

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Facultad de Ingeniería

**EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN SANGRE,
MEDIANTE EL PROCESO DE LISIS Y TINCIÓN DE
PERLS**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA**

Brenda Aracely Sánchez Ruíz

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. Jesús Roberto Vargas Ortiz

Santiago de Querétaro, Qro.

Agosto 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Título: EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN SANGRE,
MEDIANTE EL PROCESO DE LISIS Y TINCIÓN DE
PERLS

por

Brenda Aracely Sánchez Ruíz

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: IGLIN-280916



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Facultad de Ingeniería

Ingeniería en Nanotecnología

EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN SANGRE, MEDIANTE EL PROCESO DE LISIS Y TINCIÓN DE PERLS

T E S I S

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Ingeniero en Nanotecnología

Presenta:

Brenda Aracely Sánchez Ruíz

Dirigido por:

M. en C. Jesús Roberto Vargas Ortiz

SINODALES

M. en C. Jesús Roberto Vargas Ortiz

Presidente

Firma

Dra. Karen Esquivel Escalante

Secretario

Firma

Dr. José Antonio Cervantes Chávez

Vocal

Firma

Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez

Sinodal

Firma

Campus Aeropuerto

Querétaro

Agradecimientos

Agradezco primeramente a mi familia que siempre ha estado y por su apoyo durante la realización de este proyecto, así como a mis amigos que siempre me motivan a dar lo mejor de mí.

Agradezco enormemente a mi asesor de tesis M. en C. Jesús Roberto Vargas Ortiz por guiarme durante la realización de este proyecto.

Así mismo, agradezco a la Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez, Dr. José Antonio Cervantes Chávez, Dra. Karen Esquivel Escalante y M. en C. Jesús Roberto Vargas Ortiz por su supervisión y guía en la realización de este trabajo.

Resumen

En la medicina actual se busca desarrollar nuevas formas de detección y tratamiento de enfermedades, mediante el uso de la nanotecnología para realizar terapias menos invasivas y más efectivas, por ello el uso de diversas nanopartículas (NPs) que se han ido introduciendo en el cuerpo han aumentado en su uso e investigación. Un ejemplo de NPs utilizadas son las nanopartículas magnéticas (NPMs), las cuales se han comenzado a utilizar para detectar enfermedades, un ejemplo de enfermedad en las que se investiga, es en cáncer, en la cual éstas nanopartículas se funcionalizan para dirigir los fármacos para el tratamiento del mismo o para detectar el cáncer en estadios más tempranos, es por ello que se ha buscado innovar en los tratamientos contra el mismo, para elaborar terapias menos agresivas con los pacientes que lo padecen. Por lo que, conocer los posibles daños que pueden ocasionar las distintas morfologías de NPMs recubiertas y no recubiertas en el cuerpo, dado que en su composición contienen hierro (Fe), el cual pudiera introducirse en el torrente sanguíneo ocasionando un efecto adverso.

En el presente trabajo se exponen los posibles efectos que las NPMs pudieran ocasionar al interactuar con la sangre, por lo que se estudiaron los efectos de NPMs obtenidas con morfologías diferentes (amorfas y nanohilos), recubiertas y no recubiertas mediante el uso de agar sangre con sangre ovina y tinción de Perls.

Las distintas morfologías obtenidas fueron posibles a base de utilizar dos métodos de síntesis (coprecipitación y reducción química) modificando temperaturas de calcinación para observar el efecto de la temperatura en la morfología. En las NPMs recubiertas se utilizó el método de Stöber.

Para estudiar las características fisicoquímicas (morfología, estabilidad coloidal, sensibilidad magnética, tamaño de cristalito y fases cristalinas) se utilizaron técnicas fisicoquímicas de SEM, potencial Z, histéresis magnética y difracción de rayos X (XRD).

Se obtuvo principalmente que en las nanopartículas calcinadas a mayores temperaturas la cantidad de magnetita disminuye y aumentó la cantidad de otras fases cristalinas como maghemita, hematita y wüstita lo provocó cambios en la estabilidad coloidal y el tamaño de cristalito, así como de su sensibilidad magnética, ocasionando cambios morfológicos y de coloración en los agares sangre, que al realizar tinción de Perls resultó un valor positivo a dicha prueba.

Abstract

Today's medicine seeks to develop new ways of detecting and treating diseases by using nanotechnology to perform less invasive and more effective therapies, so the use of various nanoparticles (NPs) that have been introduced into the body. An example of NPs used are magnetic nanoparticles (NPMs), which have begun to be used to detect diseases such as cancer along with functionalizations have sought to innovate in the treatments against it, to develop less aggressive therapies with patients suffering from it. Therefore, it is necessary to know the possible damage that can be caused by the different morphologies of coated and uncoated NPMs in the body, given that in their composition they contain iron (Fe), which could enter the bloodstream causing an adverse effect.

