

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS OBTENIDAS POR PRECIPITACIÓN EN MICROEMULSIÓN INVERSA PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS

Mercedes Puca Pacheco^{a*}, Marco Guerrero Aquino^a, Enrique Tacuri Calanchi^b,
Raúl G. López Campos^c.

RESUMEN

En este trabajo se presenta la preparación de nanopartículas de magnetita por métodos de precipitación en microemulsiones inversas y el método convencional "Coprecipitación química". Las nanopartículas de magnetita fueron caracterizadas por difracción de rayos X, espectroscopía de Mössbauer y magnetometría de muestra vibrante (VSM). Los resultados mostraron que las nanopartículas obtenidas por el método de precipitación en microemulsión inversa tienen un comportamiento superparamagnético y un diámetro promedio de partícula de 9 nm, mientras que por el método convencional "Coprecipitación química", fueron de 17 nm.

Además, otros beneficios observados en la aplicación del método de precipitación en microemulsión inversa, con respecto al método convencional, es que permitió obtener nanopartículas de magnetita esféricas, monodispersas y con propiedades magnéticas y químicas que podrían tener buenos resultados en aplicaciones médicas.

Palabras clave: Magnetita, nanopartículas, microemulsión, propiedades magnéticas

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SUPERPARAMAGNETIC NANOPARTICLES OBTAINED BY PRECIPITATION IN INVERSE MICROEMULSION FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

ABSTRACT

In this work the preparation of nanoparticles of magnetite by methods of precipitation in inverse microemulsions and the conventional method "Chemical Co-precipitation" is reported. Magnetite nanoparticles were characterized by X-ray diffraction, Mössbauer spectroscopy and vibrating sample magnetometer (VSM). The results showed that the nanoparticles obtained by the method of precipitation in inverse microemulsion showed a superparamagnetic behavior and had a particle average diameter of 9 nm, while by the conventional method "Chemical Co-precipitation" were 17 nm. In addition, other benefits observed in the application of the method of precipitation in inverse microemulsion with regard to the conventional method is that it allowed obtaining spheroidal magnetite

^{a*} Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos-UNMSM. Av. Venezuela Cdra. 34 Lima 14 Perú. e-mail: mpucap@hotmail.com

^b Escuela de Post Grado de la Universidad Nacional Federico Villarreal-UNFV.

^c Departamento de Procesos de polimerización del Centro de Investigación en Química Aplicada-CIQA. Saltillo- México.

nanoparticles, monodisperse and with magnetic and chemical properties which might have better results in medical applications.

Key words: Magnetite, nanoparticles, microemulsion, magnetic properties

INTRODUCCIÓN

El interés de las nanopartículas magnéticas (NPMs) es debido a las propiedades físicas de su núcleo magnético, de su alta relación superficie/tamaño y de la capacidad que poseen de unir moléculas de interés biológico a su superficie. Además, su comportamiento magnético y su tamaño pequeño posibilita su interacción con estructuras celulares, subcelulares e incluso moleculares, y ello permite su aplicación como agentes de contraste en imagen de resonancia magnética (RM)¹, y también, otra de las aplicaciones se encuentra en el ámbito de la terapia mediante la destrucción de tumores por la generación de hipertermia².

Las nanopartículas magnéticas más utilizadas e investigadas hasta el momento son las partículas con núcleo magnético formado por óxido de hierro, debido fundamentalmente a sus propiedades magnéticas y a su sencillo proceso de síntesis. Típicamente estas nanopartículas están formadas por magnetita (Fe_3O_4) o maghemita (Fe_2O_3) nanocrystalinas aisladas por una cubierta polimérica. Además, por sus propiedades magnéticas, la utilidad de las nanopartículas de óxido de hierro viene dada por su alta biocompatibilidad y fácil biodegradación en el organismo. Después de ser metabolizadas, los iones de hierro de estas partículas son añadidos a los depósitos de hierro del organismo y eventualmente son incorporados por los eritrocitos como parte de la hemoglobina.

