



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

**FACULTADE DE CIENCIAS**

**Grado en Química**

**Memoria del trabajo de Fin de Grado**

*SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS  
MAGNÉTICAS PARA DETECCIÓN DE PATÓGENOS. ESTUDIO DE LA FUNCIONALIZACIÓN  
CON SiO<sub>2</sub> MESOPOROSO*

*SÍNTESE, CARACTERIZACIÓN E FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS  
PARA DETECCIÓN DE PATÓXENOS. ESTUDO DA FUNCIONALIZACIÓN CON SiO<sub>2</sub>  
MESOPOROSO*

*SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND FUNCTIONALIZATION OF MAGNETIC PARTICLES  
FOR PATOGEN DETECTION. STUDY OF MESOPOROUS SiO<sub>2</sub> FUNCTIONALIZATION*

Directores: Socorro Castro García

Carlos Jiménez González

**KATIA CAAMAÑO CHICO**

Curso 2015/2016 - Convocatoria: *Junio*







# Índice

1	Resumen/Resumo/Abstract.....	7
1.1	Resumen.....	7
1.2	Resumo.....	8
1.3	Abstract.....	9
2	Introducción.....	10
2.1	Relevancia de los sideróforos y las nanopartículas magnéticas en la detección de patógenos.....	10
2.2	Nanopartículas magnéticas.....	13
2.2.1	Propiedades magnéticas de las nanopartículas.....	15
2.3	Nanopartículas de magnetita.....	21
2.3.1	Estructura cristalina y magnética de la magnetita.....	21
2.3.2	Síntesis de nanopartículas de magnetita por coprecipitación en medios orgánicos.....	22
2.3.3	Estabilización y funcionalización de las nanopartículas de magnetita usando sílice.....	25
2.4	Bibliografía de la sección “Introducción”.....	30
3	Objetivos.....	34
4	Instrumental y métodos.....	35
4.1	Preparación de nanopartículas magnéticas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> estabilizadas con SiO <sub>2</sub> y funcionalizadas con APTES.....	35
4.1.1	Síntesis de nanopartículas magnéticas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (KC-01).....	35
4.1.2	Síntesis de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> (KC-02).....	36
4.1.3	Funcionalización de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @ SiO <sub>2</sub> con APTES (KC-03a y KC-03b).....	37
4.1.4	Síntesis de SiO <sub>2</sub> mesoporoso.....	38
4.1.5	Reacción de SiO <sub>2</sub> mesoporoso con Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	40
4.2	Caracterización estructural y morfológica.....	40

4.2.1	Caracterización estructural .....	40
4.2.2	Caracterización morfológica.....	46
4.3	Bibliografía de la sección “Instrumental y métodos” .....	49
5	Resultados y discusión .....	50
5.1	Nanopartículas magnéticas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> estabilizadas con sílice y funcionalizadas con APTES .....	50
5.1.1	Nanopartículas magnéticas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (KC-01) .....	50
5.1.2	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @Si <sub>2</sub> O (KC-02).....	55
5.1.3	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> @APTES (KC-03a y KC-03b) .....	61
5.1.4	SiO <sub>2</sub> mesoporoso .....	65
5.1.5	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> con SiO <sub>2</sub> mesoporoso .....	68
5.2	Bibliografía de la sección “Resultados y discusión” .....	71
6	Conclusiones/Conclusións/Conclusions .....	72
6.1	Conclusiones.....	72
6.2	Conclusións .....	74
6.3	Conclusions .....	76

# 1 Resumen/Resumo/Abstract

## 1.1 Resumen

En este Trabajo de Fin de Grado se han preparado nanopartículas magnéticas estabilizadas con sílice y se ha comenzado su funcionalización para ser utilizadas en detección de patógenos. Para la caracterización de los productos sintetizados se han utilizado técnicas de difracción de rayos X de polvo cristalino (DRX), espectroscopia infrarroja (IR), análisis termogravimétrico (ATG), microscopia electrónica de transmisión (MET) y dispersión de luz dinámica (DLS).

Por una parte se sintetizaron nanopartículas magnéticas (MNP) de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  con morfología relativamente esférica, diámetros entre 10-20 nm (rango ideal para presentar comportamiento superparamagnético) y tendencia a formar aglomerados. Estas MNPs se recubrieron posteriormente por un material biocompatible (sílice), disminuyendo su tendencia a aglomerarse, y fueron funcionalizadas exitosamente con un aminosilano (APTES).

Por otra parte se llevó a cabo la síntesis de sílice mesoporosa (MCM-41), obteniendo partículas con morfología esférica cuyos diámetros se encuentran entre 100-250 nm, y con poros de diámetro en torno a 3 nm. Se modificaron las condiciones de reacción para comprobar el efecto de éstas sobre el tamaño de las partículas obtenidas, dando como resultado una gran dispersión en el diámetro y la morfología de las mismas. Se hicieron reaccionar las esferas mesoporosas de este material con las nanopartículas magnéticas, obteniendo composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  mesoporoso viables para la funcionalización con APTES en una etapa posterior.

## 1.2 Resumo

No presente Traballo de Fin de Grado preparáronse nanopartículas magnéticas estabilizadas con sílice e comezouse a súa funcionalización para seren empregadas na detección de patóxenos. Para a caracterización dos produtos obtidos, empregáronse as técnicas de difracción de raios X de po cristalino (DRX), espectroscopia infravermella (IR), análise termogravimétrico (ATG), microscopia electrónica de transmisión (MET) e dispersión de luz dinámica (DLS).

Por una parte sintetizáronse nanopartículas magnéticas (MNP) de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  con morfoloxía relativamente esférica, diámetros entre 10-20 nm (rango ideal para presentar comportamento superparamagnético) e tendencia a formar aglomerados. Estas MNPs foron recubertas posteriormente por un material biocompatible (sílice), diminuindo a súa tendencia a aglomerarse, e foron funcionalizadas exitosamente cun aminosilano (APTES).

Por outra parte levouse a cabo a síntese de sílice mesoporosa (MCM-41), obtendo nanopartículas con morfoloxía esférica cuxos diámetros se encontran entre 100-250 nm, presentando poros de diámetro en torno a 3 nm. Modificáronse as súas condicións de reacción para comprobar o efecto destas sobre o tamaño das nanopartículas obtidas, dando como resultado una gran dispersión no diámetro e morfoloxía das mesmas. Fixéronse reaccionar as esferas mesoporosas deste material coas nanopartículas magnéticas, obtendo composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  mesoporoso viables para a súa funcionalización con APTES nunha etapa posterior.

### 1.3 Abstract

In this TFG we have prepared magnetic nanoparticles of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) stabilized with silica ( $\text{SiO}_2$ ), and we have started their functionalization for the use in pathogen detection. Powder X-Ray Diffraction (XRD), Infrared Spectroscopy (IR), Thermogravimetric Analysis (TGA), Transmission Electron Microscopy (TEM) and Dynamic Light Scattering (DLS) were used for their characterization.

The synthesized  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  magnetic nanoparticles (MNP) show relatively spherical morphology, diameters of 10-20 nm (ideal for exhibit superparamagnetic behavior) and a certain tendency to form agglomerates. These MNPs were coated by a biocompatible material (silica), reducing its tendency to agglomerate, and they were successfully functionalized with the aminosilane APTES, allowing its availability for their use in a pathogen detection method.

Synthesis of a mesoporous silica (MCM-41) was carried out, giving particles with spherical morphology, diameters between 100-250 nm and pores of about 3 nm of diameter. Reaction conditions were modified to test their effect on the particle size, resulting in an undesired increase of the size dispersion. We have prepared  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Mesoporous  $\text{SiO}_2$  composites by heating a mixture of both particles in a closed vessel. Those composites form quite stable suspensions and are viable for functionalization with APTES at a later stage.

## 2 Introducción<sup>1-33</sup>

### 2.1 Relevancia de los sideróforos y las nanopartículas magnéticas en la detección de patógenos

En los últimos años se ha producido un aumento constante en el consumo de pescado a nivel mundial. Por ello, tanto la producción pesquera como la acuicultura han aumentado para satisfacer esta demanda, de tal modo que se espera que la acuicultura supere a la pesca de captura en los próximos años.

Sin embargo, en el desarrollo de sistemas de acuicultura surge una limitación que es necesario atacar: las enfermedades causadas por agentes biológicos. Las enfermedades infecciosas derivadas de bacterias patógenas constituyen una de las causas más importantes de pérdidas económicas a nivel mundial. Por ello, la búsqueda de nuevos tratamientos contra estas bacterias constituye una línea de investigación prioritaria en el sector.

La supervivencia de la mayoría de las bacterias depende de su capacidad para competir eficazmente por los nutrientes clave con el organismo infectado. El hierro es un nutriente esencial para la mayoría de los organismos, ya que participa en reacciones enzimáticas fundamentales, siendo especialmente importante su papel fisiológico en la química redox celular. Este ion metálico está implicado en múltiples fenómenos biológicos que son fundamentales para la vida, como el transporte de oxígeno y respiración, procesos de transferencia electrónica, síntesis y reparación de ADN, y metabolismo primario. El hierro se encuentra habitualmente en los estados de oxidación +2 (ferroso) y +3 (férrico) en los sistemas biológicos, pudiendo alcanzarse estados de oxidación transitorios más elevados durante procesos de catálisis enzimática. Los organismos obtienen este importante nutriente empleando mecanismos de adquisición, transporte y almacenamiento de hierro.

Sin embargo, a pesar de su abundancia en la tierra, la disponibilidad del hierro es limitada, ya que a pH fisiológico el hierro no se encuentra disponible para ser aprovechado por estos microorganismos. Para superar esta extrema indisponibilidad de Fe(II), las bacterias han diseñado varios mecanismos para conseguirlo del entorno, como su obtención a partir de glicoproteínas y hemoproteínas, la adquisición en forma de Fe(II) [más soluble que Fe(III)], o la producción de unos agentes que “secuestran” el Fe(III) llamados sideróforos.

## INTRODUCCIÓN

Los sideróforos abarcan una familia de compuestos de bajo peso molecular capaces de quelatar hierro que son producidos y exportados por bacterias, hongos y plantas durante períodos de privación de nutrientes. La mayoría de sideróforos presentan una extraordinaria afinidad y selectividad hacia el hierro (III). Con algunas pocas excepciones, los sideróforos aportan esferas de coordinación hexadentadas para la complejación del Fe(III) con estequiometría 1:1. Los catecolatos, hidroximatos y  $\alpha$ -hidroxicarboxilatos (Figura 1) son ligandos bidentados comúnmente empleados por los sideróforos. Estas moléculas, que se producen en el citoplasma, son excretadas al medio extracelular y allí son capaces de quelatar el Fe(III) de tal forma que se facilita su solubilidad e introducción en la célula.

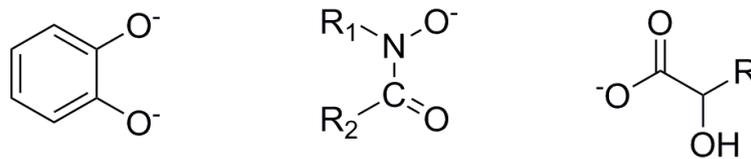


Figura 1: Fórmulas generales de los ligandos bidentados más comunes empleados por los sideróforos. De izquierda a derecha: catecolatos, hidroximatos,  $\alpha$ -hidroxicarboxilatos.

Los sideróforos son transportados al ambiente extracelular por mecanismos específicos. Después del secuestro extracelular del hierro, los complejos hierro-sideróforo resultantes son capturados por receptores específicos de membrana, proporcionando un medio para el consumo de hierro. Las estructuras y mecanismos de los sistemas de consumo de hierro varían para bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Tanto la biosíntesis como el transporte de los sideróforos son regulados por proteínas represoras que son sensibles a la concentración de hierro.

El aprovechamiento de la alta afinidad que hay entre los sideróforos y los receptores de los mismos que se encuentran en la superficie celular bacteriana es un método de detección de patógenos que resulta muy prometedor. Los receptores de sideróforos muestran especificidad para uno o varios sideróforos y se enlazan a estas pequeñas moléculas con constantes de disociación en el rango nanomolar. Esta especificidad, unida a la capacidad que presentan los receptores para enlazarse con una gran afinidad a los sideróforos, resulta atractiva para el desarrollo de tecnologías de identificación y captura específicas para cada especie de bacterias. Además, desde la perspectiva de la detección de patógenos, el empleo de las proteínas receptoras de sideróforos como dianas farmacológicas es de gran interés porque la expresión de bombas funcionales de captación de sideróforos es esencial en la proliferación y

## INTRODUCCIÓN

la virulencia de las bacterias dentro del vertebrado en que habitan. Por tanto, esta estrategia permitiría la detección rápida y altamente sensible de patógenos sin ningún tipo de proceso de proliferación por parte de éstos, lo que constituye, como ya se ha dicho, uno de los más importantes objetivos en las industrias de alimentación y salud.

Desde este punto de vista, la estrategia de preparar sideróforos enlazados a partículas magnéticas puede facilitar y acelerar la velocidad de detección y de eliminación de las bacterias. De esta manera se aprovechan la especificidad y afinidad de los sideróforos por las bacterias para unirse a éstas, y una vez unidos se pueden retirar del medio fácilmente aplicando un campo magnético externo, que atraerá al complejo formado por las partículas magnéticas unidas al sideróforo.

De hecho, puede observarse en la bibliografía<sup>4</sup> que el interés de las partículas magnéticas de tamaño nanométrico (nanopartículas magnéticas) para su uso en detección de patógenos ha aumentado considerablemente en los últimos tiempos, debido a que conjugan una serie de características: por una parte su comportamiento magnético (se magnetizan fácilmente al aplicarles un campo magnético externo pero se desmagnetizan espontáneamente al alejar dicho campo); por otra parte su pequeño tamaño, típicamente alrededor de 2 órdenes de magnitud más pequeño que una bacteria, que permite la unión de múltiples nanopartículas a cada célula bacteriana; y en tercer lugar su capacidad para ser funcionalizadas y unirse a diferentes biomoléculas, tales como anticuerpos, aptámeros, bioproteínas, carbohidratos, etc.

Es interesante hacer hincapié en que, ya que el medio biológico carece de componentes magnéticos en su estado natural, las magníficas propiedades de las nanopartículas magnéticas pueden ayudar no sólo a detectar patógenos, sino también a controlar la posición y el movimiento de los mismos, y a separarlos de manera selectiva, con una especificidad excelente y con un bajo ruido de fondo. Además, la integración de nanopartículas magnéticas bioconjugadas con diferentes métodos analíticos abre nuevas oportunidades para el análisis bacteriano.

Este Trabajo de Fin de Grado se centra en la preparación de complejos formados entre partículas magnéticas y sideróforos, que puedan ser usados en la detección y eliminación de bacterias. La preparación de dichos complejos se plantea en varias etapas: en primer lugar, la síntesis de nanopartículas magnéticas (MNP) de magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , con las características adecuadas en cuanto a tamaño, morfología y comportamiento en suspensión. En segundo

lugar, la unión estable de estas nanopartículas a un material que permita la funcionalización de las mismas como es el  $\text{SiO}_2$ ; éste se funcionalizará en una tercera etapa con APTES [(3-aminopropil)triethoxisilano], que posteriormente se unirá a un determinado sideróforo, para finalizar estudiando su interacción con las bacterias. En este TFG se abordarán las tres primeras fases, y las etapas que incluyen la unión al sideróforo y el empleo de este compuesto final en la detección de patógenos, se abarcan posteriormente a la realización de este TFG.

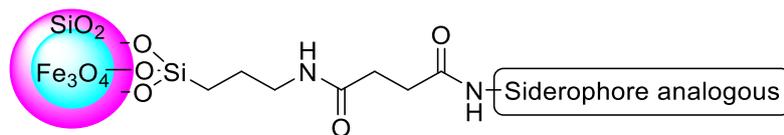


Figura 2: Esquema del complejo formado por la MNP funcionalizada y unida a un sideróforo.

A continuación se presenta una introducción que ayude a comprender algunos de los aspectos más importantes de las nanopartículas magnéticas que se usarán en el TFG y de las estrategias de funcionalización de las mismas, centrándose en el uso de  $\text{SiO}_2$ , "normal" y mesoporoso.

## 2.2 Nanopartículas magnéticas

En general, las nanopartículas magnéticas resultan muy interesantes para los investigadores de un gran rango de disciplinas, incluyendo fluidos magnéticos, catálisis, biotecnología/biomedicina, imágenes de resonancia magnética, almacenamiento de datos y recuperación ambiental. Los tipos de nanopartículas magnéticas más importantes al nivel de aplicación en estos ámbitos se resumen en el siguiente esquema:

## INTRODUCCIÓN

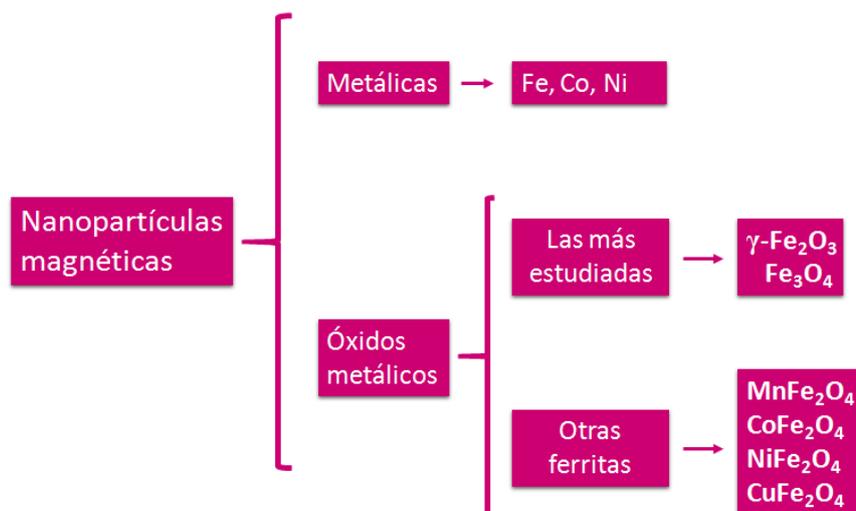


Figura 3: Descripción de los tipos de nanopartículas magnéticas más empleadas en aplicaciones biomédicas.

En la mayoría de las aplicaciones previstas, las nanopartículas funcionan mejor cuando su tamaño se encuentra por debajo de un tamaño crítico, que depende del material (como se explicará más adelante) pero que se encuentra típicamente en torno a 10-20 nm. Su aplicación exitosa en los campos citados anteriormente depende en gran medida de la estabilidad de las partículas frente a largos periodos de tiempo frente a un amplio rango de diferentes condiciones.

Por una parte, estas pequeñas partículas tienden a formar aglomerados para reducir la energía asociada a la elevada relación entre el área de la superficie y el volumen de las partículas nanométricas. Esto es especialmente crítico en aplicaciones biomédicas, ya que los aglomerados pueden obstruir pequeños capilares o impedir su paso a través de membranas biológicas., aunque es menos crítico en otros ámbitos. Por ejemplo, en detección de patógenos, cuanto menor sea el tamaño de los aglomerados formados, mayor será su superficie específica, y será más eficiente su funcionalización y su actuación.

Además, las nanopartículas magnéticas de metales (Fe, Co o Ni) son químicamente muy activas, y se oxidan fácilmente al aire, dando como resultado de manera general una pérdida de magnetismo y capacidad de dispersión. Este problema es menos acusado en los óxidos de hierro, tanto en  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  (maghemita) y  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) como en el resto de las ferritas. De

estos óxidos de hierro, aquellos que contienen  $\text{Fe}^{2+}$  son susceptibles de que este se oxide a  $\text{Fe}^{3+}$ , aunque no son tan sensible a la oxidación como los metales. Es crucial, por tanto, para muchas aplicaciones que se desarrollen estrategias de protección para estabilizar químicamente estas nanopartículas magnéticas frente a la degradación. Estas estrategias consisten habitualmente en el recubrimiento de las MNPs con especies orgánicas, que incluyen surfactantes o polímeros, o recubrimiento con una capa de sílice o carbono. En muchos casos este revestimiento logra no sólo proteger las nanopartículas de la oxidación, sino que puede evitar o reducir su aglomeración y además puede usarse para una posterior funcionalización.

### 2.2.1 Propiedades magnéticas de las nanopartículas

Una consecuencia de la gran proximidad de los átomos en un sólido es que las propiedades de los átomos individuales pueden interactuar de manera cooperativa produciendo efectos que no se encuentran en los fluidos. El magnetismo cooperativo es uno de estos efectos: se presenta en átomos o moléculas con electrones desapareados, es decir, que presentan momento magnético, y cuyos momentos magnéticos están alineados. En función de las propiedades magnéticas que presentan, los materiales se clasifican según la respuesta a un campo magnético externo en cuatro formas básicas de magnetismo cooperativo: *paramagnetismo*, *ferromagnetismo*, *antiferromagnetismo* y *ferrimagnetismo* (Figura 4).

