del extracto de polifenoles y el pH influyen en las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas [97], [109], [110].

Las nanopartículas de Fe_3O_4 se forman a partir de una relación molar de (Fe^{3+} : Fe^{2+}) 2:1 en sales de hidróxido férrico e hidróxido ferroso en solución acuosa. La reacción



en condiciones de saturación de pH 10-14, lo que confina la formación de las nanopartículas. Para el recubrimiento, los polifenoles contienen enlaces hidroxilo (-OH) o carboxilo (-COOH) en su configuración elemental, los cuales se acoplan en forma covalente a los iones de hierro (Figura 27). Esto se genera a través de la quelación de Fe^{3+} -OH y Fe^{3+} -OH; o en otros casos con Fe^{3+} -COOH y Fe^{2+} -COOH en la superficie de nanopartículas Fe_3O_4 [111].



Además, se trata de una estrategia alternativa para añadir enlazadores -OH o -COOH disponibles sobre la superficie de las nanoestructuras de Fe_3O_4 . Considerando, que los MNPs pueden ser el portador y, las propiedades de los polifenoles contribuyen a las formulaciones adicionales como nanotransportadores.

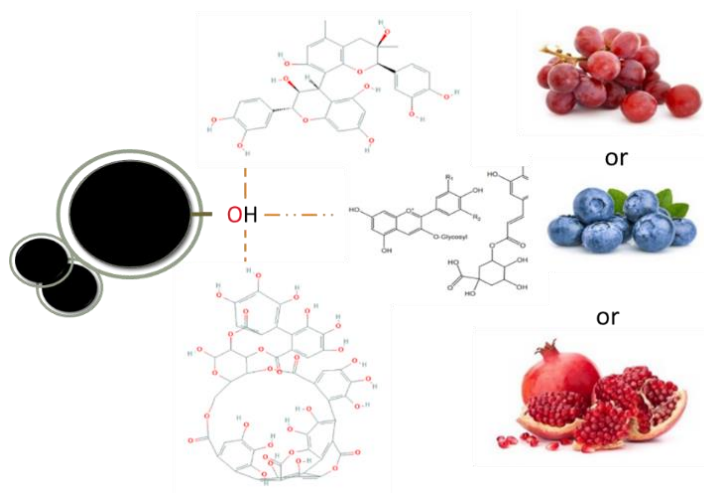


Figura 27 Representación esquemática de los polifenoles en la cubierta orgánica de las MNPs@polifenoles.

6.1.c Síntesis de las NPs mediante el método de coprecipitación

Durante la síntesis, se controló cuidadosamente la temperatura para asegurar que los diámetros de las nanopartículas estuvieran dentro del rango de 10-30 nm. El método utilizado para la biosíntesis es ecológico, más económico y eficiente en comparación con otros métodos de síntesis.

Para llevar a cabo la síntesis, se preparó una solución en un vaso de precipitados que contenía 54 mL de agua destilada y 10 mL de ácido clorhídrico, que se burbujeó con gas nitrógeno durante 30 minutos. Luego, se agregaron las sales de FeCl_3 (6.996 g) y FeCl_2 (2.52 g) a los vasos de precipitados con 25 mL y 6.25 mL de la solución anterior, respectivamente, y se agitaron a 500 rpm durante 30 minutos

A continuación, se tomaron 2.5 mL de la solución de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 10 mL de la solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y se agregaron a un vaso de precipitados de 3 cuellos con una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se mantuvo en agitación constante a 150 rpm y a una temperatura de 70-80 °C durante 15 minutos. Por separado, se preparó una solución de NaOH (7 M) en 20 mL de agua desionizada y se colocó en agitación magnética a 500 rpm durante 5 minutos. Después, se agregó la solución de NaOH al vaso de 3 cuellos gota a gota para ajustar el pH a 12. La solución adquirió una coloración marrón oscuro. Después de 5 minutos de agitación, se agregó el extracto acuoso por goteo y se dejó en agitación durante 20 minutos más. Luego, la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y las nanopartículas se obtuvieron por decantación magnética. Los precipitados obtenidos se lavaron con una mezcla (en partes iguales) de agua desionizada y etanol, y sometieron a un proceso de sonicación durante 5 minutos antes de dejarlos decantar para eliminar el exceso de base orgánica. Este procedimiento se repitió en tres ocasiones, y posteriormente, los precipitados se lavaron dos veces con agua desionizada solamente. Al final del lavado, el pH medido fue de 7. Los precipitados negros fueron liofilizados y el polvo obtenido se almacenó para su posterior análisis (Figura 28). La respuesta magnética se verificó utilizando un imán (Figura 29).

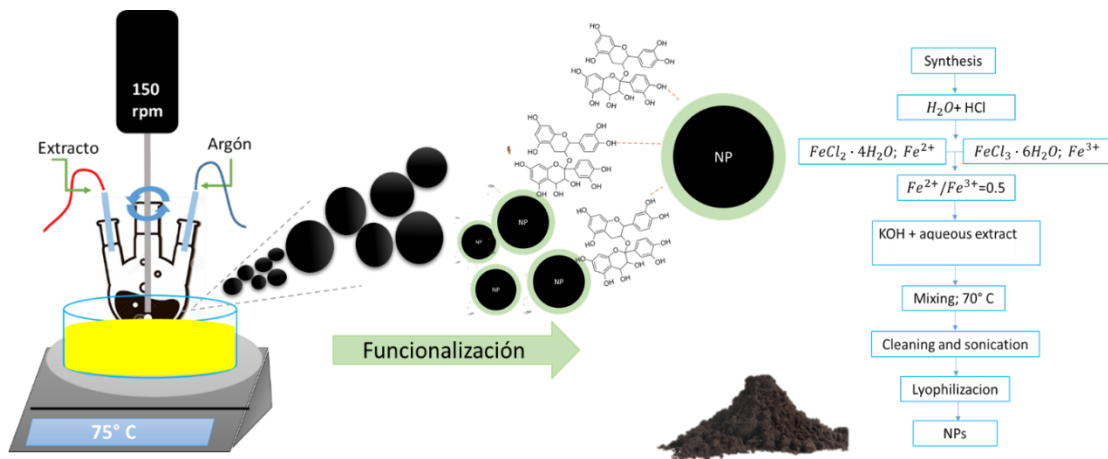


Figura 28 Representación esquemática del proceso de síntesis por coprecipitación de MNPs@polifenoles.

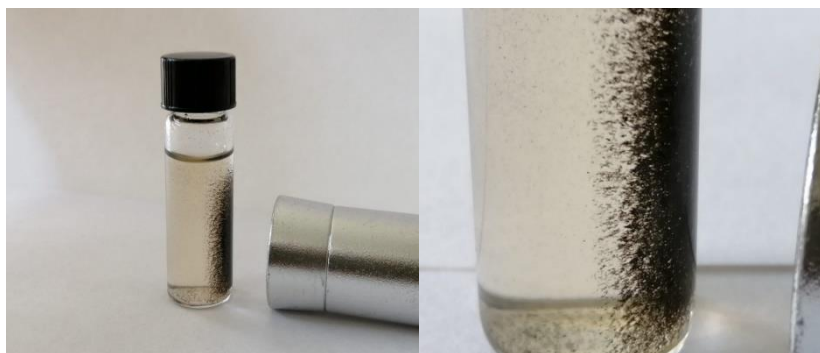


Figura 29 Respuesta magnética de las nanopartículas sintetizadas.

6.2 Método de sonoquímica

La sonoquímica es un método para sintetizar nanopartículas a través de la aplicación de ondas de sonido o ultrasonidos en un rango de frecuencia de 20 – 2000 KHz [112]. La energía mecánica generada por las ondas de sonido (de hasta 13 eV) genera la formación de pequeñas burbujas que causan las condiciones requeridas para la interacción de la materia. Esta energía se transfiere a las moléculas en la solución precursora, lo que las excita y agita, provocando la formación de nanopartículas a través de mecanismos como la nucleación y crecimiento, la aglomeración y la fragmentación.

La técnica utiliza un dispositivo transductor de ultrasonidos que emite ondas de sonido de alta frecuencia y amplitud, sumergido en una solución que contiene los precursores químicos de las nanopartículas deseadas. La solución se somete a un proceso de irradiación con las ondas de sonido, lo que causa su excitación y agitación.

El tamaño y la forma de las nanopartículas pueden ser controladas mediante la variación de la frecuencia y la amplitud de las ondas de sonido, así como la concentración de los

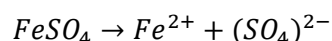
reactivos y el tiempo de reacción. La sonoquímica es un método muy versátil que permite la síntesis de una amplia variedad de materiales con diferentes propiedades.

6.2.a Mecanismo de formación

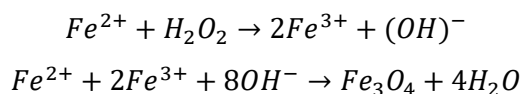
En la formación de las nanopartículas de ferrita $ZnFe_2O_4$, diversos precursores químicos pueden participar, como las sales de sulfato de hierro ($FeSO_4$), cloruros de hierro, hidróxidos de hierro ($Fe(OH)_2$) y pentacarbonilo de hierro ($Fe(CO)_5$). Sin embargo, el sulfato de hierro ha demostrado ser el precursor más efectivo para el control de algunas propiedades de las nanopartículas, así como de su morfología.

Durante la síntesis de estas nanopartículas se emplean bases como el hidróxido de sodio o el sulfato de amonio para saturar los aniones durante la formación de las partículas.

La reacción del sulfato de hierro va como



donde la oxidación del ion ferroso se propone como



6.2.b Síntesis sonoquímica

Se sintetizó ferrita de hierro con zinc utilizando el método de sonoquímica. Se prepararon soluciones de sales con una concentración de 45mM, y se adicionó zinc en proporciones del 5%, 10% y 20%. Las sales se agregaron a un reactor de vidrio de borosilicato con capacidad de 100 mL junto con 90 mL de agua milliQ. Se irradió la solución con el equipo Vibra-cell VCX 130 durante 10 minutos a 130 W para alcanzar una temperatura de 50-52 °C, lo que permite el intercambio iónico. Se utilizó una punta Ti-6Al-4 V de 6 mm y una potencia de ~3.6 W/cm². Se emplearon los valores nominales en el equipo (130 W, 20 kHz).

Después de 10 minutos de irradiación, se agregó una solución de NaOH con una concentración de 2 mM y 0.8 gr disueltos en 10 mL de agua milliQ al reactor. El cambio en la coloración a un tono café oscuro indicó la formación de nanopartículas. El reactor se mantuvo en irradiación durante 10 minutos adicionales para permitir el crecimiento de las nanopartículas. Luego de apagar el equipo de irradiación, se enfriaron las soluciones de las partículas agregándolas a un vaso de precipitado de 500 mL con 300 mL de agua milliQ. Se realizaron 5 lavados con agua milliQ, precipitando las nanopartículas con un imán. El proceso de lavado se repitió 5 veces hasta obtener un sobrenadante claro y un pH de 7 en

la solución. Las muestras se suspendieron en agua milliQ y se identificaron como Zn5-NP, Zn10-NP y Zn20-NP. Las muestras se conservaron en tubos cónicos de centrifuga de 50 mL a 4 °C para su uso posterior

6.2.c Funcionalización de las ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$

La funcionalización de las nanopartículas sintetizadas por medio de la técnica de sonoquímica se llevó a cabo como parte de otro procedimiento. En un frasco de vidrio de borosilicato con capacidad de 100 mL, se agregaron 25 mL de la suspensión acuosa de las nanopartículas (a una concentración aproximada de 8.5 mg/mL) y se añadió un agitador magnético. El coloide magnético se agitó magnéticamente a 1250 rpm hasta alcanzar una temperatura de 85 °C, momento en que se logró una temperatura estable. Posteriormente, se adicionaron 800 μ L del extracto orgánico por medio de goteo y se cerró el frasco (ver Figura 30). Las condiciones se mantuvieron durante toda la noche y después se apagó el equipo. El sistema se dejó enfriar y decantar, y por separación magnética se removió el sobrenadante. A continuación, se lavaron las nanopartículas una vez con agua milliQ. La disolución final de las nanopartículas se conservó en 25 mL de agua milliQ. El mismo procedimiento se realizó en la funcionalización con los extractos de uva y granada. Mediante estos procedimientos se obtuvieron las muestras ZU y ZG, correspondientes a las nanopartículas recubiertas con uva y granada.

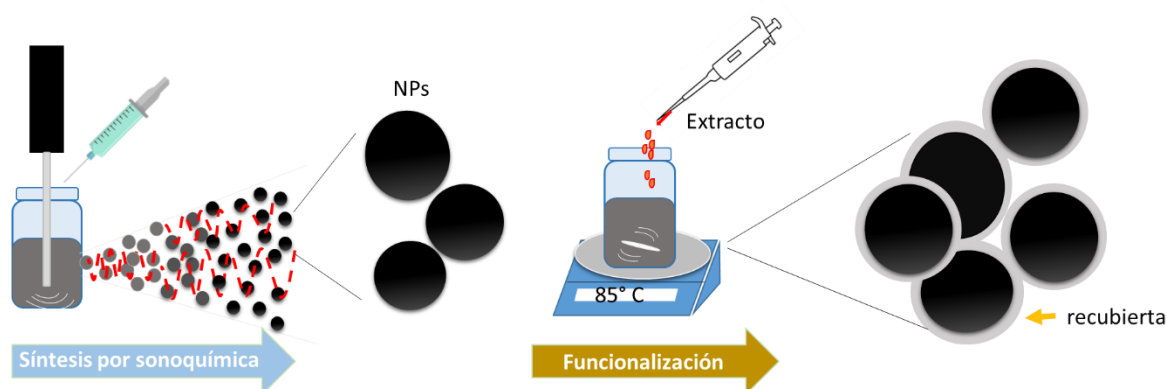


Figura 30 Representación esquemática del proceso de síntesis y funcionalización de las ferritas $Zn_xFe_{3-x}O_4$.

Capítulo 7

Resultados MNPs@polifenoles.

7.1 Caracterización fisicoquímica y estructural

7.1.a XRD

Los MNPs@polifenoles sintetizados con extractos orgánicos de *Vitis vinifera*, *Vaccinium corymbosum* y *Punica granatum*, se identificaron como VV-NP (línea negra), VC-NP (línea azul) y PG-NP (línea roja), respectivamente. La identificación de estructura FCC de las MNPs y recubrimiento polifenólico fue permitido mediante XRD, Figura 31. Los principales planos de difracción correspondieron a la estructura cúbica de espinela inversa de Fe_3O_4 (tarjeta JCPDS n.º 19-0629), con un parámetro de red de 8.396 Å, del grupo espacial $Fd\bar{3}m$ (227). Los MNPs@polifenoles mostraron seis picos de ancho característico intenso asociados al tamaño nanométrico de las partículas, con efectos de dispersión en los valores 2θ de 30.19°, 35.45°, 43.23°, 53.72°, 57.39° y 62.76°, correspondientes a los planos cristalográficos (220), (311), (400), (422), (511) y (440), respectivamente [20]. Se observó que el patrón de VV-NP tiene un pico de difracción débil a los 53°, que podría deberse a la formación de una fase amorfa que recubre los MNPs@polifenoles como resultado de la oxidación parcial de los iones Fe^{2+} y la distorsión de la red ($\epsilon_{VV}=0.046835967$, $\epsilon_{VC}=0.042566305$, $\epsilon_{PG}=0.042210834$ para VV-NP, VC-NP y PG-NP, respectivamente). Por otro lado, el pico agudo de PG-NP a $\sim 27^\circ$ podría deberse a una secuela de la presencia de potasio en el extracto de *Punica granatum* [113]. El tamaño cristalino de las MNPs@polifenoles sintetizados $\langle d \rangle$ se puede estimar mediante la ecuación de Scherrer, que indica una relación entre el ensanchamiento de los picos de difracción de rayos X y el tamaño cristalino y el ajuste de la función de perfil en PseudoVoigt en $FWHM=f(u, v, w)$.

$$d = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad 29$$

$$\epsilon = \frac{\beta}{4} \tan\theta \quad 30$$

donde d es el tamaño cristalino promedio, $k=0,95$ es la constante de forma, λ es la longitud de onda de $\text{CuK}\alpha$, β es la anchura total a la mitad de la altura del pico más intenso ($FWHM$) y θ es el ángulo de Bragg. La estimación del tamaño promedio para cada muestra se definió como 7.34 ± 0.06 nm, 8.09 ± 0.10 nm y 8.15 ± 0.09 nm para VV-NP, VC-NP y PG-NP, respectivamente. Y sus parámetros de red son $a_{VV}=8.368$, $a_{VC}=8.362$ y $a_{PG}=8.357$ Å, respectivamente. Esta distorsión de red se identificó mediante el pequeño desplazamiento de los picos difractados que estaban asociados a la oxidación de la superficie de las NPs y la pequeña transformación de Fe_3O_4 a $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ en la superficie de MNPs@polifenoles producida durante la síntesis y manipulación de las muestras. La oxidación superficial de la magnetita conduce a una espinela deficiente en cationes por distorsión de la estructura de Fe^{2+} a Fe^{3+} asociada a rangos de ferrita de magnetita ($x=0$) a maghemita ($x=1/3$) según la fórmula $[\text{Fe}^{3+}]_A[\text{Fe}^{2+}_{1-3x}\text{Fe}^{3+}_{1+2x}\square_x]_B\text{O}_4$ en la cual \square representa las vacancias [114].

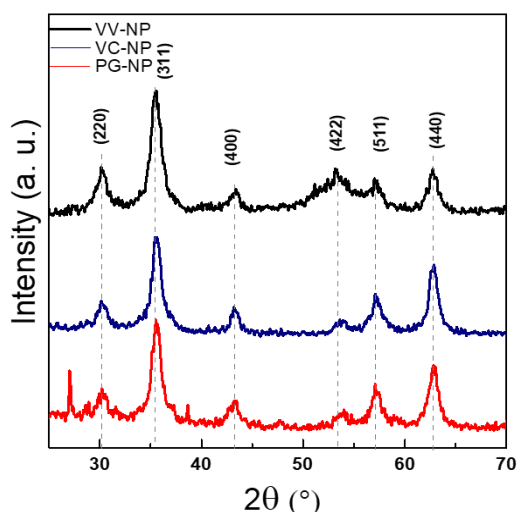


Figura 31 Patrones de difracción de rayos X de MNPs@polifenoles sintetizados con extractos de *V. vinifera* (VV-NP, línea negra), *V. corymbosum* (VC-NP, línea azul) y *P. granatum* (PG-NP, línea roja). Los picos estaban en concordancia con los planos cristalográficos (220), (311), (400), (422), (511) y (440) de magnetita (tarjeta JCPDS no. 19-0629).

7.1.b TEM

Se observó la distribución del tamaño de partícula y la morfología cuasi-esférica por TEM, como se muestra en la Figura 32. Además, se identificó una capa delgada de recubrimiento de polifenoles, con un espesor aproximado de 1.5 nm, rodeando el núcleo de Fe_3O_4 . Para determinar el histograma de la distribución del tamaño de partícula, se contaron 100 MNPs@polifenoles mediante el uso del software ImageJ y OriginPro. Los resultados

indicaron que el tamaño promedio de partícula fue de 7.79 ± 1.63 nm, 8.66 ± 1.37 nm y 8.8 ± 1.7 nm para VV-NP, VC-NP y PG-NP, respectivamente. La ecuación de Scherrer permitió verificar que el tamaño de los cristalitas sintetizados coincidía con los resultados obtenidos a través del TEM, donde se observaron los tamaños de partícula más pequeños. Además, el patrón de difracción de electrones de área seleccionada (SAED) mostró los planos de difracción (220), (311), (400), (422), (511) y (440), y las distancias interatómicas observadas coincidieron con los resultados estructurales obtenidos por XRD. Los anillos de difracción claramente definidos se correspondían con los planos de magnetita, mientras que los anillos de dispersión superpuestos indicaban la contribución de los polifenoles.

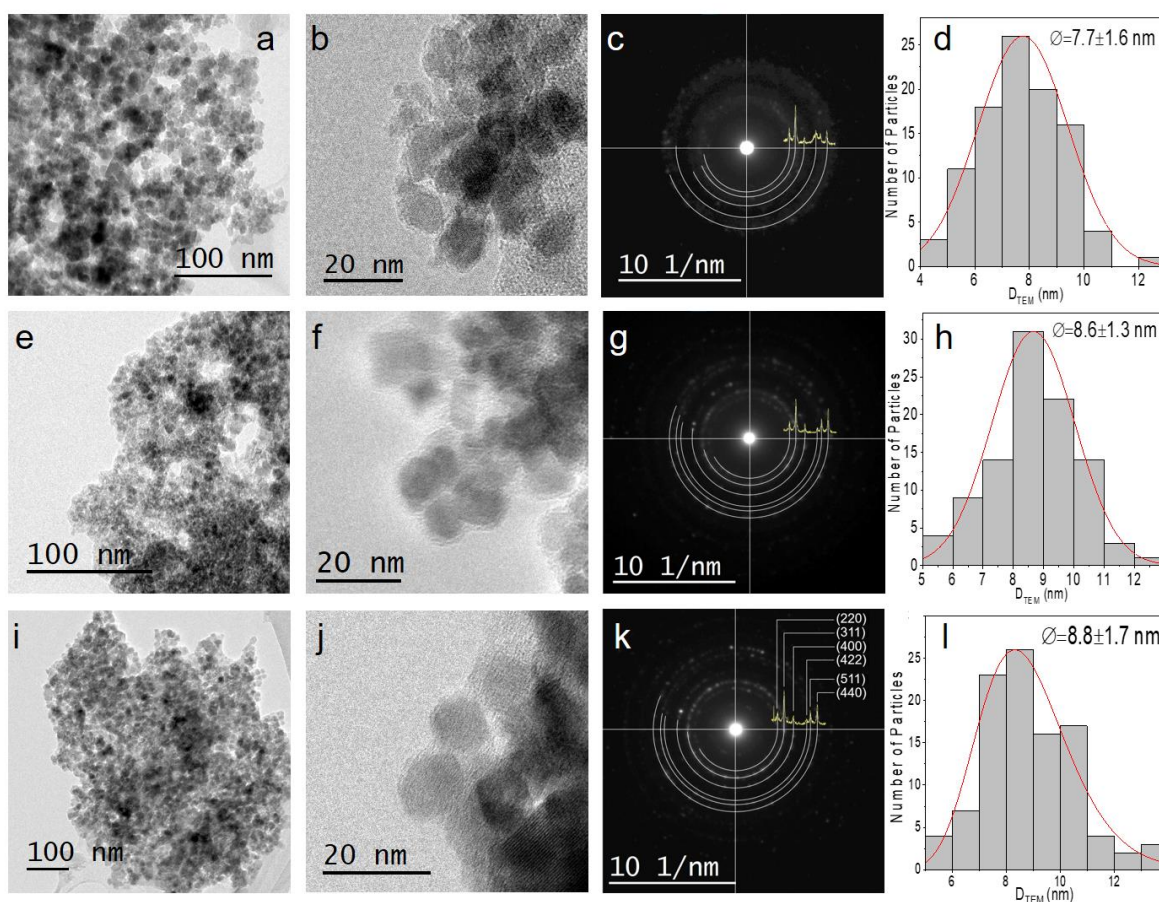


Figura 32 Micrografías TEM de VV-NP (a-d), VC-NP (e-h) y PG-NP (i-l). Estas muestran la formación de un aglomerado, la morfología cuasi esférica de los MNPs@polifenoles, los patrones SAED y el histograma del tamaño de partícula, respectivamente.

En la Figura 32, se puede apreciar la fotografía de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM) que muestra los planos de la red, lo que indica una buena y

regular cristalinidad de las MNPs@polifenoles. El cálculo del espaciado interplanar ($d_{vc} = 2.54 \text{ \AA}$) correspondió al plano (311), lo que confirmó la cristalinidad de las MNPs@polifenoles [115,116].

Tabla 1 Tamaño de partícula de VV-NP, VC-NP y PG-NP estimado a partir de XRD y TEM. El parámetro de red y sus respectivos errores y distorsión calculados a partir de XRD y la carta JCPDS no. 19-0629.

MNPs	$a \text{ (\AA)}$	error (%)	$\epsilon \text{ (a. u.)}$	ϕ_{XRD}	ϕ_{TEM}	Porcentaje de m%
VV	8.368	0.003	0.046835967	7.34 ± 0.06	7.79 ± 1.63	18.14
VC	8.362	0.004	0.042566305	8.09 ± 0.10	8.66 ± 1.37	15.96
PG	8.357	0.004	0.042210834	8.15 ± 0.09	8.8 ± 1.7	16.11

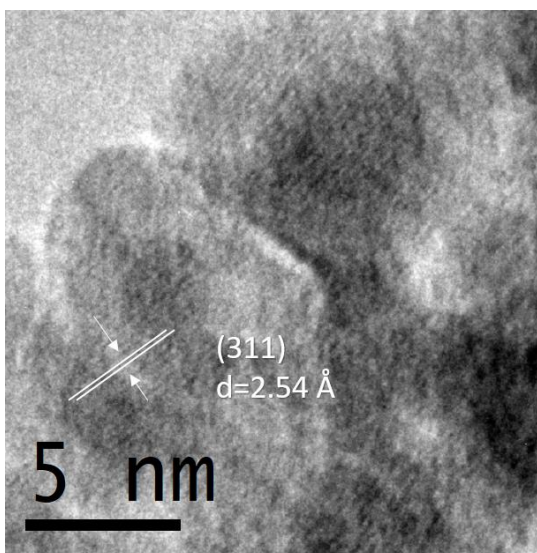


Figura 32 El patrón de difracción electrónica de VC-NP usando imágenes de HR-TEM.

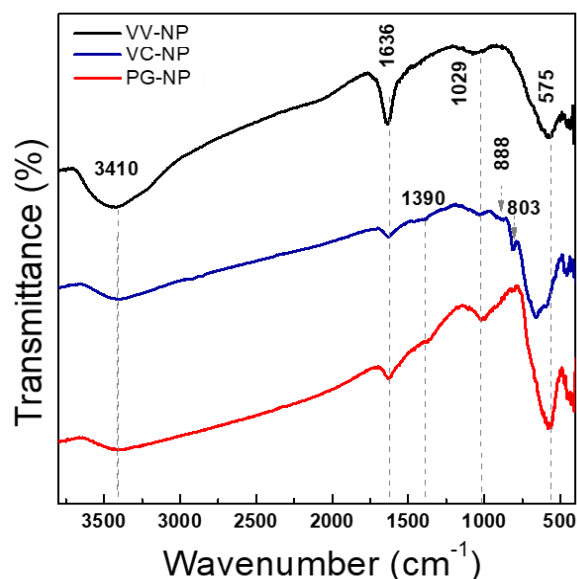


Figura 34 Espectros de FTIR de VV-NP (línea negra), VC-NP (línea azul) y PG-NP (línea roja). Se identificó el pico característico de Fe_3O_4 a 576 cm^{-1} en las tres muestras, incluyendo algunos grupos funcionales.