In the present work the possible effects that NPMs could cause when interacting with blood are exposed, so the effects of NPMs obtained with different morphologies (amorphous and nanowires), coated and uncoated were studied by using blood agar with ovine blood and Perls staining.

The different morphologies obtained were possible by using two synthesis methods (coprecipitation and chemical reduction) modifying calcination temperatures to observe the effect of temperature on morphology. The Stöber method was used for the coated NPMs.

To study the physicochemical characteristics (morphology, colloidal stability, magnetic sensitivity, crystallite size and crystalline phases), physicochemical techniques of SEM, Z-potential, magnetic hysteresis and X-ray diffraction (XRD) were used.

It was obtained mainly that in the nanoparticles calcined at higher temperatures the amount of magnetite decreased and the amount of other crystalline phases such as maghemite, hematite and wüstite increased, which caused the colloidal stability and crystallite size to change, as well as their magnetic sensitivity, which caused the morphological and coloration changes in the blood agars to change, so that when Perls staining was performed, the results were positive.

Contenidos

Agradecimientos	[3]
Resumen	[4]
Abstract	[5]
Índice de figuras	[8]
Índice de tablas	[9]
Glosario	[10]
Capítulo 1. Introducción	[11]
1.1. Antecedentes	[13]
1.1.1. Nanopartículas magnéticas	[13]
1.1.2. Sangre y nanopartículas magnéticas	[13]
1.2. Problemática	[14]
1.3. Justificación	[14]
1.4. Hipótesis	[14]
1.5. Objetivo general.....	[14]
1.5.1. Objetivos específicos	[14]
Capítulo 2. Fundamento Teórico	[15]
2.1. Magnetita	[15]
2.2. Recubrimientos biocompatibles con nanopartículas de $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}_2^{3+}\text{O}_4$	[16]
2.3. Sistema vascular	[17]
2.4. Tipo de lisis	[17]
Capítulo 3. Metodología	[19]
3.1. Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$: método de coprecipitación química	[19]
3.2. Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$: método de reducción química	[19]
3.3. Determinación de lisis en agar sangre	[21]
3.4. Determinación de exceso de hierro por tinción de Perls	[22]
Capítulo 4. Discusión de Resultados	[24]
4.1. Caracterización fisicoquímica de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$	[24]
4.2. Pruebas toxicológicas	[32]
Capítulo 5. Conclusiones	[34]
Capítulo 6. Perspectivas a futuro	[35]
Bibliografía	[36]
Anexos	[42]

A.1. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	[42]
A.2. Potencial Zeta	[43]
A.3. Histéresis Magnética	[44]
A.4. Difracción de Rayos X (XRD)	[44]
A.5. Voges Proskauer	[46]
A.6. Pruebas de hemólisis con sangre humana	[47]

Índice de Figuras

Figura 1. Interacción de NPMs y sangre	[12]
Figura 2. Estructura de magnetita	[15]
Figura 3. Estructura química del SiO ₂	[16]
Figura 4. Tipos de hemólisis a) α -hemólisis, b) β -hemólisis y c) γ -hemólisis	[19]
Figura 5. Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ por coprecipitación química	[20]
Figura 6. Síntesis de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ por reducción química	[21]
Figura 7. Metodología de agar sangre	[22]
Figura 8. Metodología Tinción de Perls	[24]
Figura 9. Fe ₃ O ₄ sintetizadas mediante CQ a) 120 °C, b) 160 °C y c) 200 °C	[25]
Figura 10. Fe ₃ O ₄ sintetizadas mediante RQ a) 120 °C, b) 160 °C y c) 200 °C	[25]
Figura 11. Fe ₃ O ₄ a) sintetizada mediante CQ a 120 °C y b) sintetizada mediante RQ a 120 °C [26]	[26]
Figura 12. Distribución de tamaño de Fe ₃ O ₄ sintetizadas mediante a) CQ 200 °C, b) RQ 200 °C, c) CQ recubierta 200 °C y d) RQ recubierta 200 °C	[26-27]
Figura 13. Estabilidad coloidal NPMs a) CQ 200 °C, b) RQ 200 °C, c) CQ recubierta 200 °C y d) RQ recubierta 200 °C	[27]
Figura 14. Curvas de magnetización de Fe ₃ O ₄ a) CQ 120 °C, 160 °C y 200 °C; b) RQ 350 °C y 600 °C	[28]
Figura 15. Difractogramas de Fe ₃ O ₄ a) CQ; b) RQ; c) CQ R; d) RQ R.....	[29]
Figura 16. Funcionamiento de SEM.....	[43]
Figura 17. Grupo funcional responsable de coloración	[46]
Figura 18. Metodología de pruebas de hemólisis con sangre humana.....	[47]