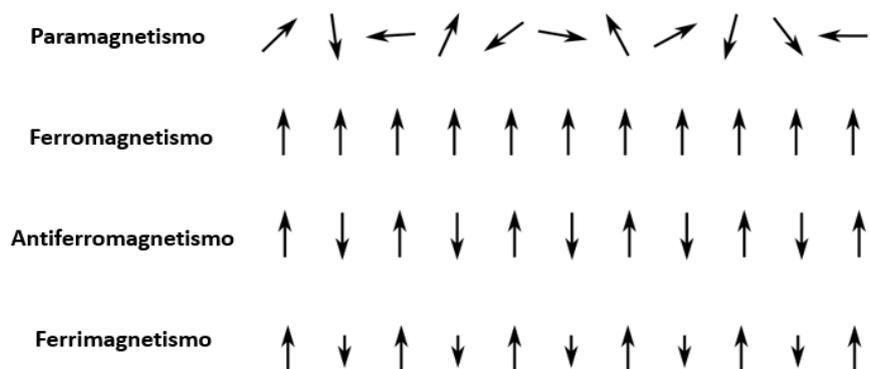


Figura 4: Representación de la alineación de los momentos magnéticos de los materiales magnéticos que presentan fenómenos cooperativos.

## INTRODUCCIÓN

Los materiales cuyos momentos magnéticos atómicos no están apareados muestran **paramagnetismo**; en éstos, el momento magnético es diferente de cero y adquieren una magnetización cuando se encuentran en un campo magnético (Figura 7, color verde). Los materiales paramagnéticos no presentan una magnetización remanente ya que, en un campo magnético, los espines se orientan en la dirección del campo; sin embargo, en ausencia de campo magnético, la agitación térmica fuerza a los espines a disponerse en una orientación aleatoria. Por esta razón, a bajas temperaturas no se observa paramagnetismo, debido al comportamiento cooperativo entre los espines, que se produce por debajo de una temperatura de transición específica (*temperatura de Curie* o *temperatura de Néel*, según el tipo de material). Por debajo de dicha temperatura, el acoplamiento de los espines produce uno de los tres tipos restantes de magnetismo cooperativo.

Los materiales que poseen **ferromagnetismo** (por ejemplo, el hierro, níquel y cobalto) presentan, por debajo de la *temperatura de Curie*, momentos magnéticos atómicos de igual magnitud y alineados de manera paralela debido a que sus estructuras cristalinas permiten un acoplamiento directo entre los momentos. Los electrones interactúan mediante un mecanismo de intercambio en el caso de los metales (*superintercambio* en el caso de óxidos metálicos, ya que interactúan a través de los átomos de oxígeno), provocando un aumento fuerte de la densidad de flujo magnético. Los fuertes acoplamientos de los espines persisten después de eliminar el campo magnético externo, dando lugar a una magnetización permanente (Figura 7, color negro). Los materiales que conservan una magnetización permanente en ausencia de un campo magnético aplicado se conocen como *imanes duros*.

A diferencia de éstos, los materiales que tienen momentos magnéticos atómicos de igual magnitud pero dispuestos de manera antiparalela muestran, por debajo de la *temperatura de Néel*, un comportamiento conocido como **antiferromagnetismo**, caracterizado por poseer una magnetización neta nula. Por encima de la temperatura de Néel, la energía térmica es suficiente para producir que los momentos magnéticos atómicos alineados de manera opuesta fluctúen de manera aleatoria, provocando la desaparición de su ordenación de largo alcance. En este estado, los materiales exhiben comportamiento paramagnético.

Si los momentos magnéticos, por debajo de la temperatura de transición, están alineados de forma antiparalela, pero el momento magnético resultante no se anula, el material es **ferrimagnético**. Por encima de esta temperatura de transición, estas sustancias se comportan también como paramagnéticas.

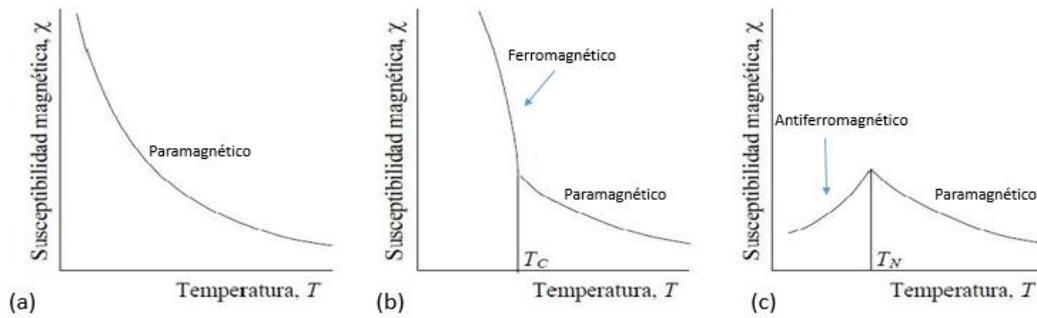


Figura 5<sup>27</sup>: Representación de la variación del comportamiento magnético en función de la temperatura en materiales (a) paramagnéticos, (b) ferromagnéticos y (c) antiferromagnéticos.

Una característica de todos estos materiales es que su estructura sólo estará energéticamente favorecida si están divididos en *dominios magnéticos*. Un dominio magnético es un volumen de material en el que todos los momentos magnéticos se alinean en la misma dirección (es decir, presentan magnetización uniforme). Dentro de cada dominio los espines están orientados en la misma dirección pero aleatoriamente con respecto a los otros dominios magnéticos (Figura 6). Aunque se genere energía interfacial de unos dominios con otros, esta configuración multidominio es la más favorable desde el punto de vista energético.

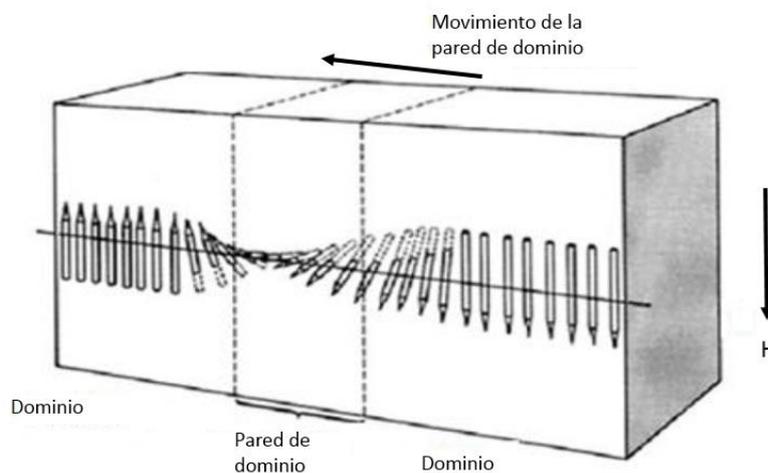


Figura 6<sup>28</sup>: Representación del movimiento de la pared de dominio de un material bajo la aplicación de un campo magnético externo.

Al aplicar un campo magnético, los momentos magnéticos rotan gradualmente, haciendo que las *paredes de dominio* que separan un dominio del adyacente se muevan y se produzca un crecimiento de unos dominios a expensas de sus vecinos.

## INTRODUCCIÓN

La respuesta de los materiales ferromagnéticos y ferrimagnéticos a la acción de un campo aplicado queda definida por la existencia de un ciclo de histéresis (Figura 7). En estos ciclos se representa la variación de la densidad de flujo magnético, o de la magnetización ( $B$  y  $M$ , respectivamente), en función del campo magnético aplicado ( $H$ ), a una temperatura dada. Si se parte inicialmente de una muestra “desmagnetizada”, con  $M=0$  en ausencia de campo ( $H=0$ ), los momentos magnéticos de los distintos dominios están “desordenados” de manera que se anulan entre sí. La aplicación de un campo magnético creciente hace que los momentos magnéticos de los dominios tiendan a alinearse de manera gradual en la dirección de dicho campo, hasta alcanzar el valor máximo, que es la denominada *magnetización de saturación*,  $M_s$ . Gran parte de esa magnetización se mantiene tras inversión del campo y la desaparición completa del mismo ( $H=0$ ): es la denominada *magnetización remanente*,  $M_R$ . Para eliminar esta magnetización remanente, es decir, hacer que los momentos magnéticos de los diferentes dominios vuelvan a anularse por completo, el campo debe ser invertido hasta alcanzar el valor denominado *coercitivo*,  $H_c$ , o *coercitividad*. Al continuar aumentando la magnitud del campo invertido, los dominios se orientan en el sentido de este campo invertido y se alcanza de nuevo una magnetización de saturación, de signo opuesto a la primera. Así, el ciclo de histéresis representa un camino completamente reversible que puede ser recorrido continuamente mientras el campo continúe aumentando y disminuyendo cíclicamente entre los extremos indicados.

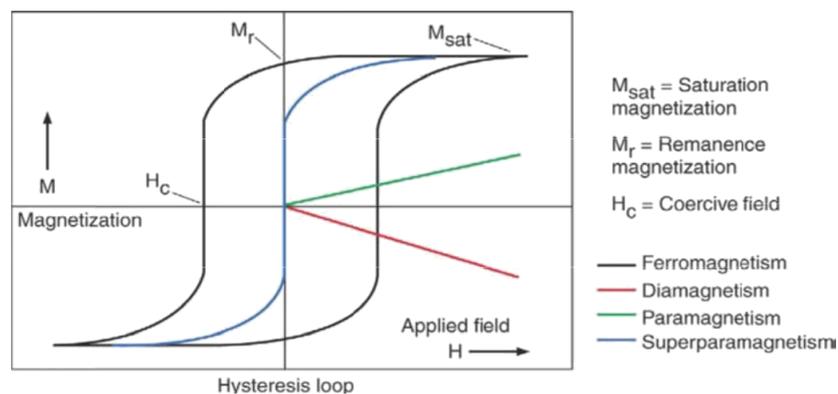


Figura 7<sup>29</sup>: Ciclo de histéresis característico de nanopartículas ferromagnéticas y superparamagnéticas. Se muestra también el comportamiento paramagnético y diamagnético como comparación.

La capacidad de un material para magnetizarse o desmagnetizarse está relacionada con la movilidad de las paredes de dominio, y ésta, con el tamaño de partícula.

Cuando el tamaño de la partícula de material disminuye, el número de dominios magnéticos dentro de cada partícula decrece hasta que el elevado valor de la energía asociada con la pared de los dominios es termodinámicamente desfavorable, y el material se convierte en **monodominio**. Esto se debe a que al disminuir la dimensión de las partículas, las paredes de dominio se acercan, aumentando las interacciones entre ellas. El comportamiento de una partícula monodominio puede describirse como si todos los momentos magnéticos atómicos estuvieran rígidamente alineados como un espín único gigante. La variación observada del campo coercitivo al ir disminuyendo el tamaño de las partículas, refleja bien este comportamiento, como puede observarse en la Figura 8:

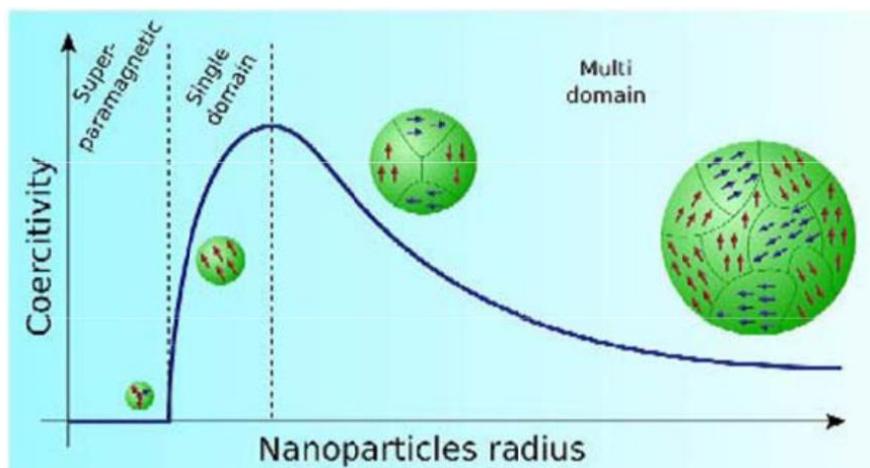


Figura 8<sup>30</sup>: Esquema de la relación entre el tamaño de las nanopartículas y el campo coercitivo necesario para desmagnetizarlas.

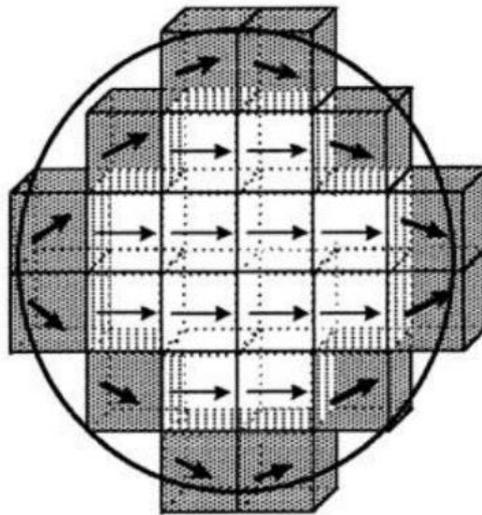
El tamaño de monodominio varía según el tipo de material, pero por ejemplo el valor crítico para los metales Fe, Co y Ni es 14, 70 y 55 nm, respectivamente, mientras que para la maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) es de 166 nm y para la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (objeto de este TFG) es de 128 nm.<sup>6,7</sup>

Cuando las dimensiones de las nanopartículas de estos materiales son inferiores al tamaño de monodominio, se observa en ellas un comportamiento **superparamagnético**, de manera que en presencia de un campo magnético, se orientan con facilidad a favor de dicho campo, pero pierden inmediatamente su orientación al eliminar el campo (siempre y cuando se encuentren a una temperatura superior a la denominada **temperatura de bloqueo**), de manera que deja de existir una **magnetización remanente** y un **campo coercitivo** (Figura 7, color azul), es decir, se pierde la histéresis. Esto es lo que les confiere a las nanopartículas la capacidad de

## INTRODUCCIÓN

magnetizarse fácilmente en presencia de un imán externo, y de volver al estado no magnético cuando deja de actuar el imán, evitando el comportamiento activo de las mismas cuando no hay ningún campo aplicado. Introducidas en sistemas vivos, estas partículas serán magnéticas sólo en presencia de un campo externo, y este hecho representa una excepcional ventaja al trabajar, como ya se ha mencionado, en entornos biológicos.

Además de la influencia sobre las propiedades magnéticas de tamaño de partícula y la temperatura, se debe tener en cuenta la **crystalinidad** de las partículas, interfiriendo de forma muy significativa la anisotropía morfológica sobre el magnetismo. El ordenamiento de los espines no es igual en la superficie que en el interior de las partículas (Figura 9). Este efecto se acentúa en el caso de las nanopartículas, debido a su gran relación superficie / volumen.



*Figura 9<sup>31</sup>: Representación del efecto de superficie producido por el desorden en la ordenación de los momentos magnéticos en la superficie de una partícula magnética.*

El efecto de la superficie, tanto por el desordenamiento de momentos magnéticos como por la forma de las partículas, tiene una gran repercusión sobre la magnetización, siendo más susceptibles a experimentar dicho desorden determinadas direcciones cristalográficas a causa de la anisotropía magnetocristalina. En cualquier caso, al mejorar la cristalinidad de las partículas se disminuye la anisotropía, mejorando la magnetización del material. De ahí la gran importancia de lograr sintetizar partículas que aun siendo muy pequeñas, tengan una elevada cristalinidad, no sólo en su interior, sino incluso cerca de la superficie.

## 2.3 Nanopartículas de magnetita

De todos los tipos de MNPs, las más usadas son las de magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , óxido elegido para el presente trabajo. Ello se debe no sólo a su bajo coste y buen comportamiento magnético, sino también a la ya comentada relativa estabilidad en comparación, por ejemplo con la maghemita,  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  que sólo contiene Fe(III). Se hace a continuación una breve presentación de la estructura de este óxido, así como de la estrategia de síntesis de nanopartículas utilizadas en este TFG, y algunos sistemas para su estabilización y funcionalización, basados en la formación de compuestos con  $\text{SiO}_2$ .

### 2.3.1 Estructura cristalina y magnética de la magnetita

La magnetita puede considerarse como una ferrita que contiene únicamente hierro como catión metálico. Su estructura se corresponde con una espinela inversa (Figura 10). Presenta una celda unidad cúbica centrada en las caras en las que 32 iones  $\text{O}^{2-}$  se empaquetan siguiendo un empaquetamiento cúbico compacto (*ccp*) a lo largo del plano  $[111]$ . El valor del parámetro de red  $a$  ( $a=b=c$ ,  $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ ) que describe el tamaño de la celda unidad es 8,396 Å, y le corresponden 8 fórmulas por celda unidad ( $Z=8$ ).

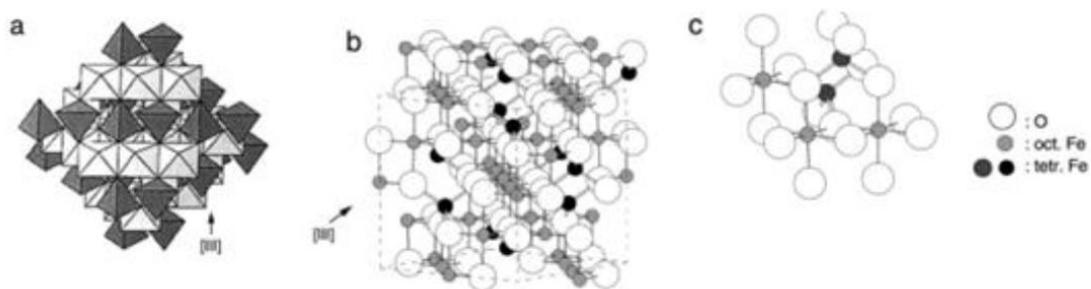


Figura 10<sup>32</sup>: Estructura de la magnetita. (a) Modelo poliédrico que representa las capas octaédricas y tetraédricas. (b) Modelo de bolas, señalada la celda unidad. (c) Detalle de la disposición octaédrica y tetraédrica mediante el modelo de bolas.

## INTRODUCCIÓN

La magnetita se diferencia del resto de óxidos de hierro porque contiene tanto iones divalentes como trivalentes. Los iones  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$  se ordenan siguiendo la fórmula  $\text{Fe}_t^{3+}[\text{Fe}^{2+}, \text{Fe}^{3+}]_o\text{O}_4$ , representando  $t$  las posiciones tetraédricas y  $o$  las posiciones octaédricas. En cada celda unidad hay el mismo número de sitios octaédricos como de iones de oxígeno, es decir, 32 y dos veces la cantidad de sitios tetraédricos, es decir, 64. Los cationes de  $\text{Fe}^{+2}$  y de  $\text{Fe}^{+3}$  llenan la mitad de las posiciones octaédricas disponibles y una octava parte de las posiciones tetraédricas disponibles. Esto significa que hay 8 sitios tetraédricos ocupados y 16 sitios octaédricos ocupados en una celda unidad. Los iones en posiciones octaédricas interactúan a través de los oxígenos con los iones en posición tetraédrica, alineando sus momentos magnéticos de forma antiparalela a éstos y generando un comportamiento ferrimagnético (Figura 11) por la incompleta cancelación de los momentos magnéticos.

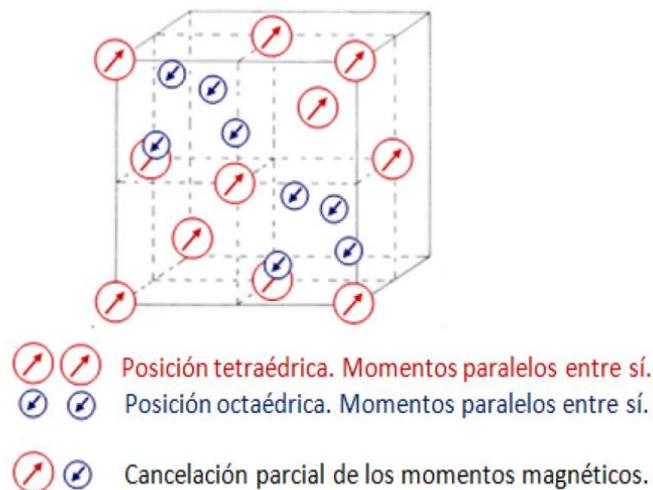


Figura 11: Estructura magnética en espinelas inversas.

### 2.3.2 Síntesis de nanopartículas de magnetita por coprecipitación en medios orgánicos

Como ya se ha indicado, el tamaño típico reportado de monodominio de la magnetita es de 128 nm. De ahí el interés de preparar nanopartículas con tamaños inferiores para conseguir su comportamiento superparamagnético.

Considerando el enorme número de potenciales aplicaciones para nanopartículas de magnetita de gran calidad, no es sorprendente que ya se hayan descrito numerosas rutas sintéticas con distinto nivel de control en el tamaño, dispersión, morfología y cristalinidad. Es posible preparar MNP de magnetita con gran rendimiento y buen control en cuanto a morfología y tamaño, siendo estas síntesis fuertemente influenciadas por las condiciones de reacción.

Las rutas sintéticas más ampliamente utilizadas en la preparación de nanopartículas de óxidos de hierro se basan en la **precipitación** a partir de una disolución que contenga cationes de hierro. En estos procesos, la fase de nucleación se ve seguida de una fase de crecimiento, permitiendo un buen control sobre el tamaño y la dispersión de las partículas: para la obtención de nanocristales es necesario que la fase de nucleación sea rápida, y la de crecimiento debe ser lo más corta posible. La gran mayoría de MNPs de magnetita disponibles hasta la fecha se preparan mediante alguna variación de la técnica de **coprecipitación acuosa**. Habitualmente, la magnetita precipita a partir de una disolución acuosa básica de sales de hierro (II) y hierro (III). A pesar de que se puede ejercer cierto control en el tamaño y la composición de las partículas modificando la naturaleza y la relación entre las sales férricas/ferrosas (por ejemplo empleando cloruros), o variando parámetros de la reacción (como el pH, el tipo de agitación o la temperatura), los procesos de coprecipitación normalmente dan como resultado suspensiones de nanopartículas polidispersas debido a la gran tendencia a formar aglomerados.