7.2 Caracterización química

7.2.a FTIR

Se llevó a cabo un análisis FTIR con el objetivo de identificar los grupos funcionales que se unen a la superficie de las MNPs@polifenoles, y también se tomaron en cuenta las contribuciones de óxido de hierro. En la Figura 34 se pueden observar los espectros IR de VV-NP y PG-NP, en los cuales se observa un pico fuerte alrededor de los 576 cm^{-1} , el cual corresponde a las vibraciones debidas al estiramiento de la banda metal-oxígeno Fe–O intrínseca en los sitios tetraédricos. La presencia de esta banda confirma que la fase presente en las MNPs@polifenoles sintetizados fue Fe_3O_4 [117]. En comparación, en el espectro de VC-NP se observa un doblete a 576 y 658 cm^{-1} , lo que indica una posible oxidación en la superficie de las MNPs@polifenoles.

Se identificó una banda característica alrededor de los 3410 cm^{-1} , la cual proviene de la vibración de estiramiento O-H, lo que podría indicar la formación de enlaces de hidrógeno entre los polifenoles [118]. Según análisis FTIR previos, se sugiere que el grupo -OH estuvo involucrado en la reducción de los iones de Fe y en la formación de las MNPs@polifenoles. El pico alrededor de los 1636 cm^{-1} se atribuyó a la vibración de estiramiento asimétrico C=O de los carboxilatos (-COOH). En [119], se atribuye el pico detectado en 1625 cm^{-1} a grupos hidroxilo fenólicos (-OH), y de manera similar en [118], los autores asocian el pico a la presencia de polifenoles, lo que se esperaría como consecuencia de los polifenoles en el recubrimiento de las MNPs@polifenoles. Según [120], la banda de transmisión a 1632 cm^{-1} se divide en dos picos cercanos correspondientes a los grupos -OH y C=O. Además, el pico de transmisión observado en 1390 cm^{-1} podría ser el resultado de la vibración de estiramiento C-OH [118]. Se asoció con la vibración asimétrica de estiramiento C-O de los grupos -COOH [117]. Por lo tanto, esto indicaría la presencia de enlaces de polifenoles en la superficie de las MNPs@polifenoles, como se esperaría de la presencia de enlaces -OH en la estructura química de los extractos utilizados.

La banda de transmisión a 1029 cm^{-1} se atribuyó a los grupos de estiramiento ácido C-O, correspondiente al rango de $1000\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ [119]. Este pico también se atribuyó a alcoholes, ácidos carboxílicos, ésteres y éteres [113]. En VC-NP, los modos a 803 y 888

cm⁻¹ podrían originarse a partir de las vibraciones C-O-C. Mientras que el pico de transmisión observado alrededor de los 803 cm⁻¹ se atribuyó al modo de estiramiento C-C [113,120]. La consecuencia de los resultados de FTIR es que las vibraciones de estiramiento de los polifenoles indican que los extractos se recubrieron con éxito en la superficie de las MNPs@polifenoles sintetizados.

7.2.b XPS

Las muestras de polvo se investigaron mediante espectroscopia de fotoelectrones de rayos X para analizar la composición química superficial de las MNPs@polifenoles, incluyendo la interacción oxígeno-hierro y el efecto de los polifenoles sobre las MNPs. Las firmas de nivel de núcleo y de banda de valencia de XPS se analizaron con el software CasaXPS. Todos los espectros se corrigieron mediante la sustracción de fondo Shirley. Se ha descrito que el hierro presenta una compleja división de multipletes como consecuencia de electrones *d* no apareados [121]. En consecuencia, se tuvo en cuenta una estructura de multipletes para el *Fe 2p*; por ejemplo, para la fotoemisión *Fe 2p_{3/2}* de la Figura 35a, se realizó una deconvolución espectral utilizando siete dobletes asociados a diferentes estados de oxidación (multiplete de 709 a 714 eV), estructuras superficiales de alta energía de enlace (715 eV), "prepícos" de baja energía de enlace (708 eV) y picos satélite (718 eV). Para las contribuciones de *Fe 2p_{1/2}* se utilizaron consideraciones similares. Los prepícos se han propuesto para considerar la formación de iones Fe con un estado de oxidación inferior a 2+ y 3+ debido a la presencia de defectos en sitios vecinos [122]. Para llevar a cabo un proceso de deconvolución adecuado, se consideraron la relación de área pico a pico, la separación de energía de los dobletes y la *FWHM*, tal y como se informa en otro lugar [123]. Con respecto a la relación de área pico a pico, para cada doblete *Fe 2p* se encontró un valor cercano a 0.5, de acuerdo con la condición $2J + 1$, donde *J* es el número cuántico para el momento angular total [124]. Los picos de fotoemisión del nivel del núcleo del *Fe 2p* se muestran en las Figuras 35 a-c. Para las muestras VV-NP, VC-NP, y PG-NP, los componentes *Fe 2p_{3/2}* y *Fe 2p_{1/2}* de menor BE del multiplete se encontraron a 710.50 y 724.10 eV, respectivamente [125]. Los pequeños picos a 718.88 (VV-NP, Figura 35a), 718.98 (VC-NP, Figura 35b) y 719.19 eV (PG-NP, Figura 35c) estaban relacionados con una ligera oxidación superficial correspondiente a un pico satélite de *Fe 2p_{3/2}* debido a la presencia de Fe³⁺ y Fe²⁺ [114]. Se ha afirmado que la fase γ -Fe₂O₃ muestra rasgos satélites visibles, mientras que estas señales características desaparecen para el Fe₃O₄ [126]. En nuestro caso, los resultados de XPS y XRD implican que ambas fases están mezcladas en

las muestras sintetizadas. En general, la posición de todos los picos estaba en buen acuerdo con los resultados reportados anteriormente, con un pequeño desplazamiento de $\Delta = 0.20$ eV hacia BEs más altas, en comparación con los valores reportados para los picos de magnetita [122].

En las Figuras 35d-f se muestran los espectros de nivel de núcleo de O 1s para las muestras VV-NP, VC-NP y PG-NP, respectivamente. Para cada muestra se encontraron tres picos. El pico con la energía de enlace más baja se mantuvo casi constante en aproximadamente 530.0 eV, con la señal de la muestra PG-NP centrada en una energía ligeramente superior (530.13 eV). Este pico se ha relacionado con los enlaces metal-oxígeno (Fe-O) [127]. El segundo pico, relacionado con los enlaces Fe-OH, apareció a 531.20 eV para las muestras VV-NP y VC-NP, y a una energía más alta (532.47 eV) para la muestra PG-NP [127]. El tercer pico mostró cambios en su posición dependiendo de la muestra, es decir, para VV-NP se encontró a 532.42 eV, mientras que para VC-NP se reveló a 532.49 eV, y a 532.92 eV para PG-NP. Este pico se ha asociado con las capas orgánicas adsorbidas en las muestras (C-OH/C-O-C) [127]. Las diferencias en las energías de enlace de los dos últimos picos pueden estar asociadas a cambios en el entorno químico debido al recubrimiento del polifenol.

El espectro de C 1s a nivel de núcleo fue deconvuelto para MNPs@polifenoles, como se muestra en las Figuras 35 g-i. Se encontraron tres picos en cada espectro. El pico con las energías de enlace más bajas, es decir, 284.82, 284.97 y 284.84 eV para VV-NP, VC-NP y PG-NP, respectivamente, surgió como consecuencia de los enlaces C=C, C-H formados por la exposición al aire de las muestras. Además, el pico medio situado en 285.90 eV para VV-NP, 286.25 eV para VC-NP, y 286.27 eV para PG-NP, está de acuerdo con los valores reportados en trabajos previos para nanopartículas de Fe_3O_4 cubiertas con capas orgánicas [123]. Además, las señales situadas a las energías más altas se asignaron a enlaces C-N, C-OH u O-C=O, que aparecieron respectivamente a 288.52, 289.03 y 288.47 eV para las muestras VV-NP, VC-NP y PG-NP.

Dado que se consideraron algunas diferencias entre la magnetita y la maghemita en su estructura electrónica, un análisis cuidadoso de la región de la banda de valencia permite hacer esta diferenciación. Los espectros XPS VB se muestran en la Figura 36, donde estas bandas están formadas por dos picos localizados a 4.0 y 6.5 eV. Estas señales se han identificado respectivamente con los orbitales 2p non-bonding (π) y bonding (σ) del oxígeno. Además, el máximo de la banda de valencia se obtuvo a partir de una

extrapolación lineal de la región de baja energía del orbital $O 2p$. Los valores determinados fueron 1.13, 1.29 y 1.43 eV para las muestras VV-NP, VC-NP y PG-NP, respectivamente. Se observó un pequeño hombro en las tres muestras alrededor de 1,5-0 eV, que se asoció con una configuración octaédrica Fe^{2+} presente en la magnetita [126,128]. La concentración elemental cuantificada por XPS se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2 Concentración atómica en MNPs@polifenoles.

Muestra	Fe (%)	O (%)	C (%)
VV-NP	29.81	47.16	23.03
VC-NP	30.21	49.48	20.31
PG-NP	23.72	40.74	35.54

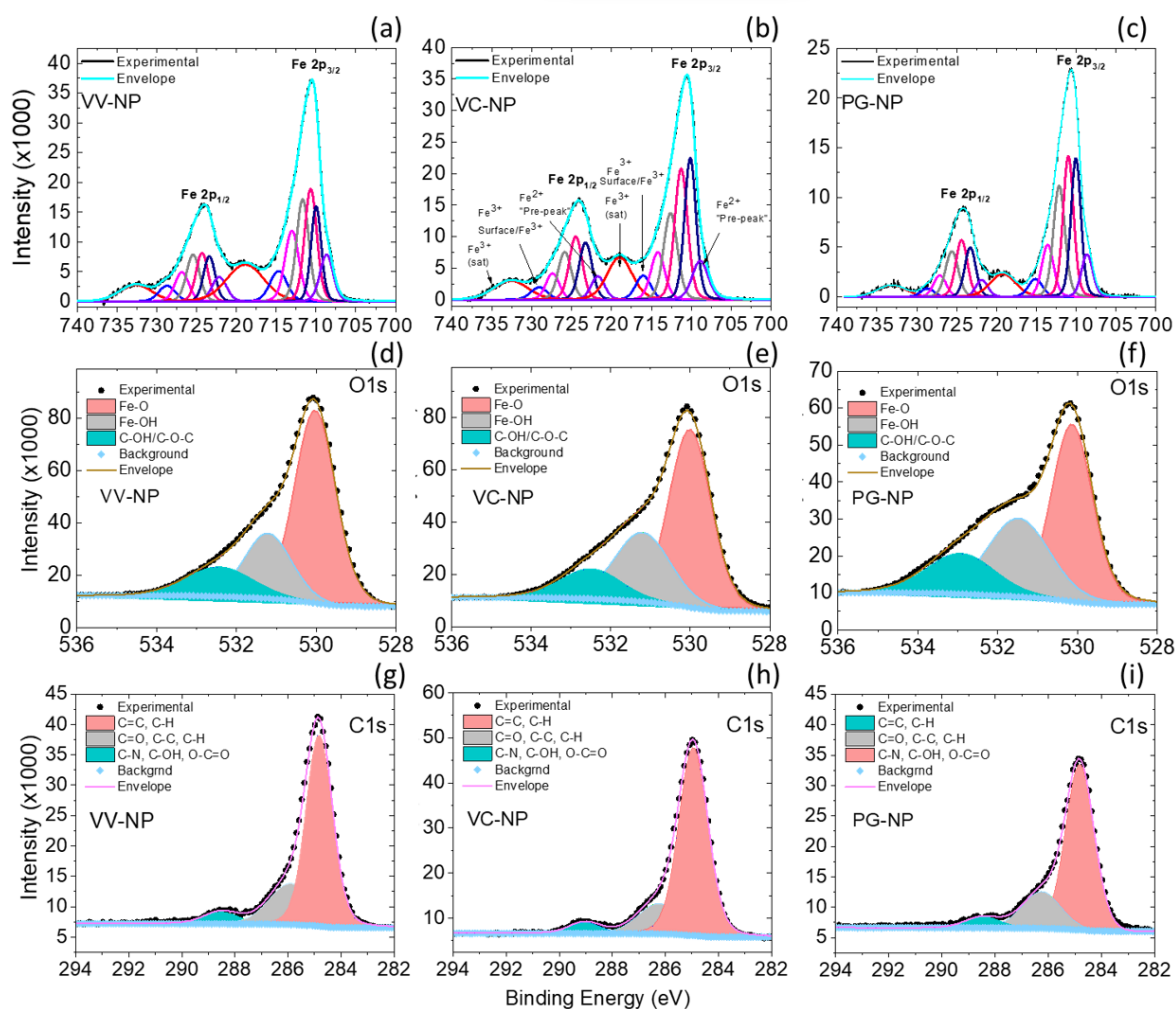


Figura 35 Espectros XPS de (a-c) $Fe 2p$, (d-f) $O 1s$, y (g-i) $C 1s$ de niveles centrales para VV-NP, VC-NP, y PG-NP, respectivamente.

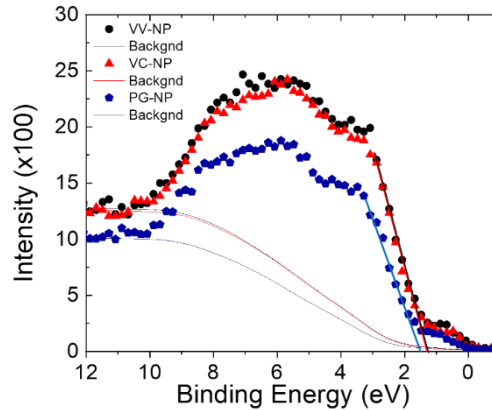


Figura 36 Espectros de bandas de valencia de VV-NP (símbolos negros), VC-NP (símbolos rojos) y PG-NP (símbolos azules). Se han añadido los fondos de Shirley. Las extrapolaciones lineales indican el VBM de cada muestra.

7.3 Caracterización magnética

La topografía se midió utilizando el modo de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), mientras que la Microscopía de Fuerza Magnética (MFM) se utilizó para observar las propiedades de interacción del dominio magnético, incluyendo la topología y el tamaño de partícula. Se analizó la topografía y los perfiles de la muestra VC-NP en la Figura 37. En primer lugar, se realizó una imagen de topografía 2D, en la que se pueden observar las MNPs@polifenoles como una dispersión de las MNPs@polifenoles sintetizadas. Se formaron aglomerados con forma redondeada debido a la preparación del pellet, como se muestra en la Figura 37(a). El tamaño de la VC-NP se estimó utilizando el perfil de topografía, lo que indica que el tamaño de la nanopartícula de aproximadamente 13 nm, como se muestra en la Figura 37 (b).

Dado el tamaño de las partículas, se esperaba que el comportamiento magnético de las MNPs@polifenoles fuera similar al de las partículas monodominio. Con el fin de verificar el comportamiento magnético de los MNPs@polifenoles, se aplicaron condiciones de campo magnético en forma de condiciones iniciales ($H=0$) para alcanzar un estado de magnetización en saturación y finalmente desmagnetización.

Un acercamiento del estado de saturación (Figura 38 a-b) muestra dos regiones donde los dominios magnéticos están bajo la acción del campo magnético $H=5$ kOe. Como resultado, algunos de los espines se alinearon y la mayoría de los dominios estaban orientados a 90° . El perfil (Figura 38 c) muestra la dirección de los espines y revela un comportamiento

uniaxial. Las líneas de flujo alrededor de los dominios magnéticos tenían una longitud aproximada de 2,7 nm.

Las imágenes 3D (Figura 39) muestran la secuencia de imágenes de la topografía y del modo de fase en modo elevación en z (*lift high*). Se observaron algunas diferencias en la topología justo antes del estado de saturación, se formaron pequeños aglomerados redondos nuevamente en la forma inicial descargada.

Por lo tanto, las MNPs@polifenoles poseen la capacidad de volver a sus condiciones iniciales después de la aplicación del campo magnético. Cuando se alcanzó la condición de saturación, la mayoría de los espines estaban orientados en la misma dirección que el campo magnético. Además, se observó la alineación de las líneas de campo magnético de los dominios individuales y el ensamblaje en la dirección del campo magnético aplicado. Después de eso, bajo un estado desmagnetizado ($H=0$), hubo un desorden de dominio, pero se mantuvo la respuesta magnética alineada. Según las imágenes y perfiles de MFM obtenidos bajo la variación en la distancia entre la punta y la muestra, los dominios magnéticos tienen una anisotropía uniaxial.

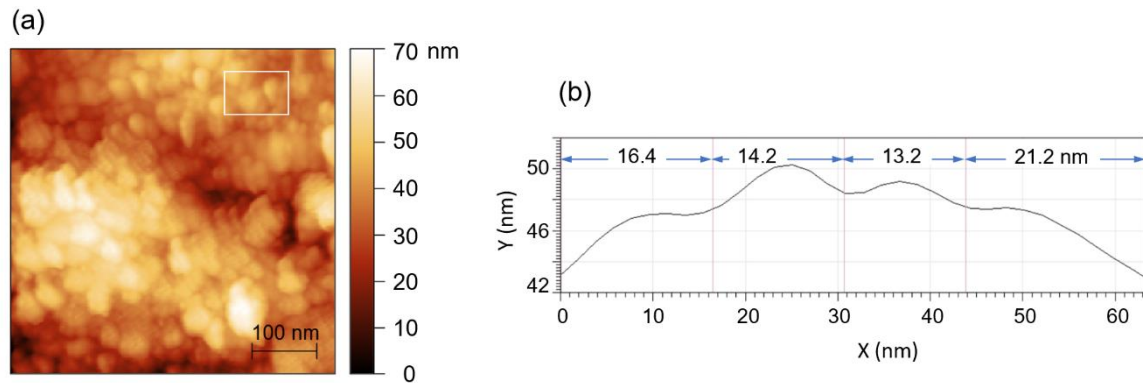


Figura 37 Topografía 2D AFM-MFM (a) y perfil de tamaño de VC-NP (b).

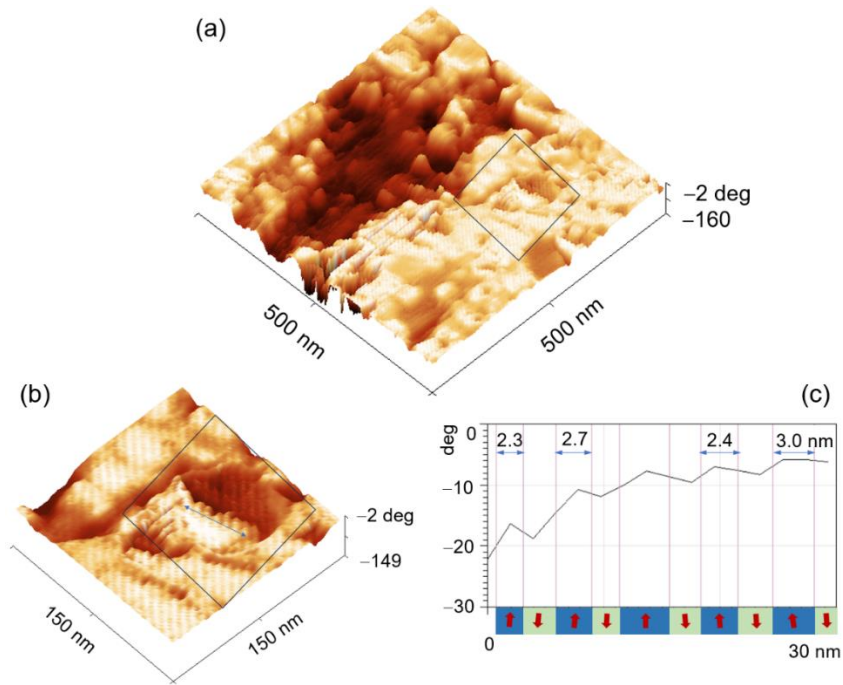


Figura 38 Topografía 3D MFM (a-b) y perfil de dominio (c).

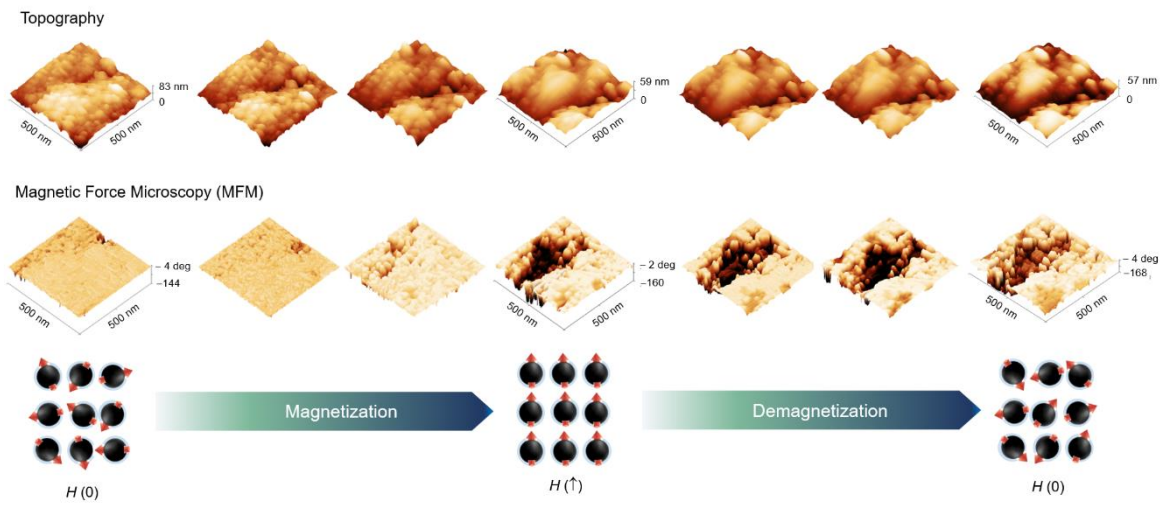


Figura 39 La secuencia MFM de VC-NP muestra el proceso de magnetización y desmagnetización.

7.2 Citotoxicidad

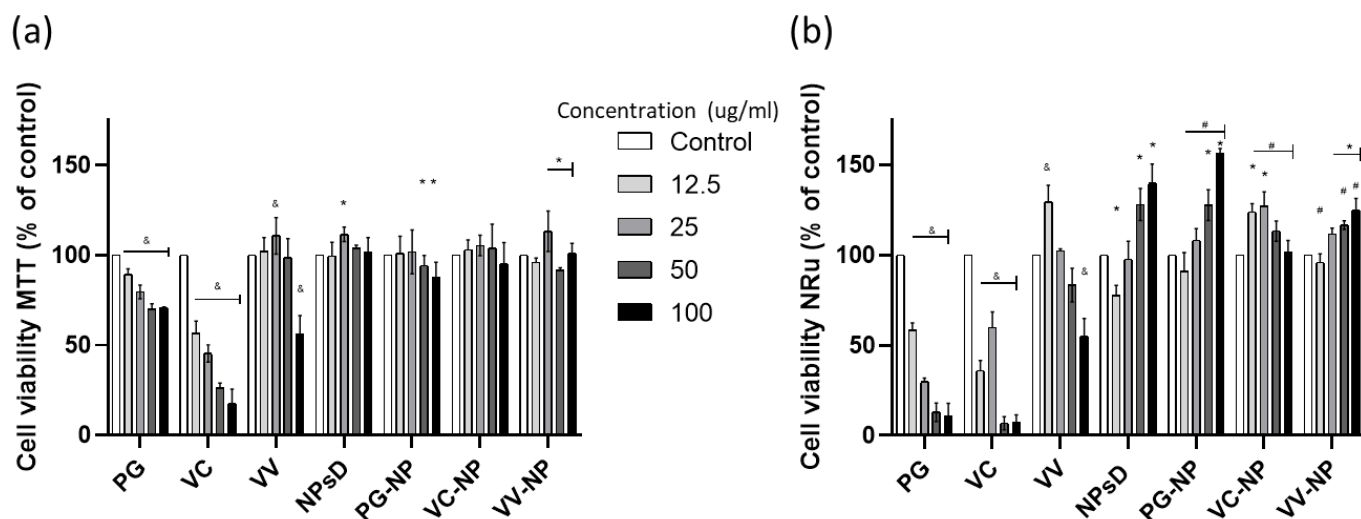


Figura 40 (a) Resultado del ensayo MTT y (b) ensayo de absorción de NRu.

Para determinar el efecto de las nanopartículas recubiertas y desnudas, así como de los extractos naturales, en la viabilidad de las células en cultivo, se realizaron pruebas MTT y NR. Se utilizaron dos ensayos diferentes porque el método de ensayo MTT puede estimar la actividad metabólica de las células, lo que indica las células vivas al monitorear la actividad mitocondrial, mientras que el método de captación de rojo neutral informa sobre la actividad de los lisosomas. Ambos ensayos se realizaron con la línea celular K562. La toxicidad en la línea celular se cuantificó utilizando diferentes concentraciones (12.5, 25, 50 y 100 µl/mL y 12.5, 25, 50 y 100 µg/mL para extractos y MNPs@polifenoles, respectivamente). La Figura 40 (a) muestra el resultado del ensayo MTT: la exposición de nanopartículas a células K562 no mostró efecto alguno sobre la viabilidad celular por ningún método. Para eliminar el efecto de los extractos sobre la viabilidad celular, también se probaron estos últimos. La exposición solo a los extractos mostró efectos significativos sobre la viabilidad celular, con el extracto de *Vaccinium corymbosum* siendo significativamente citotóxico para la línea celular. Se observó una reducción de la actividad mitocondrial en las concentraciones de exposición más altas.

El ensayo de captación NR se muestra en la Figura 40 (b). Se puede observar que los extractos de orujo y *Vaccinium corymbosum* mostraron la mayor sensibilidad, induciendo

una respuesta de estrés en las células ya que aumentaron la actividad lisosomal en los cultivos celulares. Como resultado, el extracto de *Vaccinium corymbosum* y el extracto de *Punica Granatum* pueden inducir actividad apoptótica [129,130]. Dado que las nanopartículas podrían interferir con la absorción de luz en la longitud de onda MTT, podría haber dudas, lo que llevaría a una sobreestimación de la viabilidad [131]. Por esta razón, también se realizó el ensayo de captación NR para respaldar los resultados del ensayo MTT.

Capítulo 8

Resultados Propiedades magnéticas y estructurales de la ferrita $Zn_xFe_{3-x}O_4$

El dopaje de las ferritas usando iones de transición metálicos es un intento de mejorar las propiedades fisicoquímicas. En particular, la estructura magnética puede ser alterada por la redistribución de los iones de hierro en los sitios de A y B.