En ausencia de recubrimientos, las nanopartículas muestran superficies hidrofóbicas que facilitan la formación de aglomerados entre ellas dando lugar a agregados de gran tamaño. Aunque tengan propiedades superparamagnéticas, las partículas tienden a agregarse, especialmente en fluidos biológicos, debido a la presencia de sales y proteínas plasmáticas. Estos agregados de NPMs son incompatibles con su utilización en aplicaciones biomédicas, debido a la alta posibilidad de que se produzca una obstrucción de pequeños capilares. La cubierta polimérica proporciona una barrera física que previene la aglomeración de las partículas.

Utilizando unos recubrimientos de superficie adecuados, las NPMs pueden dispersarse fácilmente en soluciones fisiológicas formando suspensiones homogéneas llamadas ferrofluidos. Estas suspensiones pueden interactuar con un campo magnético externo y ser posicionadas en un área específica, facilitando la imagen de resonancia magnética para diagnóstico médico de diferentes patologías.

Por tanto, las nanopartículas de magnetita obtenidas serán empleadas en un trabajo posterior para ser introducidas dentro de nanopartículas de poliestireno poroso que cumplirá la función de cubierta polimérica la cual proporcionará una barrera física que prevenga la aglomeración de las partículas de magnetita y formen agregados de gran tamaño.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis de la magnetita por precipitación en microemulsión inversa, se preparó una microemulsión agua-en-aceite (w/o) compuesta por 10 g de bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB), 5 g de 1-butanol (cosurfactante), 77 g de tolueno como la fase orgánica y la fase acuosa compuesta por 4 g de solución de FeCl_3 al 24% m/v y 4 g de solución de FeCl_2 al 12% m/v. La microemulsión inversa formada fue transparente y se mantuvo en agitación constante a 600 rpm a una temperatura de 70 °C en una atmósfera inerte de nitrógeno por 20 minutos, y luego se dosificó 2 g de solución de NH_4OH al 25% a un flujo de 1 g/min. La magnetita

obtenida fue separada por filtración, luego lavada con agua destilada, filtrada para eliminar tensioactivo, iones Fe^{+3} e hidróxido de amonio remanente y luego fueron secadas.

Por otra parte, se sintetizó magnetita por el método convencional para efectos de comparación con respecto a la magnetita obtenida por microemulsión inversa. La magnetita por el método convencional fue obtenida adicionando 25 ml de solución de hidróxido de amonio al 25% m/m en un tiempo de 10 minutos sobre 100 ml de solución compuesta por 50 ml de FeCl_3 al 24% m/v y 50 ml de FeCl_2 al 12% m/v (disuelto en solución de HCl 0,2% m/v).

Las nanopartículas magnéticas obtenidas en el presente trabajo fueron precipitados muy finos de color negro y superparamagnéticos, las cuales fueron separadas, lavadas y secadas, para ser caracterizados.

La estructura cristalográfica y la presencia de la magnetita fueron analizadas por difracción de rayos-X (DRX) empleando un difractor marca BRUKER, modelo D8-FOCUS, que empleó un tubo de Cu, cuya longitud de onda correspondiente a $K\alpha 1$ -Cu fue $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$. Generador de rayos-X con voltaje de salida del tubo = 40 kV y corriente de salida del tubo = 40mA en un rango de medición de 10 a 80° en la escala de 2θ .

La estructura hiperfina se determinó por medio de espectroscopía Mössbauer (EM) a temperatura ambiente; además, en el caso de la magnetita, esta técnica es capaz de detectar desviaciones de su estequiometría normal. Adicionalmente, se empleó la técnica de magnetometría de muestra vibrante (MMV) a temperatura ambiente para determinar la magnetización y coercitividad de las nanopartículas de magnetita sintetizadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estructura, tamaño y magnetismo de las nanopartículas de magnetita dependen del método de síntesis empleado. En este caso se sintetizaron por precipitación en microemulsión inversa, las cuales se han comparado con las sintetizadas por el método convencional.