Para superar las limitaciones que conllevan las reacciones de precipitación acuosa, muchos grupos de investigación han desarrollado enfoques **no acuosos** para la producción de nanopartículas de óxido de hierro monodispersas y monocristalinas de gran calidad. En estos procedimientos, precursores de hierro se descomponen en disolventes orgánicos calientes en presencia de tensioactivos tales como oleilamina, ácido oleico, y ácido esteárico. Los precursores de hierro incluyen acetilacetato de hierro, cupferronatos de hierro, y carbonilos de hierro. Sin embargo, estos enfoques no están exentos de inconvenientes: el uso de surfactantes presenta problemas medioambientales, a lo que se añade que las partículas obtenidas están recubiertas de grandes cantidades de estos productos, que pueden dificultar las posteriores modificaciones de la superficie de las nanopartículas

Estas limitaciones pueden superarse usando alcohol bencílico como disolvente y ligando al mismo tiempo, en lugar de las mezclas de disolventes y ligandos empleadas habitualmente. De

## INTRODUCCIÓN

hecho, el alcohol bencílico es respetuoso con el medioambiente y se utiliza habitualmente en la industria alimenticia.

La reacción *one-pot* entre alcohol bencílico y  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ , acetilacetonato de hierro(III), da como producto nanocristales de magnetita de elevada pureza. La principal ventaja de esta técnica es que las nanopartículas pueden recubrirse tras la síntesis con cantidades mínimas de ligandos y volver a dispersarse en disolventes tanto polares como apolares.

En este TFG se ha realizado una pequeña variación de la síntesis propuesta por Pina et al.<sup>13</sup> Se ha partido de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  en alcohol bencílico, actuando éste como disolvente y agente reductor. El mecanismo de formación de óxidos como la magnetita aún no está demostrado, aunque se han formulado diversas hipótesis que justifican de manera razonable los resultados obtenidos. La formación de nanopartículas se acompaña habitualmente de procesos que implican principios básicos de química orgánica y, por lo tanto, la información en cuanto a los mecanismos de reacción puede encontrarse identificando los productos secundarios de la reacción, que pueden estar presentes en el producto final de la síntesis o bien escapar del medio de reacción en forma de gas. La realización de un análisis retrosintético permite ver la relación entre la reacción que sufren los compuestos orgánicos y los mecanismos de formación de los óxidos. Entender este proceso es un paso importante hacia el diseño de una síntesis racional de nanopartículas inorgánicas. Se muestra a continuación el mecanismo propuesto por Niederberger.<sup>14</sup>

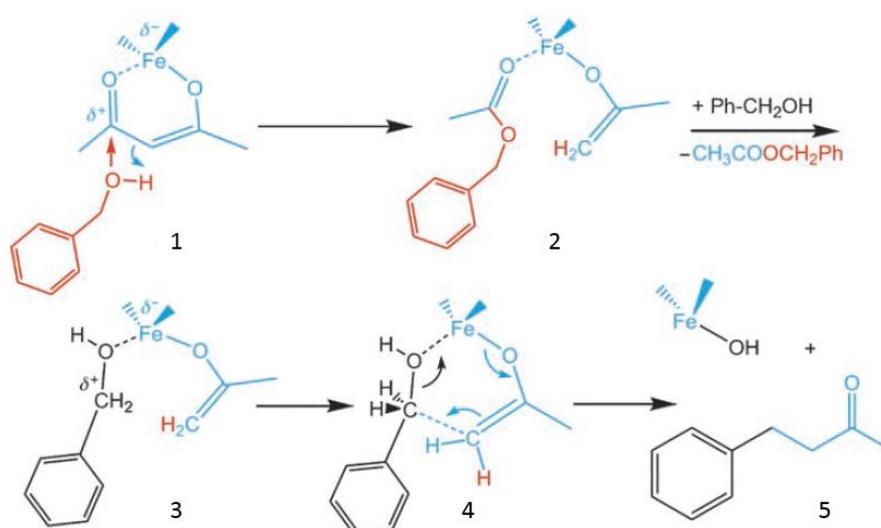


Figura 12<sup>14</sup>: Mecanismo propuesto para la obtención de magnetita a partir de alcohol bencílico y  $\text{Fe}(\text{acac})_3$

La reacción comienza con la solvólisis (reacción de sustitución en la que el disolvente actúa como nucleófilo) del acetilacetonato de hierro, seguida de una condensación aldólica: se produce un ataque nucleófilo del alcohol bencílico sobre el grupo carbonilo del acetilacetonato (1). La alcoholólisis produce el enolato y libera acetato bencílico (2). En la siguiente etapa, el alcohol bencílico se coordina con el centro Fe, liberando acetato bencílico en una reacción de intercambio de ligandos. Es entonces cuando el enolato ataca al alcóxido coordinado mediante condensación aldólica (3,4) y se libera 4-fenil-2-butanona (5). El grupo hidroxilo ligado al Fe se une a otro centro Fe, representando el punto inicial de la formación de la nanopartícula.

En el producto final de reacción se identifican también un gran número de productos secundarios, como la 4-fenil-3-buten-2-ona, presente en pequeñas cantidades, que es un producto de la oxidación de la 4-fenil-2-butanona. Según este mecanismo, un tercio del Fe(III) de partida se reduce a Fe(II) para obtener magnetita. Por tanto, se propone la formación de 4-fenil-3-buten-2-ona a partir de la oxidación de 4-fenil-2-butanona, reduciendo simultáneamente dos centros Fe, lo que significa que el alcohol bencílico que actúa como disolvente también conlleva la reducción parcial del hierro y proporciona la correcta estequiometría del producto oxidado.

### 2.3.3 Estabilización y funcionalización de las nanopartículas de magnetita usando sílice

#### 2.3.3.1 Composites núcleo-coraza $Fe_3O_4@SiO_2$

A pesar de que se han producido avances significativos en la síntesis de nanopartículas magnéticas, como ya se ha adelantado, mantener la estabilidad de estas partículas durante un largo periodo de tiempo sin que se produzca su degradación ni la aglomeración o el precipitado de éstas es una cuestión importante.

En general las estrategias de protección de nanopartículas magnéticas tienen como resultado una estructura **núcleo-coraza**, es decir, la nanopartícula magnética constituye el núcleo recubierto por una coraza, aislando así la partícula contra el ambiente. De este modo la nanopartícula está protegida frente a la oxidación por el oxígeno, o la erosión por ácidos o bases. Además, las partículas protegidas individualmente son libres de dispersarse y son estables en una gran variedad de materiales debido a la coraza protectora alrededor de éstas.

## INTRODUCCIÓN

Esta capa protectora puede usarse también para una posterior funcionalización con componentes específicos, como especies catalizadoras, medicamentos, posiciones de enlace específicas u otros grupos funcionales.

La sílice ( $\text{SiO}_2$ ) ha sido considerada como uno de los más ideales materiales para la estabilización de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  debido a que presenta una serie de ventajas, como son su constatada estabilidad química frente a disoluciones acuosas (al menos cuando el valor del pH es lo suficientemente bajo), una superficie fácilmente modificable, y un control sencillo de interacciones entre las partículas, tanto en disolución como dentro de otras estructuras, mediante por ejemplo, la variación del grosor de la coraza de  $\text{SiO}_2$ ; todo ello sin sacrificar el comportamiento magnético de la magnetita.

El método Stöber<sup>15-17</sup> y los procesos sol-gel<sup>18</sup> son las opciones predilectas a la hora de recubrir nanopartículas magnéticas con sílice.

Para la obtención de *composites* núcleo-corteza de magnetita con recubrimiento de sílice,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ , en este TFG se recurrió a una variación de los mismos, derivada del método propuesto por Li et al.<sup>19</sup>, llevando a cabo la hidrólisis de tetraetilortosilicato ( $\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$ , TEOS) en medio acuoso y en presencia de catalizador básico (disolución de  $\text{NH}_3$ ). El grosor de la coraza exterior puede modificarse variando la concentración de amoníaco y la relación entre TEOS y  $\text{H}_2\text{O}$ . La reacción de hidrólisis (Figuras 13 y 14) se produjo sobre las nanopartículas de magnetita anteriormente sintetizadas controlando la temperatura, agitación y pH. La hidrólisis de TEOS da lugar al ácido silícico, que posteriormente condensa y polimeriza, formando una capa alrededor de las partículas de magnetita (Figura 15).

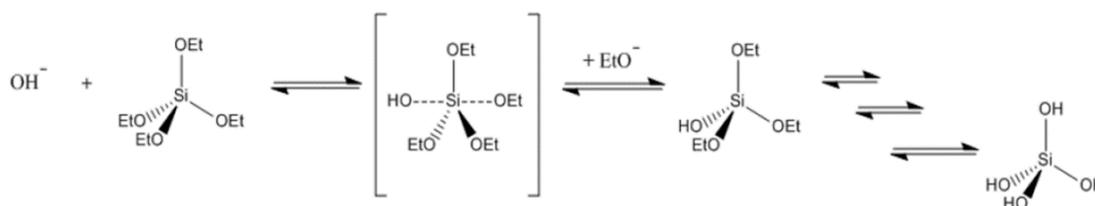


Figura 13<sup>16</sup>: Hidrólisis del tetraetilortosilicato, TEOS, mediante catálisis básica.

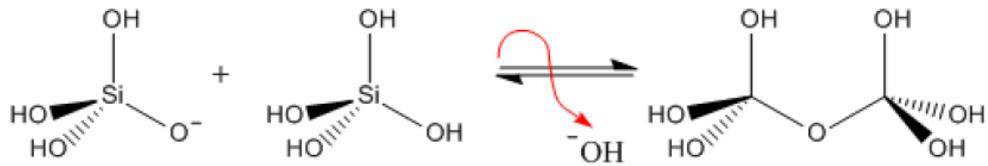


Figura 15<sup>16</sup>: Condensación del ácido silícico.

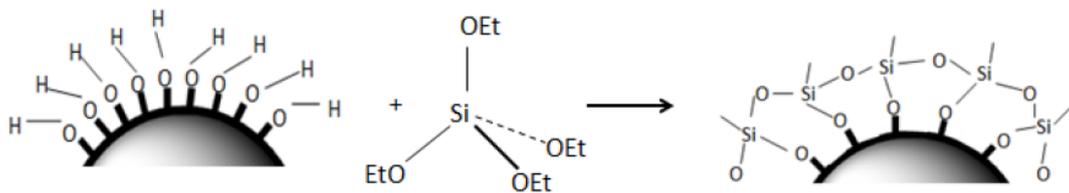


Figura 14<sup>33</sup>: Polimerización del TEOS sobre las nanopartículas de magnetita en medio acuoso, formando una capa de  $\text{SiO}_2$  sobre las nanopartículas.

### 2.3.3.2 Composites $\text{Fe}_3\text{O}_4$ - $\text{SiO}_2$ mesoporoso

Otra estrategia, planteada como alternativa a la preparación de composites núcleo-coraza  $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ , es la formación de composites entre las nanopartículas magnéticas y las partículas de sílice porosa previamente preparadas por separado. La ventaja de este método sería la gran facilidad y reproducibilidad de la síntesis de sílice en ausencia de nanopartículas magnéticas. Si además se forman partículas de sílice que sean porosas, su superficie específica será mayor y es de esperar que se vea favorecida la interacción de la misma con las nanopartículas de magnetita. Dado que al usar nanopartículas de magnetita (en lugar de nanopartículas metálicas), la estabilidad química de la misma no es el factor más crítico, no será imprescindible que queden recubiertas con la sílice.

## INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento de la sílice mesoporosa en 1992 se ha realizado un trabajo exhaustivo explorando la síntesis, caracterización y aplicaciones de esta familia de materiales. Las nanopartículas de sílice mesoporosa pueden emplearse como una plataforma multifuncional, y sus aplicaciones biomédicas más prometedoras abarcan la liberación de fármacos, enzimas o ADN, catálisis y procesos de adsorción, además de la detección de patógenos.<sup>21-23</sup>

Esta familia de materiales sintéticos, denominada M41S, posee una distribución ordenada de poros, con un tamaño de poro muy homogéneo, cuyo valor promedio está comprendido en el rango 2-10 nm (los materiales mesoporosos comprenden un tamaño de poro entre los 2 y los 50 nm) Además, estos materiales poseen un elevado volumen de poro, y una superficie específica comprendida entre 500 y 1000 m<sup>2</sup>/g.

La síntesis de estos materiales mesoporosos ordenados requiere el empleo de moléculas de tensioactivos en disolución acuosa. En esas condiciones, cuando la concentración de tensioactivo en disolución alcanza un valor umbral, denominado concentración micelar crítica, las moléculas de éste forman agregados denominados micelas, cuya forma y tamaño dependen esencialmente de la naturaleza y composición química de la molécula de tensioactivo, de su concentración y temperatura, además del pH de la disolución y la fuerza iónica. En general, a temperaturas moderadas, las micelas se agrupan formando primeramente una fase hexagonal, que evoluciona a una fase cúbica (isotópica) y posteriormente a una estructura laminar a medida que la concentración de tensioactivo aumenta. Estas tres fases corresponden a los tres materiales agrupados inicialmente en la familia M41S: MCM-41 (fase hexagonal, sintetizada en este TFG), MCM-48 (fase cúbica), MCM-50 (fase laminar). Todas ellas se obtienen con la misma molécula de tensioactivo, el hexadeciltrimetilamonio (CTAB), y esos tres materiales replican las tres fases micelares que puede formar el CTAB.

En el proceso de síntesis de los materiales mesoporosos ordenados constituidos por un esqueleto de sílice, los oligómeros de silicato presentes en disolución acuosa condensan entre sí alrededor de las micelas, que actúan a modo de “plantilla”. En el caso de tensioactivos catiónicos, como el CTAB utilizado para la síntesis de MCM-41, se produce una fuerte interacción coulombica entre la parte polar hidrófila o “cabeza” del tensioactivo cargada positivamente en la fórmula  $R-[N(CH_3)_3]^+$ , siendo R = cadena alquílica o “cola” hidrofóbica del surfactante, y los oligómeros del silicato cargados negativamente. El proceso se representa en el esquema de la Figura 16. Finalmente, y como resultado del proceso de ensamblaje de las especies de silicato en disolución y las micelas, se obtiene un producto sólido que contiene una

elevada cantidad de tensioactivo ocluido en su interior. La eliminación posterior del surfactante mediante extracción del sólido con disolventes adecuados, o mediante calcinación en aire a una temperatura elevada, deja en el interior de la matriz sílicea un conjunto de cavidades que constituyen en cierto modo una réplica, un “negativo” de la morfología de las micelas incorporadas en el material durante la síntesis. Las dimensiones y la topología o arquitectura de esas cavidades vacías y la naturaleza química de la superficie del esqueleto inorgánico que las delimita, van a determinar posteriormente las propiedades fisicoquímicas del material.

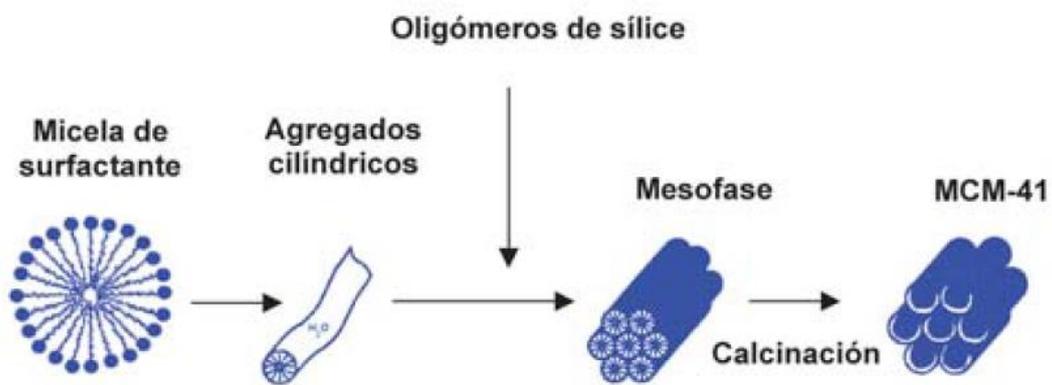


Figura 16<sup>34</sup>: Mecanismo de síntesis de las partículas de sílice porosa.

En este TFG se ha realizado una adaptación del método de síntesis de sílice mesoporosa tipo MCM-41 propuesto por Cai et al.<sup>25</sup>, y se ha intentado modificar el tamaño de partícula obtenido variando algunas de las condiciones de reacción. Posteriormente se han tomado las esferas de SiO<sub>2</sub> mesoporoso así preparadas y las nanopartículas magnéticas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sintetizadas por el método descrito en el apartado anterior y se han hecho reaccionar en un reactor cerrado (típicamente usado para síntesis hidrotermales) para favorecer la interacción entre ambas.

## INTRODUCCIÓN

### 2.3.3.3 Funcionalización de los composites $Fe_3O_4@SiO_2$ con APTES

Como ya se ha mencionado, se usará la coraza de sílice unida a las nanopartículas magnéticas no sólo para estabilizarlas contra la degradación y contra la aglomeración, sino también para una posterior funcionalización con sideróforos.

En el presente TFG se ha llevado a cabo una modificación del método propuesto por Chen et al.<sup>26</sup>, haciendo reaccionar los composites  $Fe_3O_4@SiO_2$  con (3-aminopropil)hidroxisilano (APTES). La funcionalización con APTES se lleva a cabo mediante una condensación aldólica. El extremo amino libre del APTES podrá hacerse reaccionar en etapas posteriores de la síntesis con el sideróforo específico para poder llevar a cabo la detección de patógenos.

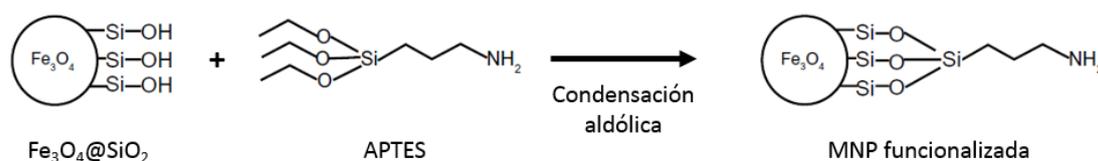


Figura 17<sup>26</sup>: Diagrama esquemático de la nanopartícula magnética recubierta,  $Fe_3O_4@SiO_2$  con (3-aminopropil)hidroxisilano, APTES.

## 2.4 Bibliografía de la sección "Introducción"

[1] Segade Parrado, Y. Síntesis de sideróforos y análogos de dos bacterias patógenas en peces. Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos. Tesis doctoral. Universidade da Coruña, 2015.

[2] Zheng, T.; Nolan, E. M. *Metallomics* **2012**, *4*, 866-880.

- [3] Inomata, T.; Tanabashi, H.; Funahashi, Y.; Ozawa, T.; Masuda, H. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 16043-16048.
- [4] El-Boubbou, K.; Gruden, C.; Huang, X. *Am. Chem. Soc* **2007**, *129*, 13392-13393.
- [5] Bohara, R. A.; Thorat, N. D.; Pawar, S. H. *RSC Adv.* **2016**, *50*, 637-646.
- [6] Lu, A.; Salabas, E. L.; Schüth, F. *Angew Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222-1244.
- [7] García Jimeno, S. Nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona, 2012.
- [8] Smart, L. E.; Moore, E. A. *Solid State Chemistry: An Introduction*, 4ª Edición; CRC Press: Boca Raton, 2012; pp 341-355.
- [9] Shackelford, J.F. *Introducción a la Ciencia de Materiales para Ingenieros*, 6ª Edición; Pearson: Madrid, 2005; 638-652.
- [10] Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2ª Edición; Wiley-Vch: Weinheim, 2003; pp 32-33.
- [11] Cano Monserrat, R. Óxidos de metales dúctiles impregnados sobre magnetita: nuevos catalizadores en Síntesis Orgánica. Tesis doctoral. Universidad de Alicante, 2013.
- [12] Majewski, P.; Thierry, B. *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* **2007**, *32*, 203-215.
- [13] Pinna, N.; Grancharov, S.; Beato, P.; Bonville, P.; Antonietti, M.; Niederberger, M. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 3044-3049.
- [14] Niederberger, M.; Garnsweither, G. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7282-7302.
- [15] Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E. *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62-69.
- [16] Plumeré, N.; Ruff, A.; Speiser, B. Feldmann, V.; Mayer, H.A. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *368*, 208-219.
- [17] Barnakov, Y. A.; Yu, M. H.; Rosenzweig, Z. *Langmuir* **2005**, *21*, 7524-7527.
- [18] Yang, D.; Hu, J.; Fu, S.; *J. Phys. Chem. C.* **2009**, *113*, 7646-7651.