De acuerdo con lo mencionado en la sección 3.1, algunas ferritas de la forma MFe_2O_4 , con M un ion metálico de transición divalente, son ferrimagnéticas. En el caso de la ferrita $ZnFe_2O_4$, el material es antiferromagnético de estructura de espinela cúbica normal FCC con un parámetro de red $a=8.431 \text{ \AA}$ y una anisotropía $k = 10 - 20 \text{ kJ/m}^3$, donde los iones Zn^{2+} y Fe^{3+} se ubican principalmente en los sitios tetraedrales y octaédricos, respectivamente, y cuya fórmula es $(Zn^{2+})_A[Fe^{3+}]_BO_4$, aunque debido a los efectos de redistribución de los iones en los sitios intersticiales, su fórmula podría modificarse como $(Zn_{1-x}^{2+}Fe_x^{3+})_A[Zn_x^{2+}Fe_{2-x}^{3+}]_BO_4$, donde x es el parámetro de inversión. Cada ion Zn en A está rodeado por cuatro aniones de oxígeno, mientras que el ion Fe en B lo está por seis. La estructura de espinela pertenece al grupo espacial $Fd\bar{3}m$ [132].

El material en bulk tiene un comportamiento antiferromagnético con una temperatura Néel de $T=10 \text{ °K}$ y una estructura completamente normal, con los iones de zinc en los sitios A y los iones de hierro en los sitios B. El origen de su comportamiento se debe al acoplamiento antiferromagnético de los iones de hierro en los sitios octaédricos. Sin embargo, en nanopartículas hay características de un ferromagneto, que puede deberse a la migración parcial de los iones Zn^{2+} a los sitios octaédricos [77]. Los valores reportados de saturación de magnetización M_s están en un rango, $M_s \sim 12 - 88 \text{ emu/g}$, que están altamente ligados al método de síntesis de las nanopartículas.

8.1 Caracterizaciones fisicoquímicas

8.1.1 Potencial Z

La carga superficial de las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ desnudas (Z20-NP) y funcionalizadas con extracto de uva (ZU) y granada (ZG), se determinó con ayuda de la medición del potencial Z. Las medidas se llevaron a cabo a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) en el equipo Zetasizer Nanoseries ZS90 de Malvern Panalytical. Se vio que el potencial Z de todas las muestras de NPs fue negativo, -14.82 ± 3.99 , -18.03 ± 0.29 y -21.22 ± 1.29 mV para Z20-NP, ZU y ZG, respectivamente. El potencial Z altamente negativo de los resultados, podría ser causado por la presencia de grupos hidroxilo (-OH) en los extractos y la formación de enlaces Fe-O en las nanopartículas de Fe_3O_4 [133]. Esta repulsión electrostática, debida a la carga negativa, proporcionó una estabilidad coloidal efectiva a pH neutro del sistema [134].

8.1.2 Microscopía por transmisión electrónica

La morfología y estructura cristalina de las NPs fue investigada a través de la Microscopía de transmisión electrónica mediante micrografías de diferentes áreas de la rejilla de cobre. Las imágenes de las muestras Z20-NP, ZU y ZG se analizaron en el programa GATAN Digital Micrograph, para determinar su tamaño y morfología. Se observó que todas las NPs tenían una forma redondeada, como se puede ver en las imágenes Figura 41-42. También, en las muestras ZU y ZG (Figura 41-42, respectivamente) se observó una película delgada de recubrimiento orgánico alrededor del núcleo de las partículas.

Para determinar el tamaño promedio de las partículas se examinaron aproximadamente 400 NPs de cada sistema y se elaboró un histograma de tamaños correspondiente en cada caso. La distribución de tamaños y el tamaño promedio $\langle d \rangle$ se evaluaron utilizando un ajuste de tamaño promedio que arrojó un valor 17.47 ± 0.49 y 24.13 ± 1.34 nm, para ZU y ZG, respectivamente, con una distribución de tamaño que se ajustaba a una distribución de Gauss. El patrón SAED se tomó de la muestra ZU, corroborando que correspondía con los planos cristalinos de la ferrita.

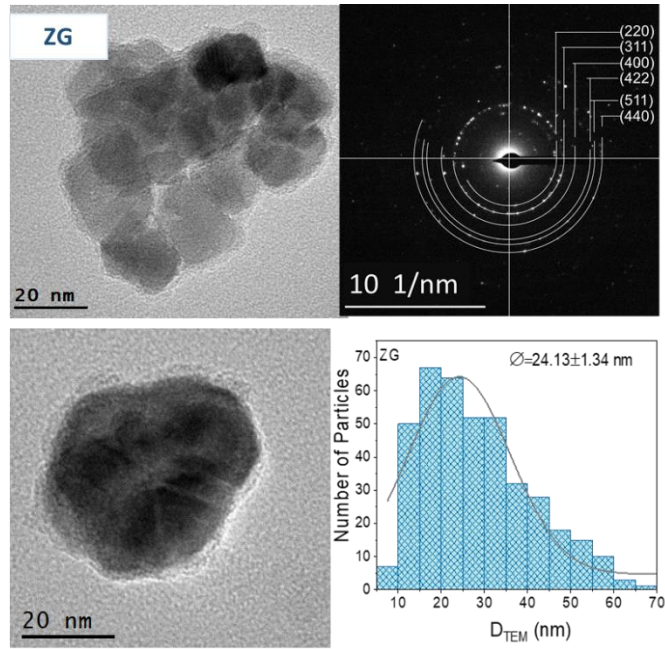


Figura 41 Micrografía TEM de la muestra ZU, con su histograma de distribución gaussiana de tamaño de partícula. Amplificar Barra de escala de referencia en todas las fotos. Se requiere procesamiento de imágenes.

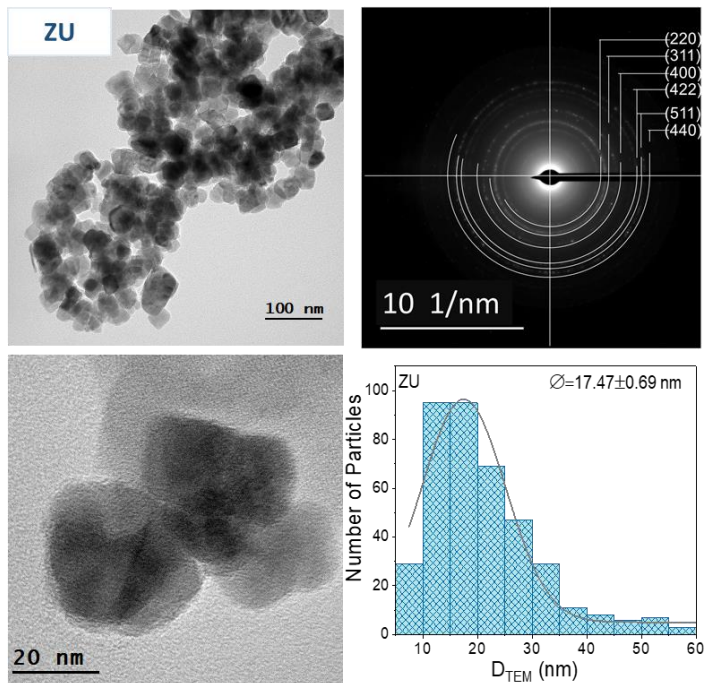


Figura 42 Micrografía TEM de la muestra ZU, con su histograma de distribución de tamaño de partícula.

8.1.3 Espectroscopia de energía dispersiva (EDS)

La relación de hierro y zinc en las nanopartículas sintetizadas se determinó mediante una serie de mediciones en el espectrómetro de dispersión de energía (EDS-SEM) en una muestra en polvo para un análisis por Microscopía electrónica de barrido (SEM). Para cada muestra, se obtuvo la concentración relativa de zinc a partir del escaneo de al menos tres zonas diferentes, con un escaneo de una zona microscópica de aproximadamente 100 nm². El spot del haz de electrones del equipo tiene un diámetro de entre 1-100 nm, y los rayos X que inciden en la muestra alcanzan una profundidad de 1-3 μm, con lo cual la muestra analizada corresponde a un volumen de 2 μm³.

Los resultados del análisis SEM se muestran en la Figura 43-45, incluyen las micrografías de SEM con sus espectros EDS correspondientes y los porcentajes atómicos de Fe y Zn de las muestras Zn20, Zn10 y Zn5. Los picos de energía Kα y Lα del hierro son Kα=6.398 keV y Lα=0.705 keV, mientras que para el zinc son Kα=8.630 keV y Lα=1.012 keV, lo que permitió una buena diferenciación entre los respectivos picos Kα y Lα de ambos elementos. Por lo cual, se puede concluir que ambos elementos están presentes en todas las muestras de las nanopartículas sintetizadas.

La composición específica de cada muestra se obtuvo a partir de los porcentajes atómicos de los espectros EDS, donde se calculó la relación estequiométrica para cada muestra. Se consideró la fórmula $Zn_xFe_{3-x}O_4$, con valores x cercanos a los esperados del cálculo estequiométrico, por lo que la concentración de zinc se determinó en 5.6%, 10.1% y 23.0% para las muestras Zn5, Zn10 y Zn20, respectivamente.

Las concentraciones de zinc para cada muestra se muestran en la Tabla 3Tabla 4Tabla 5 para las muestras ZN5, ZN10 y ZN20, respectivamente.

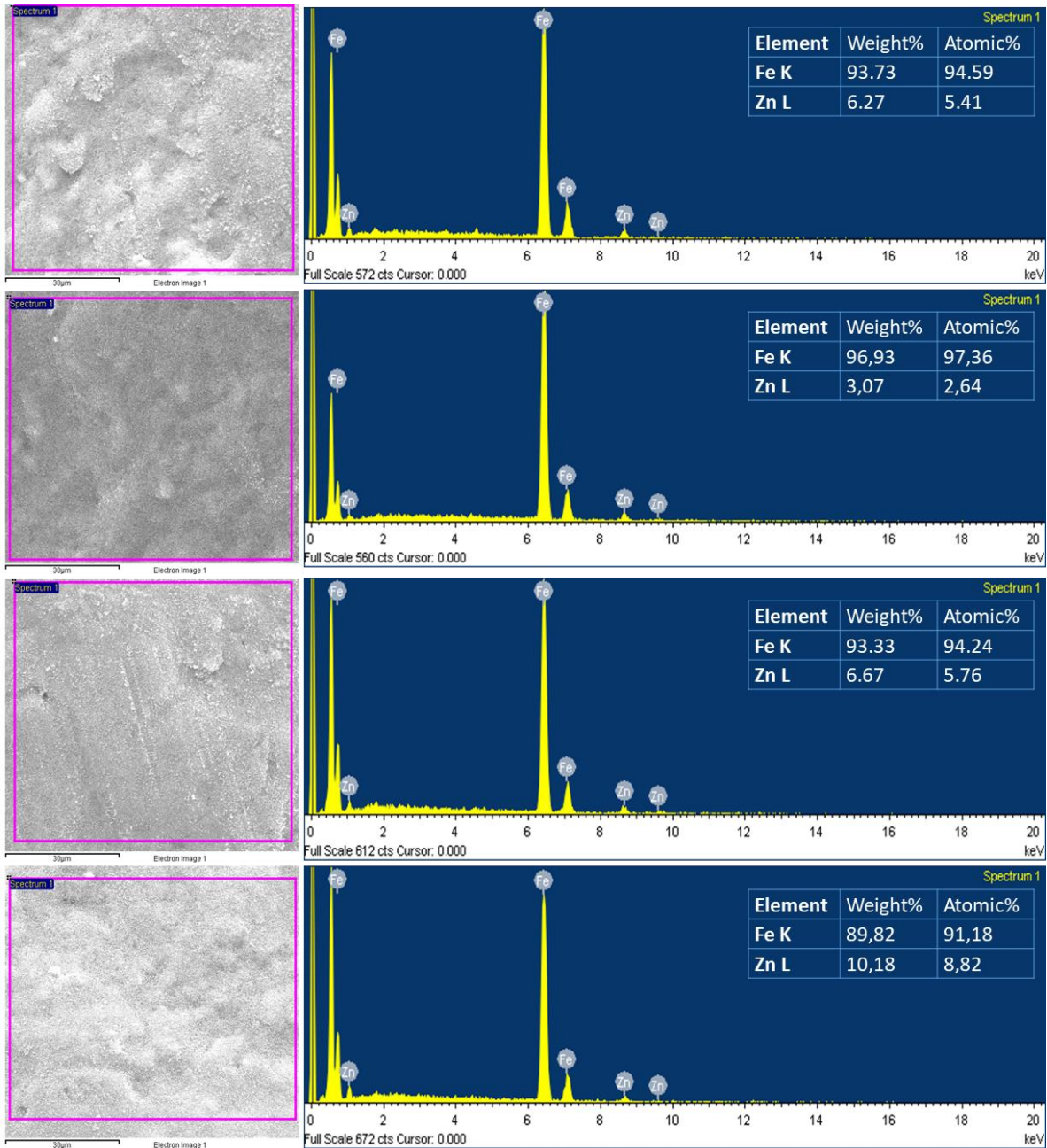


Figura 43 Análisis EDS desde SEM de la muestra ZN5. El espectro se obtuvo del área seleccionada.

Tabla 3 Composición con porcentajes atómicos (At%) de cada elemento en la muestra ZN5.

	At %	At %	At %	At %		
Zn5	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Medida 4	Prom	*% en $Zn_xFe_{3-x}O_4$
Fe	94.59	97.36	94.24	91.18	94.34	95.12
Zn	5.41	2.64	5.76	8.82	5.65	4.87

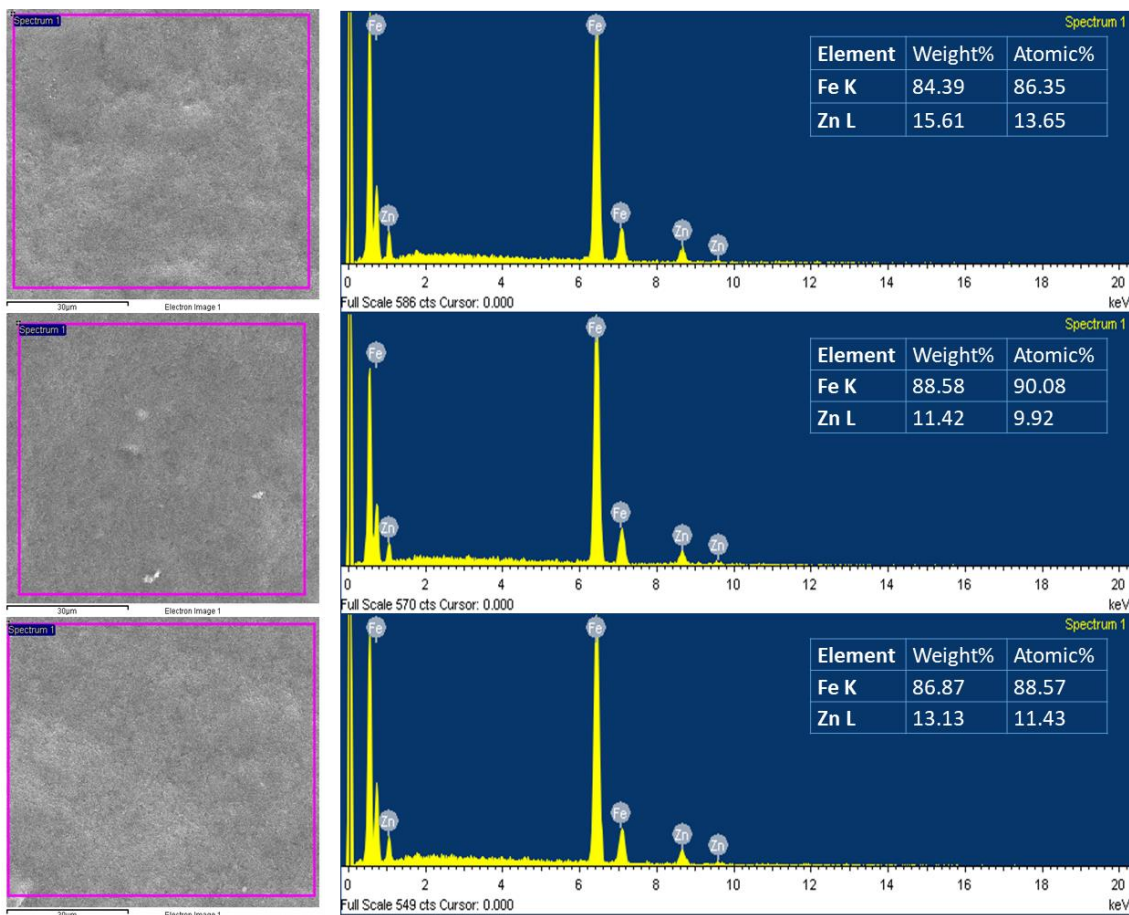


Figura 44 Análisis EDS desde SEM de la muestra ZN10. El espectro se obtuvo de un estrato de nanopartículas.

Tabla 4 Composición con porcentajes atómicos de cada elemento en la muestra ZN10.

	At %	At %	At %		
Z 10	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Prom	*% en $Zn_xFe_{3-x}O_4$
Fe	86.35	90.08	88.57	88.33	89.86
Zn	13.65	9.92	11.43	11.66	10.13

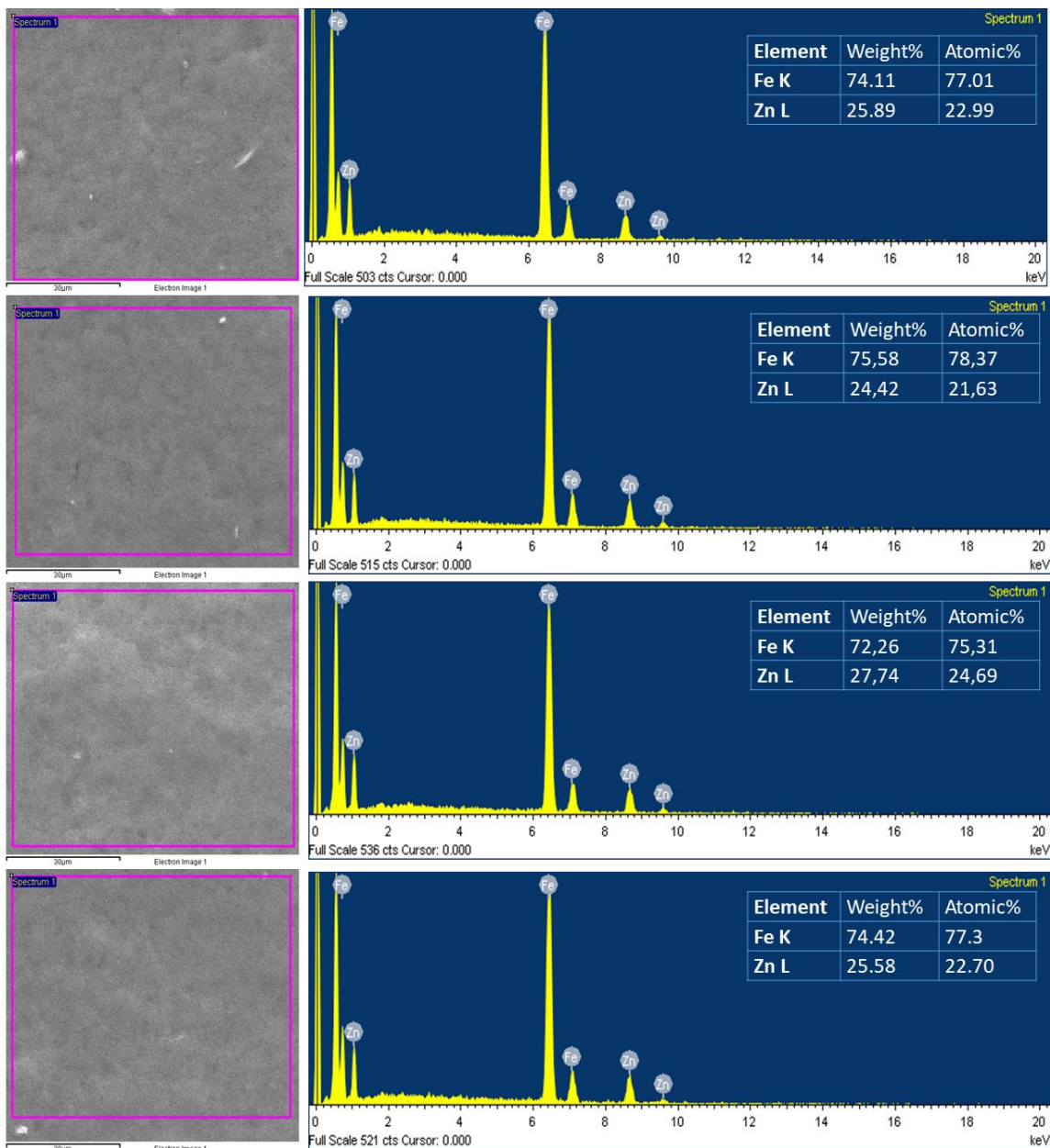


Figura 45 Análisis EDS desde SEM de la muestra ZN20-NP. El espectro se obtuvo del área seleccionada.

Tabla 5 Composición con porcentajes atómicos de cada elemento en la muestra Z20-NP para obtener su composición.

	At %	At %	At %	At %		
Zn20	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Medida 4	Prom	*% en $Zn_xFe_{3-x}O_4$
Fe	77.01	78.37	75.31	77.3	76.99	79.67
Zn	22.99	21.63	24.69	22.7	23.	20.32

Se realizó un análisis EDS en TEM de tres pequeños aglomerados de nanopartículas de la muestra Z20-NP, como se observa en la Figura 46. Los espectros de energía de rayos X fueron consistentes entre sí, y con los obtenidos en el análisis EDS-SEM. Cabe mencionar que el pico de cobre presente en los espectros se debe a la rejilla de cobre utilizada para sostener la muestra durante el análisis. Los resultados del análisis EDS por TEM mostraron que las nanopartículas de la muestra Z20-NP contienen zinc y un exceso de hierro, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el análisis EDS-SEM.

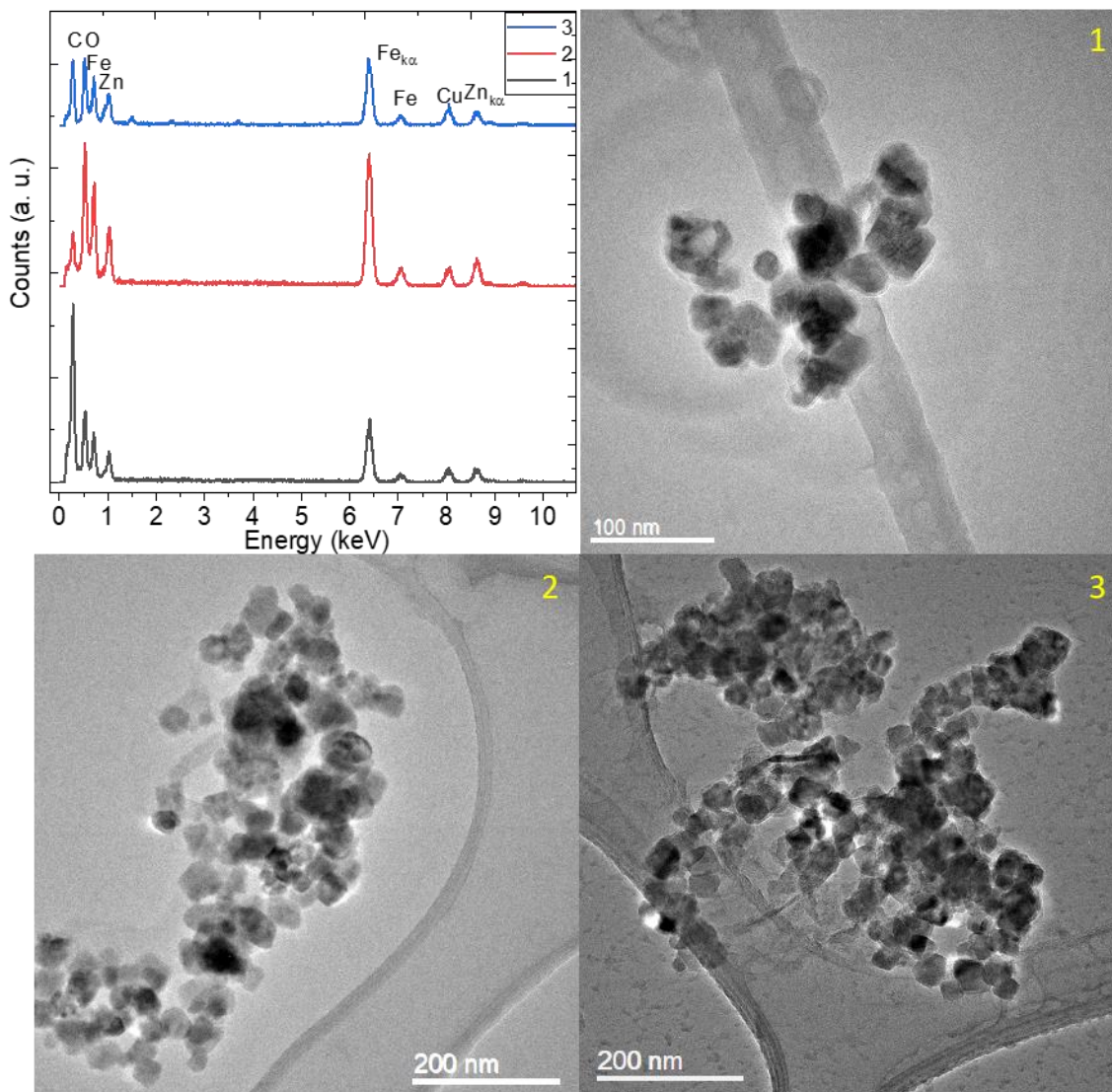


Figura 46 Determinación de la composición de MNPs mediante el análisis de espectroscopía de rayos X dispersivos de energía (EDS) en TEM. Los números corresponden al área seleccionada mediante EDS, obteniéndose el espectro.

8.1.4 Determinación de la funcionalización de las nanoferritas

La presencia de los grupos funcionales de los extractos, fue determinada por la técnica de FTIR, así mismo, la identificación de los mismos en las ferritas funcionalizadas. En la Figura 47 se muestran los espectros FTIR de los extractos en polvo, donde podemos observar bandas del espectro, como en las regiones de estiramiento y flexión de los grupos -OH ($\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$), C-O/C-H (1072 cm^{-1}) y -COOH ($\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$). De acuerdo con lo reportado, el espectro de los extractos usados, es muy similar [113]. Sin embargo, se sabe que la presencia de polifenoles en los frutos puede variar con respecto a la temporada, maduración del fruto, y otros factores.

La funcionalización de las ferritas ZG y ZU se corroboró por la presencia de algunas de las bandas de absorción halladas en los extractos de uva y arándano, como se observa en la Figura 47 a y b. En la Tabla 6 se enlistan los grupos funcionales de los espectros FTIR identificados en las nanoferritas. El pico alrededor de $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$ se atribuye a los grupos -OH presentes, mientras que la longitud de onda $\sim 1630 \text{ cm}^{-1}$ se correlaciona con algunos compuestos antioxidantes y, en consecuencia, con la actividad antioxidante [135]. De acuerdo con [136] esta banda podría revelar reacciones entre el grupo carboxílico (R-COOH) y, por lo tanto, algunos grupos funcionales podrían estar presentes ya que el medio acuoso, así como los grupos carboxilato, estuvieron disponibles a lo largo del método de biosíntesis.