En la tabla 1 se observa los resultados obtenidos por difracción de rayos-X e indica presencia de una sola fase correspondiente a la magnetita tanto para las obtenidas por coprecipitación química (método convencional) como por precipitación en microemulsión inversa. Asimismo, en la figura 1 se muestra los espectros de difracción de las magnetitas preparadas y en la figura 1c se incluye las barras que corresponden a un estándar de magnetita de una base de datos³. También, mediante los difractogramas de las figuras 1a y 1b se estimó el tamaño de grano promedio de la magnetita, el cual fue calculado empleando la fórmula de Scherrer⁴ (ver ecuación 1), considerando el segundo pico principal ($2\theta = 62,7^\circ$) de los difractogramas.

$$B \cos\theta = \frac{0,9\lambda}{d} + \eta \sin\theta \quad (1)$$

Donde B es el ancho a mitad de la altura del pico más representativo de los difractogramas (figura 1). Al graficar $B \cos\theta$ vs $\sin\theta$, se obtiene una recta con η como pendiente y $0,9\lambda/d$ el intercepto. De acuerdo a la ecuación 1, se encontró tamaños de granos de 9 nm para los obtenidos por microemulsión inversa siendo un tamaño más pequeño que los obtenidos por coprecipitación química (método convencional)

Tabla 1. La estructura cristalográfica, la fase presente y tamaño de grano de las nanopartículas de magnetita.

Muestra	Fases principales	Fórmula química	Tamaño de grano promedio (nm)
Coprecipitación química (método convencional)	Magnetita	Fe ₃ O ₄	17
Precipitación en microemulsión inversa	Magnetita	Fe ₃ O ₄	9

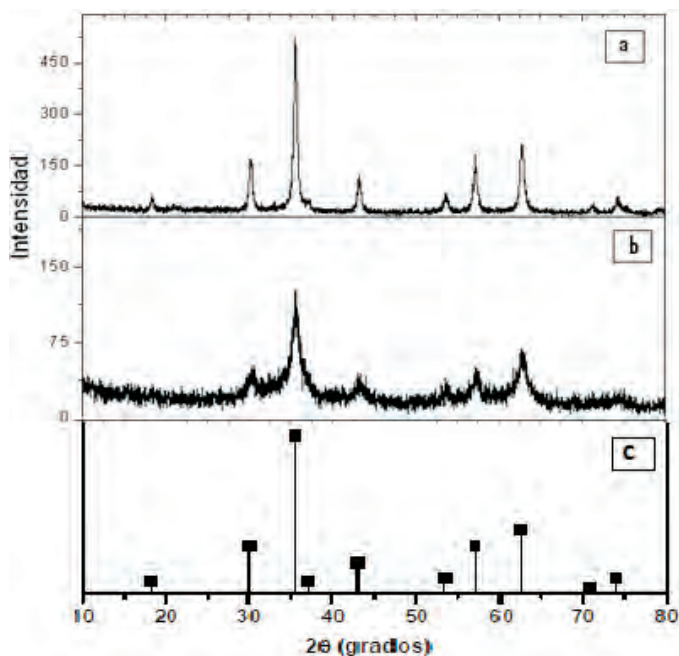


Figura 1. Difractogramas de muestras de magnetita sintetizadas por coprecipitación química (a), precipitación en microemulsión inversa (b) y estándar de magnetita (c)

La magnetita estequiométrica posee una estructura de espinel inversa⁵, en el sentido que la mitad de los cationes de Fe⁺³ ocupan sitios tetraédricos y la otra mitad sitios octaédricos, y los cationes de Fe⁺² ocupan sitios octaédricos⁶. El espectro Mössbauer de una magnetita así ordenada muestra dos sextetos magnéticos, uno asociado a los sitios tetraédricos que posee el doble de intensidad y líneas más anchas que el sexteto de los sitios octaédricos, de conformidad con la distribución arriba citada. Estos sextetos poseen campos magnéticos hiperfinos diferentes, siendo el campo de los sitios tetraédricos ligeramente mayor que el de los sitios octaédricos. Además, el corrimiento isomérico de los sitios octaédricos es ligeramente mayor, dando como resultado que los picos “Nº 6” de los sextetos se superpongan.