## INTRODUCCIÓN

- [19] Li, Y-S.; Church, J. S.; Woodhead, A. L.; Moussa, F. *Spectrochim. Acta, Part A* **2010**, *76*, 484-489.
- [20] Zhao, X.; Shi, Y.; Wang, T.; Cai, Y.; Jiang, G. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1188*, 140-147.
- [21] Lin, Y. S.; Haynes, C. L. *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 3979-3986.
- [22] Biesuz, R.; Emma, G.; Milanese, C.; Dacarro, G.; Taglietti, A.; Nurchi, V.M.; Alberti, G. *Analyst* **2014**, *139*, 3932-3939.
- [23] Chen, L.; Razavi, F. S.; Mumin, A.; Guo, X.; Sham, T. K.; Zhan, J. *RSC Advances* **2013**, *3*, 2390-2397.
- [24] Perez Pariente, J. Materiales mesoporosos de óxido de silicio. In *Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: avances y perspectivas. Volumen 19 de Monografía (Real Academia Nacional de Farmacia)*; Vallet Regí, M., Doadrio Villarejo, A. Eds.; Real Academia Nacional de Farmacia: 2006; pp 39-64.
- [25] Cai, Q.; Luo, Z-S.; Pang, W-Q.; Fan, Y-W.; Chen, X-H.; Cui, F-Z. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 258-263.
- [26] Chen, J. P.; Yang, P. C.; Ma, Y. H.; Tu, S. J.; Lu, Y. J. *Int J Nanomedicine* **2012**, *7*, 5137-5149.
- [27] Imagen de la variación del comportamiento magnético frente a la temperatura: [http://quintans.webs.uvigo.es/recursos/Web\\_electromagnetismo/magnetismo\\_definiciones.htm](http://quintans.webs.uvigo.es/recursos/Web_electromagnetismo/magnetismo_definiciones.htm) (10/06/16).
- [28] Imagen del movimiento de la pared de dominio bajo la aplicación de un campo magnético externo (Hc): Smart, L. E.; Moore, E. A. *Solid State Chemistry: An Introduction*, 4ª Edición; CRC Press: Boca Raton, 2012, p 350.
- [29] Imagen de la relación entre el campo coercitivo y el tamaño de la MNP: Akbarzadeh, A.; Samiei, M.; Davaran, S. *Nanoscale Res Lett* **2012**, *7*:144.
- [30] Imagen del ciclo de histéresis: Arruebo M.; Fernández-Pacheco R.; Ibarra M. R.; Santamaría, J. *NanoToday* **2007**, *2*, 22-32.

[31] Imagen de los efectos de superficie y orden-desorden estructural: Morales, M. P. *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3058-3064.

[32] Imagen de la estructura de la magnetita: Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2ª Edición; Wiley-Vch: Weinheim, 2003; p 33.

[33] Imagen de la Polimerización TEOS sobre MNP: Pujales Paradela, R. Preparación y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas Biocompatibles. Trabajo de Fin de Grado. Universidade da Coruña, 2013.

[34] Perez Pariente, J. Materiales mesoporosos de óxido de silicio. In *Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: avances y perspectivas. Volumen 19 de Monografía (Real Academia Nacional de Farmacia)*; Vallet Regí, M., Doadrio Villarejo, A. Eds.; Real Academia Nacional de Farmacia: 2006; p 42.

### 3 Objetivos

Los objetivos de este Trabajo de Fin de Grado se centran en la preparación y caracterización de nanopartículas magnéticas funcionalizadas que puedan ser empleadas en la detección de patógenos. Con este propósito se han abordado los siguientes aspectos:

- Búsqueda bibliográfica sobre detección de patógenos y nanopartículas magnéticas, incluyendo su estabilización y funcionalización.
  
- Síntesis de nanopartículas de magnetita, recubrimiento de éstas con sílice y funcionalización de las mismas con un aminosilano (APTES).
  
- Preparación de nanoesferas de sílice mesoporosa, y estudio del efecto de las condiciones de reacción en el producto obtenido.
  
- Prueba de concepto de la reacción entre las nanopartículas magnéticas preparadas y las esferas de sílice mesoporosa.
  
- Caracterización estructural y morfológica de todos los materiales preparados mediante difracción de rayos X de polvo cristalino, espectroscopia infrarroja, análisis termogravimétrico, microscopia electrónica de transmisión y dispersión dinámica de luz láser.
  
- Interpretación y discusión de los resultados obtenidos.

## 4 Instrumental y métodos

### 4.1 Preparación de nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ estabilizadas con $\text{SiO}_2$ y funcionalizadas con APTES

#### 4.1.1 Síntesis de nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (KC-01)

Para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas magnéticas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se realiza una modificación del método propuesto por Pinna et al. <sup>1</sup> descrito en la introducción. Para ello se pesan, en 6 viales de vidrio de 20 mL con tapa de teflón, las siguientes cantidades de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  (Aldrich, 97%):

Tabla 1: Cantidad de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  añadida a cada vial de síntesis.

Vial	1	2	3	4	5	6
$\text{Fe}(\text{acac})_3/\text{g}$	0,581	0,522	0,565	0,459	0,485	0,460

Se añaden 10 mL de alcohol bencílico (Panreac, 98%) a cada vial y se someten a ultrasonidos durante 5 minutos para favorecer la suspensión. Se colocan en el bloque térmico a 180 °C durante 72h. Se dejan enfriar a temperatura ambiente y se recupera el producto precipitado mediante varios ciclos de centrifugación y lavado con etanol (Panreac, 99%), llegando a realizarse más de 100 lavados.

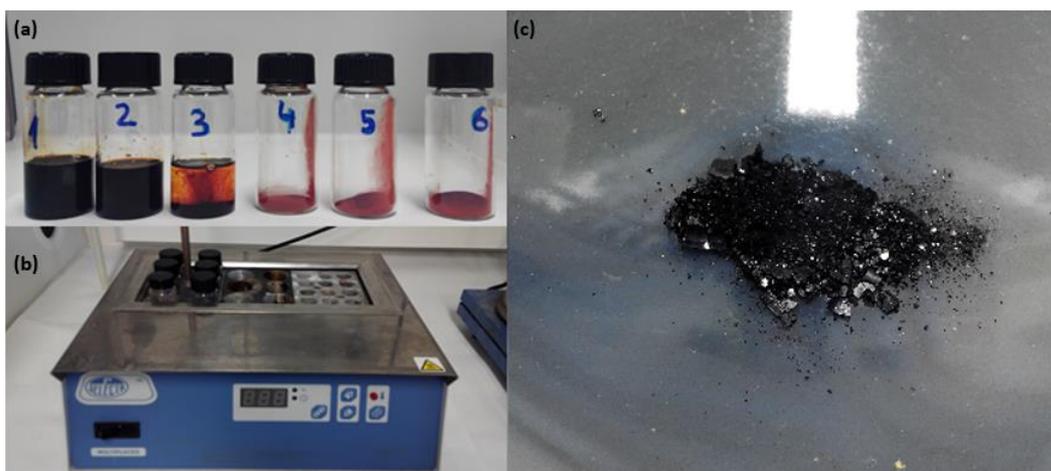


Figura 18: (a) Viales con la disolución precursora. Los viales 4, 5 y 6 contienen sólo  $Fe(acac)_3$ . Al vial 3 se le acaba de añadir alcohol bencílico. Los viales 1 y 2 han sido agitados manualmente. (b) Viales dispuestos en el bloque térmico para llevar a cabo la reacción. (c) Producto final de la síntesis (KC-01), tras todos los lavados.

Tras los lavados, se traspasan a un vial donde se dejan secar durante 24h en un desecador y se almacenan hasta la siguiente etapa.

#### 4.1.2 Síntesis de $Fe_3O_4@SiO_2$ (KC-02)

El recubrimiento de las nanopartículas de magnetita con sílice se prepara a partir del método descrito por Li et al.<sup>2</sup> Para ello se vierten 0.500 mg de nanopartículas magnéticas de  $Fe_3O_4$  en un balón de fondo redondo de 50 mL. Se añaden 20 mL de isopropanol (Panreac, 99%) para formar una suspensión y se añaden, por este orden, los siguientes reactivos: 1 mL de disolución de  $NH_3$  al 21% (preparada a partir de  $NH_3$ , 30%, Panreac ACS), 1.9 mL de agua destilada y 0.14 mL de TEOS (tetraetilortosilicato, Aldrich, 99.999%). Se calienta a 40°C con agitación magnética y se mantiene durante 2 horas de reacción.

Se somete el balón a ultrasonidos durante 1 hora y se decanta el sobrenadante. Se redissuelve en 15 mL de isopropanol y se repite el procedimiento. Se lava el producto de reacción 3 veces con etanol y se deja secar.

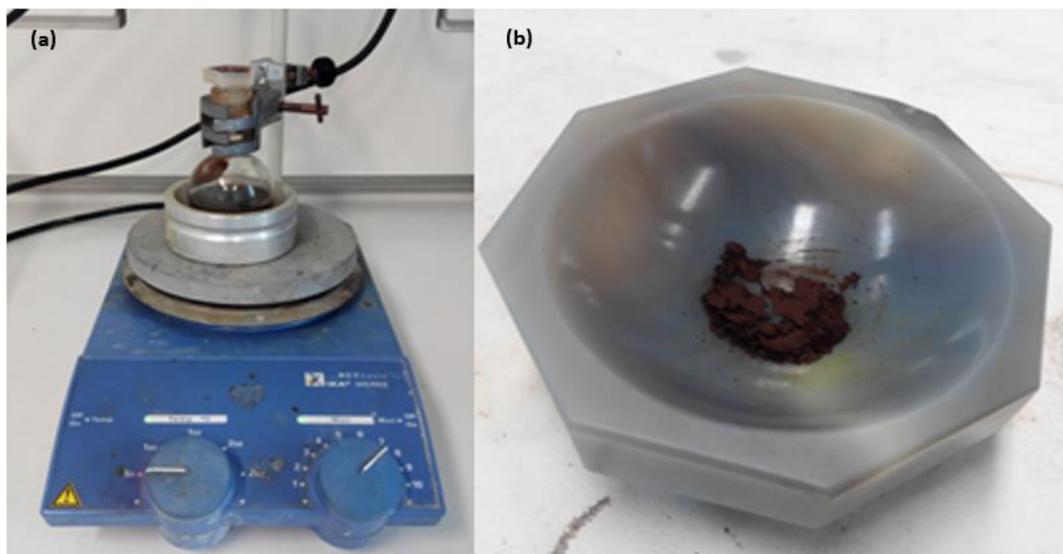


Figura 19: (a) Montaje empleado en la reacción de recubrimiento. (b) Producto final (KC-02).

#### 4.1.3 Funcionalización de $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{SiO}_2$ con APTES (KC-03a y KC-03b)

Para la funcionalización con APTES se han seguido dos procedimientos ligeramente diferentes, con el fin de seleccionar el que lleve a mejores resultados. A la muestra KC-03b se le añadió una proporción de APTES:DMF = 1.5:1, en lugar de la proporción 1:1 correspondiente a la muestra KC-03a.

**Procedimiento (a), para obtener KC-03a:** Se suspenden 0.260 g de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  en 5 mL de DMF (Fluka Analytical, 98%) en un balón de fondo redondo de 25 mL. Tras 30 minutos de ultrasonidos, se añaden 5 mL de APTES (Sigma-Aldrich, 99%) y se calienta a 60°C con agitación magnética durante 18 horas. Se lava el producto de reacción con etanol.

**Procedimiento (b), para obtener KC-03b:** Se suspenden 0.260 g de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  en 5 mL de DMF en un balón de fondo redondo de 25 mL. Tras 30 minutos de ultrasonidos, se añaden 7.5 mL de APTES y se calienta a 60°C con agitación magnética durante 18 horas. Se lava el producto de reacción con etanol.

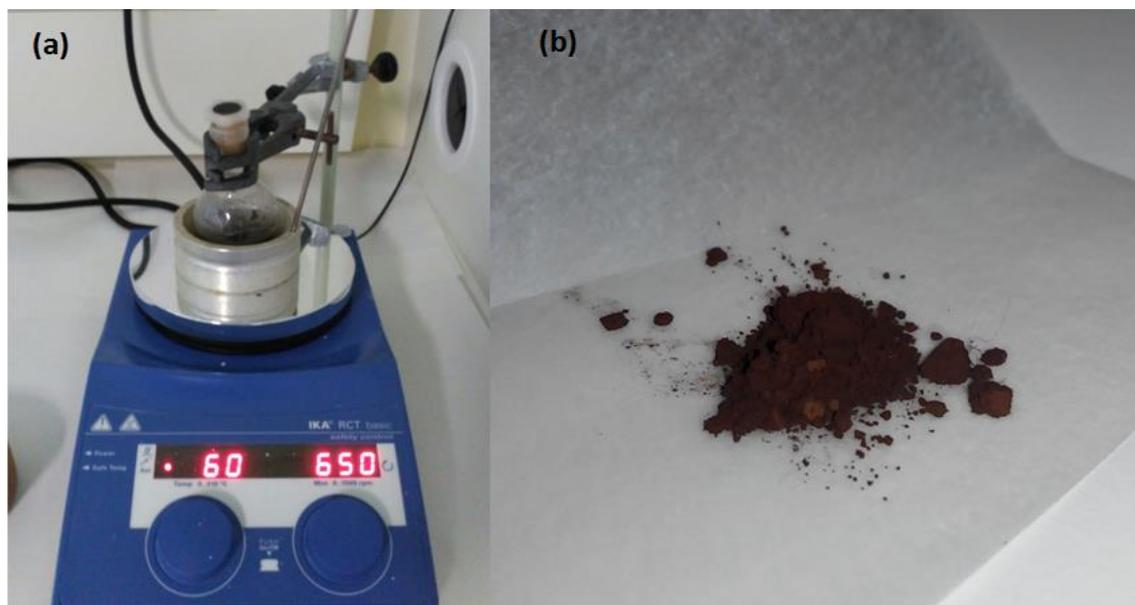


Figura 20: (a) Montaje de la reacción de funcionalización. (b) Producto final, en este caso KC-03a.

#### 4.1.4 Síntesis de SiO<sub>2</sub> mesoporoso

Se parte del método descrito por Cai et al.<sup>4</sup> para obtener las nanopartículas de sílice mesoporoso. Para ello se añaden 70 mL de NH<sub>3</sub> (Panreac ACS, 30%) a un balón de fondo redondo de 250 mL que contiene 150 mL de agua destilada. Manteniendo agitación constante y calentando a 80 °C, se añaden 0,7396 g de CTAB (Sigma, 98%). Tras obtener una disolución homogénea se añaden 3.5 mL de TEOS gota a gota, y se deja reaccionar durante 2h. Una vez frío, se filtra el producto de la reacción a vacío y se lava varias veces con agua. El precipitado se seca en una estufa a 110°C durante 24h y posteriormente se calcina durante 4h a 550°C.



Figura 21: (a) Reacción de obtención de sílice mesoporosa. (b) Producto final de la síntesis.

Se intentó obtener partículas de  $\text{SiO}_2$  mesoporoso con tamaños diferentes, variando las condiciones de reacción, con el objetivo de ver la influencia de esta variable en las etapas posteriores. Se realizaron 3 experimentos en los que se modificaron cantidades de reactivos y tiempo de reacción, siguiendo la siguiente tabla:

Tabla 2: Relación de cantidades de reactivos y disolvente empleados en las tres modificaciones del método realizadas.

Experimento		1	2	3
Reactivos	$\text{H}_2\text{O}$ (mL)	75	75	150
	$\text{NH}_3$ (mL)	70	55	70
	CTAB (g)	0.3640	0.3635	0.7238
	TEOS (mL)	1.75	1.75	3.5
t de reac./h	2	2	24	

## INSTRUMENTAL Y MÉTODOS

### 4.1.5 Reacción de SiO<sub>2</sub> mesoporoso con Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

En el bloque térmico se coloca un vial con tapa de teflón que contiene 0,0669 g de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 0,0340 g de SiO<sub>2</sub> mesoporoso y 10 mL de agua destilada, previamente sumergido unos segundos en el baño de ultrasonidos para favorecer la suspensión. Se deja reaccionar durante 24 h a 120°C.

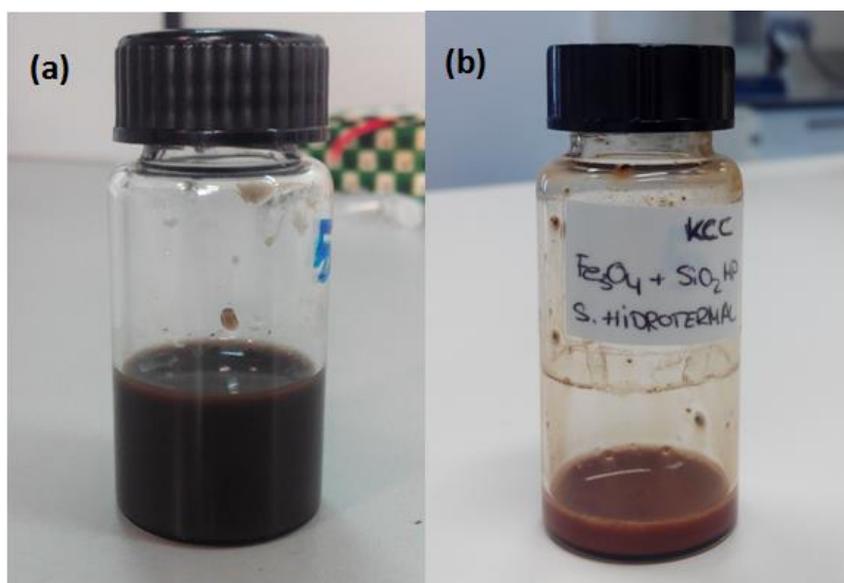


Figura 22: (a) Aspecto de la suspensión precursora, antes de la síntesis. (b) Aspecto del producto obtenido, almacenado en el laboratorio.

## 4.2 Caracterización estructural y morfológica

### 4.2.1 Caracterización estructural

#### 4.2.1.1 Difracción de Rayos X de polvo cristalino (DRX)

El equipo empleado para realizar la difracción de rayos X de polvo cristalino es un difractómetro Siemens D5000 (Figura 23) con radiación de Cu ( $K\alpha$ )= 1.541874 Å, de geometría de Bragg-Brentano y goniómetro de dos círculos theta/2theta y diámetro de 500 mm. Consta

de un monocromador secundario de grafito y un detector de centelleo. Este equipo se encuentra disponible en la Unidad de Análisis Estructural (UAE) de los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña.



Figura 23<sup>7</sup>: Difractómetro D5000 Siemens.

La difracción de rayos X es la técnica no destructiva más empleada y menos ambigua en la determinación de las posiciones de los átomos en moléculas y sólidos. Los rayos X interactúan con los planos de átomos en las redes cristalinas tridimensionales, lo que muestra la simetría traslacional de la estructura. Cada plano es un miembro representativo de un conjunto paralelo de planos igualmente espaciados, y cada punto de la red debe caer en uno de esos planos.

Las etiquetas usadas para describir esos planos se conocen como *índices de Miller*, y se identifican como  $h$ ,  $k$  y  $l$ , cuyos valores corresponden a números enteros (positivos o negativos) o cero. La separación entre planos se indica habitualmente como  $d_{hkl}$ .

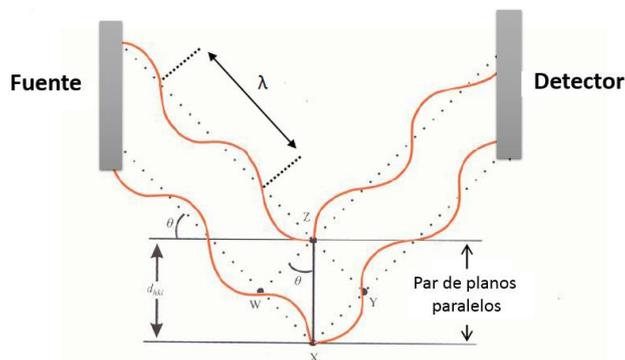


Figura 24<sup>5</sup>: Dispersión de rayos X en un conjunto de planos paralelos.

Para que el experimento de rayos X proporcione datos útiles es necesario que el haz de rayos X dispersado desde los puntos X y Z produzca haces difractados que estén *en fase* (Figura 24). Esto sólo es posible si la distancia extra que recorre el fotón de RX desde W a X y desde X a Y es un número entero de longitudes de onda ( $\lambda$ ). La diferencia de recorrido es dependiente del espaciado de la red,  $d_{hkl}$ , y del ángulo de incidencia del haz de RX,  $\theta$ . Esta diferencia de recorrido responde a la ecuación:

$$\text{Diferencia de recorrido} = WX + XY = 2 d_{hkl} \sin \theta = n\lambda$$

Donde  $n$  es un número entero y  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X (las longitudes de onda empleadas en los experimentos de difracción de RX se encuentran habitualmente entre 0.6 y 1.9 Å, equiparables a las distancias interplanares). Esta ecuación se conoce como Ley de Bragg.

De acuerdo con la ley de Bragg, las interferencias constructivas tienen lugar solo para aquellos planos cristalinos que cumplan la anterior relación, y serán las que den lugar al difractograma del material. Este patrón de difracción de rayos X consiste en una serie de máximos de difracción de diferentes intensidades ( $I$ ) que se presentan a un determinado ángulo  $^{\circ}(2\theta)$ . Los factores que afectan a la intensidad y al número de picos (reflexiones) de un difractograma incluyen: clase de cristal, tipo de red, simetría, parámetros de celda unidad y la distribución y el tipo de átomos en la celda unidad.