La banda en $\sim 1060 \text{ cm}^{-1}$ se atribuyó al estiramiento C-O/C-H de la muestra analizada. De hecho, los picos en el rango de $1000\text{-}1350 \text{ cm}^{-1}$ se atribuyen a la existencia de carbohidratos en la muestra, ya que esta región del espectro infrarrojo contiene vibraciones específicas para alcoholes, ésteres, ácidos carboxílicos y amidas, que podrían estar presentes en el extracto acuoso [119].

El pico desplazado a una longitud de onda más alta, a 1461 cm^{-1} , podría atribuirse al estiramiento asimétrico de C-O del grupo carboxílico. Por otro lado, los picos en 1415 y 1029 cm^{-1} se han atribuido a la vibración de estiramiento asimétrica y simétrica de COO- , respectivamente. Estos resultados sugieren la presencia de ácidos carboxílicos en la muestra, ya que los grupos COO- están presentes en estos compuestos [111].

Tabla 6 Comparación de los picos de FTIR hallados en las muestras ZU, ZG con los orgánicos.

ZU (cm ⁻¹)	ZG (cm ⁻¹)	Orgánicos
3286	3203	3282
2908	-	2920
2639	-	-
2318-2156	2318	-
2048	2048	-
1639	1573	1633
1423	1428,1322	1420, 1334
1228	1204, 1146	1233
1060	1060	1031

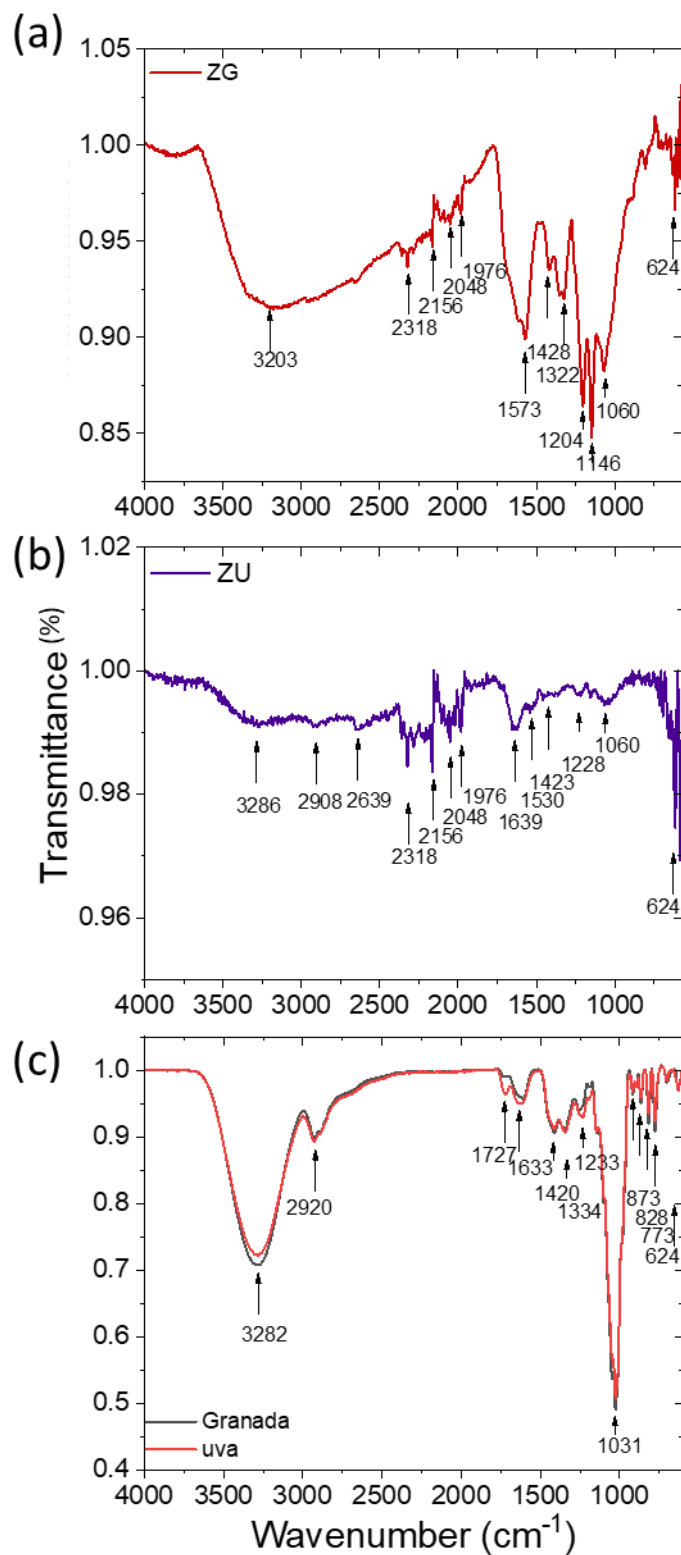


Figura 47 Espectro FT-IR de las MNPs sintetizadas con extractos de (a) *Punica granatum*, (b) *Vitis vinifera* y (c) extractos usados.

8.1.5 AFM-MFM

El comportamiento magnético de las nanopartículas de ferrita $Zn_xFe_{3-x}O_4$ ZU y ZG fue estudiado mediante microscopía de fuerza atómica (AFM-MFM). Se realizaron mediciones de topografía y dominios magnéticos en áreas de escaneo de $5 \times 5 \mu\text{m}$.

Se encontró que la medición AFM-MFM de la muestra ZU fue un desafío debido a que la película formada era muy delgada y amorfa. Esto llevó a la obtención de imágenes solo en pequeñas zonas de dominios magnéticos. Por otro lado, la muestra ZG mostró la formación de aglomerados de nanopartículas de tamaño estimado $>100 \text{ nm}$, según los perfiles topográficos (Figura 48). La formación y ensamblaje de estos aglomerados de nanopartículas se debe al intercambio entre monodominios vecinos y a interacciones magnetostáticas [137].

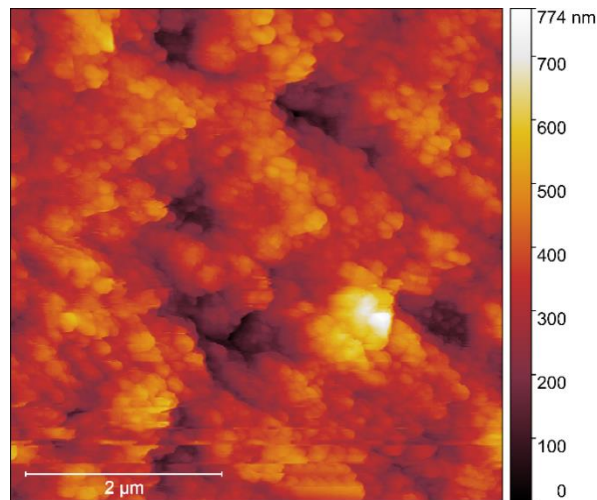


Figura 48 Topografía de las nanopartículas magnéticas ZG.

Las imágenes 3D MFM y AFM (Figura 49) mostraron la superficie de las nanopartículas, así como las interacciones de los dominios magnéticos después de la aplicación de un campo magnético de un imán. La interacción magnética en la punta en modo *lift* mostró la presencia del desorden de los monodominios antes y después de la aproximación del imán. Este procedimiento demostró que los dominios magnéticos exponen una orientación uniaxial como respuesta a las fuerzas de atracción y repulsión entre la muestra y la punta magnética.

En las imágenes MFM en las condiciones iniciales ($H=0$), se observó el alineamiento de los espines, conformando líneas atractivas (brillantes) y repulsivas (oscuras). Las líneas

formadas indicaron las interacciones atractivas y repulsivas de los dominios magnéticos, las cuales estaban orientadas hacia arriba para los espines \uparrow en las líneas atractivas y hacia abajo para los espines \downarrow en las líneas repulsivas. La formación de líneas paralelas se podría deber a la anisotropía uniaxial definida por la orientación de los dominios a 90° . Los perfiles de los dominios magnéticos mostraron las interacciones locales con los dominios en un rango. La Figura 50-51 indicaron un tamaño promedio de dominio de 9.9 y 1.96 nm para ZG y ZU, respectivamente. Las deflexiones de las líneas magnéticas, debido a las interacciones atractivas y repulsivas, variaron desde -54 a $71^\circ=125^\circ$.

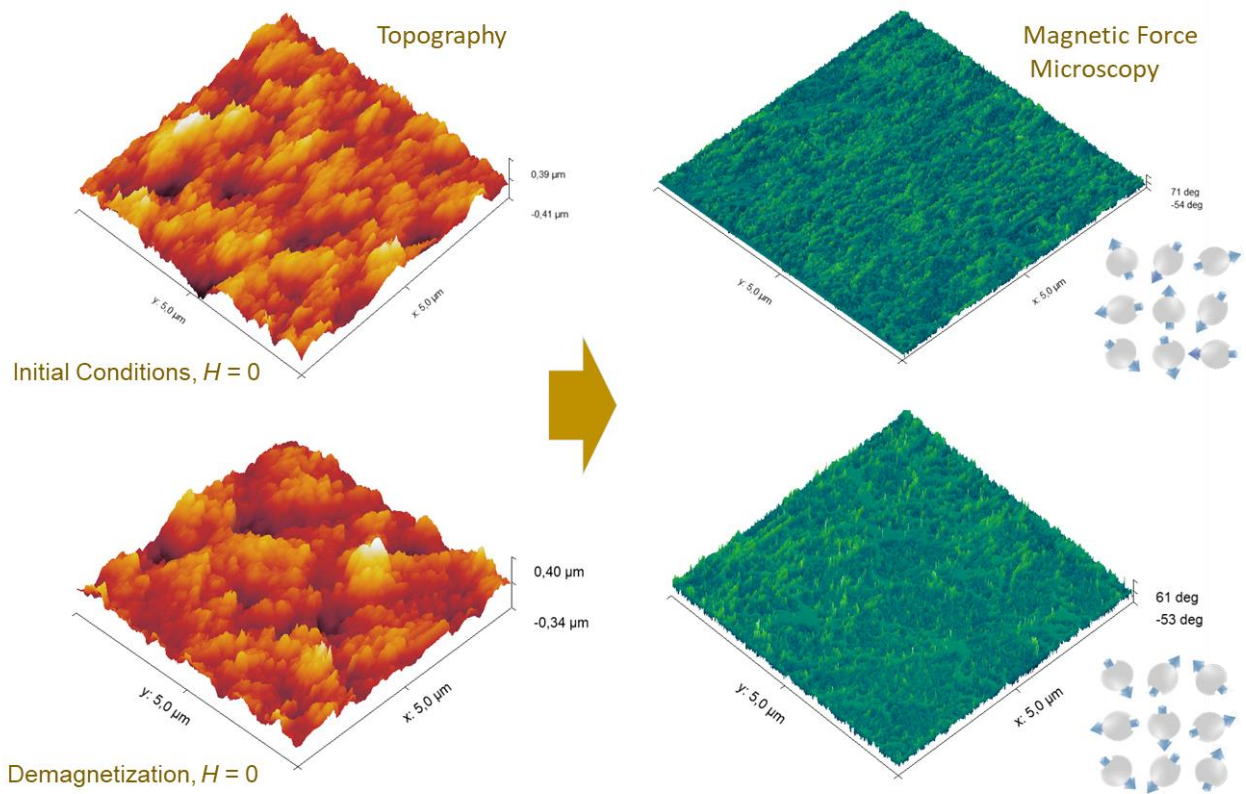


Figura 49 Imágenes 3D por AFM y MFM de las nanopartículas magnéticas ZG antes y después del acercamiento de un imán.

ZU

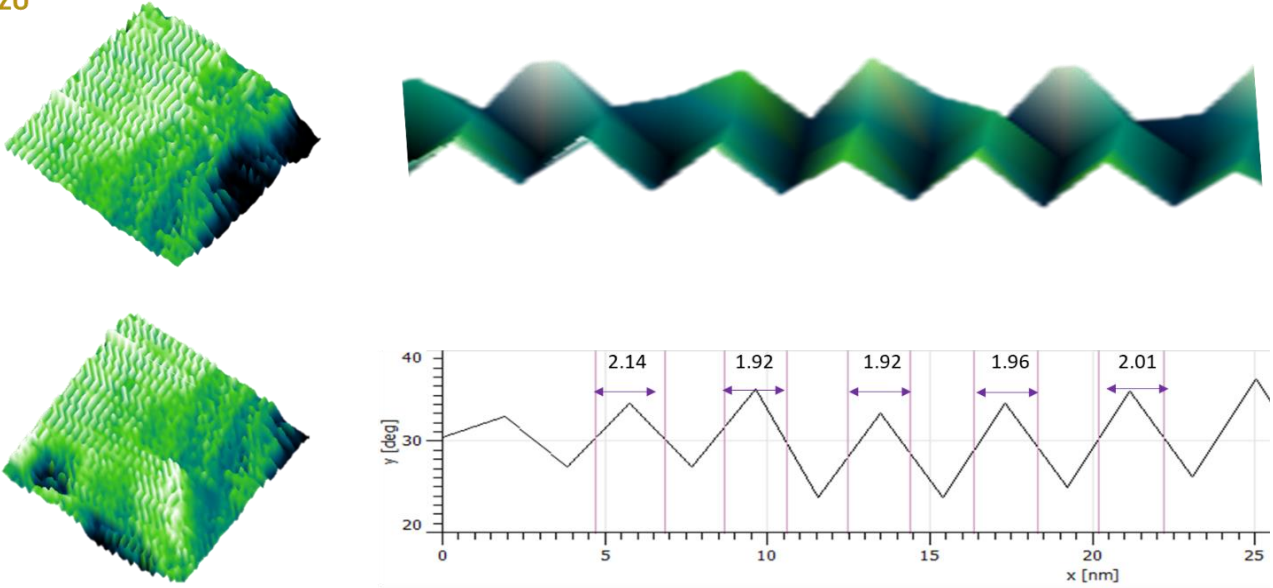


Figura 50 En la figura se muestra la orientación de los dominios magnéticos en la región del núcleo de ZU. Se observa la interacción entre las zonas de atracción (regiones brillantes) y de repulsión (regiones oscuras), y su perfil de dominio.

ZG

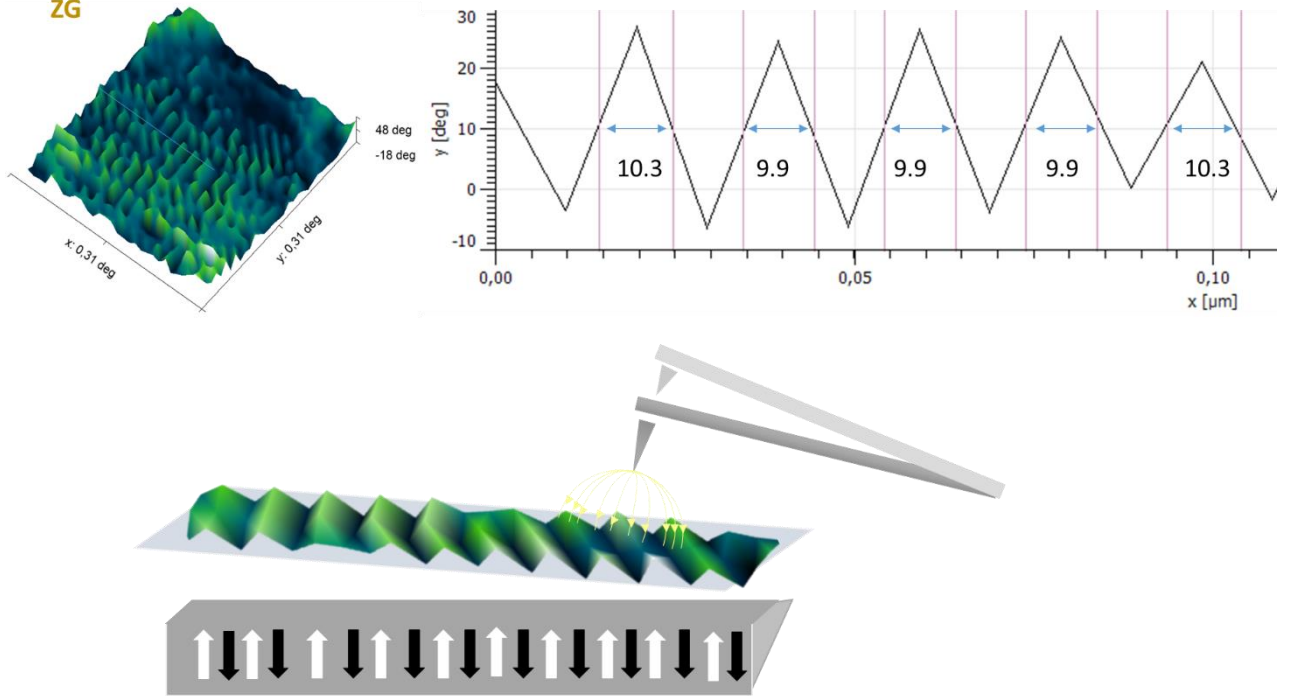


Figura 51 En la figura se muestra la orientación de los dominios magnéticos en la región del núcleo de ZG y el perfil de dominio.

8.1.6 HRTEM

Las imágenes de alta resolución de TEM (HRTEM) en las Figuras 52-54 muestran los patrones de difracción correspondientes a las muestras de nanopartículas sintetizadas ZG y Z20-NP. En el equipo FEI 30 fue posible observar la estructura cristalográfica de las nanopartículas con una resolución atómica. Se encontró que ambas muestras presentan una buena cristalinidad.

La transformada rápida de Fourier de cada área seleccionada, que se realizó mediante HRTEM (FFT-HRTEM), confirmó que la estructura de las ferritas es de tipo espinela. Adicionalmente, los planos cristalinos de los nanocristalitos pueden indexarse al grupo espacial $Fd\bar{3}m$.

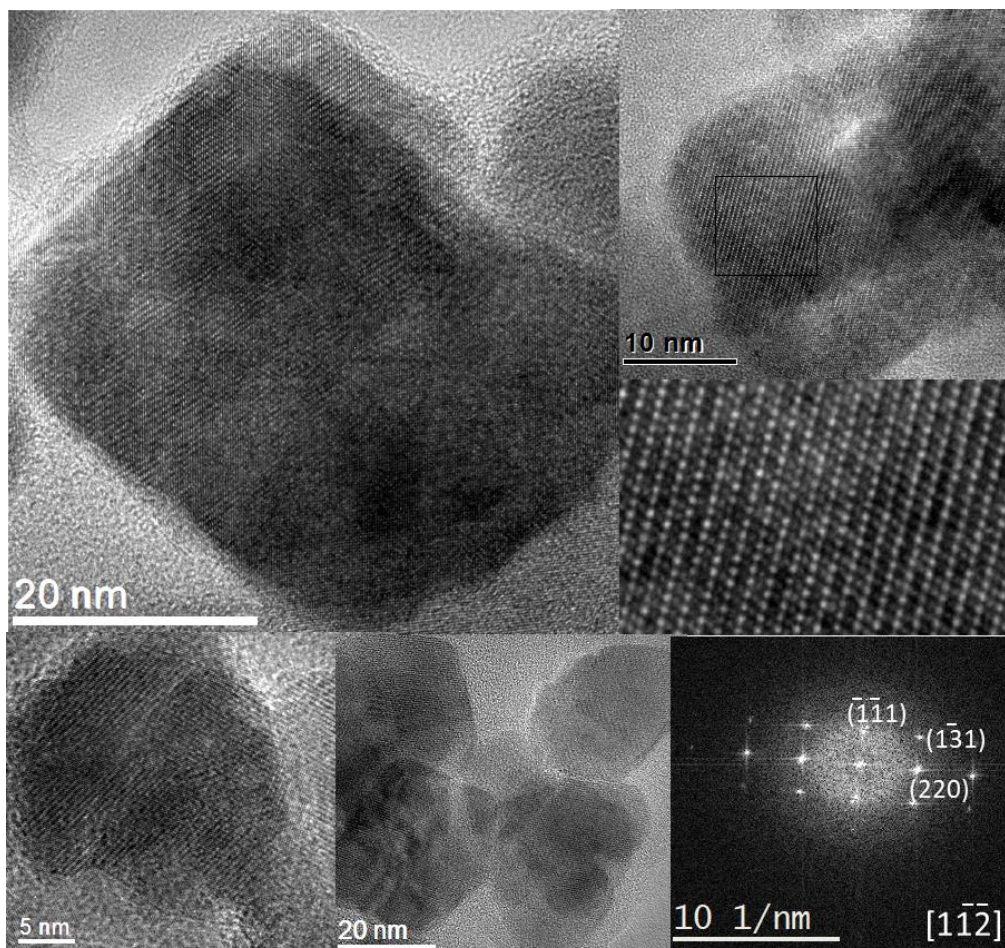


Figura 52 Micrografías HRTEM de las nanopartículas Z20-NP.

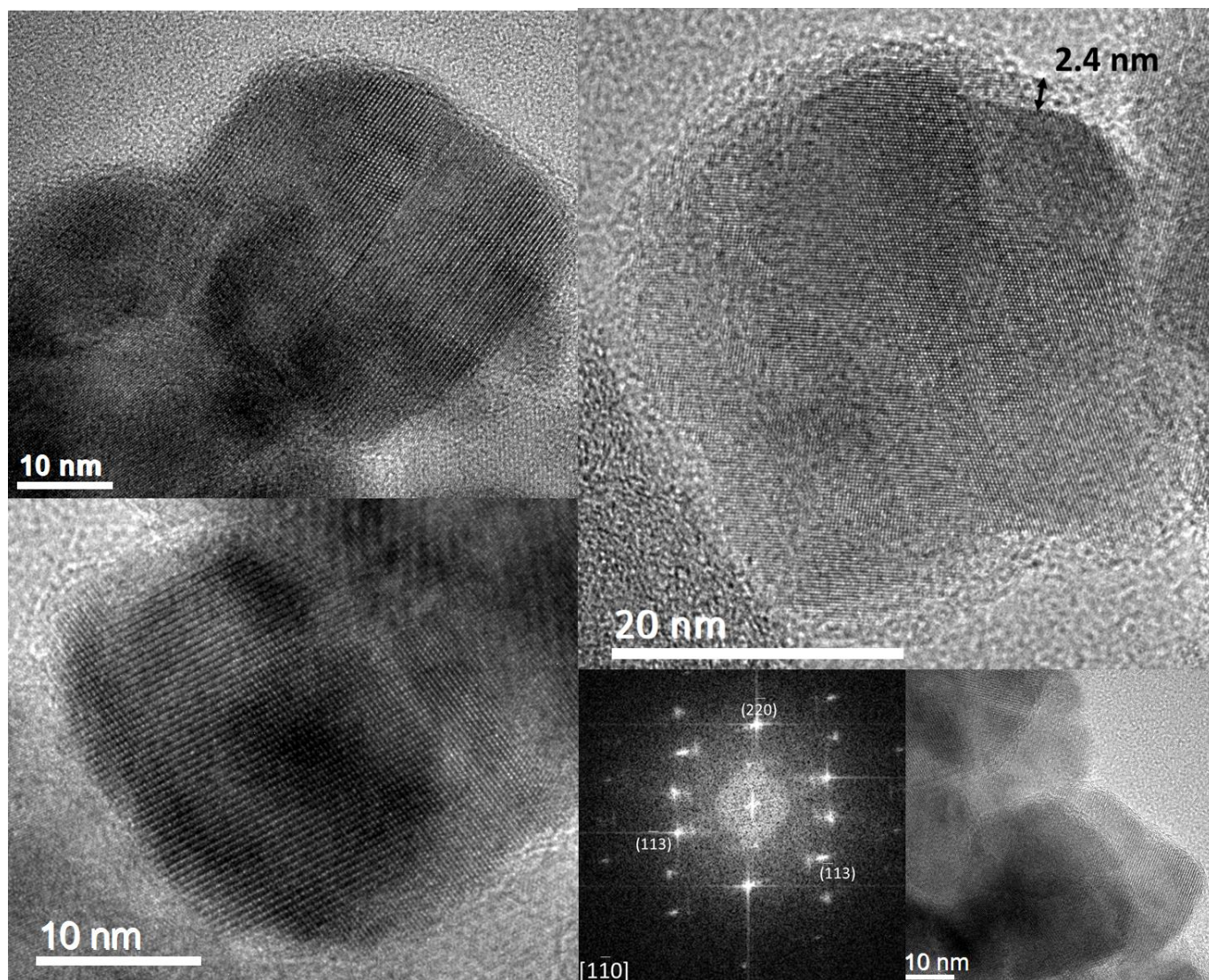


Figura 53 Micrografías HRTEM de las nanopartículas ZG, en las imágenes se puede observar el recubrimiento del orgánico.

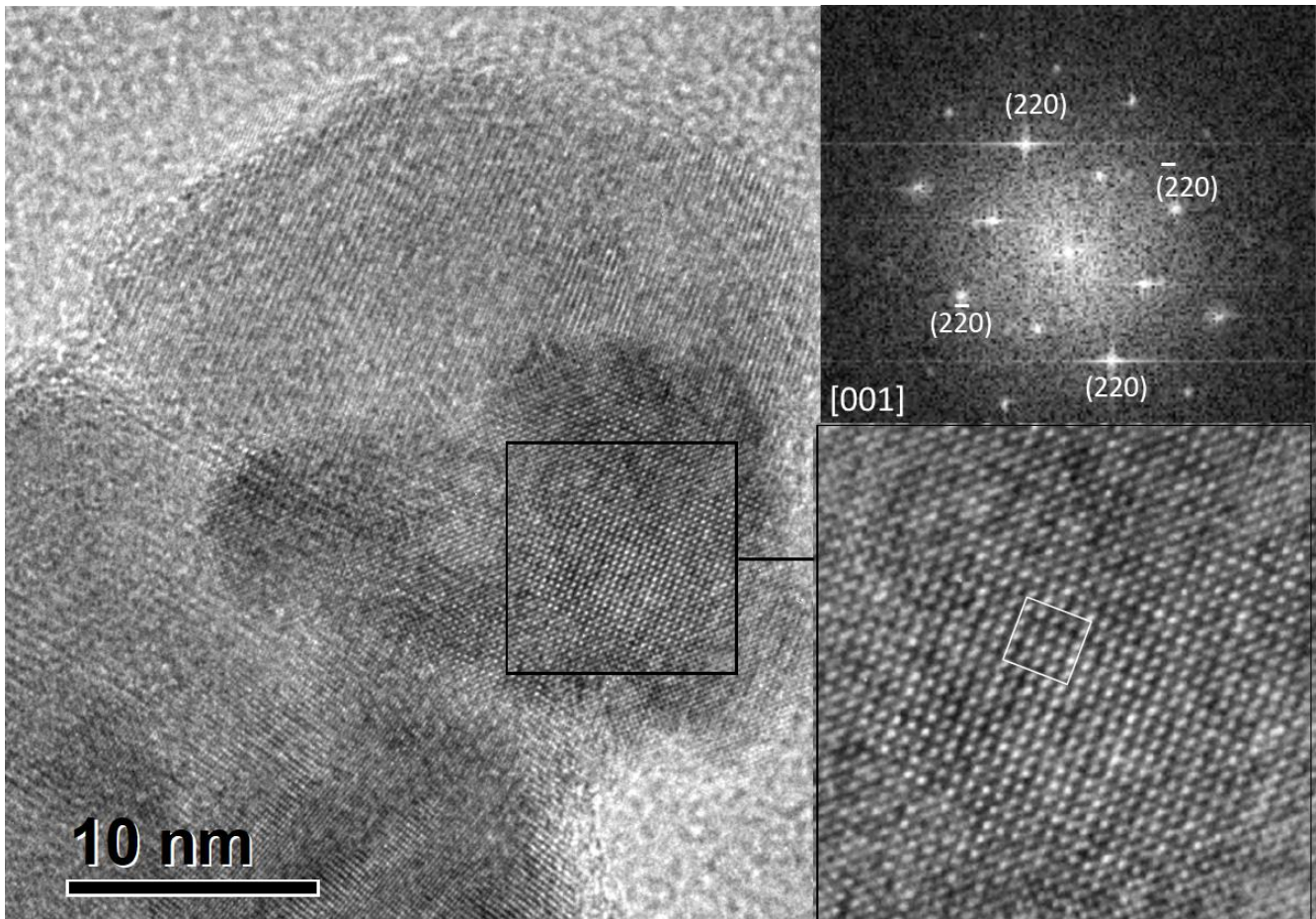


Figura 54 Micrografía de la muestra ZG, se observa la buena cristalinidad de las nanopartículas.