La figura 2(a) muestra el espectro Mössbauer de la magnetita sintetizada por coprecipitación química (método convencional) medidos a temperatura ambiente. La forma del espectro no coincide con la descripción del espectro de una magnetita estequiométricamente estructurada, probablemente, entre otras cosas, debido al hecho que se trata de una magnetita nanoestructurada con una distribución de cationes y/o un ordenamiento magnético diferentes. La interpretación del espectro se basa en aproximar el espectro experimental con un modelo de espectro que se diseña sobre la base de la información que se tiene del material y en las características del espectro experimental. En este sentido, se puede suponer que el modelo debe contener 3 sextetos, por lo menos, uno por cada catión y sitio que ocupa en la estructura. El resultado del ajuste con un modelo de 4 sextetos y un doblete se da en la tabla 2 en la que se listan los parámetros hiperfinos. El sexteto 1 está asociado a cationes de Fe^{3+} en sitios tetraédricos; el sexteto 2 está asociado a cationes de Fe^{3+} en sitios octaédricos y los sextetos 3 y 4 a cationes de Fe^{2+} en sitios octaédricos. Las áreas de absorción nuclear resonante se pueden considerar proporcionales a las concentraciones de los cationes de hierro en cada sitio estructural. El doblete posee un área relativa de 4,5% y puede estar asociado a muy pequeños granos de magnetita en estado súper paramagnético.

Tabla 2. Parámetros hiperfinos utilizados en el ajuste del espectro experimental.

Sub	ISO (mm/s)	QUA	BHF	\tilde{A}	Área	Área Rel.
		(mm/s)	(T)	(mm/s)	(mm/s)	(%)
Espectro						
Sexteto 1	0,252	-0,006	48,9	0,428	0,197	25,3
Sexteto 2	0,276	-0,069	47,1	0,578	0,248	31,8
Sexteto 3	0,330	-0,002	43,6	1,119	0,247	31,7
Sexteto 4	0,867	0,641	43,6	0,889	0,052	6,7
Doblete	0,356	2,250	0	0,703	0,035	4,5

La figura 2(b) muestra los espectros Mössbauer de la magnetita sintetizada por precipitación en microemulsión inversa. Las formas de los espectros indican la presencia de dobletes superparamagnéticos asociados a los granos de tamaño nanométrico más pequeño y de efectos de desdoblamiento magnético a los granos de mayor tamaño.

Para que se pueda observar el desdoblamiento magnético es necesario que el periodo de precesión del momento magnético del núcleo alrededor del campo magnético presente sea menor que el tiempo de relajación magnética, es decir, el tiempo característico en que se invierte la magnetización de los granos debido a efectos térmicos. El tiempo de relajación magnética aumenta con el tamaño del grano y disminuye con el aumento de la temperatura.

Al disminuir el tamaño de grano de un material magnético a una temperatura dada, gradualmente, a medida que el tamaño de los granos cruzan un tamaño crítico pasan al estado superparamagnético mientras que el resto todavía contribuye al subespectro magnético.