Como resultado del enorme rango de diferentes estructuras que los materiales pueden adoptar, prácticamente todos los sólidos cristalinos tienen un difractograma único en términos de posición e intensidad en las reflexiones mostradas. Incluso en mezclas de compuestos, cada

fase tendrá su propio conjunto de reflexiones, por lo que la intensidad relativa de un conjunto de reflexiones comparada con otro depende, hasta cierto punto, de la cantidad presente en la muestra de cada fase. Las aplicaciones de la técnica abarcan, además de la identificación cualitativa de las fases cristalinas de un material, la obtención de información sobre el tamaño de partícula, simetría del cristal, asignación de distancias entre planos atómicos, obtención de parámetros de celda e incluso la determinación de posiciones atómicas.

La técnica de RX permite, por tanto, determinar si el producto sintetizado es o no cristalino, si las fases cristalinas obtenidas se corresponden con las esperadas, y si hay otras fases cristalinas presentes. Al proporcionar también información sobre el tamaño de partícula, se puede comprobar si se han obtenido o no partículas nanométricas. En este caso se espera obtener información sobre la fase cristalina de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , eventualmente una fase semi-cristalina de  $\text{SiO}_2$ , y también sobre los mesoporos de la sílice mesoporosa.

#### *4.2.1.2 Espectroscopia infrarroja (IR)*

Se ha empleado el equipo Thermo Scientific Nicolet iS10 con módulo FT-IR Thermo Scientific™ Nicolet iZ™10 externo (Figura 25), disponiendo de un intervalo espectral de 400 a 7500  $\text{cm}^{-1}$ . El software empleado para visualizar y tratar los espectros obtenidos es Thermo Scientific™ OMNIC™ Specta, instalado en el equipo por la casa comercial. El equipo se encuentra disponible en la sala de espectroscopia 2 del Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA) de la UDC.

Las condiciones en las que obtuvieron los espectros fueron: 32 barridos, resolución 4 (espaciado de 0.482  $\text{cm}^{-1}$ ) en un rango de 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ .

## INSTRUMENTAL Y MÉTODOS



*Figura 25: Espectrofotómetro Thermo Scientific Nicolet iS10 con módulo FT-IR Thermo Scientific™ Nicolet iZ™10 externo*

La espectrometría infrarroja es un tipo de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. Como las demás técnicas espectroscópicas, puede ser utilizada para identificar un compuesto o investigar la composición de una muestra. La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y, posiblemente, el acoplamiento vibracional.

Gracias a las bandas de tensión propias de los grupos funcionales de las moléculas orgánicas empleadas a lo largo de todas las síntesis, esta técnica permite comprobar la presencia de éstas en los productos caracterizados, pudiendo determinar si la funcionalización ha sido efectiva, o si los lavados han sido o no eficientes.

#### 4.2.1.3 Análisis termogravimétrico (ATG)

El equipo empleado es un analizador simultáneo ATG-ATD, modelo SDT2960 (Figura 26), perteneciente a la casa comercial ThermalAnalysis, y disponible en la Unidad de Espectroscopia Molecular (UEM) de los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña.



Figura 26<sup>7</sup>: Analizador simultáneo ATG-ATD Thermalanalysis SDT2960

Las condiciones en las que se realizaron los análisis termogravimétricos de las muestras preparadas son: rampa de 10°C/min desde temperatura ambiente a 800°C para las nanopartículas magnéticas, y rampa de 5°C/min desde temperatura ambiente hasta 900°C para el recubrimiento y la funcionalización de éstas. En todos los casos el análisis se realizó bajo atmósfera de N<sub>2</sub> para evitar la posible oxidación del Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

El análisis termogravimétrico o termogravimetría es una técnica empleada para determinar la variación en la masa de una muestra al ser sometida a un programa de temperaturas bajo atmósfera controlada. La pérdida o ganancia de masa en función de la temperatura aporta información sobre la estabilidad térmica y composición de una muestra. La técnica consiste en la monitorización de la variación de masa de una muestra en función de la temperatura. La pérdida de agua o de volátiles como el oxígeno se muestra como pérdida de masa, así como la descomposición de materia orgánica o de la propia muestra. La oxidación o la adsorción de gases se muestra como ganancia de masa.

## INSTRUMENTAL Y MÉTODOS

El análisis termogravimétrico permite obtener información sobre la estabilidad térmica de los materiales sintetizados. Permitirá, por ejemplo, determinar si tienen agua adsorbida y/o agua de hidratación, el contenido en materia orgánica (bien adsorbida en la superficie de las partículas o en los poros, bien enlazada a las partículas), o la posible ganancia de peso por oxidación de los productos al elevar la temperatura.

### 4.2.2 Caracterización morfológica

#### 4.2.2.1 Microscopía electrónica de transmisión (MET)

Se ha empleado el microscopio de transmisión modelo JEOL JEM 1010 (Figura 27) situado en la Unidad de Microscopia (UM) de los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña.

Las muestras, dispersadas en isopropanol con ayuda de agitación ultrasónica, se depositaron sobre una rejilla de cobre recubierta por una capa fina de carbono.



Figura 27: Microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 1010

El principio básico que rige la microscopía electrónica es similar al de un microscopio óptico, excepto en que se usa un haz de electrones acelerados en lugar de luz visible. Los microscopios de transmisión electrónica (METs) proporcionan una resolución significativamente mayor que un microscopio convencional gracias a la gran energía de los electrones generados. Se pueden llegar a alcanzar resoluciones de menos de 0.1 nm y aumentos de 50 millones. Un MET produce una imagen directa de un sólido con un gran aumento debido a la transmisión de electrones a través de una muestra ultrafina, usando un haz de electrones de densidad de corriente uniforme y un ensamblado de lentes electromagnéticas bajo alto vacío. El microscopio electrónico de transmisión emplea la transmisión/dispersión de los electrones para formar imágenes, la difracción de los electrones para obtener información acerca de la estructura cristalina y la emisión de rayos X característicos para conocer la composición elemental de la muestra.

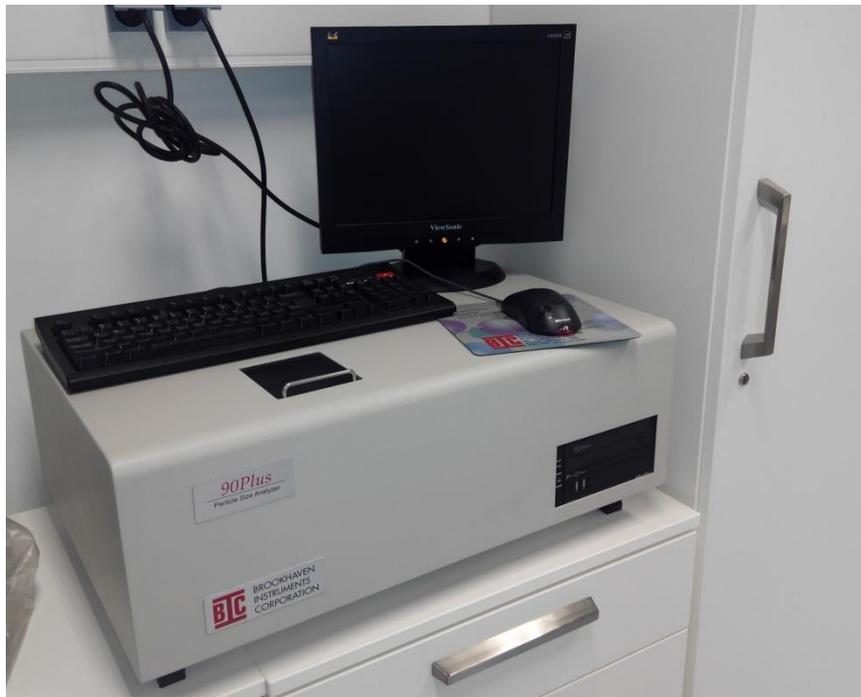
Gracias a las imágenes obtenidas, se pueden observar tanto el tamaño como la morfología de los productos sintetizados, así como la dispersión de estos o su mayor o menor tendencia a formar aglomerados.

#### *4.2.2.2 Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)*

Se ha empleado el equipo 90Plus/BI-MAS, Multi Angle Particle Sizing Option (Figura 28), de la casa comercial BROOKHAVEN INSTRUMENTS CORPORATION, que pertenece al grupo QUIMOLMAT 1, y está ubicado en el laboratorio del mismo nombre en el Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA) de la Universidade da Coruña.

## INSTRUMENTAL Y MÉTODOS

La preparación de las muestras consiste en la suspensión de éstas en etanol mediante agitación ultrasónica durante 15 min. Se introducen las muestras suspendidas en cubetas de plástico de cuatro caras transparentes y se dejan reposar durante 10 min dentro del equipo antes de la medida para minimizar las fluctuaciones debidas al movimiento Browniano de las partículas en suspensión y a las corrientes parásitas que se pueden producir dentro del equipo.



*Figura 28: Analizador de tamaño de partícula 90PLUS/BI-MAS*

El analizador de tamaño de partícula (Particle Size Analyzer) es un equipo automático para la determinación de tamaños de partícula de muestras en suspensión o disoluciones de macromoléculas, pudiendo realizar mediciones en el rango de 2 nm a 3  $\mu\text{m}$ . Además de facilitar el tamaño promedio de partícula o agregados, ofrece información sobre la dispersión de tamaños en la muestra.

El fundamento de este equipo se basa en la utilización de un haz láser que impacta sobre una suspensión de partículas y se dispersa, corrigiendo las fluctuaciones debidas al movimiento de las partículas en suspensión, movimientos Brownianos, a través de un correlador, y recogiendo la información, de forma hidrodinámica, mediante un detector que envía los datos a un ordenador y los procesa a través de un software específico.

Con esta técnica se puede observar el comportamiento en suspensión de los productos sintetizados, es decir, la mayor o menor tendencia de éstos a formar aglomerados cuando están en una suspensión de un líquido determinado, a través de datos de distribución de tamaños. Aporta, por tanto, información complementaria a la de MET.

### 4.3 Bibliografía de la sección “Instrumental y métodos”

[1] Pinna, N.; Grancharov, S.; Beato, P.; Bonville, P.; Antonietti, M.; Niederberger, M. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 3044-3049.

[2] Li, Y-S.; Church, J. S.; Woodhead, A. L.; Moussa, F. *Spectrochim. Acta, Part A* **2010**, *76*, 484-489.

[3] Chen, J. P.; Yang, P. C.; Ma, Y. H.; Tu, S. J.; Lu, Y. J. *Int J Nanomedicine* **2012**, *7*, 5137-5149.

[4] Cai, Q.; Luo, Z-S.; Pang, W-Q.; Fan, Y-W.; Chen, X-H.; Cui, F-Z. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 258-263.

[5] Dann S.E. *Reactions and Characterization of Solids*, Royal Society of Chemistry: Bristol, 2000; pp 48-77.

[6] Smart, L. E; Moore, E.A. *Solid State Chemistry: An Introduction*, 4ª Edición; CRC Press: Boca Raton, 2012; pp 75-131.

[7] Web de los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI), de la Universidade da Coruña: <https://www.sai.udc.es> (10/06/16)

[8] <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/IQLAADGAAGFAHDMAPC> (10/06/16)

[19] <http://www.brookhaveninstruments.com/literature/pdf/Brookhaven%20trifold%20-%20sq.pdf>

## 5 Resultados y discusión

### 5.1 Nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ estabilizadas con sílice y funcionalizadas con APTES

#### 5.1.1 Nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (KC-01)

##### 5.1.1.1 Difracción de rayos X (DRX)

En la figura se muestra el difractograma correspondiente a las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sintetizadas. En azul se observa el difractograma experimental, comparado con el de referencia (en rojo) de la biblioteca del programa Match!®.

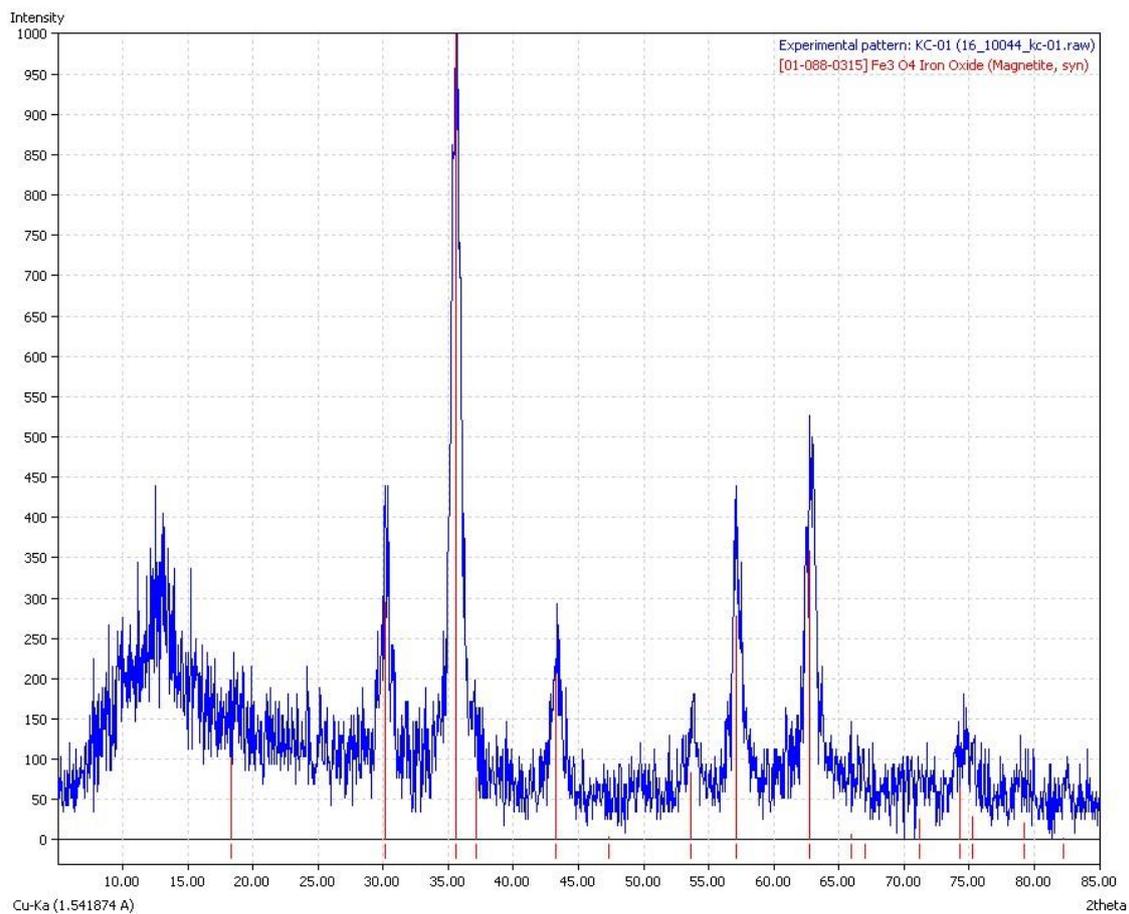


Figura 29: Difractograma experimental de la muestra KC-01 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) comparado con el patrón de difracción de la base de datos del programa Match!.

A la vista del difractograma obtenido, y tal y como se observa en la coincidencia de los picos, tanto en posición como en intensidad, se puede afirmar que el producto obtenido es  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . La presencia de ruido en el difractograma es indicativa de que la muestra no está bien molida o que no se ha depositado perfectamente sobre el soporte previamente a su análisis por DRX. El fondo, o *background*, que se observa, sobre todo a ángulos inferiores a  $25^\circ 2\theta$ , es debido al soporte de vidrio usado durante la medida (que no ha quedado bien recubierto) y posiblemente también a la presencia de materia orgánica, lo que hace pensar que no se han eliminado por completo los productos secundarios de la reacción o los disolventes empleados en la síntesis y sucesivos lavados. La anchura de los picos se debe al tamaño nanométrico de las partículas.

### 5.1.1.2 Espectroscopia infrarroja (IR)

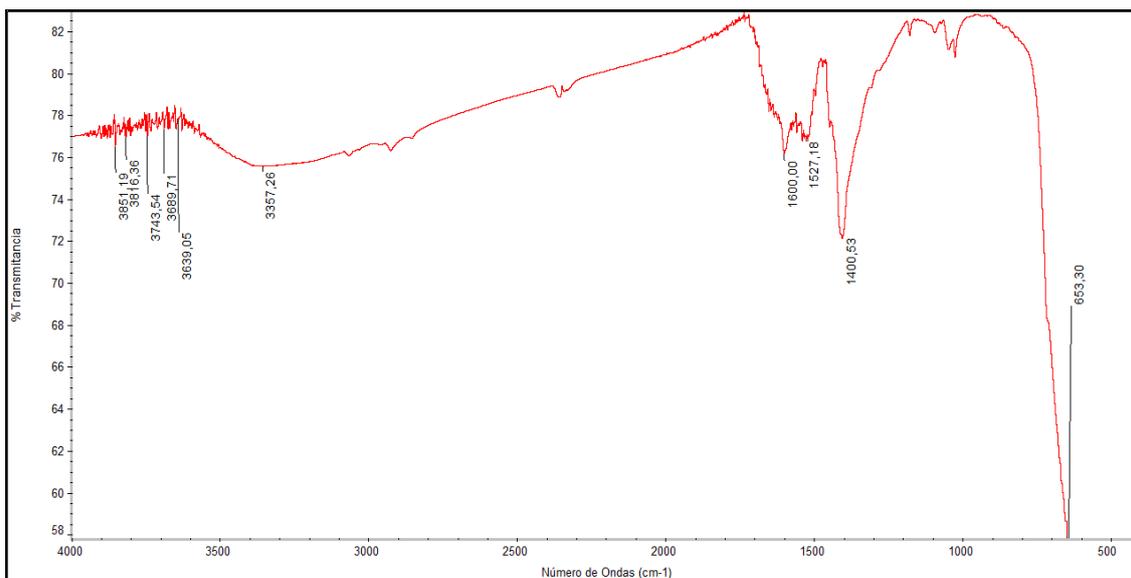


Figura 30: Espectro IR obtenido para la muestra KC-01 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )

En el espectro de IR de las nanopartículas magnéticas, la banda más intensa, que aparece en el límite del espectro recogido, en torno a  $600 \text{ cm}^{-1}$ , se corresponde con la vibración de los enlaces Fe-O. Aparecen además bandas propias de las vibraciones de tensión C=C y C=O (entre

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1500-1600  $\text{cm}^{-1}$ ), y de tensión O-H propias de alcoholes (banda ancha a 3300  $\text{cm}^{-1}$ ), que se atribuyen a la presencia de los restos orgánicos y productos secundarios de la reacción, así como del etanol utilizado en los lavados.

### 5.1.1.3 Análisis termogravimétrico (ATG)

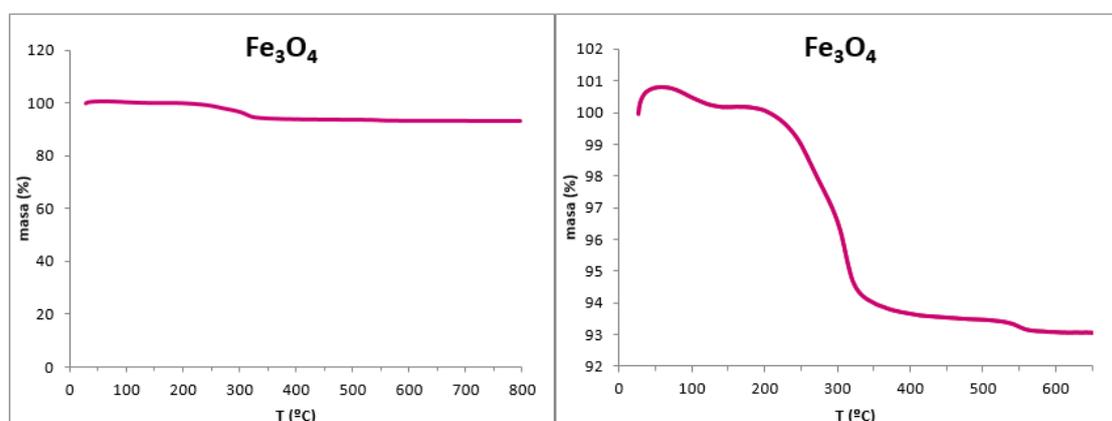


Figura 31: Termograma de la muestra KC-01 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). A la derecha se muestra una ampliación para poder observar mejor la pérdida de masa.

El termograma refleja una pequeña pérdida de masa en torno a 100 °C correspondiente a la evaporación de agua que pueda haber sido adsorbida por la muestra durante la manipulación (o incluso en los primeros momentos del análisis por termogravimetría, si el equipo no estaba en condiciones totales de ausencia de humedad, como parece indicar la pequeña ganancia inicial de masa). Luego se produce una pérdida de masa de en torno al 10% en el intervalo [200-325]°C aproximadamente. Esto se corresponde con la eliminación de materia orgánica, que puede provenir tanto de los disolventes empleados como de los productos secundarios de reacción. En el intervalo [325-600]°C se completa la descomposición de materia orgánica, reflejándose en una pequeña y muy gradual pérdida de masa.