8.1.7 XPS

Utilizando la espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) se determinaron la composición química superficial, el estado de oxidación, la interacción oxígeno-hierro y el efecto de los polifenoles sobre las tres muestras de nanopartículas sintetizadas: Z20-NP, ZG y ZU. Este análisis permitió identificar las formas químicas de la recubierta orgánica. En la Figura 5 se muestra el espectro *survey* de todas las muestras, donde se observó que los espectros de las muestras ZU y ZG presentan una mayor intensidad debido al efecto de los recubrimientos en las nanopartículas. En todos los espectros de las NPs sintetizadas, se corroboró la presencia de los elementos *Fe 1s*, *Zn 2p*, *C 1s* y *O 1s*.

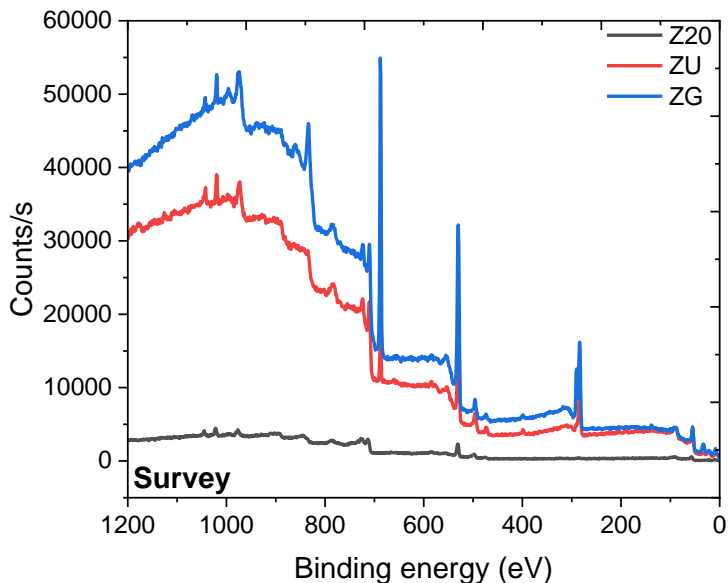


Figura 55 Espectro survey XPS de las muestras Z20-NP, ZU y ZG.

Un análisis detallado de todos los componentes se realizó mediante el uso de espectros de alta resolución, como se muestra en la Figura 5-59. Para el análisis, se aplicó el background tipo Shirley en cada espectro. En el espectro $Zn\ 2p$ (Figura 56 a), se observó la presencia de dos picos principales: $Zn\ 2p_{3/2}$ y $Zn\ 2p_{1/2}$, que se centran en 1021.46 y 1044.56 eV, 1021.81 y 1044.95 eV, y 1021.52 y 1044.6 eV, para Z20-NP, ZG y ZU, respectivamente. Aquí se destaca que, en las muestras ZG y ZU, los picos experimentan un ligero corrimiento hacia las energías más grandes, lo cual se puede expresar en términos de $\Delta_{G, U} = 0.35, 0.06$ eV en $Zn\ 2p_{3/2}$ y $\Delta_{G, U} = 0.39, 0.04$ eV en $Zn\ 2p_{1/2}$, respectivamente. Por otro lado, la separación o *splitting* $Zn\ 2p_{1/2}-Zn\ 2p_{3/2}$, se encontró que es del orden de $\Delta BE = 23.14, 23.14$ y 23.08 eV para Z20-NP, ZG y ZU, respectivamente. Por lo tanto, Zn está en el estado oxidado Zn(II) [121].

El espectro de electrones Auger (AES) $Zn\ LMM$, se observó en todas las muestras analizadas (Figura 56 b), el cual tiene la misma forma para todos los espectros, y es caracterizada por la presencia de dos picos Auger centrados en 497 y 494 eV.

El parámetro de Auger puede ser utilizado para identificar los elementos presentes en una muestra, de modo que permite diferenciar entre distintas especies químicas utilizando los picos de Auger y de fotoemisión de forma analítica. El parámetro de Auger está dado por la ecuación

$$\alpha = E_A + E_B \quad (31)$$

donde E_A es la energía cinética (KE) del electrón de Auger y E_B es la energía de enlace (BE) del fotoelectrón. De acuerdo con los valores hallados, el parámetro de Auger tiene los valores: 2010.6 , 2010.3 y 2010.67 eV para ZU, ZG y Z20-NP, respectivamente, correspondientes al óxido de zinc [121].

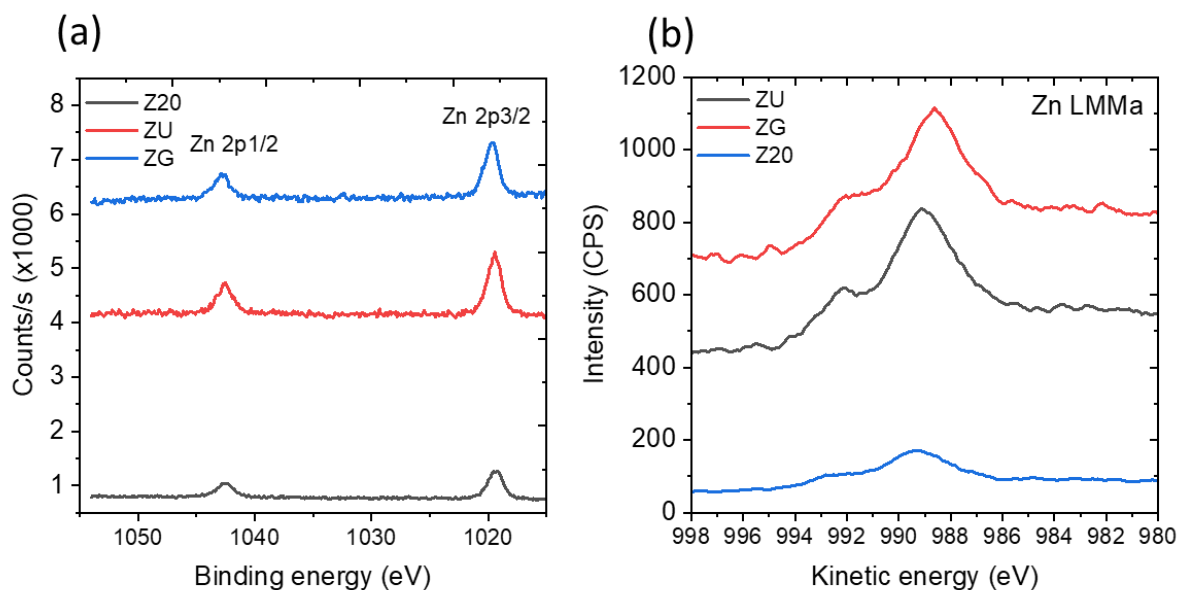
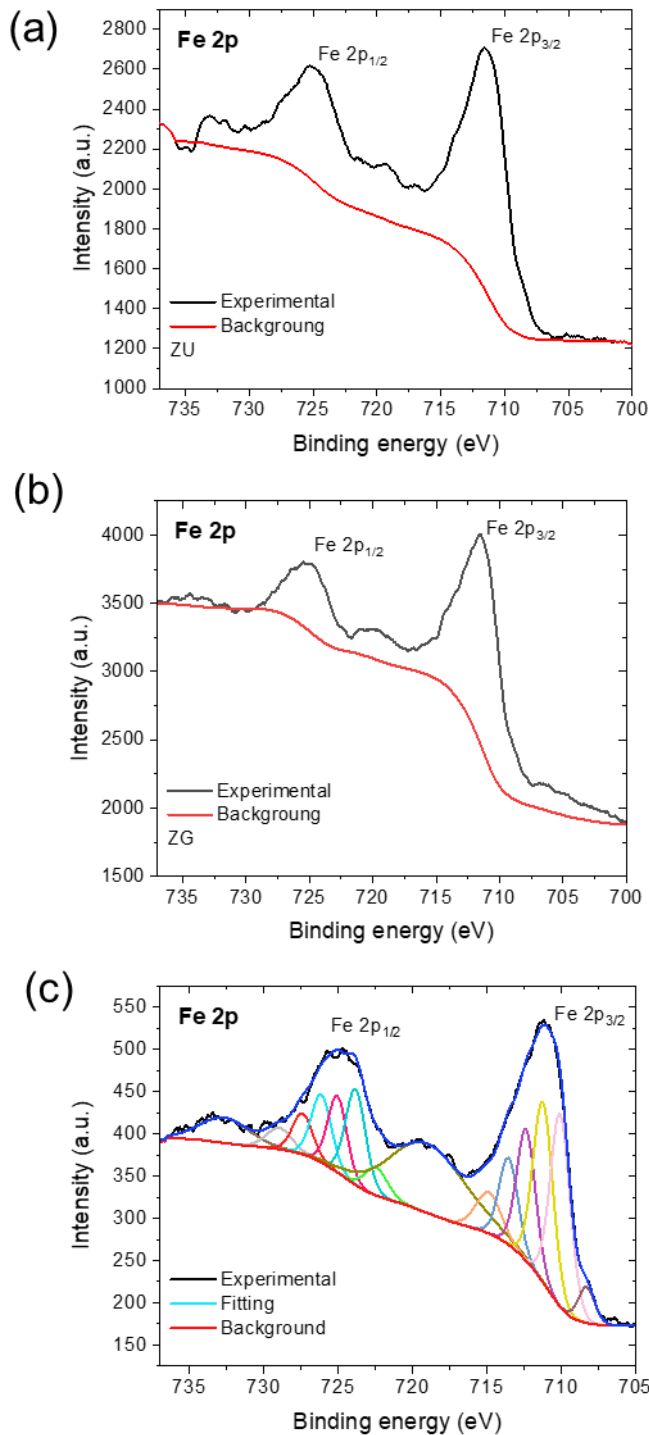


Figura 56 (a) Espectro $Zn\ 2p$ de las muestras ZU, ZG y Z20-NP. (b) Pico Auger LMM de Zn excitado por rayos X.

Tabla 7 Tamaño de partícula, espesor y concentración atómica de Z20, ZU y ZG.

NPs	dTEM	T (nm)	Fe(%)	C (%)	O(%)	Zn (%)
Z20	-	-	53.71	1.04	11.59	33.66
ZU	17.47±0.69	2.4-3	39.03	20.55	26.72	13.71
ZG	24.13±1.34	2.4-3	44.37	16.31	27.55	11.76



y Figura 57 Espectro XPS *Fe 2p* de (a) ZU, (b) ZG y (c) Z20-NP y deconvolución de Z20-NP.

El pico de emisión de fotoelectrones del nivel de núcleo *Fe2p* para las muestras ZU, ZG y Z20-NP se muestra en la Figura 57. El espectro obtenido de las tres muestras presenta una forma de línea muy similar con los picos principales característicos del doblete de *Fe 2p_{3/2}* y *Fe 2p_{1/2}* ubicados en las energías de enlace de 710.96 y 724.86 eV, 711.26 y 724.86 eV y 710.76 y 724.76 eV para las nanopartículas ZU, ZG y Z20-NP, respectivamente.

La intensidad del pico *Fe 2p_{3/2}* es mayor que la del *Fe 2p_{1/2}* debido al acoplamiento de espín-órbita (j-j). Se destaca que la posición de estos picos se encuentra influenciada por los estados iónicos de Fe [138–140]. Asimismo, se observa que la posición de los picos del doblete de *Fe 2p_{1/2}* y *Fe 2p_{3/2}* se corresponde con lo previamente reportado para *Fe₂O₃* [125]. Es importante mencionar que se ha detectado el pico satélite asociado a *Fe³⁺ Fe 2p_{3/2}* en 719.23, 719.6 y 719.04 eV para las muestras ZU, ZG y Z20-NP, respectivamente [141]. La ubicación de este pico satellite

indica el estado de oxidación superficial de las MNPs, por lo que el valor obtenido es comparable con otros reportados en la literatura que corresponde con la maghemita.

En base a estos resultados, se determinó que $\Delta E_{pico\ satellite-Fe\ 2p_{3/2}}$ presenta valores de 8.27, 8.34 y 8.28 eV para ZU, ZG y Z20-NP, respectivamente. Cabe destacar que dichos valores se aproximan al valor reportado de 8.3 eV para la maghemita [122]. Por otro lado, se identifica el pico centrado alrededor de la energía de enlace ~ 733 eV como el pico satellite característico de $Fe^{3+}\ Fe\ 2p_{1/2}$ [141], [142].

El espectro fue ajustado en el rango de 740-705 eV con una deconvolución espectral de $Fe^{3+}\ Fe\ 2p$, realizada bajo las condiciones mencionadas en [122]. Para un mejor ajuste, se introdujeron dos picos (con un *FWHM* mayor que los multipletes) (i) *pre-peak* y (ii) *Surface peak*. Dado que no se observó alguna diferencia remarcable entre los espectros *Fe 2p* de las nanopartículas funcionalizadas y las desnudas, solo se realizó la deconvolución en la última mencionada.

Se detectó un pico correspondiente al Flúor, *F 1s*, en las muestras ZG y ZU, lo que podría deberse al recubrimiento de los compuestos orgánicos. En la Figura 58 se puede observar que el pico principal se encuentra centrado en 689.51 eV para ambas muestras.

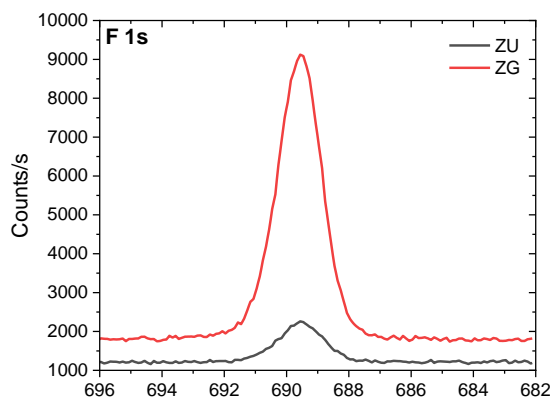


Figura 58 Espectro del flúor F 1s de ZU y ZG.

En las figuras 59 a-c, se muestran los espectros de nivel de núcleo de *O 1s* de las muestras Z20-NP, ZU y ZG, respectivamente, con una deconvolución de dos a tres picos cada uno. El pico con la energía de enlace más baja que se encuentra centrado en 529.93, 530.56 y 530.26 eV para Z20-NP, ZG y ZU, respectivamente, como se muestra en la Figura 59, mostró un desplazamiento, con respecto a Z20-NP de 0.63 y 0.33 eV en las muestras ZG y ZU, respectivamente. Este pico se ha relacionado con los enlaces metal-oxígeno (Fe-O) [127].

El segundo pico, medido en 531.06, 531.68 y 531.41 eV, para Z20-NP, ZG y ZU, respectivamente, se relaciona con los grupos carboxilos OH de los extractos. Finalmente, un pico de mayor energía se observó en las muestras funcionalizadas, en 532.88 y 533.38

eV, para ZU y ZG, respectivamente. Este pico podría asociarse a los grupos C-OH/C-O-C/O-C=O [71].

El espectro de la línea C 1s ha sido analizado para las muestras Z20-NP, ZG y ZU (Figura 59 d-f). La deconvolución se realizó en 2 picos para Z20-NP, y cuatro picos para las muestras ZG y ZU. El pico con las energías de enlace más bajas, en 284,74, 285.08 y 285.03 eV para Z20-NP, ZG y ZU, respectivamente, es consecuencia de los enlaces C=C, C-H debido a la exposición de las muestras al aire. El segundo pico, situado en 286.69 y 286.54 eV, para ZG y ZU, respectivamente, se asignó a los enlaces C=O/C-C/C-H. Los resultados son consistentes con los valores previamente informados en investigaciones anteriores sobre nanopartículas de Fe_3O_4 recubiertas con capas orgánicas [123].

De igual similar, el pico en torno a 288.95, 288.86 y 288.3 eV para las muestras Z20-NP, ZG y ZU, respectivamente, se ha relacionado con la presencia de grupos C-N, C-OH u O-C=O. En adición, el pico localizado en 292.38 y 294.4 eV, para ZG y ZU, respectivamente, se ha asignado a la excitación $\pi-\pi^*$ shake-up, relacionada con los estados conjugados π llenos y vacíos en los anillos aromáticos presentes en los extractos [143]. En la tabla 7 se muestra el porcentaje de la concentración atómica de Z20, ZG y ZU.

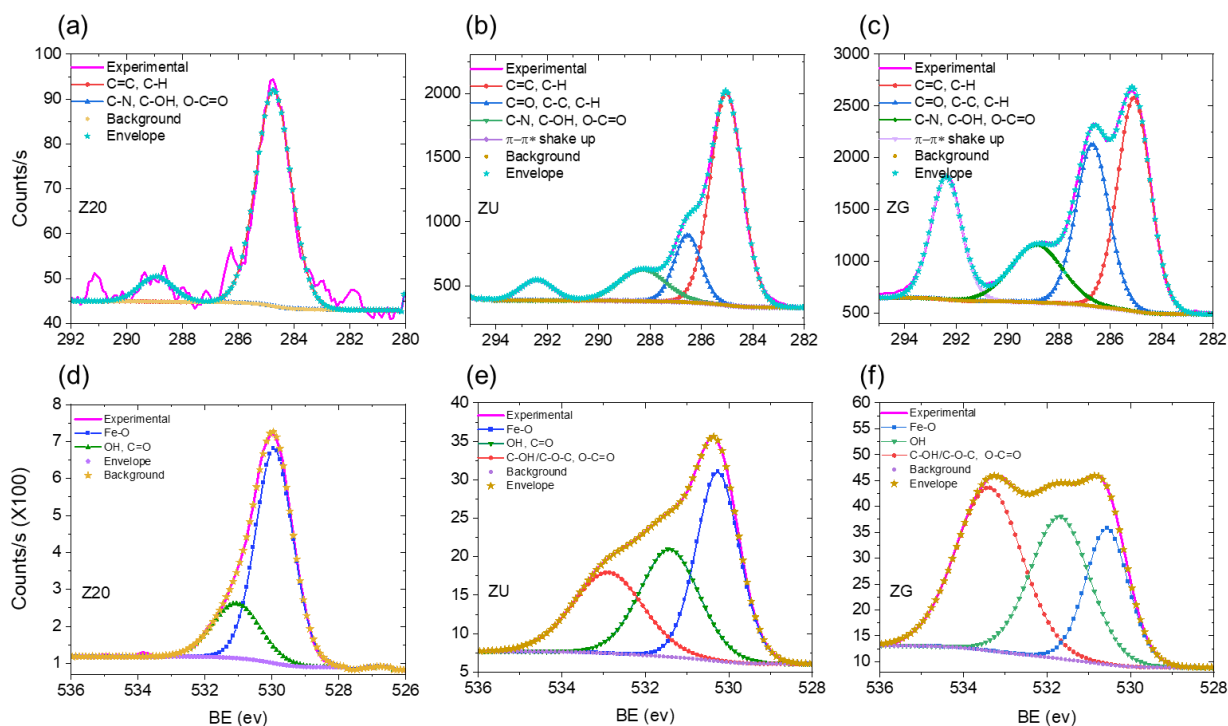


Figura 59 Espectro O1s de la muestra (a) Z20-NP, (b) ZG y (c) ZU, y C1s de (d) Z20-NP, (e) ZG y (f) ZU.

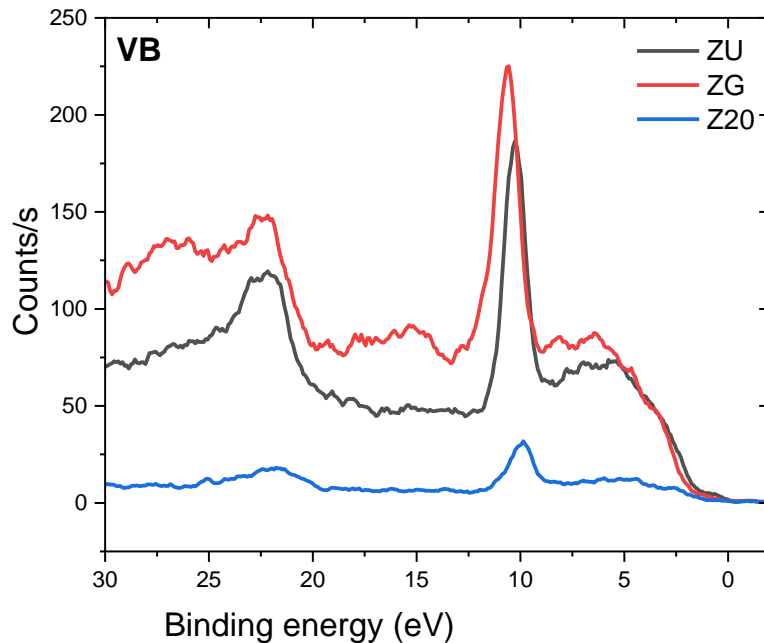


Figura 60 Banda de valencia de la muestra ZU, ZG y Z20-NP.

La banda de valencia de los espectros de las muestras analizadas proporciona información sobre el estado de oxidación superficial debido a las diferencias en las estructuras electrónicas observadas en esta región. El pico alrededor de ~ 5.5 eV podría deberse al orbital $O 2p$ y a la hibridación entre los orbitales $O 2p$ y $Zn 3d$ [144] [145].

La Figura 60 muestra el espectro de la banda de valencia (10-0 eV) en el cual se puede apreciar que no hay diferencias en los picos presentes en el espectro. En particular, se identifica un pico alrededor de la energía de enlace de 9.8 eV que no se encuentra en ninguna fase del óxido de hierro, lo que sugiere que podría atribuirse al dopaje con zinc. De acuerdo con la base de datos XPS (<https://xps-database.com>), el espectro de la banda de valencia muestra un pico en torno a ~ 10 eV. El pico en las energías más altas (~ 10 eV) es atribuido principalmente a los orbitales $Zn 3d$ [146].

De acuerdo con [147] la región $O 2s$ podría mostrar características más similares a la región central que a la región de la banda de valencia, por lo que se podría asemejar más a la región $O 1s$ (Figura 58). En la región de $O 2s$ hay un pico alrededor de 20-25 eV en las tres muestras, el cual está más pronunciado en los espectros de las nanopartículas funcionalizadas.

Capítulo 9

Hipertermia

Se realizó un experimento para estudiar la relación entre los valores de potencia específica de pérdida (SLP, por sus siglas en inglés) y la amplitud del campo magnético, utilizando campos pequeños a frecuencia constante. El dispositivo empleado tiene la capacidad de medir con variaciones tanto en el campo como en la frecuencia, por lo que se realizaron mediciones considerando valores máximos, mínimos e intermedios del campo H_0 con su frecuencia f correspondiente.

9.1 Pérdida de potencia bajo campos magnéticos de CA en MNPs@polifenoles

La respuesta de calentamiento inductivo observada mostró el incremento esperado de los valores de SLP a medida que aumenta la amplitud del campo aplicado H_0 , ilustrada en la Figura 61, obteniéndose los valores más altos de SLP para VC-NP (187.16 W/g) y VV-NP (121.83 W/g) en el campo máximo ($H_0=28.9$ kA/m), mientras que PG-NP mostró valores más bajos (73.03 W/g). Se sabe que La capacidad de producir calentamiento inductivo depende en gran medida de las propiedades de los MNP. Tamaño de partícula, forma, composición, recubrimiento y anisotropía magnética de las MNPs, por mencionar algunas. Informes previos han encontrado valores SLP de hasta 203 W/g en MNPs de γ - Fe_2O_3 sintetizadas por el método de Massart (7.45 nm) en un ajuste de $H_0=24.6$ kA/m y $f=700$ kHz, de parámetros físicos similares, consistentes con los valores del presente trabajo.

En el presente trabajo, los valores SLP se aproximaron más a los valores comunicados. Por otro lado, también se realizaron medidas en nanopartículas de Fe_3O_4 funcionalizadas con ácido glutámico (~9 nm) en agua y campo magnético $H_0=35.8$ kA m⁻¹ y $f=316$ kHz, donde el valor más alto de SLP fue de 130 W/g [148].