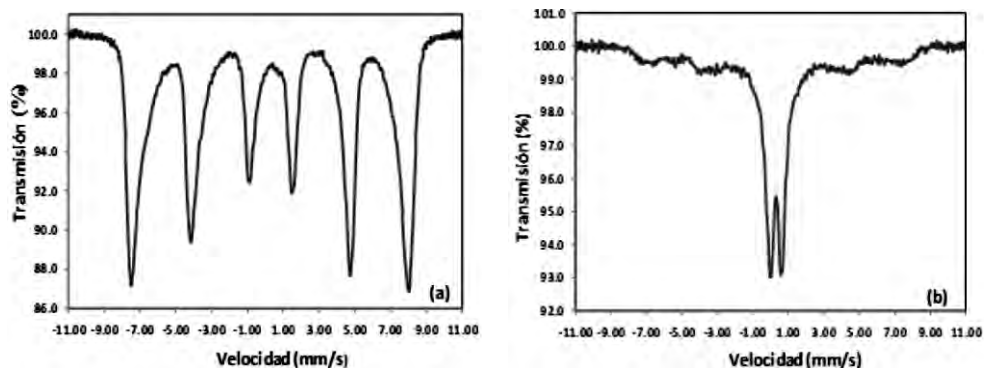


Figura 2. Espectro de Mossbauer para la magnetita obtenida por coprecipitación química (método convencional) (a) y por precipitación en microemulsión inversa (b).

La tabla 3 muestra los resultados del espectro Mössbauer de la magnetita obtenida por microemulsión inversa. Se puede hacer mención a un subespectro magnético y a un subespectro superparamagnético. Los dobletes 1 y 2 están asociados a sitios ocupados por Fe^{3+} mientras que el doblete 3 está asociado a sitios ocupados por Fe^{2+} . En ambos casos predomina la presencia de hierro en estado férrico.

Tabla 3 Parámetros hiperfinos de la muestra de magnetita obtenida en microemulsión inversa.

Sub Espectro	ISO (mm/s)	QUA (mm/s)	BHF (T) Max.	Área (mm/s)	Área Rel. (%)
Doblete 1	0,247	0,594	--	0,062	31,5
Doblete 2	0,240	1,030	---	0,014	7,2
Doblete 3	0,320	2,100	--	0,009	4,8
Magnético	0,290	- 0,230	51	0,111	43,5
Totales				0,197	100,0

Las propiedades magnéticas de la magnetita en polvo fueron medidas en un magnetómetro de muestra vibrante, aplicando un campo máximo de 20 kOe. En la figura 3 se muestra las curvas de magnetización para las magnetitas obtenidas por precipitación en microemulsión inversa y por coprecipitación química (método convencional); se observa que en ambos casos presentan un comportamiento típico de un superparamagnético, debido al pequeño tamaño de partícula menores de 17 nm y a la formación de monodominios. Asimismo, la magnetización

fue 68,59 emu/g al máximo campo magnético aplicado (20 kOe) para la magnetita obtenida por el método convencional, mientras que para la magnetita obtenida por precipitación en microemulsión inversa tuvo un valor de 31,82 emu/g, siendo este valor menor que el obtenido por el método convencional; esto puede ser debido al menor diámetro de partícula. Según los resultados obtenidos queda demostrado que los valores de magnetización disminuyen al disminuir el diámetro de partícula de la magnetita. Ninguna de las curvas en la figura 3 muestran saturación magnética arriba de 20 kOe; esto es consecuencia de la dificultad para alinear el momento magnético en la dirección del campo magnético aplicado experimentado por los átomos de superficie la cual corresponde a una fracción considerable de los átomos totales en partículas muy pequeñas⁷. También se obtuvo bajos valores de magnetización remanente y coercitividad de las nanopartículas de magnetita. Se obtuvo valores de magnetización remanente y campo de coercitividad de 1,405 emu/g y 12,54 Oe, respectivamente, para la magnetita preparada por el método convencional (MGCQ), mientras que se obtuvo valores de magnetización remanente y campo de coercitividad de 0,193 emu/g y 7,15 Oe, respectivamente, para la magnetita obtenida por precipitación en microemulsión inversa. Los valores muy bajos se atribuyen al comportamiento superparamagnético. Generalmente, se estima para la magnetita valores de saturación magnética alrededor de 80 emu/g, valores obtenidos por Liu et. al⁸. En la tabla 4 se muestra los resultados de la caracterización magnética de las nanopartículas de magnetita obtenida por coprecipitación química (MGCQ), y por precipitación en microemulsión inversa (MGMI).