#### 5.1.1.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET)

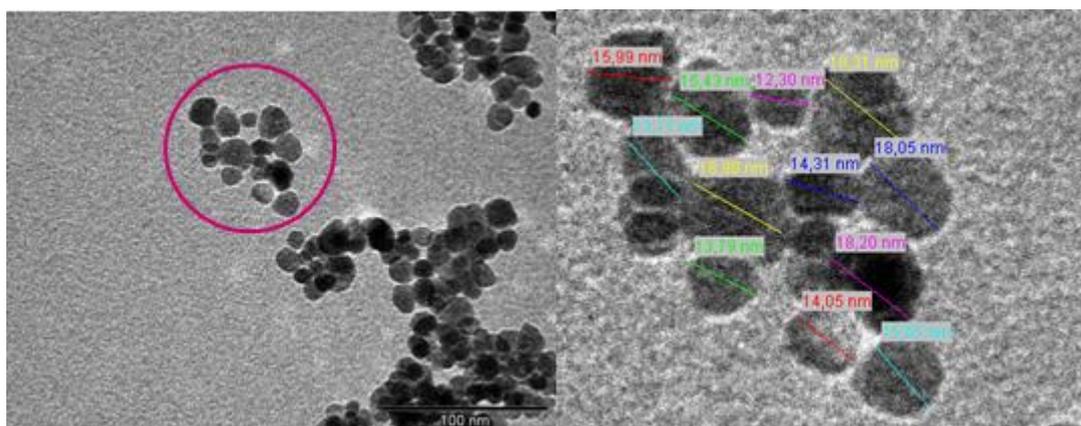


Figura 32: Imágenes de MET de la muestra KC-01 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). A la derecha se muestra una ampliación de la primera imagen, en la que se pueden observar los diámetros de las partículas marcadas.

A la vista de las imágenes, se observa que se han obtenido partículas con tamaños en el rango de 10-20 nm, claramente por debajo del tamaño de monodominio, y adecuado por tanto para asegurar un comportamiento superparamagnético. En cuanto a su morfología, tienden a presentar forma esférica, aunque se distinguen algunos bordes angulosos. Aunque no se llega a alcanzar la dispersión completa, no se percibe una tendencia a formar grandes aglomerados.

Se debe indicar que el microscopio electrónico de transmisión permite focalizar el haz de electrones sobre una pequeñísima región de cada nanopartícula y ver el efecto de la difracción de electrones provocada por la estructura más o menos cristalina de las partículas, aportando interesante información sobre la cristalinidad de las muestras a nivel local. Al realizar difracción de  $e^-$  sobre esta muestra de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se observó una difracción que dio lugar a anillos concéntricos perfectamente definidos, cada uno correspondiente a una familia de planos, lo que es indicativo del buen orden cristalino de la estructura. Lamentablemente no ha sido posible registrar estas imágenes de difracción de electrones.

Gracias al programa ImageJ, se pueden realizar medidas en las fotografías de MET. Si se mide una porción representativa de partículas (entre 50 y 100), se puede extrapolar la información y determinar cuál es el diámetro de partícula más común en el producto obtenido.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

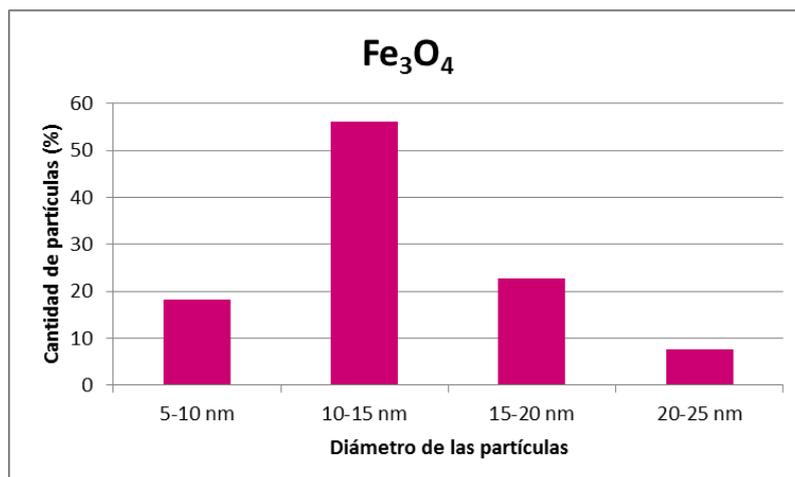


Figura 33: Distribución en los diámetros de partículas medidos en las imágenes de MET para la muestra KC-01.

Tras medir 66 partículas en las imágenes de MET, se observa que la mayor parte de éstas tienen un tamaño comprendido entre 10-15 nm, confirmando la tendencia observada en las imágenes de la página anterior.

### 5.1.1.5 Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)

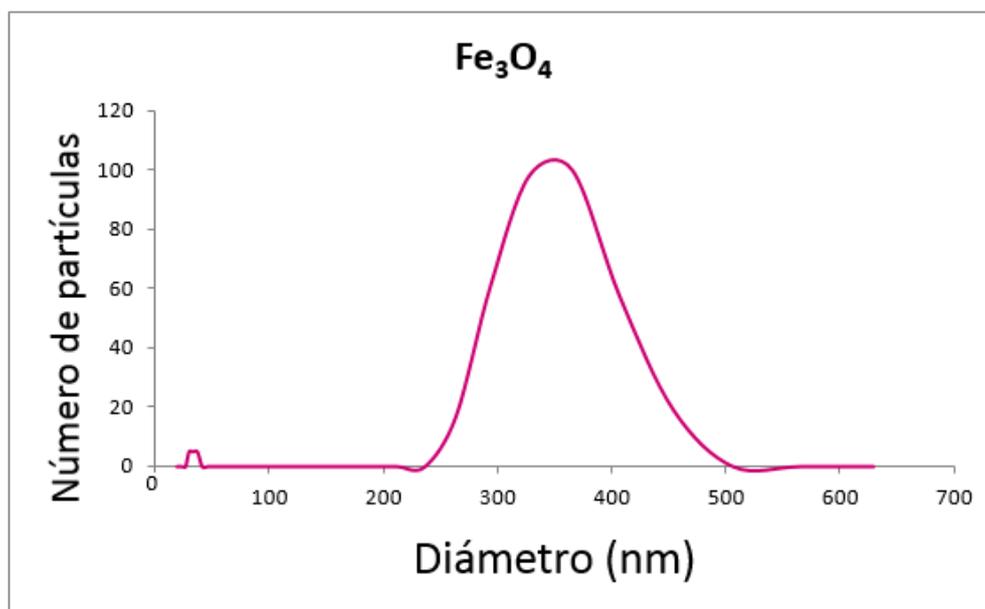


Figura 34: Dispersión de tamaños de la suspensión de la muestra KC-01 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). El número de partículas se muestra normalizado, otorgándole a la frecuencia máxima el valor de 100.

Tal y como se puede observar en la gráfica se aprecia un máximo en torno a 30-40 nm que corrobora lo observado mediante MET, pudiendo atribuirse a partículas dispersas o a agregados de un número reducidísimo de partículas, y un máximo correspondiente a aglomerados de entre aproximadamente 250 y 500 nm de tamaño, cuya intensidad relativa indica que la mayor parte del material está formando este tipo de aglomerados. Es fundamental señalar que los resultados aquí presentados son los obtenidos en dispersiones preparadas según se describe en la parte instrumental, ya que se observa una tendencia de las nanopartículas a formar aglomerados más grandes si se prolongan los tiempos de medida.

A la vista de los resultados obtenidos con estas técnicas de caracterización, se puede afirmar que se han obtenido nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , pero no se han podido eliminar por completo los disolventes y productos secundarios de la reacción. El tamaño de las nanopartículas aisladas está dentro de los rangos deseados (10-20 nm), y tienden a formar aglomerados de unos 300-400 nm.

### 5.1.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Si_2O$ (KC-02)

#### 5.1.2.1 *Difracción de rayos X (DRX)*

Se ha empleado el programa Match!® para comparar el difractograma experimental obtenido para la muestra KC-02 con el de referencia de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  que contiene la biblioteca del programa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

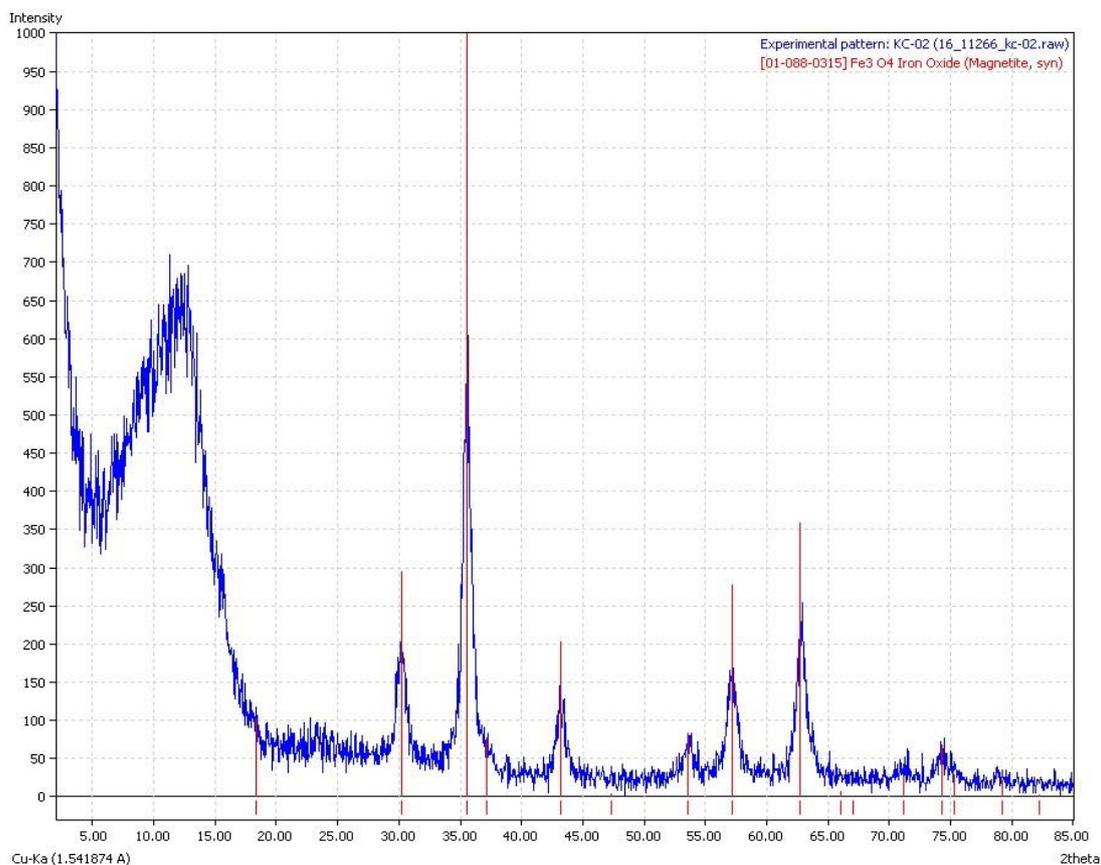


Figura 35: Difractograma experimental de la muestra KC-02 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ ) comparado con el patrón de difracción de magnetita de la base de datos del programa Match!.

Lo más destacable en este difractograma es, por un lado, que se mantienen los máximos correspondientes a la fase  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , y por otro, el aumento de la intensidad de la gran banda que aparece a bajos ángulos (10-15  $^\circ 2\theta$ ). Esta gran intensidad podría ser atribuible a una capa de  $\text{SiO}_2$  que, presumiblemente, rodea las nanopartículas magnéticas. Pero también puede ser debido a que el soporte de vidrio usado durante la medida sea más visible, dado que la cantidad de muestra que se analizó fue demasiado pequeña. En todo caso, el recubrimiento con  $\text{SiO}_2$  de las MNPs no repercute en una variación en la cristalinidad de la fase de la magnetita.

## 5.1.2.2 Espectroscopia infrarroja (IR)

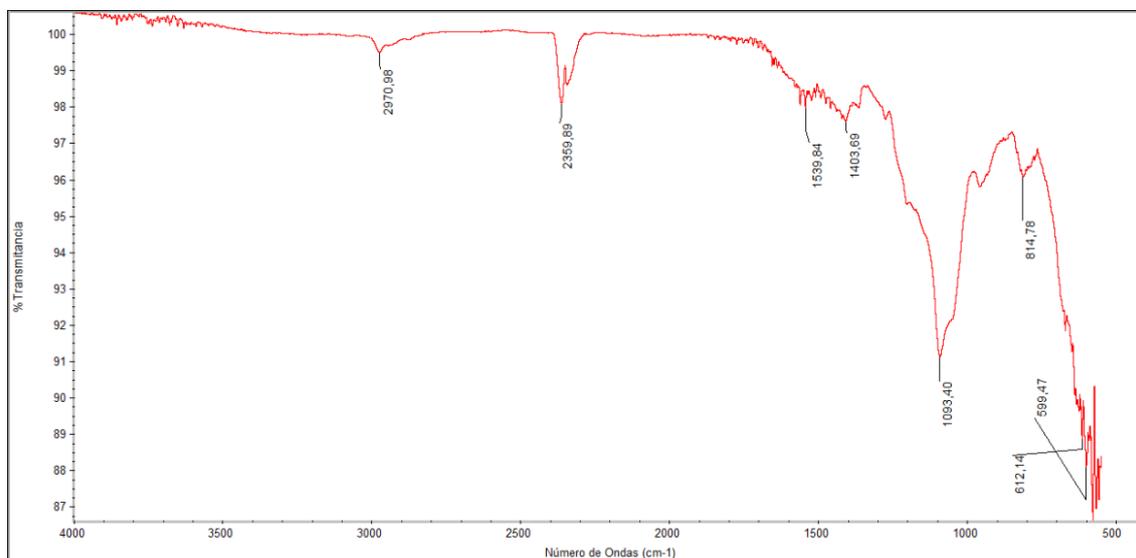


Figura 36: Espectro IR obtenido para la muestra KC-02 ( $Fe_3O_4@SiO_2$ )

La banda que aparece en torno a  $600\text{ cm}^{-1}$  presenta más sub-bandas en este espectro que en el correspondiente a KC-01, debido a las interacciones Si-O presentes ahora en la muestra y la formación de los enlaces Fe-O-Si. La banda en torno a  $1100\text{ cm}^{-1}$  con un hombro a aproximadamente  $1200\text{ cm}^{-1}$  corresponde con la vibración de tensión asimétrica de Si-O-Si. Característica del  $SiO_2$  es, también, la banda a  $800\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la flexión de ese enlace. Se puede considerar evidencia directa de la formación de la coraza de sílice. La banda a  $2350\text{ cm}^{-1}$  corresponde a  $CO_2$ .

Es muy importante tener en cuenta que, aunque ya no se aprecien, las bandas correspondientes a alcoholes y demás productos de reacción no han desaparecido. La aparición de la banda de Si-O ( $1100\text{ cm}^{-1}$ ) tan intensa, hace que disminuya la intensidad relativa del resto de bandas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1.2.3 Análisis termogravimétrico (ATG)

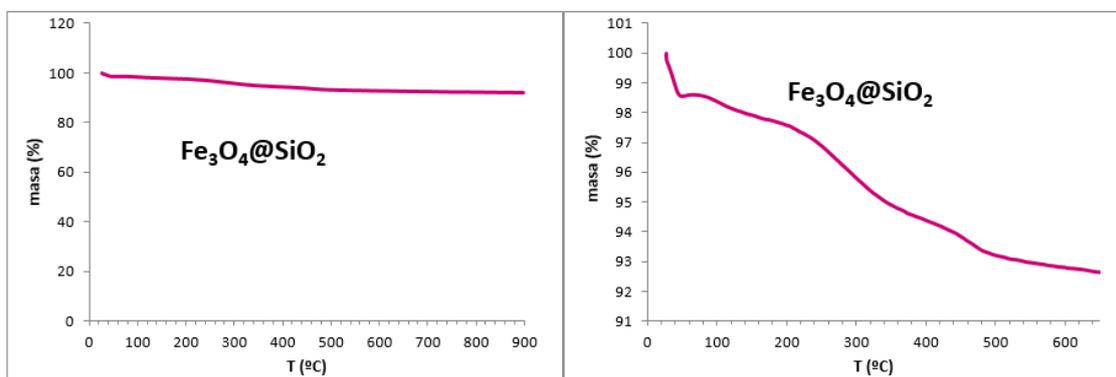


Figura 37: Termograma de la muestra KC-02 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ ). A la derecha se muestra una ampliación para poder observar mejor la pérdida de masa.

En este termograma se observa una pérdida de masa (en torno a un 1.5%) antes de 100 °C, debido probablemente a la pérdida de agua adsorbida en la superficie de las partículas. Entre los 100 y los 500°C, aproximadamente, se pierde más o menos un 10% de masa, debido a la eliminación de materia orgánica. Esta pérdida es más gradual que en el caso de las nanopartículas, debido a que ahora se eliminan materiales diferentes, subproductos de la síntesis de  $\text{SiO}_2$ .

### 5.1.2.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET)

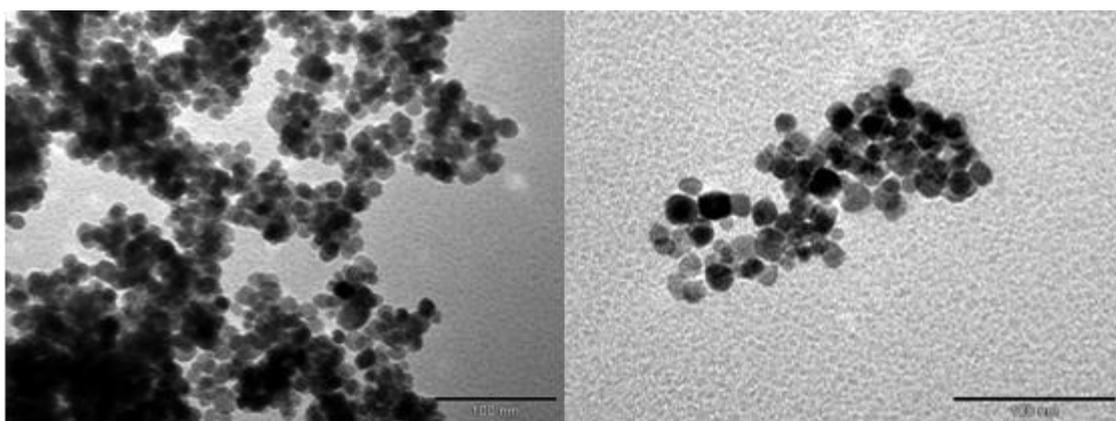


Figura 38: Imágenes de MET de la muestra KC-02 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ ).

En comparación con las imágenes de la muestra KC-01, en el producto recubierto con  $\text{SiO}_2$  no se llega a observar un aumento del tamaño de las nanopartículas, ni tampoco una diferencia en la opacidad de los bordes de las partículas, como sería de esperar, indicando la formación del recubrimiento. Los diámetros medidos se mantienen dentro del rango de 10-20 nm. Sin embargo, mirando en detalle se percibe que los bordes de las partículas son ligeramente menos angulosos, adquiriendo un aspecto general más redondeado. Se sigue apreciando una importante tendencia a formar aglomerados, pero con tamaños similares a los de las nanopartículas magnéticas.

Lo más destacable es que, al realizar la difracción de  $e^-$  en la muestra de MNPs recubiertas con sílice, se siguen observando los anillos de difracción, pero claramente más difuminados que en las MNPs sin recubrir. Y este efecto se observa en todas las nanopartículas en las que se ha intentado. Se interpreta este resultado como una evidencia de que se ha producido el recubrimiento de materia amorfa (presumiblemente sílice) sobre las partículas de magnetita.

Se midieron también los diámetros de las partículas en las imágenes de esta muestra. Tras medir 82 partículas, estos son los resultados obtenidos:

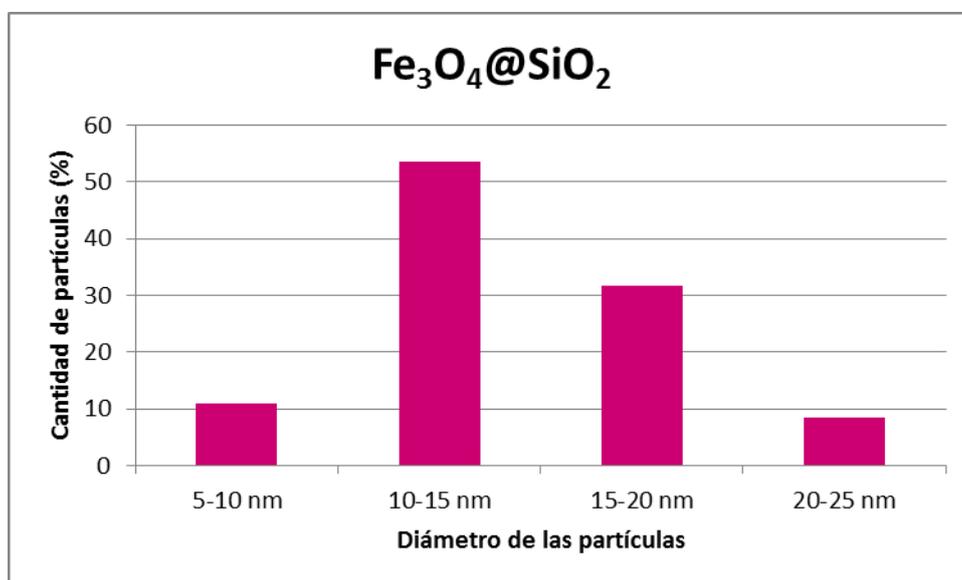


Figura 39: Distribución en los diámetros de partículas medidos en las imágenes de MET para la muestra KC-02.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como ya se indicó al ver las fotografías, no se aprecia una gran variación en la distribución de tamaño de las partículas: la mayor parte de las nanopartículas tienen diámetros entre 10-15 nm, como en la muestra KC-01. Sin embargo, es interesante resaltar que en esta muestra hay un ligerísimo aumento de la frecuencia de partículas con diámetros entre 15-20 nm con respecto a las nanopartículas de magnetita.