Utilizando agua como portador líquido, en el coloide magnético de MNPs@polifenoles se dan combinaciones de Néel, Brown y relajaciones interfaciales o superficiales. Se ha reportado que las medidas de calentamiento inductivo realizadas en nanopartículas de

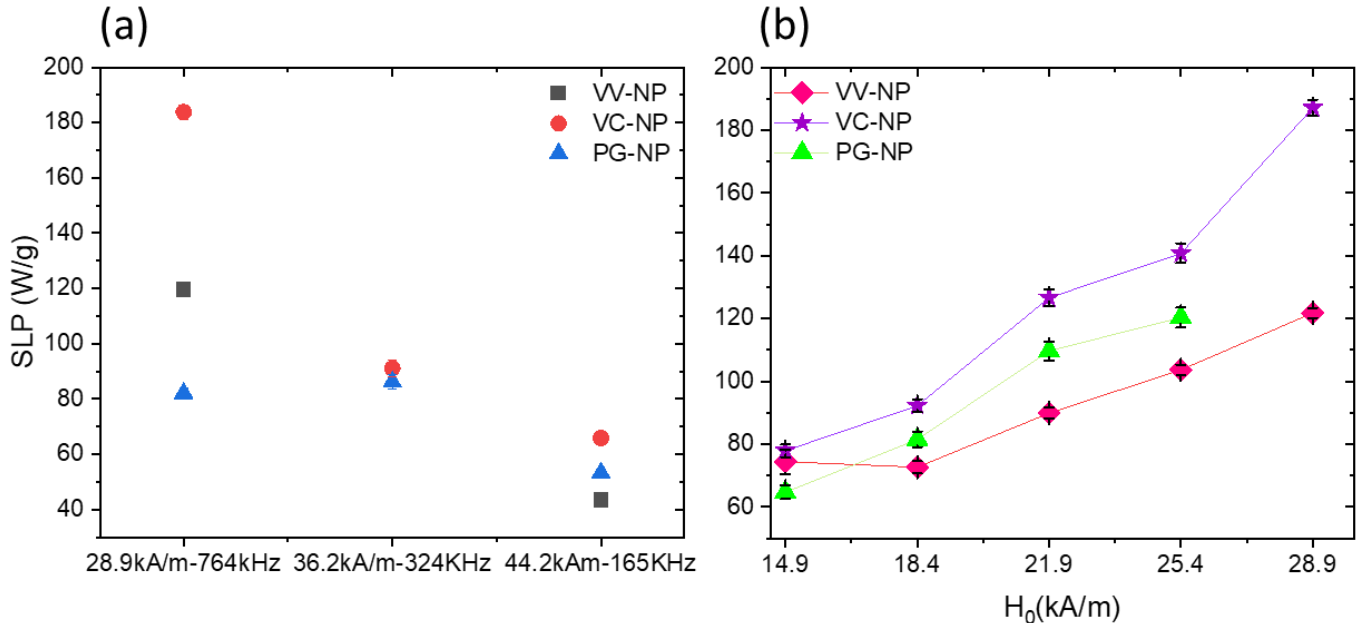


Figura 331 (A) Dependencia del SLP con el campo magnético aplicado H_0 y la frecuencia para las muestras VV-NP, VC-NP y PG-NP. (B) Presenta el valor medido de SLP para las muestras, así como la dependencia del SLP con respecto al campo magnético H_0 .

maghemita dispersas en agua, con diámetros que van desde 8 hasta 15 nm, indican que la relajación de Néel es de hecho el mecanismo predominante [86].

9.2 Pérdida de potencia bajo campos magnéticos de CA en $Zn_xFe_{3-x}O_4$

Con el objetivo de alcanzar valores mayores de SLP, se sintetizaron nanopartículas magnéticas dopadas con zinc en diferentes concentraciones: 5%, 10% y 23%. Estas muestras se etiquetaron como Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP, respectivamente. En la Figura 62 se presentan los resultados de las mediciones realizadas en las muestras Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP dispersas en agua bajo las mismas configuraciones del campo y la frecuencia que en las muestras de magnetita.

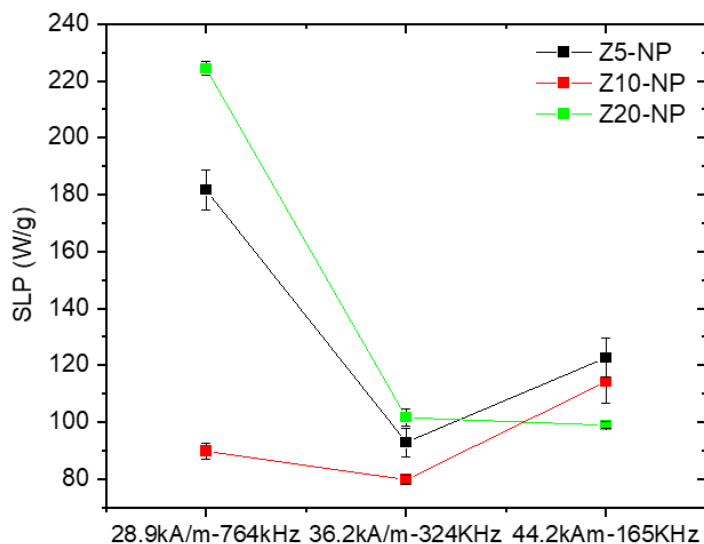


Figura 62 Dependencia del SLP con el campo magnético aplicado H_0 y la frecuencia para las muestras en agua Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP.

Los datos presentados en la Figura 62 se refieren a mediciones realizadas utilizando los parámetros $H_0 - f$: 28.96 kA/m-764kHz, 36.28 kA/m-324kHz y 44.24 kA/m-165kHz. En la figura se observan dos comportamientos distintos en los valores del parámetro SLP: en las muestras Z5-NP y Z10-NP, el valor SLP aumenta con el campo magnético, mientras que en Z20-NP el SLP es mayor a altas frecuencias. Se registró el valor más alto de SLP (~220 W/g) en la muestra Z20-NP ($d \sim 20$ nm) en la configuración 28.96 kA/m-764kHz.

Tanto el mecanismo de Brown, como el mecanismo de Néel pueden ocurrir simultáneamente en un sistema. En particular, en este sistema, las contribuciones al mecanismo de relajación de Brown podrían ser las principales, mientras que la relajación debida a Néel también podría estar presente, aunque en menor proporción. Cuando la rotación de Brown es el mecanismo predominante, determinar la potencia específica de pérdida requiere considerar de manera importante dos parámetros: el diámetro hidrodinámico de las partículas magnéticas y la viscosidad del medio. Como las nanopartículas se encontraban dispersas en agua, el valor del parámetro SLP obtenido fue menor que en otros solventes con viscosidades menores, como el hexano.

De acuerdo con Takashi y Enpuku [149], el mecanismo de relajación también depende de la magnitud del campo aplicado. La anisotropía efectiva de las ferritas de zinc con la fórmula $(Zn_{1-x}Fe_x)[Zn_xFe_{2-x}]O_4$ es del orden de 46 kJ/m^3 , mientras que en el óxido de hierro la anisotropía efectiva es $k_{eff} = 20\text{-}35 \text{ kJ/m}^3$ [132]. Si las partículas magnéticas tienen una anisotropía efectiva alta (es decir que, H_k es mucho mayor que H_0), se produce una pérdida

de potencia específica debido a la rotación de las partículas inducida por el torque magnético, incluso en campos magnéticos moderados o elevados [92].

Con el propósito de simular el comportamiento de las nanopartículas en un tejido celular, se prepararon NPs dentro de una matriz de gelatina, asemejando las condiciones reales *in vitro* o *in vivo*, y para determinar la pérdida de potencia específica. Para evitar la rotación física de las NPs y medir únicamente la relajación magnética de Neel, se utilizó una matriz de gelatina con las NPs integradas, evitando así la relajación browniana. En este estudio se consideraron las muestras Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP y se realizaron tres réplicas de cada muestra. Todas las mediciones se llevaron a cabo después de la gelificación con agua y gelatina comercial a una concentración 0.1 mg/mL. Las curvas de temperatura vs tiempo se registraron durante 60 s, los datos recolectados durante los primeros 20 segundos se utilizaron para estimar el valor de $\Delta T/\Delta t$ de las muestras empleando en el método del máximo de la derivada.

En la Figura 63 A se presentan los resultados de las mediciones experimentales del SLP al mantener la frecuencia f constante y variar el campo magnético. En la gráfica se presentan los resultados del SLP para una frecuencia fija de $f=764$ kHz y el campo magnético con los valores 14.96, 18.46, 21.96, 25.46 y 28.96 kA/m. La Figura 63 B muestra los resultados de mantener el campo magnético fijo en $H=28.96$ kA/m y variar las frecuencias para los valores 165, 324, 491, 637 y 764 kHz. En ambos casos, se encontró que los valores más altos del parámetro SLP se producen en la muestra Z20-NP en la configuración $f=764$ kHz y $H=28.96$ kA/m.

Al estar inmersas a las NPs en la gelatina (0.1 mg/mL), el mecanismo de relajación de Brown tiene una menor contribución en comparación con la relajación por Néel debido a que la gelatina posee una viscosidad mucho mayor que el agua. La combinación de las propiedades magnéticas de las NPs y de la viscosidad del medio puede influir en el proceso de relajación, y en algunos casos, un proceso puede ser más eficiente desde el punto de vista energético que otro [92,150].

La diferencia en los valores SLP (con un incremento <10%) en la configuración $f = 764$ kHz y $H_0 = 28.96$ kA/m en la Figura 63 A y B, podría deberse a efectos no lineales debidos al mecanismo de relajación de Brown en campos magnético altos [149]. Por otro lado, el modelo de la teoría de respuesta lineal no considera las interacciones dipolares magnéticas debidas a aglomeraciones que puedan disminuir el valor del SLP [151]. Dado

que el método seguido no considera estas interacciones, esto podría explicar las diferencias en los resultados. Las agrupaciones de partículas, ya sea en forma de aglomerados o cadenas, se deben principalmente a las interacciones dipolo-dipolo [152]. Para evaluar las desviaciones de LRT, se ha definido el parámetro φ como la potencia en $SLP \propto H_0^\varphi$, se encontraron los valores $\varphi = 2.53, 2.93$ y 2.46 para Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP, respectivamente, indicando medidas cercanas al régimen de LRT [88].

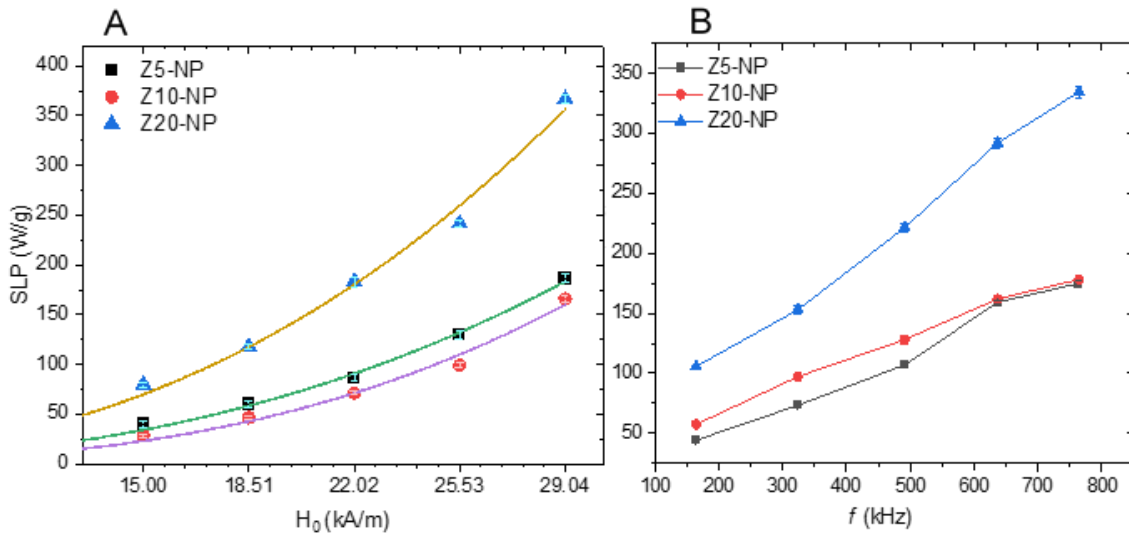


Figura 63 Dependencia del SLP con (A) la frecuencia y (B) el campo magnético aplicado H_0 y para las muestras Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP en gelatina.

La serie de experimentos con las nanopartículas Z5-NP, Z10-NP y Z20-NP para obtener el SLP bajo las condiciones $H=28.96$ kA/m y $f = 764$ kHz, determinó la mayor tasa de calentamiento $\Delta T/\Delta t$ dentro de los primeros 20 s. Todas las mediciones fueron realizadas por triplicado y promediadas con el objetivo de tener una mejor estadística minimizando el correspondiente error. De todas las mediciones (en agua y gelatina) la muestra con el mayor valor SLP se seleccionó para realizar la funcionalización con los extractos de *Punica granatum* y *Vitis vinífera*.

Se llevaron a cabo todas las mediciones de las muestras con las nanopartículas dispersas en agua. La muestra Z20-NP se midió en las mismas condiciones experimentales utilizando los parámetros H - f : 28.96 kA/m-764kHz, 36.28 kA/m-324kHz y 44.24 kA/m-165kHz. Los resultados de las mediciones se presentan en la Figura 64.

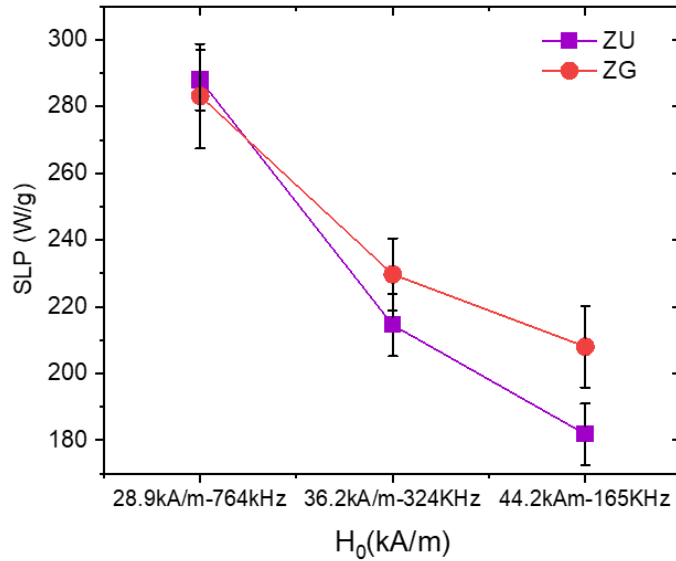


Figura 64 Dependencia del SLP con el campo magnético aplicado H_0 y la frecuencia para las muestras en agua ZU y ZG.

Podemos observar que los valores del SLP tienen un comportamiento creciente respecto a la frecuencia. En una comparación con los resultados de la Figura 63 A y B, los valores SLP son mayores para todos los casos. En esta ocasión, el valor máximo SLP se obtuvo con los mismos parámetros de H_0 y f en las muestras ZU (287.98 W/g) y ZG (283.16 W/g).

En el caso de partículas muy pequeñas, los tiempos de relajación de Néel y Brown son similares, lo que significa que la absorción de energía debe considerar el componente de Néel. En estas circunstancias, las interacciones dipolares son más relevantes para el mecanismo de relajación, y el LRT no es suficiente para describir completamente la Potencia específica de pérdida como fenómeno físico [153].

Capítulo 10

Discusión

La banda principal en FTIR mostró el modo vibracional del enlace Fe-O en MNPs@polifenoles, que es la característica principal de la formación de la fase de magnetita. Se puede observar que este pico en los espectros de PG-NP tiene una forma más estructurada e intensa que los demás. Esto podría deberse a que los componentes fenólicos en los extractos de *Punica Granatum* afectan la distribución de cationes en la subred tetraédrica y octaédrica [154]. Además, se identificaron los grupos funcionales en la capa orgánica que estabilizan las MNPs@polifenoles obtenidas. Adicionalmente, se observaron enlaces de C-O, -COOH y OH, como era de esperar debido a los polifenoles en la superficie de las MNPs@polifenoles. Los dos últimos enlaces son importantes debido a su capacidad para unir metales pesados [155,156]. La funcionalización de las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ mostró modos de vibración similares en ZG y ZU, mismos que estaban presentes en los extractos usados en la funcionalización. Entre los grupos funcionales identificados también se encontraron -COOH y OH.

Los polifenoles se han utilizado como agentes estabilizadores, ya que esta acción es útil para la estabilización de nanopartículas. Además, los polifenoles tienen la capacidad de actuar como fito-reductores, lo que aumenta la capacidad de las nanopartículas para ser absorbidas por las células. En la aplicación biomédica de las nanopartículas, su estabilidad y transmisión pueden mejorarse mediante los recubrimientos.

Los compuestos fenólicos han funcionado satisfactoriamente para encapsular nanopartículas, además pueden mejorar su biodisponibilidad [157]. Los iones metálicos pueden interactuar con los polifenoles, luego los iones se reducen al tamaño nanométrico, lo que lleva a la formación de nanopartículas. Esto indica que Fe^{3+} puede ser reducido a Fe^{2+} por el extracto orgánico. Durante la síntesis, los polifenoles se unieron a las MNPs@polifenoles a través de enlaces Fe-OH, que pueden estar en forma de Fe^{2+} -O o Fe^{3+} -O, un enlace covalente [158]. En realidad, algunos flavonoides tienen preferencia por la unión de metales en los sitios del grupo 3-hidroxilo-4-carbonilo, 4-carbonilo-5-hidroxilo y

30-40 hidroxilo [159]. Aunque la capacidad de los polifenoles para formar enlaces covalentes o no covalentes depende del tamaño de su compuesto fenólico. Y la capa de recubrimiento más gruesa es el resultado de una mayor cantidad adsorbida de polifenoles [160].

Se llevó a cabo un análisis de la composición superficial mediante XPS, utilizando los espectros O 1s y C 1s, cuyas deconvoluciones indican una mayor cantidad de carbono por encima de cualquier óxido de hierro, tal como se muestra en la

Tabla 2 [161,162]. Las MNPs@polifenoles VV-NP presentaron el mayor contenido de oxígeno, mientras que PG-NP exhibió el contenido de carbono más alto, posiblemente debido a los polifenoles ricos en grupos funcionales de carbono y oxígeno presentes en el recubrimiento orgánico. Se plantea la posibilidad de que este hecho se deba a la formación de $Fe_3O_4(\gamma-Fe_2O_3)$, lo cual se encuentra respaldado por los picos principales en FTIR. Cabe mencionar que VC-NP muestra más contenido, aunque en cantidades más bajas. Por otro lado, los espectros de las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ funcionalizadas presentaron una mayor cantidad de carbono y oxígeno, en comparación con MNPs@polifenoles.

Adicionalmente, en el análisis se encontró que los espectros de la banda de valencia fueron modificados, principalmente en la zona O 2s, que podría ser atribuido a la presencia los polifenoles.

El análisis de tamaño por TEM muestra que las MNPs@polifenoles tienen una forma cuasi-esférica y un tamaño medio de 7.7, 8.6 y 12.6 nm para las MNPs funcionalizadas con los extractos de *V. vinifera*, *P. granatum* o *Vaccinium C*, respectivamente (Tabla 1). El tamaño más pequeño de VV-NP y PG-NP podría ser resultado de la presencia de polifenoles de alto peso molecular en el extracto acuoso [163]. No hubo diferencia en la distribución de tamaños en VC-NP y PG-NP, pero VV tiene una distribución de tamaños más amplia que los otros dos. En consecuencia, en efectos magnéticos, las partículas más grandes dominarán [164].

Las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ funcionalizadas mostraron una forma cuasi-esférica con tamaño promedio más grande que MNPs@polifenoles, de 17.47 ± 0.49 y 24.13 ± 1.34 nm, para ZU y ZG, respectivamente. Esta diferencia podría deberse a que en el método de sonoquímica se estarían alcanzando temperaturas mayores que las usadas durante la síntesis de MNPs@polifenoles, además de que durante la síntesis de éstas se agregó una

mayor cantidad de la solución acuosa de los orgánicos (~ 20 ml), mientras que en las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ la posterior funcionalización solo se agregaron 1 ml.

Conforme a las micrografías de TEM y HRTEM, las nanopartículas exhiben una cubierta de los orgánicos de 1.5 nm de grosor, vista como una película delgada, mostrando una nanoestructura núcleo-cáscara. El análisis del comportamiento magnético por MFM de VC-NP y las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ funcionalizadas, demostró que pueden ser direccionados por un campo magnético. Además, las imágenes en 3D mostraron que los dominios magnéticos tienen una estructura de monodominios magnéticos con respuesta uniaxial. A diferencia de las muestras MNPs@polifenoles, en ZU y ZG NPs el contraste magnético es menor, sin embargo, hay una mayor formación de las líneas de flujo magnético debidas a la anisotropía.

Los análisis de EDS por TEM y SEM de las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$, confirmaron la presencia de zinc y hierro, con una concentración de 5.6, 10.1 y 23.0% para las muestras ZN5, ZN10 y ZN20. Las pequeñas diferencias podrían deberse a una evaporación de del zinc durante la síntesis [165].

En cuanto a la toxicidad, las MNPs@polifenoles no presentaron citotoxicidad en células K562, es decir, no aumento el estrés metabólico, lo que indica que podrían ser útiles en la formulación de sistemas nanoestructurados acarreadores para el direccionamiento y administración de fármacos.

En hipertermia magnética, los valores SLP mostraron son dependientes de la amplitud y la frecuencia del campo magnético aplicado en las nanopartículas durante los experimentos [166]. Las pruebas de coloides a base de agua con MNPs@polifenoles alcanzaron valores de ~ 180 W/g⁻¹. Al tratarse de nanopartículas pequeñas ($\sim 7-8$ nm), tienden a exhibir una relajación de Néel dominante, lo cual resulta en valores SLP relativamente reducidos.

Las pruebas de coloides a base de agua con las nanopartículas Z20-NP alcanzaron valores SLP mayores, mientras que con la matriz de gelatina se obtuvieron valores superiores a los de los medidos en coloides a base de agua.

Dado a que la gelatina posee una viscosidad mucho mayor que el agua, se esperaría una reducción del valor SLP con la matriz de nanopartículas, debido a que el mecanismo de relajación de Brown tiene una menor contribución en comparación con la relajación por

Néel. El incremento en el valor SLP en la matriz de NPs podría deberse a la disminución en la formación de aglomerados, ya que estos pueden bloquear la rotación física de las NPs. La formación de aglomeraciones durante la internalización de las NPs es el principal efecto a evitar en los materiales magnéticos, ya que esto puede tener un gran impacto en el SLP debido a las interacciones dipolo-dipolo.

Las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ (Z20-NP) exhibieron valores SLP más grandes en las muestras ZU (287.98 W/g) y ZG (283.16 W/g), esta diferencia en los valores SLP podría deberse a que la funcionalización mejoró la estabilidad y disminuyó las aglomeraciones.

Capítulo 11

Conclusiones

Se ha logrado sintetizar MNPs@polifenoles mediante el método de coprecipitación utilizando extractos de *Vitis vinífera* (VV-NP), *Punica granatum* (PG-NP) y *Vaccinium corymbosum* (VC-NP). La modificación de la coprecipitación directa ha resultado más sencilla, barata y eficiente, el papel de extracto acuoso ha sido actuar como reductor y estabilizador, así como agente de recubrimiento. MNPs@polifenoles fueron caracterizados por medio de XRD, FTIR, TEM, XPS y AFM. MNPs@polifenoles tienen estructura cristalina con un tamaño de partícula de 7.34 ± 0.06 nm, 8.09 ± 0.10 nm y 8.15 ± 0.09 nm, para VV-NP, PG-NP y VC-NP, respectivamente. La estructura de MNPs@polifenoles se correspondió con la fase de magnetita. Se identificó una pequeña distorsión de la red y se ha asociado a la oxidación superficial de MNPs@polifenoles durante el proceso de síntesis. Las MNPs@polifenoles se observaron por TEM, estimando un espesor de capas amorfas en un rango de 1.5 nm, este contraste se identificó de acuerdo con los grupos funcionales del extracto. También se corroboró la presencia de enlaces Fe–OH, que fue una señal de enlace entre MNPs@polifenoles y enlaces orgánicos: –OH, –COOH, C–O, C–C, O–C=O, C–OH.

Mediante el método de sonoquímica se sintetizaron nanopartículas de magnetita dopadas con zinc ($Zn_xFe_{3-x}O_4$). Las nanopartículas fueron funcionalizadas con extractos de *Vitis vinífera* (ZU) y *Punica granatum* (ZG), las cuales mostraron una forma cuasi-esférica en TEM, con tamaño promedio de 17.47 ± 0.49 y 24.13 ± 1.34 nm, para ZU y ZG, respectivamente. La caracterización de las muestras de nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ se realizaron mediante XRD, FTIR, TEM y HRTEM, EDS (en TEM y SEM), potencial Z, XPS y AFM. El dopaje de nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ con zinc se confirmó y determinó en concentraciones de 5.6, 10.1 y 23.0%. Así mismo, se confirmó la cubierta orgánica debida a la presencia de los polifenoles en los extractos mediante los grupos funcionales hallados en FTIR y XPS.

Los polifenoles poseen la capacidad de tener una fuerte afinidad de unión: no covalente a través de múltiples enlaces de hidrógeno, hidrofóbicos, electrostáticos, $\pi - \pi$ e interacciones catión- π , fuerza de van der Waals y covalente. En consecuencia, los polifenoles tienen la capacidad de unirse con moléculas. Debido a las actividades anticancerígenas, antimetastásicas, antibacterianas, antivirales, antiinflamatorias de los polifenoles, se utilizan en aplicaciones biomédicas. Además, la absorción celular de nanopartículas a través del endocitosis podría mejorarse mediante la acción de polifenoles naturales como la epigallocatequina galato presente en *Punica granatum* y *Vaccinium corymbosum*. Pero esto es un desafío que debe explorarse en detalle para su posible aplicación.

Las nanopartículas $Zn_xFe_{3-x}O_4$ y MNPs@polifenoles demostraron la capacidad de ser direccionados por un campo magnético, y debido a sus propiedades químicas, pueden usarse para aplicaciones biomédicas como la entrega de fármacos dirigida y la hipertermia magnética. Los resultados mostraron que los valores de SLP son influenciados por el tamaño promedio de partícula, el campo magnético y su la frecuencia. Los valores más altos se obtuvieron para VC-NP y VV-NP. Los valores de SLP observados en este estudio fueron más altos que los informados previamente para nanopartículas de Fe_3O_4 funcionalizadas y se pueden atribuir al uso de una frecuencia más alta. En el caso de las MNPs $Zn_xFe_{3-x}O_4$, se obtuvieron los valores SLP más grandes en las matrices de ZU (287.98 W/g) y ZG (283.16 W/g).

Capítulo 12

Perspectivas

Se plantea variar el control de la síntesis para obtener nanopartículas magnéticas con tamaños promedio ~30 nm, así como una modificación del uso de los extractos para incrementar el espesor de la recubierta orgánica en las nanopartículas. Esto sería en beneficio de una mayor estabilidad y la reducción de aglomerados, características necesarias para optimizar los valores SLP en la hipertermia magnética, mejorando así la internalización celular. La mejora de la estabilidad coloidal ampliaría las aplicaciones, MRI entre ellas.

El efecto de los coloides de nanopartículas en hipertermia magnética debe ser analizado mediante un estudio cuidadoso la línea celular K562, para determinar la inducción de muerte celular, ya sea por apoptosis o necrosis

Como trabajo a futuro, se propone realizar hipertermia magnética en una línea celular usando coloides de nanopartículas funcionalizadas, de tamaños más grandes, para determinar la efectividad en función del tamaño, amplitud y frecuencia del campo aplicado. Analizar el mismo análisis sin nanopartículas y sin la aplicación del campo, para mostrar el efecto la hipertermia magnética con nanopartículas magnéticas.

Se propone realizar una funcionalización adicional a las nanopartículas, con fármacos o tintes, para aplicarlas como agentes acarreadores de fármacos o como agentes de contraste.