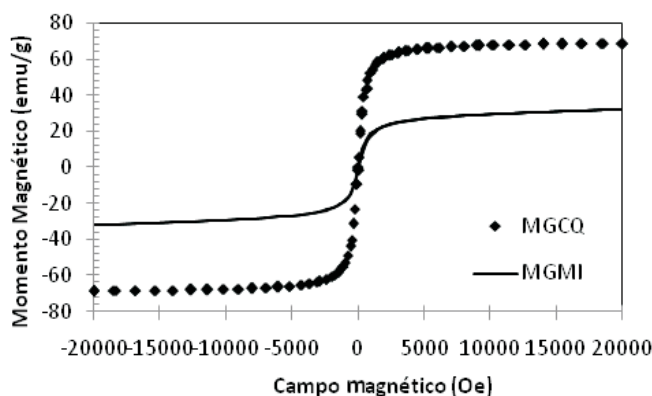


Figura 3. Curva de magnetización de la magnetita pura: por coprecipitación química (MGCQ), y precipitación en microemulsión inversa (MGMI).

Tabla 4. Resultados de la caracterización magnética de las nanopartículas de magnetita obtenida por coprecipitación química (MGCQ), y por precipitación en microemulsión inversa (MGMI).

Muestra	Diámetro de Partícula por Difracción de Rayos_X (nm)	Magnetización (emu/g)	Magnetización remanente (emu/g)	Coercitividad (Oe)
MGCQ	17	68,59	1,405	12,54
MGMI	9	31,82	0,193	7,15

CONCLUSIONES

Las reacciones de precipitación llevadas a cabo en microemulsiones inversas permiten obtener nanopartículas magnéticas, Fe_3O_4 , de forma esferoidal, monodispersa y de diámetro promedio de 9 nm. Mediante el análisis de difracción de rayos-X se demostró que la nanopartícula obtenida fue magnetita pura (unifásica) y mediante magnetometría de muestra vibrante (MMV), a temperatura ambiente, se confirmó el comportamiento superparamagnético, lo cual se debe al diámetro de partícula más pequeño, comparado con el obtenido por el método convencional. Además, se concluye que hay una relación directa entre la magnetización y el tamaño de partícula de la magnetita.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la financiación otorgada por el Consejo Superior de Investigación (CSI) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a la colaboración del Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA)-Saltillo-México.

REFERENCIAS

1. Corot, C., et al. "Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging", *Advanced Drug Delivery Reviews* 2006; 58: 1471-1504.
2. Dobson, J., "Magnetic nanoparticles for drug delivery", *Drug Development Research*, 2006; 67: 55-60.
3. JCPDS, International Center for Powder Diffraction Data: Swarthmore, PA, Card N°19, 629 (1989)
4. C. Suryanarayana. *Progress in Material Science*, 2001; 146: 1-184.
5. Cornell, R. M.; Schwertmann, U., *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses*. Wiley VCH: Weinheim, Germany, 1996.
6. Murad, E.; Johnston, J. H.; Long, G. J., *Modern Inorganic Chemistry. Mossbauer Spectroscopy Applied to Inorganic Chemistry*. Plenum Press, New York, USA, Vol. 2, p 507-582. 1987
7. R. H. Kodama, "Magnetic nanoparticles", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999; 200(1): 359-372.
8. X. Liu, Q. Hu, Z. Fang, X. Zhang, and B. Zhang, "Magnetic chitosan nanocomposites: a useful recyclable tool for heavy metal ion removal", *Langmuir*, 2009; 25(1): 3-8.