### 5.1.2.5 Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)

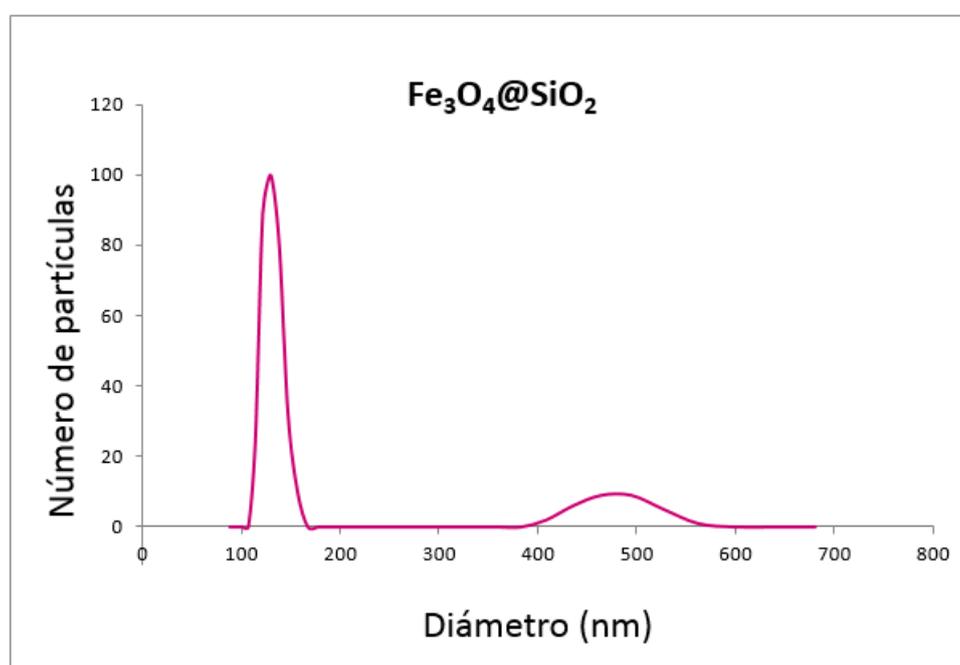


Figura 40: Dispersión de tamaños de la suspensión de la muestra KC-02 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ ). El número de partículas se muestra normalizado, otorgándole a la frecuencia máxima el valor de 100.

Esta gráfica muestra la tendencia a formar aglomerados de unos 110-160 nm, mucho más abundantes que los aglomerados de 400-550 nm. Este resultado es sumamente interesante, ya demuestra que al recubrir las nanopartículas magnéticas con  $\text{SiO}_2$ , éstas tienden a dispersarse más y de manera más permanente. Sin embargo, el comportamiento de esta suspensión fue más errático que el de la muestra de magnetita, presentando mayor variación de tamaño durante el tiempo de realización de la medida. Aún a pesar de ello, no se observa una mayor

tendencia a formar aglomerados grandes con el paso del tiempo (para tiempos superiores al de la medida DLS) que en la muestra de magnetita.

### 5.1.3 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{APTES}$ (KC-03a y KC-03b)

En esta muestra no se realizó un análisis por rayos X, ya que al no esperarse la formación de una fase cristalina nueva, lo único que se apreciaría sería un aumento del efecto presentado en la muestra KC-02: una disminución de la intensidad de las señales asociadas al  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y un aumento del fondo y de la elevación presente a bajos ángulos debida a la presencia de materia amorfa. Para la caracterización de esta muestra, se emplearon las técnicas de IR, ATG y DLS.

#### 5.1.3.1 Espectroscopia infrarroja (IR)

A continuación se muestran los dos espectros de IR correspondientes, solapados en la misma imagen (KC-03a en rojo, KC-03b en azul). La muestra KC-03b contiene una mayor proporción

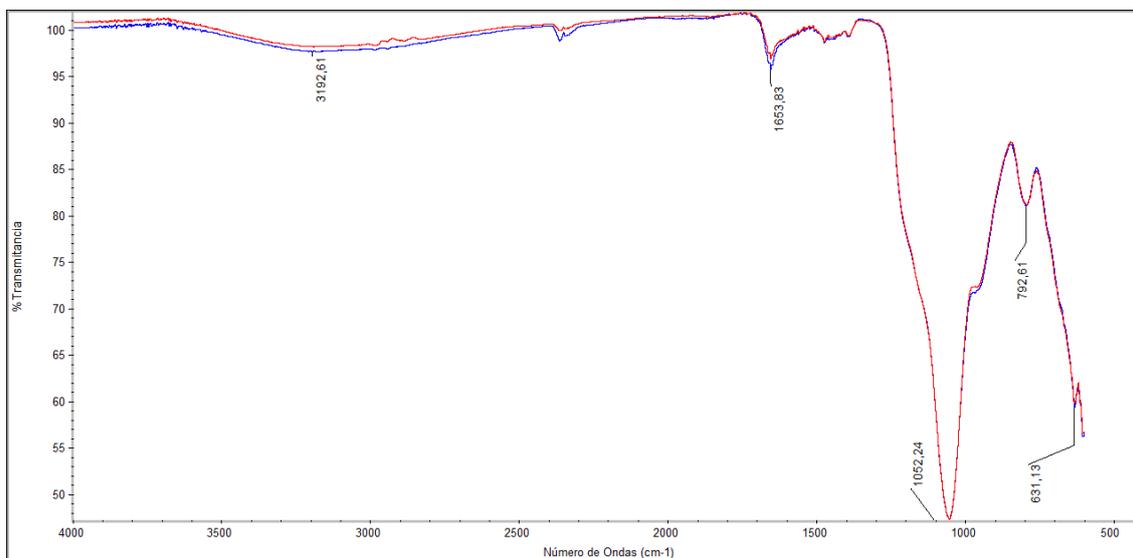


Figura 41: Espectro IR de las muestras KC-03a (color rojo) y KC-03b (color azul).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

de APTES, como se explicó en la página 37.

En la muestra recubierta con APTES, de nuevo la banda correspondiente al Si-O es tan intensa que minimiza el resto de señales. La gran banda ancha en torno a  $3200\text{ cm}^{-1}$  podría atribuirse al extremo amino del 3-aminopropiltrietoxisilano, indicativo de que la funcionalización con APTES ha sido exitosa. Aparece de nuevo una banda a  $1600\text{ cm}^{-1}$  que no se apreciaba en la muestra KC-02 pero sí en la muestra KC-01. (Figura 42). Puede ser debido a la tensión C=O (en el caso de KC-01 atribuible a la formación de benzaldehído, en este caso puede deberse a DMF presente en el medio de reacción).

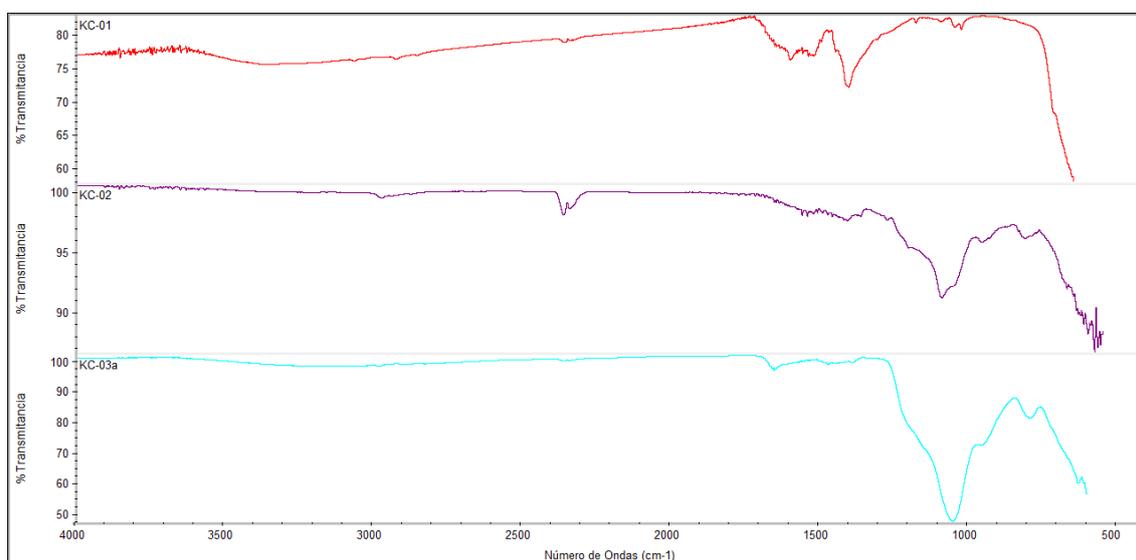


Figura 42: Representación de los espectros IR obtenidos para todas las muestras.

### 5.1.3.2 Análisis termogravimétrico (ATG)

Es interesante comprobar si el comportamiento térmico de las dos muestras es distinto. Para poder observar si hay diferencias, se representan en la misma gráfica los termogramas de ambas muestras.

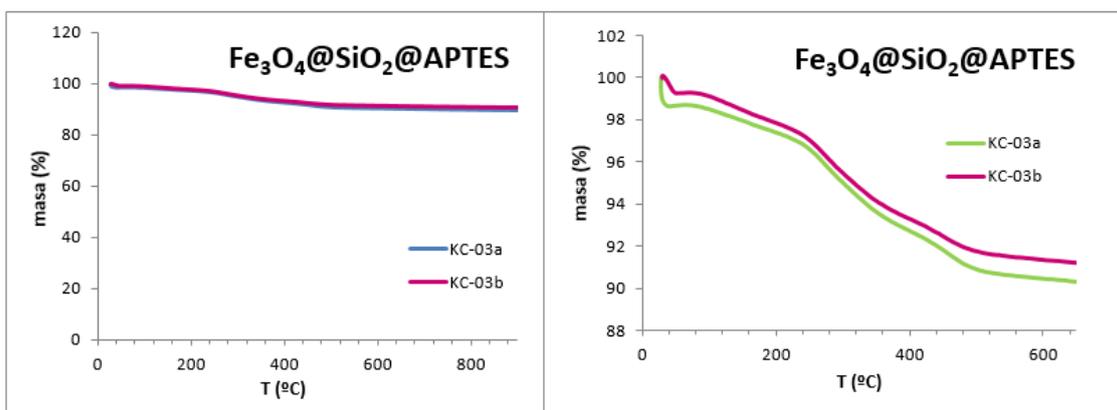


Figura 43: Termograma de la muestras KC-03a y KC-03b ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{APTES}$ ). A la derecha se muestra una ampliación para poder observar mejor la pérdida de masa.

La pérdida de masa en el caso de KC-03b es ligerísimamente mayor (un 8% aproximadamente para KC-03a y un 9% en el caso de KC-03b). El comportamiento, en todo caso, es análogo al de la muestra KC-02, con la diferencia de que la pérdida de masa atribuida a la materia orgánica (descomposición de los grupos propilamina) se presenta en torno a 310°C, un poco antes que en la muestra KC-02).

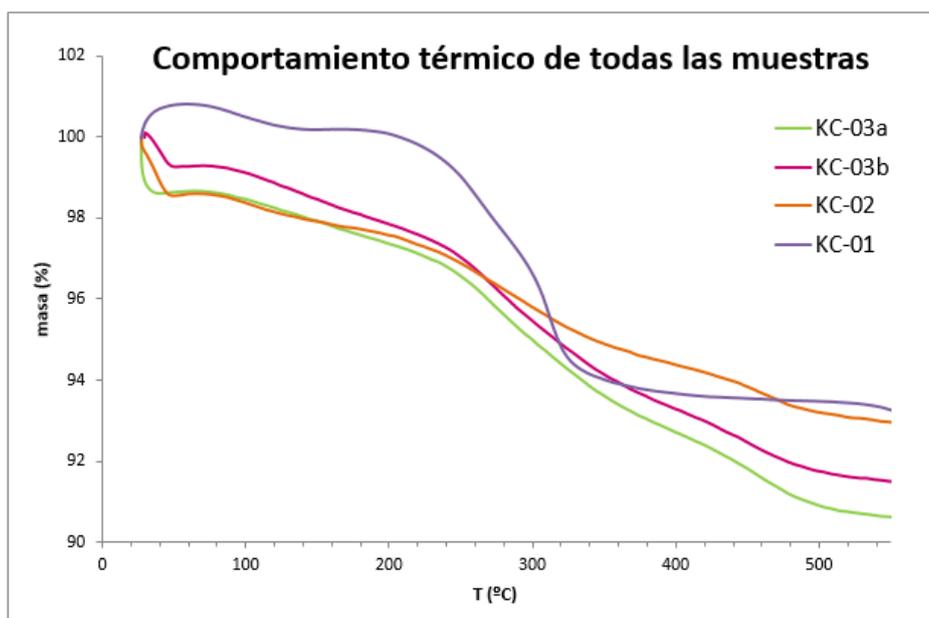


Figura 44: Representación de los termogramas ampliados de todas las muestras.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al comparar las cuatro muestras, como cabe esperar, la mayor pérdida de masa se produce en las muestras KC-03, produciéndose la menor en la KC-01. A medida que se realizan el recubrimiento y la funcionalización, los restos orgánicos de las sucesivas síntesis conllevan un mayor peso, además de la contribución orgánica de la propia funcionalización. Además, en las muestras con recubrimientos la pérdida de masa es más gradual, y comienza ya desde la temperatura ambiente, mientras que en la magnetita la pérdida de masa es más brusca, sobre todo a partir de 200°C. Esto indica que en las muestras con recubrimientos deben de quedar restos de disolventes y reactivos más débilmente unidos (que se eliminan ya desde el inicio del calentamiento). En general, el comportamiento térmico global observado es el previsto.

### 5.1.3.3 Análisis de tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)

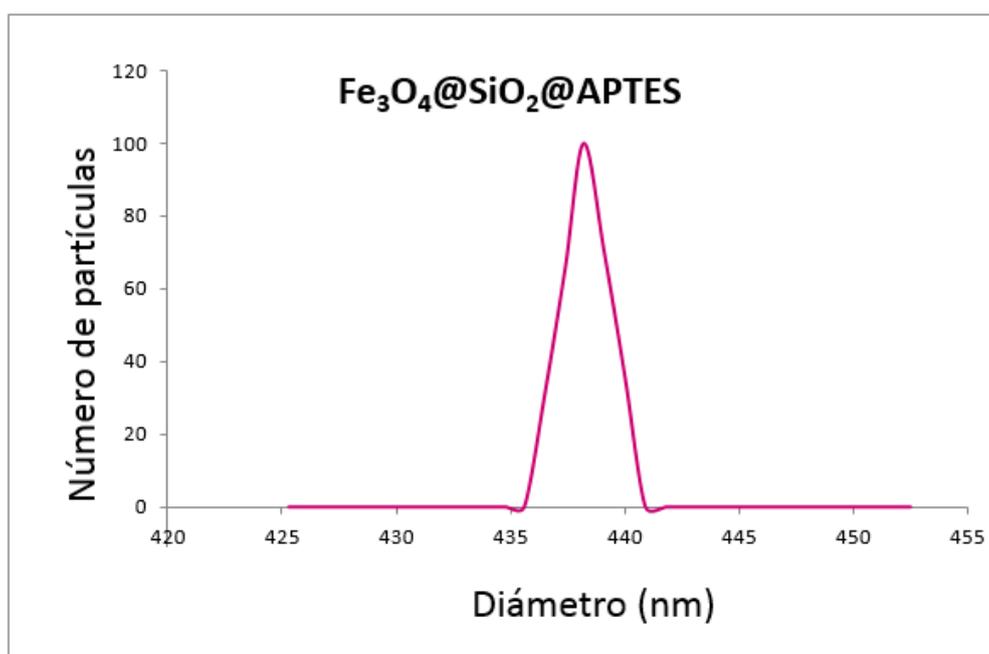


Figura 45: Dispersión de tamaños de la suspensión de la muestra KC-03a ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{APTES}$ ). El número de partículas se muestra normalizado, otorgándole a la frecuencia máxima el valor de 100.

En el caso de las nanopartículas funcionalizadas no existe un amplio rango en la distribución de tamaños de los aglomerados formados: la tendencia a formar aglomerados de entre 435 y 440 nm es clara. Tampoco se observa la formación de aglomerados de distinto tamaño, como en los casos anteriores. A pesar de aumentar de nuevo el tamaño de los aglomerados formados,

el comportamiento es homogéneo en toda la suspensión. Su comportamiento durante las medidas fue el más constante de las tres muestras,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{APTES}$ , manteniendo el mismo valor de tamaño medido durante todo el análisis. La tendencia a formar aglomerados más grandes con el paso del tiempo es menos clara en este producto.

### 5.1.4 $\text{SiO}_2$ mesoporoso

Para la síntesis de  $\text{SiO}_2$  mesoporoso se utilizaron diferentes condiciones de reacción con el objetivo de obtener partículas de diferentes tamaños, como se indicó en la Tabla 2 (pág. 38). Esta batería de productos sólo se caracterizó por MET. Para la caracterización de la muestra etiquetada como “M2”, siguiendo el procedimiento de Cai et al.<sup>4</sup>, se utilizó DRX y MET.

#### 5.1.4.1 Difracción de rayos X (DRX)

Debido a la ausencia de difractogramas para este tipo de material en la biblioteca del programa Match!®, para identificar la estructura del producto obtenido se compara su difractograma experimental con el proporcionado en la bibliografía.<sup>4</sup>

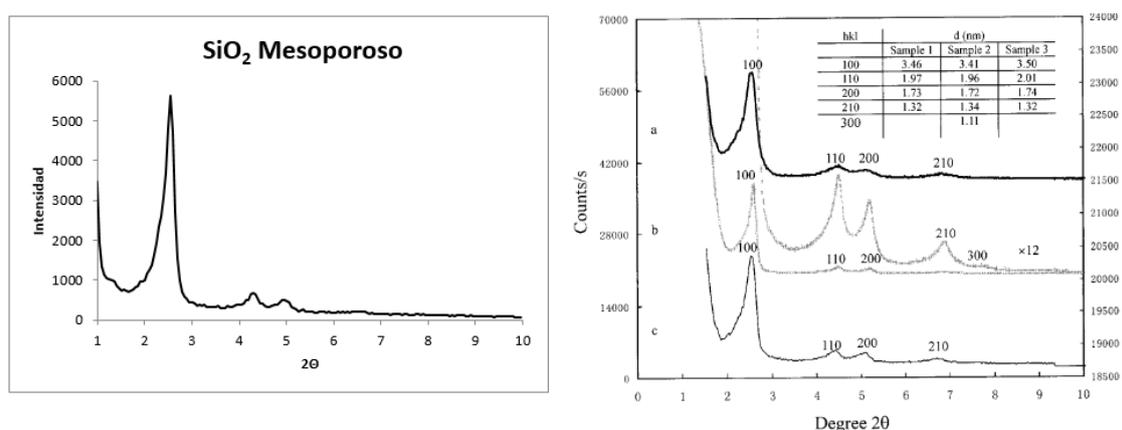


Figura 46: A la izquierda, difractograma experimental del  $\text{SiO}_2$  obtenido, M2. A la derecha, difractograma proporcionado por Cai et al.<sup>4</sup> El espectro correspondiente a MCM-41 sintetizado en las condiciones reproducidas es el c.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar, el difractograma de la muestra preparada es idéntico al obtenido en la referencia consultada para llevar a cabo la síntesis, con un máximo centrado a  $2\theta = 2.55^\circ$  debido a la familia de planos (100), lo que indica que se ha formado una estructura con poros de 3.00 nm de diámetro (según la aplicación directa de la ley de Bragg). También se observan claramente los picos característicos menos intensos debidos a las familias de planos (110) y (200). Por tanto se puede afirmar que se ha obtenido una muestra mesoporosa y con buena cristalinidad.

### 5.1.4.2 Microscopía electrónica de transmisión (MET)

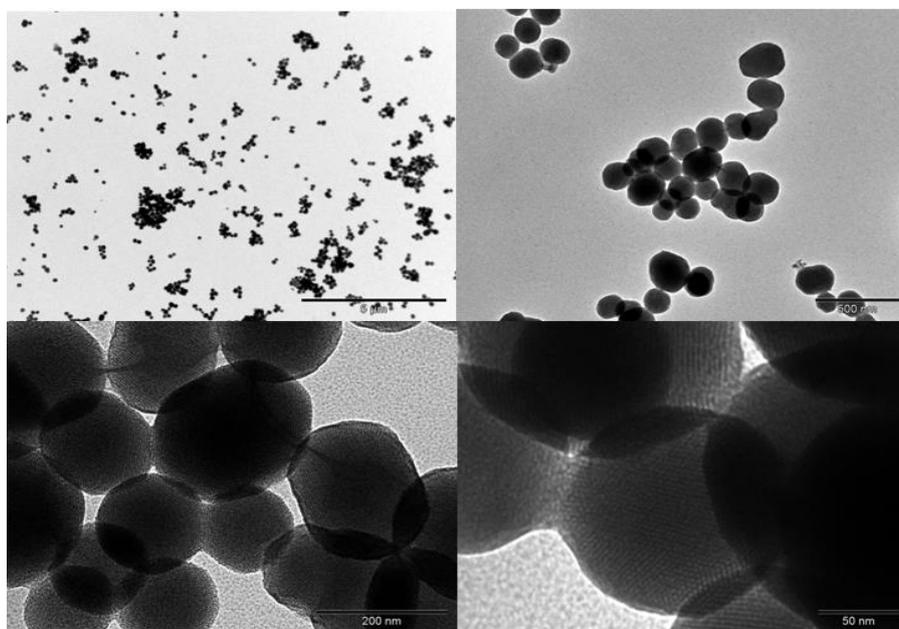


Figura 47: Imágenes de TEM de la muestra de sílice porosa M2.