PRODUCTOS GENERADOS Y PARTICIPACIONES

Paper

a. Matías-Reyes, A.E.; Alvarado-Noguez, M.L.; Pérez-González, M.; Carbajal-Tinoco, M.D.; Estrada-Muñiz, E.; Fuentes-García, J.A.; Vega-Loyo, L.; Tomás, S.A.; Goya, G.F.; Santoyo-Salazar, J. Direct Polyphenol Attachment on the Surfaces of Magnetite Nanoparticles, Using *Vitis vinifera*, *Vaccinium corymbosum*, or *Punica granatum*. *Nanomaterials* 2023, 13, 2450. <https://doi.org/10.3390/nano13172450>.

b. Alvarado-Noguez, M.L.; Matías-Reyes, A.E.; Pérez-González, M.; Tomás, S.A.; Hernández-Aguilar, C.; Domínguez-Pacheco, F.A.; Arenas-Alatorre, J.A.; Cruz-Orea, A.; Carbajal-Tinoco, M.D.; Galot-Linaldi, J.; et al. Processing and Physicochemical Properties of Magnetite Nanoparticles Coated with Curcuma longa L. Extract. *Materials* 2023, 16, 3020. <https://doi.org/10.3390/ma16083020>

Durante la elaboración de este trabajo fue posible participar en diversos congresos y seminarios:

- a. Escuela Avanzada de Verano, Departamento de Física. Agosto 04, 2023. CINVESTAV-IPN, México
- b. Reunión Anual de la División de Estado Sólido, mayo 3-5, 2023. Xicotepec de Juárez, México. Escuela Superior de Física y Matemáticas. Instituto Politécnico Nacional
- c. Coloquio del Grupo de Física del Estado Sólido, marzo 30.
- d. Seminarios del Grupo de Luminiscencia. Departamento de Física. Febrero 02, 2023. CINVESTAV-IPN, México
- e. International Materials Research Congress. August 14th to 19th, 2022.
- f. CARTEL en el “Simposio: Avances y perspectivas del mundo nano”, marzo 15, 2022. Facultad de Estudios Superiores Iztacala y el Centro de Estudios Avanzados del IPN.

Referencias

1. Usov, N.A. Low Frequency Hysteresis Loops of Superparamagnetic Nanoparticles with Uniaxial Anisotropy. *J. Appl. Phys.* **2010**, *107*, 123909, doi:10.1063/1.3445879.
2. Knobel, M.; Nunes, W.C.; Socolovsky, L.M.; De Biasi, E.; Vargas, J.M.; Denardin, J.C. Superparamagnetism and Other Magnetic Features in Granular Materials: A Review on Ideal and Real Systems. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8*, 2836–2857.
3. Bano, S.; Nazir, S.; Nazir, A.; Munir, S.; Mahmood, T.; Afzal, M.; Ansari, F.L.; Mazhar, K. Microwave-Assisted Green Synthesis of Superparamagnetic Nanoparticles Using Fruit Peel Extracts: Surface Engineering, T_2 Relaxometry, and Photodynamic Treatment Potential. *Int. J. Nanomedicine* **2016**, *Volume 11*, 3833–3848, doi:10.2147/IJN.S106553.
4. Barrow, M.; Taylor, A.; Murray, P.; Rosseinsky, M.J.; Adams, D.J. Design Considerations for the Synthesis of Polymer Coated Iron Oxide Nanoparticles for Stem Cell Labelling and Tracking Using MRI. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 6733–6748, doi:10.1039/C5CS00331H.
5. Nabil, G.; Bhise, K.; Sau, S.; Atef, M.; El-Banna, H.A.; Iyer, A.K. Nano-Engineered Delivery Systems for Cancer Imaging and Therapy: Recent Advances, Future Direction and Patent Evaluation. *Drug Discov. Today* **2019**, *24*, 462–491, doi:10.1016/j.drudis.2018.08.009.
6. Simeonidis, K.; Morales, M.P.; Marciello, M.; Angelakeris, M.; de la Presa, P.; Lazaro-Carrillo, A.; Tabero, A.; Villanueva, A.; Chubykalo-Fesenko, O.; Serantes, D. In-Situ Particles Reorientation during Magnetic Hyperthermia Application: Shape Matters Twice. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 38382, doi:10.1038/srep38382.
7. Yew, Y.P.; Shameli, K.; Miyake, M.; Ahmad Khairudin, N.B.B.; Mohamad, S.E.B.; Naiki, T.; Lee, K.X. Green Biosynthesis of Superparamagnetic Magnetite Fe₃O₄ Nanoparticles and Biomedical Applications in Targeted Anticancer Drug Delivery System: A Review. *Arab. J. Chem.* **2020**, *13*, 2287–2308, doi:10.1016/j.arabjc.2018.04.013.
8. Mosayebi, J.; Kiyasatfar, M.; Laurent, S. Synthesis, Functionalization, and Design of Magnetic Nanoparticles for Theranostic Applications. *Adv. Healthc. Mater.* **2017**, *6*, 1700306, doi:10.1002/adhm.201700306.
9. Ghani, U. Polyphenols. In *Alpha-Glucosidase Inhibitors*; Elsevier, 2020; pp. 61–100.
10. Thiesen, B.; Jordan, A. Clinical Applications of Magnetic Nanoparticles for

- Hyperthermia. *Int. J. Hyperth.* **2008**, *24*, 467–474, doi:10.1080/02656730802104757.
11. Ezzat, S.M.; Salama, M.M.; Salem, M.A. Bioactive Lead Compounds and Molecular Targets for the Treatment of Heart Diseases. In *Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery*; Elsevier, 2020; pp. 67–94.
 12. Gupta, V.K.; Jaiswara, P.K.; Sonker, P.; Rawat, S.G.; Kumar, A. Adjunct Therapeutic Potential of Phytochemicals against Cancer. In *Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery*; Elsevier, 2020; pp. 117–126.
 13. Milinčić, D.D.; Popović, D.A.; Lević, S.M.; Kostić, A.Ž.; Tešić, Ž.L.; Nedović, V.A.; Pešić, M.B. Application of Polyphenol-Loaded Nanoparticles in Food Industry. *Nanomater. (Basel, Switzerland)* **2019**, *9*, doi:10.3390/nano9111629.
 14. Perron, N.R.; Brumaghim, J.L. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem. Biophys.* **2009**, *53*, 75–100, doi:10.1007/s12013-009-9043-x.
 15. Hano, C.; Tungmunnithum, D. Plant Polyphenols, More than Just Simple Natural Antioxidants: Oxidative Stress, Aging and Age-Related Diseases. *Medicines* **2020**, *7*, 26, doi:10.3390/medicines7050026.
 16. Conte R.; Napoletano A.; Valentino A.; Margarucci S.; Calarco A. Polyphenols Nanoencapsulation for Therapeutic Applications. *J. Biomol. Res. Ther.* **2016**, *5*, doi:10.4172/2167-7956.1000139.
 17. Ziaullah; Rupasinghe, H.P.V. Chapter 1 - Application of NMR Spectroscopy in Plant Polyphenols Associated with Human Health. In *Applications of NMR Spectroscopy*; ur-Rahman, A., Choudhary, M.I., Eds.; Bentham Science Publishers, 2015; pp. 3–92 ISBN 978-1-60805-999-7.
 18. Halake, K.; Cho, S.; Kim, J.; Lee, T.; Cho, Y.; Chi, S.; Park, M.; Kim, K.; Lee, D.; Ju, H.; et al. Applications Using the Metal Affinity of Polyphenols with Mussel-Inspired Chemistry. *Macromol. Res.* **2018**, *26*, 93–99, doi:10.1007/s13233-018-6051-x.
 19. Halake, K.; Birajdar, M.; Lee, J. Structural Implications of Polyphenolic Antioxidants. *J. Ind. Eng. Chem.* **2016**, *35*, 1–7, doi:10.1016/j.jiec.2016.01.003.
 20. Ramirez-Nuñez, A.L.; Jimenez-Garcia, L.F.; Goya, G.F.; Sanz, B.; Santoyo-Salazar, J. *In Vitro* Magnetic Hyperthermia Using Polyphenol-Coated Fe₃O₄ @ γ-Fe₂O₃ Nanoparticles from *Cinnamomun Verum* and *Vanilla Planifolia*: The Concert of Green Synthesis and Therapeuti. *Nanotechnology* **2018**, *29*, 074001, doi:10.1088/1361-6528/aaa2c1.
 21. Fraga, C.G.; Croft, K.D.; Kennedy, D.O.; Tomás-Barberán, F.A. The Effects of

- Polyphenols and Other Bioactives on Human Health. *Food Funct.* **2019**, *10*, 514–528, doi:10.1039/C8FO01997E.
22. Panche, A.N.; Diwan, A.D.; Chandra, S.R. Flavonoids: An Overview. *J. Nutr. Sci.* **2016**, *5*, e47, doi:10.1017/jns.2016.41.
 23. Wang, Y.; Ho, C.-T. Polyphenolic Chemistry of Tea and Coffee: A Century of Progress. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 8109–8114, doi:10.1021/jf804025c.
 24. Amawi, H.; Ashby, C.; Samuel, T.; Peraman, R.; Tiwari, A. Polyphenolic Nutrients in Cancer Chemoprevention and Metastasis: Role of the Epithelial-to-Mesenchymal (EMT) Pathway. *Nutrients* **2017**, *9*, 911, doi:10.3390/nu9080911.
 25. Abotaleb, M.; Liskova, A.; Kubatka, P.; Büsselberg, D. Therapeutic Potential of Plant Phenolic Acids in the Treatment of Cancer. *Biomolecules* **2020**, *10*, 221, doi:10.3390/biom10020221.
 26. Roupe, K.; Remsberg, C.; Yanez, J.; Davies, N. Pharmacometrics of Stilbenes: Seguing Towards the Clinic. *Curr. Clin. Pharmacol.* **2006**, *1*, 81–101, doi:10.2174/157488406775268246.
 27. El Khawand, T.; Courtois, A.; Valls, J.; Richard, T.; Krisa, S. A Review of Dietary Stilbenes: Sources and Bioavailability. *Phytochem. Rev.* **2018**, *17*, 1007–1029, doi:10.1007/s11101-018-9578-9.
 28. Mirunalini, S., Krishnaveni, M. Coumarin: A Plant Derived Polyphenol with Wide Biomedical Applications. *Int. J. PharmTech Res.* **2011**, *3*, 1693–1696.
 29. Kopustinskiene, D.M.; Jakstas, V.; Savickas, A.; Bernatoniene, J. Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients* **2020**, *12*, 457, doi:10.3390/nu12020457.
 30. Abotaleb, M.; Samuel, S.; Varghese, E.; Varghese, S.; Kubatka, P.; Liskova, A.; Büsselberg, D. Flavonoids in Cancer and Apoptosis. *Cancers (Basel)*. **2018**, *11*, 28, doi:10.3390/cancers11010028.
 31. Coppo, E.; Marchese, A. Antibacterial Activity of Polyphenols. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2014**, *15*, 380–390, doi:10.2174/138920101504140825121142.
 32. Vitta, Y.; Figueroa, M.; Calderon, M.; Ciangherotti, C. Synthesis of Iron Nanoparticles from Aqueous Extract of Eucalyptus Robusta Sm and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Mater. Sci. Energy Technol.* **2020**, *3*, 97–103, doi:10.1016/j.mset.2019.10.014.
 33. Bouarab-Chibane, L.; Forquet, V.; Lantéri, P.; Clément, Y.; Léonard-Akkari, L.; Oulahal, N.; Degraeve, P.; Bordes, C. Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models.

- Front. Microbiol.* **2019**, *10*, doi:10.3389/fmicb.2019.00829.
34. Xie, Y.; Chen, J.; Xiao, A.; Liu, L. Antibacterial Activity of Polyphenols: Structure-Activity Relationship and Influence of Hyperglycemic Condition. *Molecules* **2017**, *22*, 1913, doi:10.3390/molecules22111913.
 35. McManus, J.P.; Davis, K.G.; Beart, J.E.; Gaffney, S.H.; Lilley, T.H.; Haslam, E. Polyphenol Interactions. Part 1. Introduction; Some Observations on the Reversible Complexation of Polyphenols with Proteins and Polysaccharides. *J. Chem. Soc. Trans. 1* **1985**, 1429–1438.
 36. Liang, H.; Pei, Y.; Li, J.; Xiong, W.; He, Y.; Liu, S.; Li, Y.; Li, B. PH-Degradable Antioxidant Nanoparticles Based on Hydrogen-Bonded Tannic Acid Assembly. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 31374–31385, doi:10.1039/C6RA02527G.
 37. Duthie, G.G.; Gardner, P.T.; Kyle, J.A.M. Plant Polyphenols: Are They the New Magic Bullet? *Proc. Nutr. Soc.* **2003**, *62*, 599–603, doi:10.1079/PNS2003275.
 38. Akhtar, S.; Ismail, T.; Fraternali, D.; Sestili, P. Pomegranate Peel and Peel Extracts: Chemistry and Food Features. *Food Chem.* **2015**, *174*, 417–425, doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.035.
 39. Frauches, N.; Amaral, T.; Largueza, C.; Teodoro, A. Brazilian Myrtaceae Fruits: A Review of Anticancer Proprieties. *Br. J. Pharm. Res.* **2016**, *12*, 1–15, doi:10.9734/BJPR/2016/26782.
 40. Wang, H.; Wang, C.; Zou, Y.; Hu, J.; Li, Y.; Cheng, Y. Natural Polyphenols in Drug Delivery Systems: Current Status and Future Challenges. *Giant* **2020**, *3*, 100022, doi:10.1016/j.giant.2020.100022.
 41. Manquían-Cerda, K.; Cruces, E.; Angélica Rubio, M.; Reyes, C.; Arancibia-Miranda, N. Preparation of Nanoscale Iron (Oxide, Oxyhydroxides and Zero-Valent) Particles Derived from Blueberries: Reactivity, Characterization and Removal Mechanism of Arsenate. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2017**, *145*, 69–77, doi:10.1016/j.ecoenv.2017.07.004.
 42. Lakshminarayanan, S.; Shereen, M.F.; Niraimathi, K.L.; Brindha, P.; Arumugam, A. One-Pot Green Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles from Bauhinia Tomentosa: Characterization and Application towards Synthesis of 1, 3 Diolein. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 8643, doi:10.1038/s41598-021-87960-y.
 43. Sanz, B.; Calatayud, M.P.; Cassinelli, N.; Ibarra, M.R.; Goya, G.F. Long-Term Stability and Reproducibility of Magnetic Colloids Are Key Issues for Steady Values of Specific Power Absorption over Time. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 4524–

- 4531, doi:10.1002/ejic.201500303.
44. Faridi Esfanjani, A.; Jafari, S.M. Biopolymer Nano-Particles and Natural Nano-Carriers for Nano-Encapsulation of Phenolic Compounds. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2016**, *146*, 532–543, doi:10.1016/j.colsurfb.2016.06.053.
 45. Tabrez, S. and Khan, M.I. *Polyphenols-Based Nanotherapeutics for Cancer Management*, Springer Nature Singapore, 2021; ISBN 9789811649349.
 46. Neveu, V.; Perez-Jimenez, J.; Vos, F.; Crespy, V.; du Chaffaut, L.; Mennen, L.; Knox, C.; Eisner, R.; Cruz, J.; Wishart, D.; et al. Phenol-Explorer: An Online Comprehensive Database on Polyphenol Contents in Foods. *Database* **2010**, *2010*, bap024–bap024, doi:10.1093/database/bap024.
 47. Rothwell, J.A.; Urpi-Sarda, M.; Boto-Ordonez, M.; Knox, C.; Llorach, R.; Eisner, R.; Cruz, J.; Neveu, V.; Wishart, D.; Manach, C.; et al. Phenol-Explorer 2.0: A Major Update of the Phenol-Explorer Database Integrating Data on Polyphenol Metabolism and Pharmacokinetics in Humans and Experimental Animals. *Database* **2012**, *2012*, bas031–bas031, doi:10.1093/database/bas031.
 48. Rothwell, J.A.; Perez-Jimenez, J.; Neveu, V.; Medina-Remon, A.; M'Hiri, N.; Garcia-Lobato, P.; Manach, C.; Knox, C.; Eisner, R.; Wishart, D.S.; et al. Phenol-Explorer 3.0: A Major Update of the Phenol-Explorer Database to Incorporate Data on the Effects of Food Processing on Polyphenol Content. *Database* **2013**, *2013*, bat070–bat070, doi:10.1093/database/bat070.
 49. Xia, E.-Q.; Deng, G.-F.; Guo, Y.-J.; Li, H.-B. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11*, 622–646, doi:10.3390/ijms11020622.
 50. Du, Y.; Li, X.; Xiong, X.; Cai, X.; Ren, X.; Kong, Q. An Investigation on Polyphenol Composition and Content in Skin of Grape (*Vitis Vinifera* L. Cv. Hutai No.8) Fruit during Ripening by UHPLC-MS2 Technology Combined with Multivariate Statistical Analysis. *Food Biosci.* **2021**, *43*, 101276, doi:10.1016/j.fbio.2021.101276.
 51. Abu-Serie, M.M.; Habashy, N.H. *Vitis Vinifera* Polyphenols from Seedless Black Fruit Act Synergistically to Suppress Hepatotoxicity by Targeting Necroptosis and Pro-Fibrotic Mediators. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 2452, doi:10.1038/s41598-020-59489-z.
 52. Jardim, F.R.; de Rossi, F.T.; Nascimento, M.X.; da Silva Barros, R.G.; Borges, P.A.; Prescilio, I.C.; de Oliveira, M.R. Resveratrol and Brain Mitochondria: A Review. *Mol. Neurobiol.* **2018**, *55*, 2085–2101, doi:10.1007/s12035-017-0448-z.
 53. Salehi, B.; Mishra, A.; Nigam, M.; Sener, B.; Kilic, M.; Sharifi-Rad, M.; Fokou, P.; Martins, N.; Sharifi-Rad, J. Resveratrol: A Double-Edged Sword in Health Benefits.

Biomedicines **2018**, *6*, 91, doi:10.3390/biomedicines6030091.

54. Sirerol, J.A.; Rodríguez, M.L.; Mena, S.; Asensi, M.A.; Estrela, J.M.; Ortega, A.L. Role of Natural Stilbenes in the Prevention of Cancer. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, *2016*, 1–15, doi:10.1155/2016/3128951.
55. Dai, L.; Liu, R.; Hu, L.-Q.; Zou, Z.-F.; Si, C.-L. Lignin Nanoparticle as a Novel Green Carrier for the Efficient Delivery of Resveratrol. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 8241–8249, doi:10.1021/acssuschemeng.7b01903.
56. Sallem, F.; Haji, R.; Vervandier-Fasseur, D.; Nury, T.; Maurizi, L.; Boudon, J.; Lizard, G.; Millot, N. Elaboration of Trans-Resveratrol Derivative-Loaded Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Glioma Treatment. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 287, doi:10.3390/nano9020287.
57. Gato, E.; Perez, A.; Rosalowska, A.; Celeiro, M.; Bou, G.; Lores, M. Multicomponent Polyphenolic Extracts from *Vaccinium Corymbosum* at Lab and Pilot Scale. Characterization and Effectivity against Nosocomial Pathogens. *Plants* **2021**, *10*, 2801, doi:10.3390/plants10122801.
58. Golovinskaia, O.; Wang, C.-K. Review of Functional and Pharmacological Activities of Berries. *Molecules* **2021**, *26*, 3904, doi:10.3390/molecules26133904.
59. Tundis, R.; Tenuta, M.C.; Loizzo, M.R.; Bonesi, M.; Finetti, F.; Trabalzini, L.; Deguin, B. *Vaccinium* Species (Ericaceae): From Chemical Composition to Bio-Functional Activities. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 5655, doi:10.3390/app11125655.
60. Nunes, S.; Vieira, P.; Gomes, P.; Viana, S.D.; Reis, F. Blueberry as an Attractive Functional Fruit to Prevent (Pre)Diabetes Progression. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1162, doi:10.3390/antiox10081162.
61. Prakash, S.; Radha; Kumar, M.; Kumari, N.; Thakur, M.; Rathour, S.; Pundir, A.; Sharma, A.K.; Bangar, S.P.; Dhumal, S.; et al. Plant-Based Antioxidant Extracts and Compounds in the Management of Oral Cancer. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1358, doi:10.3390/antiox10091358.
62. Hernández Escarcega, G.; Sánchez-Chávez, E.; Pérez Álvarez, S.; Soto Caballero, M.; Soto Parra, J.M.; Flores-Córdova, M.A.; Salas Salazar, N.A.; Ojeda Barrios, D.L. Determination of Antioxidant Phenolic, Nutritional Quality and Volatiles in Pomegranates (*Punica Granatum* L.) Cultivated in Mexico. *Int. J. Food Prop.* **2020**, *23*, 979–991, doi:10.1080/10942912.2020.1760879.
63. Lampakis, D.; Skenderidis, P.; Leontopoulos, S. Technologies and Extraction Methods of Polyphenolic Compounds Derived from Pomegranate (*Punica Granatum*)

- Peels. A Mini Review. *Processes* **2021**, 9, 236, doi:10.3390/pr9020236.
64. Singh, B.; Singh, J.P.; Kaur, A.; Singh, N. Phenolic Compounds as Beneficial Phytochemicals in Pomegranate (*Punica Granatum* L.) Peel: A Review. *Food Chem.* **2018**, 261, 75–86, doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.039.
 65. David Heber *Chapter 10 Pomegranate Ellagitannins*; Iris F. F. Benzie, S.W.-G., Ed.; 2nd ed.; 2011; ISBN 9781439807132.
 66. Ko, K.; Dadmohammadi, Y.; Abbaspourrad, A. Nutritional and Bioactive Components of Pomegranate Waste Used in Food and Cosmetic Applications: A Review. *Foods* **2021**, 10, 657, doi:10.3390/foods10030657.
 67. Fahmy, H.; Hegazi, N.; El-Shamy, S.; Farag, M.A. Pomegranate Juice as a Functional Food: A Comprehensive Review of Its Polyphenols, Therapeutic Merits, and Recent Patents. *Food Funct.* **2020**, 11, 5768–5781, doi:10.1039/D0FO01251C.
 68. Sun, S.; Huang, S.; Shi, Y.; Shao, Y.; Qiu, J.; Sedjoah, R.-C.A.-A.; Yan, Z.; Ding, L.; Zou, D.; Xin, Z. Extraction, Isolation, Characterization and Antimicrobial Activities of Non-Extractable Polyphenols from Pomegranate Peel. *Food Chem.* **2021**, 351, 129232, doi:10.1016/j.foodchem.2021.129232.
 69. Li, R.; Chen, X.G.; Jia, K.; Liu, Z.P.; Peng, H.Y. A Systematic Determination of Polyphenols Constituents and Cytotoxic Ability in Fruit Parts of Pomegranates Derived from Five Chinese Cultivars. *Springerplus* **2016**, 5, 914, doi:10.1186/s40064-016-2639-x.
 70. Pirzadeh, M.; Caporaso, N.; Rauf, A.; Shariati, M.A.; Yessimbekov, Z.; Khan, M.U.; Imran, M.; Mubarak, M.S. Pomegranate as a Source of Bioactive Constituents: A Review on Their Characterization, Properties and Applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2021**, 61, 982–999, doi:10.1080/10408398.2020.1749825.
 71. Moga, M.A.; Dimienescu, O.G.; Bălan, A.; Dima, L.; Toma, S.I.; Bîgiu, N.F.; Blidaru, A. Pharmacological and Therapeutic Properties of *Punica Granatum* Phytochemicals: Possible Roles in Breast Cancer. *Molecules* **2021**, 26, 1054, doi:10.3390/molecules26041054.
 72. Palagummi, S.; Yuan, F.-G. Magnetic Levitation and Its Application for Low Frequency Vibration Energy Harvesting. In *Structural Health Monitoring (SHM) in Aerospace Structures*; Elsevier, 2016; pp. 213–251.
 73. Skomski, R. *Simple Models of Magnetism*; Oxford University Press, 2008; ISBN 9780198570752.
 74. Goya, G.; Raffa, V. Clinical Applications of Magnetic Nanoparticles. In; 2018; p. 395

ISBN 978-1-138-05155-3.

75. Navrotsky, A.; Kleppa, O.J. Thermodynamics of Formation of Simple Spinels. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1968**, *30*, 479–498, doi:10.1016/0022-1902(68)80475-0.
76. O'Handley, R.C. *Modern Magnetic Materials: Principles and Applications*; Wiley, 1999; ISBN 9780471155669.
77. Kefeni, K.K.; Msagati, T.A.M.; Nkambule, T.T.; Mamba, B.B. Spinel Ferrite Nanoparticles and Nanocomposites for Biomedical Applications and Their Toxicity. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *107*, 110314, doi:10.1016/j.msec.2019.110314.
78. Cullity, B.D.; Graham, C.D. *Introduction to Magnetic Materials*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2008; ISBN 9780470386323.
79. Dennis, C.L.; Ivkov, R. Physics of Heat Generation Using Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia. *Int. J. Hyperth.* **2013**, *29*, 715–729, doi:10.3109/02656736.2013.836758.
80. Yazdi, M.K.; Zarrintaj, P.; Khodadadi, A.; Ganjali, M.R.; Bagheri, B.; Habibzadeh, S.; Saeb, M.R.; Mozafari, M. Magnetic Nanoparticles in Cancer Therapy. In *Magnetic Nanoparticle-Based Hybrid Materials*; Elsevier, 2021; pp. 425–445.
81. Purushotham, S.; Ramanujan, R. V. Modeling the Performance of Magnetic Nanoparticles in Multimodal Cancer Therapy. *J. Appl. Phys.* **2010**, *107*, 114701, doi:10.1063/1.3432757.
82. Dutz, S.; Hergt, R. Magnetic Nanoparticle Heating and Heat Transfer on a Microscale: Basic Principles, Realities and Physical Limitations of Hyperthermia for Tumour Therapy. *Int. J. Hyperth.* **2013**, *29*, 790–800, doi:10.3109/02656736.2013.822993.
83. Rosensweig, R.E. Heating Magnetic Fluid with Alternating Magnetic Field. *J. Magn. Magn. Mater.* **2002**, *252*, 370–374, doi:10.1016/S0304-8853(02)00706-0.
84. Mamiya, H.; Jeyadevan, B. Hyperthermic Effects of Dissipative Structures of Magnetic Nanoparticles in Large Alternating Magnetic Fields. *Sci. Rep.* **2011**, *1*, 157, doi:10.1038/srep00157.
85. Hergt, R.; Dutz, S.; Zeisberger, M. Validity Limits of the Néel Relaxation Model of Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia. *Nanotechnology* **2010**, *21*, 015706, doi:10.1088/0957-4484/21/1/015706.
86. Fortin, J.-P.; Gazeau, F.; Wilhelm, C. Intracellular Heating of Living Cells through Néel Relaxation of Magnetic Nanoparticles. *Eur. Biophys. J.* **2008**, *37*, 223–228, doi:10.1007/s00249-007-0197-4.
87. Kozissnik, B.; Dobson, J. Biomedical Applications of Mesoscale Magnetic Particles.