Como puede observarse en las imágenes, se obtuvieron partículas con forma relativamente esférica, y con cierta tendencia a formar aglomerados, aunque muy inferior al de las MNPs. En las micrografías realizadas con mayor aumento, se distingue claramente la formación de poros bien alineados y de tamaño muy regular en el interior de las nanopartículas de sílice

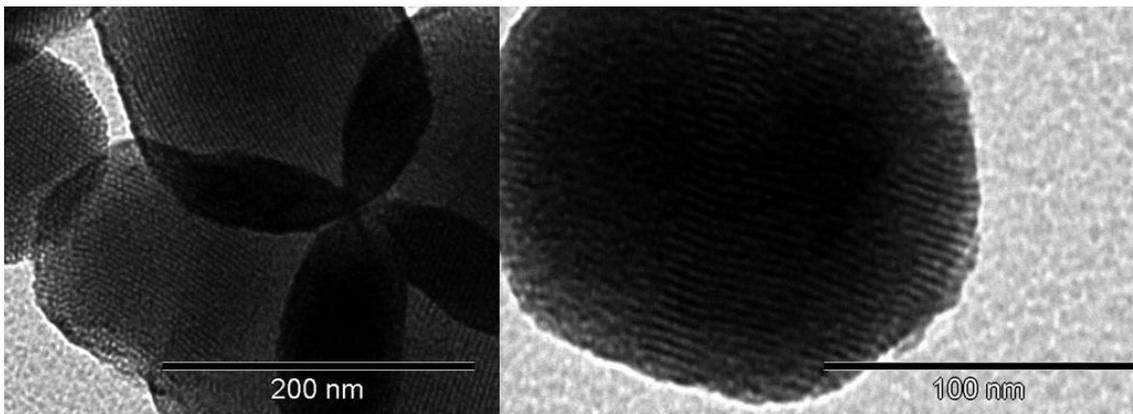


Figura 48: Ampliación de las imágenes de MET de sílice mesoporosa M2 para apreciar mejor los poros de la superficie.

Con el programa ImageJ, se midieron 54 partículas de sílice mesoporosa. Estos son los resultados:

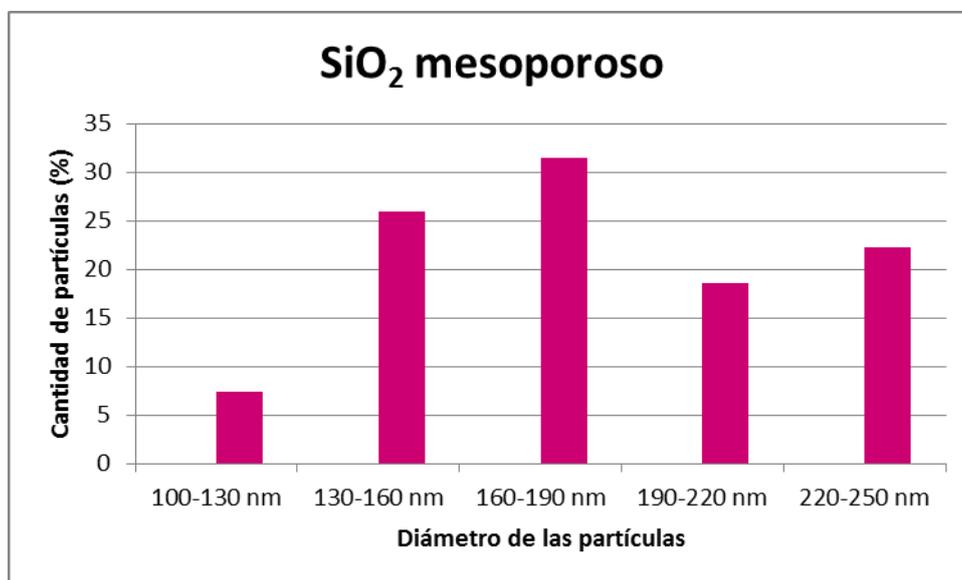
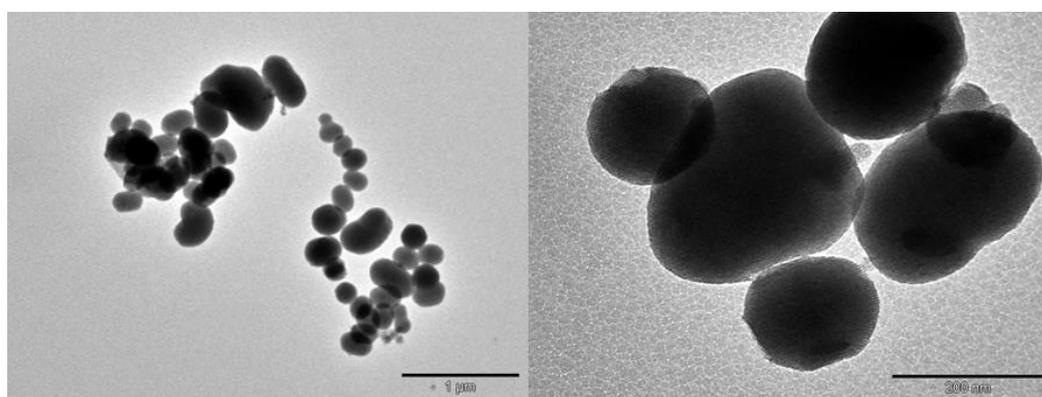


Figura 49: Distribución en los diámetros de partículas medidos en las imágenes de MET para la muestra M2.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar de que la distribución de tamaños parece bastante homogénea a simple vista en las imágenes, tras medir de manera individual las partículas se descubre que el rango de tamaño que presentan las partículas es bastante amplio (entre 100-250 nm de diámetro), encontrándose el diámetro más frecuente entre 130 y 190 nm.

A continuación se muestran las imágenes de MET correspondientes al experimento 1 de los tres realizados modificando las condiciones de reacción (no se guardaron las micrografías del resto de experimentos).



*Figura 50: Micrografías de MET correspondientes al experimento 1.*

Modificando las condiciones de reacción se ha logrado, efectivamente, aumentar el tamaño de las partículas, pero la dispersión en los tamaños obtenidos fue demasiado grande, y lo mismo ocurre con la morfología: se pueden observar tanto moléculas esféricas como más alargadas, algunas con bordes irregulares. Por ello, se decidió centrarse en la caracterización y funcionalización de la sílice obtenida siguiendo el método de Cai et al.<sup>4</sup>

### 5.1.5 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> con SiO<sub>2</sub> mesoporoso

En la caracterización de este producto también se emplearon las técnicas de DRX y MET.

### 5.1.5.1 Difracción de rayos X (DRX)

Para caracterizar el producto de la reacción de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  con  $\text{SiO}_2$  mesoporoso se compara el difractograma obtenido para esta muestra con el correspondiente a la muestra KC-02, es decir,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ .

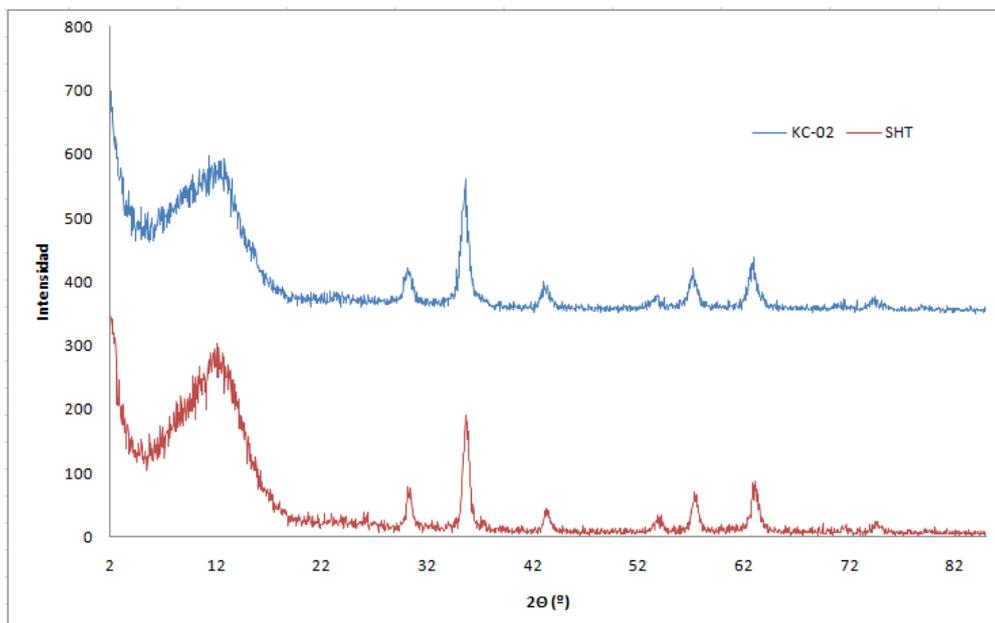
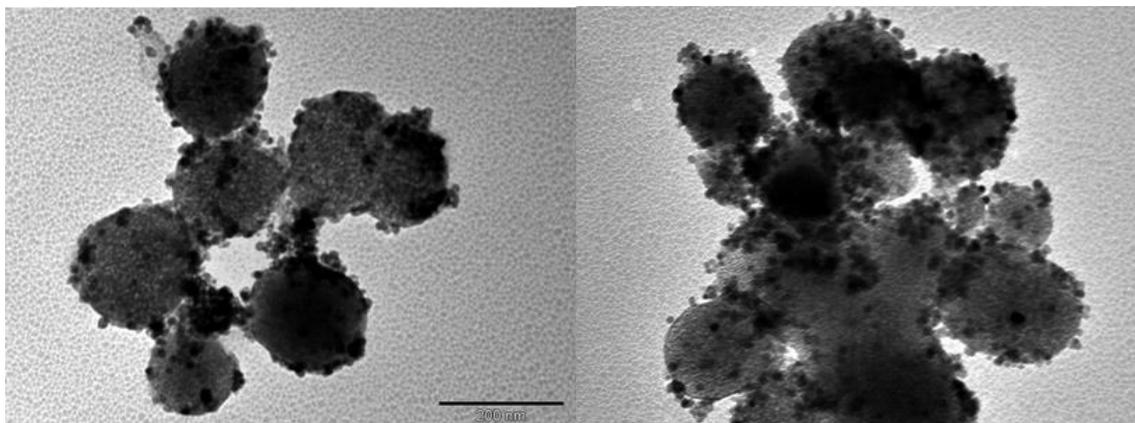


Figura 51: Representación de los difractogramas experimentales de las muestras  $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$  (KC-02, en color azul) y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  mesoporoso (SHT, color rojo).

Al comparar los difractogramas se observa que son prácticamente idénticos, poniendo de manifiesto la presencia de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  cristalino y también una parte más amorfa que da una señal ancha por debajo de  $15^\circ$   $2\theta$ . Ya no se observan los máximos del  $\text{SiO}_2$  mesoporoso que aparecían en torno a  $2$ ,  $4$  y  $5^\circ$   $2\theta$ . Esto puede deberse a que se haya vuelto más amorfa esta fase tras la reacción con la magnetita o a que la señal ancha sea generada por el soporte de vidrio mal recubierto de muestra, que ocultaría la señal más débil del  $\text{SiO}_2$  mesoporoso.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1.5.2 Microscopía electrónica de transmisión (MET)



*Figura 52: Imágenes de MET del producto de reacción hidrotérmica entre las esferas de sílice mesoporosa y la magnetita.*

En las imágenes de MET se puede apreciar como las grandes esferas de  $\text{SiO}_2$  mesoporoso están rodeadas por nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  que han quedado bien adheridas, o más bien enlazadas, a su superficie. No parece que haya nanopartículas de magnetita dispersas (aisladas de la sílice). A la vista de estos resultados, se puede afirmar que se han obtenido composites con interacciones entre el  $\text{SiO}_2$  y la magnetita lo suficientemente fuertes como para que la totalidad de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se mantengan adheridas a las esferas mesoporosas de manera estable.

Por otra parte, es destacable que las nanopartículas magnéticas se mantienen más separadas entre sí que en los composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ . Mediante esta fórmula, por tanto, se logra estabilizar las nanopartículas de magnetita mediante la reducción de la formación de aglomerados entre ellas. Esta afirmación se corrobora con el aspecto macroscópico del producto, ya que simplemente agitando el vial que contiene el producto se observa una redispersión muy rápida y homogénea a simple vista.

Además, a pesar de que las nanopartículas magnéticas están ancladas a la superficie de las esferas de sílice (al menos la mayor parte de ellas), una porción importante de dicha superficie sigue quedando libre para poder ser funcionalizada con APTES, en la siguiente etapa prevista del trabajo.

## 5.2 Bibliografía de la sección “Resultados y discusión”

- [1] Pinna, N.; Grancharov, S.; Beato, P.; Bonville, P.; Antonietti, M.; Niederberger, M. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 3044-3049.
- [2] Li, Y-S.; Church, J. S.; Woodhead, A. L.; Moussa, F. *Spectrochim. Acta, Part A* **2010**, *76*, 484-489.
- [3] Chen, L.; Razavi, F. S.; Mumin, A.; Guo, X.; Sham, T. K.; Zhan, J. *RSC Advances* **2013**, *3*, 2390-2397.
- [4] Cai, Q.; Luo, Z-S.; Pang, W-Q.; Fan, Y-W.; Chen, X-H.; Cui, F-Z. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 258-263.
- [5] Programa *Match!*® (<http://www.crystalimpact.com>).
- [6] Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2ª Edición; Wiley-Vch: Wheinheim, 2003; pp 139-182.

## 6 Conclusiones/Conclusións/Conclusions

### 6.1 Conclusiones

En vista de los resultados obtenidos, en este apartado se resumen las conclusiones más destacadas del trabajo que se ha realizado:

1. Se ha llevado a cabo exitosamente la síntesis de MNPs de magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (muestra KC-01), mediante un método de coprecipitación en disolventes orgánicos y en recipiente cerrado.

A la vista de los resultados proporcionados por los métodos de caracterización DRX y MET se confirma que la muestra KC-01 obtenida es  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  bien cristalizada, que el tamaño que presentan las nanopartículas se encuentra dentro de los límites deseados para que tenga un comportamiento superparamagnético (10-20 nm), que su morfología relativamente esférica es la esperada y que tienden a formar aglomerados.

Los resultados de las técnicas de ATG e IR indican que, a pesar de realizar un gran número de lavados sobre el producto KC-01, no fue posible eliminar por completo los restos orgánicos de la reacción y los residuos de lavado.

2. Estas MNPs fueron recubiertas con sílice, formando composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$  (muestra KC-02), mediante una variación del método Stöber.

Con respecto al recubrimiento de sílice, a pesar de que la técnicas de RX e IR permitieron confirmar la presencia de la fase  $\text{SiO}_2$  en el producto KC-02, las micrografías de MET no fueron concluyentes, ya que no permiten distinguir el recubrimiento. Sin embargo, la difracción de electrones pone de manifiesto que sí se han producido cambios en la superficie de las nanopartículas magnéticas y el comportamiento observado por DLS permite confirmar que se han producido estos cambios, pues desciende su tendencia a aglomerarse.

3. Se han funcionalizado con APTES las MNPs recubiertas de sílice, formando composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{APTES}$  (muestras KC-03a y KC-03b).

Los resultados observados con las técnicas ATG e IR corroboran la presencia de materia orgánica atribuible al éxito en la funcionalización.

4. Se ha sintetizado sílice mesoporosa mediante un método reportado en la bibliografía para obtener MCM-41.

Los resultados de DRX obtenidos concuerdan con la bibliografía, indicando la formación de una fase cristalina y con poros del orden de 3nm de diámetro. Las micrografías de MET permiten observar claramente la formación de nanopartículas esféricas muy regulares de unos 100-250 nm de diámetro y estructura porosa.

5. Se han preparado composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  mesoporoso haciendo reaccionar en recipiente cerrado nanopartículas de ambos previamente preparadas por separado.

La DRX muestra que se mantiene la cristalinidad, al menos, de las nanopartículas magnéticas. Las micrografías MET muestran que las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  han quedado enlazadas a la superficie de la sílice mesoporosa de manera estable, logrando de este modo reducir su capacidad para aglomerarse. Además, una porción importante de la superficie de las esferas de sílice sigue quedando "libre" de nanopartículas magnéticas para poder ser funcionalizada con APTES en una siguiente etapa.

## 6.2 Conclusións

Á vista dos resultados obtidos, neste apartado resúmense as conclusións máis destacadas do traballo realizado:

1. Levouse a cabo exitosamente a síntese de MNPs de magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (mostra KC-01), mediante un método de coprecipitación en disolventes orgánicos e nun recipiente pechado.

Á vista dos resultados proporcionados polos métodos de caracterización DRX e MET, confírmase que a mostra KC-01 obtida é  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ben cristalizada, que o tamaño que presentan as nanopartículas se encontra dentro dos límites desexados para que teña un comportamento superparamagnético (10-20 nm), que a súa morfoloxía relativamente esférica é a esperada e que tenden a formar aglomerados.

Os resultados das técnicas de ATG e IR indican que, a pesar de se realizaren un gran número de lavados sobre o produto KC-01, non foi posíbel eliminar por completo os restos orgánicos da reacción e dos residuos de lavado.

2. Estas MNPs foron recubertas con sílice, formando composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$  (mostra KC-02), mediante unha variación do método Stöber.

Con respecto ó recubrimiento de sílice, a pesares de que as técnicas de RX e IR permitiron confirmar a presenza da fase  $SiO_2$  no produto KC-02, as micrografías de MET non foron concluíntes, xa que non permiten diferenciar o recubrimiento. Sin embargo, a difracción de electróns pon de manifesto que sí se produciron cambios na superficie das nanopartículas magnéticas e o comportamento observado por DLS permite confirmar que se produciron estes cambios, pois a súa tendencia a aglomerarse diminúe.

3. Funcionalizáronse con APTES as MNPs recubertas de sílice, formando composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@APTES$  (mostras KC-03a e KC-03b).

Los resultados observados cas técnicas ATG e IR corroboran a presenza de materia orgánica atribuíble ó éxito na funcionalización.

4. Foi sintetizada sílice mesoporosa mediante un método reportado na bibliografía para obter MCM-41.

## CONCLUSIONES/CONCLUSIÓN/CONCLUSIONS

Os resultados de DRX obtidos concordan ca bibliografía, indicando a formación dunha fase cristalina e con poros da orde de 3nm de diámetro. As micrografías de MET permiten observar claramente a formación de nanopartículas esféricas moi regulares duns 100-200 nm de diámetro e estrutura porosa.

5. Preparáronse composites  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  mesoporoso facendo reaccionar nun recipiente cerrado nanopartículas de ambos previamente preparadas por separado.

A DRX mostra que se mantén a cristalinidade, polo menos, das nanopartículas magnéticas. As micrografías MET mostran que as nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  quedaron enlazadas á superficie da sílice mesoporosa de maneira estable, logrando deste xeito reducir a súa capacidade para aglomerarse. Ademáis, unha porción importante da superficie das esferas de sílice segue quedando "libre" de nanopartículas magnéticas para poder ser funcionalizada con APTES nunha seguinte etapa.

## CONCLUSIONES/CONCLUSIÓN/CONCLUSIONS

### 6.3 Conclusions

The main conclusions of the work are summarized below:

1. Synthesis of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) MNPs (KC-01 sample) has been successfully performed by a coprecipitation method in organic solvents and in a closed container.

In view of the results provided by XRD and TEM, it was confirmed that the KC-01 sample is  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  well crystallized, the size of the nanoparticles is the desired to exhibit a superparamagnetic behavior (10-20 nm), its relatively spherical morphology is the expected one and they tend to form agglomerates.

The results of ATG and IR indicate that, despite the large number of washes, it was not possible to completely eliminate the organic residues of the reaction on KC-01 product.

2. These MNPs were coated with silica by a variation of the Stöber method, forming  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$  composites (KC-02 sample).

Regarding to the silica coating, although RX and IR confirmed the presence of the  $SiO_2$  in KC-02, MET micrographs were inconclusive because the coating was not distinguished. However, electron diffraction shows that some changes have occurred on the surface of the magnetic nanoparticles, and DLS confirms that their tendency to agglomerate decreases.

3. Silica-coated MNPs had been functionalized with APTES forming  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@APTES$  composites (KC-03a y KC-03b samples).

ATG and IR corroborate the presence of organic matter attributable to a successful functionalization.

4. Mesoporous silica was synthesized by a reported method in the literature to obtain MCM-41.

XRD results agree with the literature, indicating the formation of crystals with pores of around 3nm. TEM micrographs clearly show very regular spherical nanoparticles with a diameter of about 100-250 nm and mesoporous structure.

5.  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  composites were prepared heating both previously prepared nanoparticles in a closed container.

XRD shows that the crystallinity is maintained, at least, for the magnetic nanoparticles. MET micrographs show that  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles have been linked to the surface of the mesoporous reducing their ability to agglomerate. In addition, a significant portion of the surface of the silica spheres still remains "free" of magnetic nanoparticles, so the functionalization with APTES could be possible in a next step.