- MRS Bull.* **2013**, 38, 927–932, doi:10.1557/mrs.2013.257.
88. Calatayud, M.P.; Soler, E.; Torres, T.E.; Campos-Gonzalez, E.; Junquera, C.; Ibarra, M.R.; Goya, G.F. Cell Damage Produced by Magnetic Fluid Hyperthermia on Microglial BV2 Cells. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 8627, doi:10.1038/s41598-017-09059-7.
 89. Kaur, P.; Aliru, M.L.; Chadha, A.S.; Asea, A.; Krishnan, S. Hyperthermia Using Nanoparticles – Promises and Pitfalls. *Int. J. Hyperth.* **2016**, 32, 76–88, doi:10.3109/02656736.2015.1120889.
 90. Bruvera, I.J.; Mendoza Zélis, P.; Pilar Calatayud, M.; Goya, G.F.; Sánchez, F.H. Determination of the Blocking Temperature of Magnetic Nanoparticles: The Good, the Bad, and the Ugly. *J. Appl. Phys.* **2015**, 118, 184304, doi:10.1063/1.4935484.
 91. Carrey, J.; Mehdaoui, B.; Respaud, M. Simple Models for Dynamic Hysteresis Loop Calculations of Magnetic Single-Domain Nanoparticles: Application to Magnetic Hyperthermia Optimization. *J. Appl. Phys.* **2011**, 109, 083921, doi:10.1063/1.3551582.
 92. Usov, N.A.; Liubimov, B.Y. Dynamics of Magnetic Nanoparticle in a Viscous Liquid: Application to Magnetic Nanoparticle Hyperthermia. *J. Appl. Phys.* **2012**, 112, 023901, doi:10.1063/1.4737126.
 93. Andreu, I.; Natividad, E. Accuracy of Available Methods for Quantifying the Heat Power Generation of Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia. *Int. J. Hyperth.* **2013**, 29, 739–751, doi:10.3109/02656736.2013.826825.
 94. Wildeboer, R.R.; Southern, P.; Pankhurst, Q.A. On the Reliable Measurement of Specific Absorption Rates and Intrinsic Loss Parameters in Magnetic Hyperthermia Materials. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2014**, 47, 495003, doi:10.1088/0022-3727/47/49/495003.
 95. Lanier, O.L.; Korotych, O.I.; Monsalve, A.G.; Wable, D.; Savliwala, S.; Grooms, N.W.F.; Nacea, C.; Tuitt, O.R.; Dobson, J. Evaluation of Magnetic Nanoparticles for Magnetic Fluid Hyperthermia. *Int. J. Hyperth.* **2019**, 36, 686–700, doi:10.1080/02656736.2019.1628313.
 96. Natividad, E.; Castro, M.; Mediano, A. Adiabatic vs. Non-Adiabatic Determination of Specific Absorption Rate of Ferrofluids. *J. Magn. Magn. Mater.* **2009**, 321, 1497–1500, doi:10.1016/j.jmmm.2009.02.072.
 97. Förster, H. UV/VIS Spectroscopy. In *Characterization I*; Karge, H.G., Weitkamp, J., Ed.; Springer, Berlin, Heidelberg, 2004; pp. 337–426 ISBN 978-3-540-69751-0.
 98. Williams, D.B.; Carter, C.B. *Transmission Electron Microscopy*; Springer US: Boston,

MA, 2009; ISBN 978-0-387-76500-6.

99. Szuszkiewicz, W.; Fronc, K.; Hennion, B.; Ott, F.; Aleszkiewicz, M. Magnetic Stripe Domains in Fe/Fe–N Multilayers. *J. Alloys Compd.* **2006**, *423*, 172–175, doi:10.1016/j.jallcom.2006.01.091.
100. Han, G.; Wu, Y.; Zheng, Y.; Qiu, J.; Li, K. Spacer Dependence Effect in Synthetic Magnetic Force Microscopy Tips. *J. Magn. Magn. Mater.* **2006**, *303*, e226–e230, doi:10.1016/j.jmmm.2006.01.103.
101. Karci, Ö. DESIGN OF A SELF-ALIGNED, HIGH RESOLUTION, LOW TEMPERATURE (30 MK-300 K) MAGNETIC FORCE MICROSCOPE KENDİLİĞİNDEN HİZALAMALI, YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ, DÜŞÜK SICAKLIK (30 MK-300 K) MANYETİK KUVVET MİKROSKOBU TASARIMI, 2015.
102. Alix, A.J.P. Theory of Molecular Vibrations. A Survey and Applications to Absolute and Integrated Infrared Intensities. In *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*; Springer Netherlands: Dordrecht, 1984; pp. 3–16.
103. Gupta, A.K.; Gupta, M. Synthesis and Surface Engineering of Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995–4021, doi:10.1016/j.biomaterials.2004.10.012.
104. Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L.; Muller, R.N. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064–2110, doi:10.1021/cr068445e.
105. El Ghandoor, H.; Zidan, H.; Khalil, M.; Ismail, M.I.M. Synthesis and Some Physical Properties of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2012**, *7*.
106. Unsoy, G.; Gunduz, U.; Oprea, O.; Ficai, D.; Sonmez, M.; Radulescu, M.; Alexie, M.; Ficai, A. Magnetite: From Synthesis to Applications. *Curr. Top. Med. Chem.* **2015**, *15*, 1622–1640, doi:10.2174/1568026615666150414153928.
107. Islam, K.; Haque, M.; Kumar, A.; Hoq, A.; Hyder, F.; Hoque, S.M. Manganese Ferrite Nanoparticles (MnFe₂O₄): Size Dependence for Hyperthermia and Negative/Positive Contrast Enhancement in MRI. *Nanomaterials* **2020**, *10*, 2297, doi:10.3390/nano10112297.
108. Vinosha, P.A.; Mely, L.A.; Jeronsia, J.E.; Krishnan, S.; Das, S.J. Synthesis and Properties of Spinel ZnFe₂O₄ Nanoparticles by Facile Co-Precipitation Route. *Optik (Stuttg.)* **2017**, *134*, 99–108, doi:10.1016/j.ijleo.2017.01.018.
109. Thakur, M.; Poojary, S.; Swain, N. Green Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles and

- Its Biomedical Applications. In; 2021; pp. 83–109.
110. *Nanotechnology Applications in Health and Environmental Sciences*; Saglam, N., Korkusuz, F., Prasad, R., Eds.; Nanotechnology in the Life Sciences; Springer International Publishing: Cham, 2021; ISBN 978-3-030-64409-3.
 111. M. Awwad, A.; M. Salem, N. A Green and Facile Approach for Synthesis of Magnetite Nanoparticles. *Nanosci. Nanotechnol.* **2013**, *2*, 208–213, doi:10.5923/j.nn.20120206.09.
 112. Thompson, L.H.; Doraiswamy, L.K. Sonochemistry: Science and Engineering. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1999**, *38*, 1215–1249, doi:10.1021/ie9804172.
 113. Yusefi, M.; Shamel, K.; Ali, R.R.; Pang, S.-W.; Teow, S.-Y. Evaluating Anticancer Activity of Plant-Mediated Synthesized Iron Oxide Nanoparticles Using Punica Granatum Fruit Peel Extract. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1204*, 127539, doi:10.1016/j.molstruc.2019.127539.
 114. Santoyo Salazar, J.; Perez, L.; de Abril, O.; Truong Phuoc, L.; Ihiawakrim, D.; Vazquez, M.; Greneche, J.-M.; Begin-Colin, S.; Pourroy, G. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles in 10–40 Nm Range: Composition in Terms of Magnetite/Maghemite Ratio and Effect on the Magnetic Properties. *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 1379–1386, doi:10.1021/cm103188a.
 115. Peigneux, A.; Jabalera, Y.; Vivas, M.A.F.; Casares, S.; Azuaga, A.I.; Jimenez-Lopez, C. Tuning Properties of Biomimetic Magnetic Nanoparticles by Combining Magnetosome Associated Proteins. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 8804, doi:10.1038/s41598-019-45219-7.
 116. Liu, Y.; Cui, T.; Li, Y.; Zhao, Y.; Ye, Y.; Wu, W.; Tong, G. Effects of Crystal Size and Sphere Diameter on Static Magnetic and Electromagnetic Properties of Monodisperse Fe₃O₄ Microspheres. *Mater. Chem. Phys.* **2016**, *173*, 152–160, doi:10.1016/j.matchemphys.2016.01.053.
 117. Dheyab, M.A.; Aziz, A.A.; Jameel, M.S.; Noqta, O.A.; Khaniabadi, P.M.; Mehrdel, B. Simple Rapid Stabilization Method through Citric Acid Modification for Magnetite Nanoparticles. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 10793, doi:10.1038/s41598-020-67869-8.
 118. Karade, V.C.; Waifalkar, P.P.; Dongle, T.D.; Sahoo, S.C.; Kollu, P.; Patil, P.S.; Patil, P.B. Greener Synthesis of Magnetite Nanoparticles Using Green Tea Extract and Their Magnetic Properties. *Mater. Res. Express* **2017**, *4*, 096102, doi:10.1088/2053-1591/aa892f.
 119. Rahmani, R.; Gharanfoli, M.; Gholamin, M.; Darroudi, M.; Chamani, J.; Sadri, K.;

- Hashemzadeh, A. Plant-Mediated Synthesis of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs) Using Aloe Vera and Flaxseed Extracts and Evaluation of Their Cellular Toxicities. *Ceram. Int.* **2020**, *46*, 3051–3058, doi:10.1016/j.ceramint.2019.10.005.
120. Santhoshkumar, J.; Rajeshkumar, S.; Venkat Kumar, S. Phyto-Assisted Synthesis, Characterization and Applications of Gold Nanoparticles – A Review. *Biochem. Biophys. Reports* **2017**, *11*, 46–57, doi:10.1016/j.bbrep.2017.06.004.
 121. Biesinger, M.C.; Lau, L.W.M.; Gerson, A.R.; Smart, R.S.C. Resolving Surface Chemical States in XPS Analysis of First Row Transition Metals, Oxides and Hydroxides: Sc, Ti, V, Cu and Zn. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *257*, 887–898, doi:10.1016/j.apsusc.2010.07.086.
 122. Grosvenor, A.P.; Kobe, B.A.; Biesinger, M.C.; McIntyre, N.S. Investigation of Multiplet Splitting of Fe 2p XPS Spectra and Bonding in Iron Compounds. *Surf. Interface Anal.* **2004**, *36*, 1564–1574, doi:10.1002/sia.1984.
 123. Alvarado-Noguez, M.L.; Matías-Reyes, A.E.; Pérez-González, M.; Tomás, S.A.; Hernández-Aguilar, C.; Domínguez-Pacheco, F.A.; Arenas-Alatorre, J.A.; Cruz-Orea, A.; Carbajal-Tinoco, M.D.; Galot-Linaldi, J.; et al. Processing and Physicochemical Properties of Magnetite Nanoparticles Coated with Curcuma Longa L. Extract. *Mater. 2023*, *Vol. 16*, *Page 3020* **2023**, *16*, 3020, doi:10.3390/MA16083020.
 124. Pérez-González, M.; Tomás, S.A. Surface Chemistry of TiO₂-ZnO Thin Films Doped with Ag. Its Role on the Photocatalytic Degradation of Methylene Blue. *Catal. Today* **2021**, *360*, 129–137, doi:10.1016/j.cattod.2019.08.009.
 125. Yamashita, T.; Hayes, P. Analysis of XPS Spectra of Fe²⁺ and Fe³⁺ Ions in Oxide Materials. *Appl. Surf. Sci.* **2008**, *254*, 2441–2449, doi:10.1016/j.apsusc.2007.09.063.
 126. Fujii, T.; de Groot, F.M.F.; Sawatzky, G.A.; Voogt, F.C.; Hibma, T.; Okada, K. *In Situ* XPS Analysis of Various Iron Oxide Films Grown by NO -Assisted Molecular-Beam Epitaxy. *Phys. Rev. B* **1999**, *59*, 3195–3202, doi:10.1103/PhysRevB.59.3195.
 127. Granada-Ramirez, D.A.; Cardona-Bedoya, J.A.; Hernandez-Rojas, U.; Pulzara-Mora, A.; Delgado-Rosero, M.I.; Durán-Ledezma, A.A.; Pérez-González, M.; Panecatí Bernal, Y.; Tomás, S.A.; Alvarado-Pulido, J.J.; et al. Assessment of Cr Doping on TiO₂ Thin Films Deposited by a Wet Chemical Method. *Ceram. Int.* **2023**, doi:10.1016/j.ceramint.2023.06.293.

128. Minati, L.; Micheli, V.; Rossi, B.; Migliaresi, C.; Dalbosco, L.; Bao, G.; Hou, S.; Speranza, G. Application of Factor Analysis to XPS Valence Band of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **2011**, *257*, 10863–10868, doi:10.1016/j.apsusc.2011.07.123.
129. de Arruda Nascimento, E.; de Lima Coutinho, L.; da Silva, C.J.; de Lima, V.L.A.G.; dos Santos Aguiar, J. In Vitro Anticancer Properties of Anthocyanins: A Systematic Review. *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer* **2022**, *1877*, 188748, doi:10.1016/j.bbcan.2022.188748.
130. Asmaa, M.S.; Ali, A.-J.; Farid, J.; Azman, S. Growth Inhibitory Effects of Crude Pomegranate Peel Extract on Chronic Myeloid Leukemia, K562 Cells. *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* **2015**, *5*, 100, doi:10.4103/2229-516X.157154.
131. Guilger, M.; Pasquoto-Stigliani, T.; Bilesky-Jose, N.; Grillo, R.; Abhilash, P.C.; Fraceto, L.F.; Lima, R. de Biogenic Silver Nanoparticles Based on *Trichoderma Harzianum*: Synthesis, Characterization, Toxicity Evaluation and Biological Activity. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 44421, doi:10.1038/srep44421.
132. Yao, C.; Zeng, Q.; Goya, G.F.; Torres, T.; Liu, J.; Wu, H.; Ge, M.; Zeng, Y.; Wang, Y.; Jiang, J.Z. ZnFe₂O₄ Nanocrystals: Synthesis and Magnetic Properties. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 12274–12278, doi:10.1021/jp0732763.
133. Yusefi, M.; Shamel, K.; Hedayatnasab, Z.; Teow, S.-Y.; Ismail, U.N.; Azlan, C.A.; Rasit Ali, R. Green Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles for Hyperthermia, Magnetic Resonance Imaging and 5-Fluorouracil Carrier in Potential Colorectal Cancer Treatment. *Res. Chem. Intermed.* **2021**, *47*, 1789–1808, doi:10.1007/s11164-020-04388-1.
134. Andrés Vergés, M.; Costo, R.; Roca, A.G.; Marco, J.F.; Goya, G.F.; Serna, C.J.; Morales, M.P. Uniform and Water Stable Magnetite Nanoparticles with Diameters around the Monodomain–Multidomain Limit. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2008**, *41*, 134003, doi:10.1088/0022-3727/41/13/134003.
135. Moț, A.C.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Sârbu, C. Rapid and Effective Evaluation of the Antioxidant Capacity of Propolis Extracts Using DPPH Bleaching Kinetic Profiles, FT-IR and UV–Vis Spectroscopic Data. *J. Food Compos. Anal.* **2011**, *24*, 516–522, doi:10.1016/j.jfca.2010.11.006.
136. Izadiyan, Z.; Shamel, K.; Miyake, M.; Hara, H.; Mohamad, S.E.B.; Kalantari, K.; Taib, S.H.M.; Rasouli, E. Cytotoxicity Assay of Plant-Mediated Synthesized Iron Oxide Nanoparticles Using Juglans Regia Green Husk Extract. *Arab. J. Chem.* **2020**, *13*,

- 2011–2023, doi:10.1016/j.arabjc.2018.02.019.
137. Eguía-Eguía, S.I.; Gildo-Ortiz, L.; Pérez-González, M.; Tomas, S.A.; Arenas-Alatorre, J.A.; Santoyo-Salazar, J. Magnetic Domains Orientation in (Fe₃O₄/γ-Fe₂O₃) Nanoparticles Coated by Gadolinium-Diethylenetriaminepentaacetic Acid (Gd³⁺ - DTPA). *Nano Express* **2021**, *2*, 020019, doi:10.1088/2632-959X/ac0107.
 138. Mekki, A.; Holland, D.; McConville, C.F.; Salim, M. An XPS Study of Iron Sodium Silicate Glass Surfaces. *J. Non. Cryst. Solids* **1996**, *208*, 267–276, doi:10.1016/S0022-3093(96)00523-6.
 139. Mekki, A.; Holland, D.; Ziq, K.; McConville, C.F. XPS and Magnetization Studies of Cobalt Sodium Silicate Glasses. *J. Non. Cryst. Solids* **1997**, *220*, 267–279, doi:10.1016/S0022-3093(97)00300-1.
 140. Yamashita, T.; Hayes, P. Effect of Curve Fitting Parameters on Quantitative Analysis of Fe_{0.94}O and Fe₂O₃ Using XPS. *J. Electron Spectros. Relat. Phenomena* **2006**, *152*, 6–11, doi:10.1016/j.elspec.2006.02.002.
 141. Graat, P.C.J.; Somers, M.A.J. Simultaneous Determination of Composition and Thickness of Thin Iron-Oxide Films from XPS Fe 2p Spectra. *Appl. Surf. Sci.* **1996**, *100–101*, 36–40, doi:10.1016/0169-4332(96)00252-8.
 142. Lin, T.-C.; Seshadri, G.; Kelber, J.A. A Consistent Method for Quantitative XPS Peak Analysis of Thin Oxide Films on Clean Polycrystalline Iron Surfaces. *Appl. Surf. Sci.* **1997**, *119*, 83–92, doi:10.1016/S0169-4332(97)00167-0.
 143. Michels, L.; Richter, A.; Chellappan, R.K.; Røst, H.I.; Behsen, A.; Wells, K.H.; Leal, L.; Santana, V.; Blawid, R.; da Silva, G.J.; et al. Electronic and Structural Properties of the Natural Dyes Curcumin, Bixin and Indigo. *RSC Adv.* **2021**, *11*, 14169–14177, doi:10.1039/D0RA08474C.
 144. Cong, G.W.; Peng, W.Q.; Wei, H.Y.; Han, X.X.; Wu, J.J.; Liu, X.L.; Zhu, Q.S.; Wang, Z.G.; Lu, J.G.; Ye, Z.Z.; et al. Comparison of Valence Band X-Ray Photoelectron Spectrum between Al–N-Codoped and N-Doped ZnO Films. *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *88*, 062110, doi:10.1063/1.2171804.
 145. Fang, J.; Fan, H.; Ma, Y.; Wang, Z.; Chang, Q. Surface Defects Control for ZnO Nanorods Synthesized by Quenching and Their Anti-Recombination in Photocatalysis. *Appl. Surf. Sci.* **2015**, *332*, 47–54, doi:10.1016/j.apsusc.2015.01.139.
 146. Gabás, M.; Gota, S.; Ramos-Barrado, J.R.; Sánchez, M.; Barrett, N.T.; Avila, J.; Sacchi, M. Unraveling the Conduction Mechanism of Al-Doped ZnO Films by Valence Band Soft x-Ray Photoemission Spectroscopy. *Appl. Phys. Lett.* **2005**, *86*, 042104,

doi:10.1063/1.1856141.

147. Welsh, I.D.; Sherwood, P.M.A. Photoemission and Electronic Structure of FeOOH: Distinguishing between Oxide and Oxyhydroxide. *Phys. Rev. B* **1989**, *40*, 6386–6392, doi:10.1103/PhysRevB.40.6386.
148. Rajan, A.; Sharma, M.; Sahu, N.K. Assessing Magnetic and Inductive Thermal Properties of Various Surfactants Functionalised Fe₃O₄ Nanoparticles for Hyperthermia. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 15045, doi:10.1038/s41598-020-71703-6.
149. Yoshida, T.; Enpuku, K. Simulation and Quantitative Clarification of AC Susceptibility of Magnetic Fluid in Nonlinear Brownian Relaxation Region. *Jpn. J. Appl. Phys.* **2009**, *48*, 127002, doi:10.1143/JJAP.48.127002.
150. Lima, E.; De Biasi, E.; Zysler, R.D.; Vasquez Mansilla, M.; Mojica-Pisciotti, M.L.; Torres, T.E.; Calatayud, M.P.; Marquina, C.; Ricardo Ibarra, M.; Goya, G.F. Relaxation Time Diagram for Identifying Heat Generation Mechanisms in Magnetic Fluid Hyperthermia. *J. Nanoparticle Res.* **2014**, *16*, 2791, doi:10.1007/s11051-014-2791-6.
151. Lima, E.; De Biasi, E.; Mansilla, M.V.; Saleta, M.E.; Granada, M.; Troiani, H.E.; Effenberger, F.B.; Rossi, L.M.; Rechenberg, H.R.; Zysler, R.D. Heat Generation in Agglomerated Ferrite Nanoparticles in an Alternating Magnetic Field. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2013**, *46*, 045002, doi:10.1088/0022-3727/46/4/045002.
152. Pilati, V.; Gomide, G.; Gomes, R.C.; Goya, G.F.; Depeyrot, J. Colloidal Stability and Concentration Effects on Nanoparticle Heat Delivery for Magnetic Fluid Hyperthermia. *Langmuir* **2021**, *37*, 1129–1140, doi:10.1021/acs.langmuir.0c03052.
153. Torres, T.E.; Lima, E.; Calatayud, M.P.; Sanz, B.; Ibarra, A.; Fernández-Pacheco, R.; Mayoral, A.; Marquina, C.; Ibarra, M.R.; Goya, G.F. The Relevance of Brownian Relaxation as Power Absorption Mechanism in Magnetic Hyperthermia. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 3992, doi:10.1038/s41598-019-40341-y.
154. Etemadifar, R.; Kianvash, A.; Arsalani, N.; Abouzari-Lotf, E.; Hajalilou, A. Green Synthesis of Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles: Effect of Natural Surfactant and Heat Treatment on the Magnetic Properties. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* **2018**, *29*, 17144–17153, doi:10.1007/s10854-018-9805-6.
155. Zhu, N.; Ji, H.; Yu, P.; Niu, J.; Farooq, M.; Akram, M.; Udego, I.; Li, H.; Niu, X. Surface Modification of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials* **2018**, *8*, 810, doi:10.3390/nano8100810.
156. Tombácz, E.; Turcu, R.; Socoliuc, V.; Vékás, L. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles:

- Recent Trends in Design and Synthesis of Magnetoresponse Nanosystems. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2015**, *468*, 442–453, doi:10.1016/j.bbrc.2015.08.030.
157. Zhang, Z.; Qiu, C.; Li, X.; McClements, D.J.; Jiao, A.; Wang, J.; Jin, Z. Advances in Research on Interactions between Polyphenols and Biology-Based Nano-Delivery Systems and Their Applications in Improving the Bioavailability of Polyphenols. *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *116*, 492–500, doi:10.1016/j.tifs.2021.08.009.
158. Kango, S.; Kalia, S.; Celli, A.; Njuguna, J.; Habibi, Y.; Kumar, R. Surface Modification of Inorganic Nanoparticles for Development of Organic–Inorganic Nanocomposites—A Review. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 1232–1261, doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.02.003.
159. Fraga, C.G.; Galleano, M.; Verstraeten, S. V.; Oteiza, P.I. Basic Biochemical Mechanisms behind the Health Benefits of Polyphenols. *Mol. Aspects Med.* **2010**, *31*, 435–445, doi:10.1016/j.mam.2010.09.006.
160. Szekeres, M.; Tóth, I.; Illés, E.; Hajdú, A.; Zupkó, I.; Farkas, K.; Oszlanczi, G.; Tiszlavicz, L.; Tombácz, E. Chemical and Colloidal Stability of Carboxylated Core-Shell Magnetite Nanoparticles Designed for Biomedical Applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 14550–14574, doi:10.3390/ijms140714550.
161. Thomas, G.; Demoisson, F.; Boudon, J.; Millot, N. Efficient Functionalization of Magnetite Nanoparticles with Phosphonate Using a One-Step Continuous Hydrothermal Process. *Dalt. Trans.* **2016**, *45*, 10821–10829, doi:10.1039/C6DT01050D.
162. G. Nene, A.; Takahashi, M.; R. Somani, P. Fe₃O₄ and Fe Nanoparticles by Chemical Reduction of Fe(Acac)₃ by Ascorbic Acid: Role of Water. *World J. Nano Sci. Eng.* **2016**, *06*, 20–28, doi:10.4236/wjnse.2016.61002.
163. Zeiri, Y.; Elia, P.; Zach, R.; Hazan, S.; Kolusheva, S.; Porat, Z. Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Plant Extracts as Reducing Agents. *Int. J. Nanomedicine* **2014**, 4007, doi:10.2147/IJN.S57343.
164. Kim, Y. Il; Kim, D.; Lee, C.S. Synthesis and Characterization of CoFe₂O₄ Magnetic Nanoparticles Prepared by Temperature-Controlled Coprecipitation Method. *Phys. B Condens. Matter* **2003**, *337*, 42–51, doi:10.1016/S0921-4526(03)00322-3.
165. Tayebi Pak, A.; Masoudpanah, S.M.; Adeli, M.; Ong, C.K. Combustion Synthesis of Porous Fe₃-XZn_xO₄ Powders for High-Performance Microwave Absorbers. *Ceram.*

- Int.* **2022**, *48*, 14201–14209, doi:10.1016/j.ceramint.2022.01.308.
166. Lima, E.; Torres, T.E.; Rossi, L.M.; Rechenberg, H.R.; Berquo, T.S.; Ibarra, A.; Marquina, C.; Ibarra, M.R.; Goya, G.F. Size Dependence of the Magnetic Relaxation and Specific Power Absorption in Iron Oxide Nanoparticles. *J. Nanoparticle Res.* **2013**, *15*, 1654, doi:10.1007/s11051-013-1654-x.
167. Taffa, D.H.; Dillert, R.; Ulpe, A.C.; Bauerfeind, K.C.L.; Bredow, T.; Bahnemann, D.W.; Wark, M. Photoelectrochemical and Theoretical Investigations of Spinel Type Ferrites ($M_x Fe_{3-x} O_4$) for Water Splitting: A Mini-Review. *J. Photonics Energy* **2016**, *7*, 012009, doi:10.1117/1.JPE.7.012009.
168. Mehrmohammadi, M.; Yoon, K.Y.; Qu, M.; Johnston, K.P.; Emelianov, S.Y. Enhanced Pulsed Magneto-Motive Ultrasound Imaging Using Superparamagnetic Nanoclusters. *Nanotechnology* **2011**, *22*, 045502, doi:10.1088/0957-4484/22/4/045502.
169. Rigort, A.; Plitzko, J.M. Cryo-Focused-Ion-Beam Applications in Structural Biology. *Arch. Biochem. Biophys.* **2015**, *581*, 122–130, doi:10.1016/j.abb.2015.02.009.