Índice de tablas

Tabla 1. Parámetros de análisis para agar sangre	[21]
Tabla 2. Parámetros de tinción de Perls	[22]
Tabla 3. Distribución de Fe ₃ O ₄ a distintas temperaturas a dos síntesis con y sin recubrimiento ...	[25]
Tabla 4. Valores de potencial Zeta a distintas temperaturas	[27]
Tabla 5. Tamaño de cristalito	[29]
Tabla 6. Porcentajes de fases	[30]
Tabla 7. Resultados de agar sangre y tinción de Perls de NPMs obtenidas por CQ, RQ, CQ recubiertas y RQ recubiertas a concentración de 1 mg/mL	[32]
Tabla 8. Resultados de prueba de Voges Proskauer	[46]
Tabla 9. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por coprecipitación química calcinadas a 350 °C con 100 µL de sangre y porcentaje de hemólisis	[48]
Tabla 10. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por reducción química calcinadas a 350 °C con 100 µL de sangre y porcentaje de hemólisis	[49]
Tabla 11. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por coprecipitación química calcinadas a 200 °C recubiertas con 100 µL de sangre y porcentaje de hemólisis	[50]
Tabla 12. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por reducción química calcinadas a 120 °C recubiertas con 100 µL de sangre y porcentaje de hemólisis	[51]

GLOSARIO

NPMs: Nanopartículas magnéticas

Fe: Hierro

Si: Silicio

NPs: Nanopartículas

CO₂: Dióxido de carbono

EtOH: Etanol

H₂O: Agua

ml: mililitro

Fe₃O₄: Magnetita

Fe₃O₄@SiO₂: Magnetita recubierta

nm: Nanómetros

SEM: Microscopía electrónica de barrido

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

XRD: Difracción de rayos X

g: gramos

CQ: Coprecipitación química

RQ: Reducción química

CQ R: Reducción química recubierta

RQ R: Reducción química recubierta

Capítulo 1

Introducción

La nanotecnología es un enfoque científico novedoso que implica materiales y equipos capaces de manipular propiedades físicas y químicas de una sustancia a nivel molecular. Es por ello por lo que, con el uso de la nanotecnología se ha ido incrementando y reforzando en la implementación de nuevas terapias y diagnósticos, así como en la industria alimentaria, agroindustrial, veterinaria, empaques, cosmética y su uso va aumentando en distintas áreas [1].

En el área de biomedicina con las investigaciones actuales se han ido implementado el uso de diferentes nanopartículas magnéticas (NPMs) para el diagnóstico de enfermedades, creando terapias menos invasivas y así observar resultados en menor tiempo. Por lo que se busca conocer la nanotoxicología de estas partículas, ya que aún se conoce muy poco acerca de los efectos adversos en el organismo [1,2].

Con ello, el uso de las nanopartículas magnéticas ha sido de gran interés por los investigadores, debido sus propiedades. Una vez que han sido modificadas superficialmente pueden ser altamente biocompatibles, lo que es adecuado para aplicación médica [3]. Entre las aplicaciones que tienen las nanopartículas magnéticas una vez recubiertas se pueden utilizar como transporte direccional de fármacos o genes con acción del campo magnético para realizar una terapia dirigida, así mismo, al tener la característica de ser direccionadas se ha buscado conocer el camino que recorre la sangre y tratar hemorragias internas. [3,4]

En el caso de la aplicación en sangre, es importante conocer la toxicidad pues la sangre es un fluido que circula constantemente proporcionando nutrición, oxígeno y eliminación de residuos en el cuerpo [5]. La sangre como se observa en **Figura 1** se conforma de distintos tipos de células como los trombocitos (encargados principalmente de la coagulación de la sangre), basófilos (regulan respuestas inmunes), neutrófilos (encargados de proteger al cuerpo contra infecciones), eosinófilos (regula la respuestas inmunes), monocitos (encargados de eliminar restos celulares), linfocitos (responsables del funcionamiento adecuado del sistema inmunitario) y eritrocitos. [5, 6] En el caso de los eritrocitos (glóbulos rojos) están expuestos a distintas agresiones durante su vida, lo que ocasiona que tengan constantes cambios bioquímicos y morfológicos, porque al estar en contacto con nanopartículas (**Figura 1**) se podría afectar significativamente sus funciones [6]. Sin embargo, la interacción de las nanopartículas y los eritrocitos tienen diferentes efectos dependiendo de las características intrínsecas. [6].

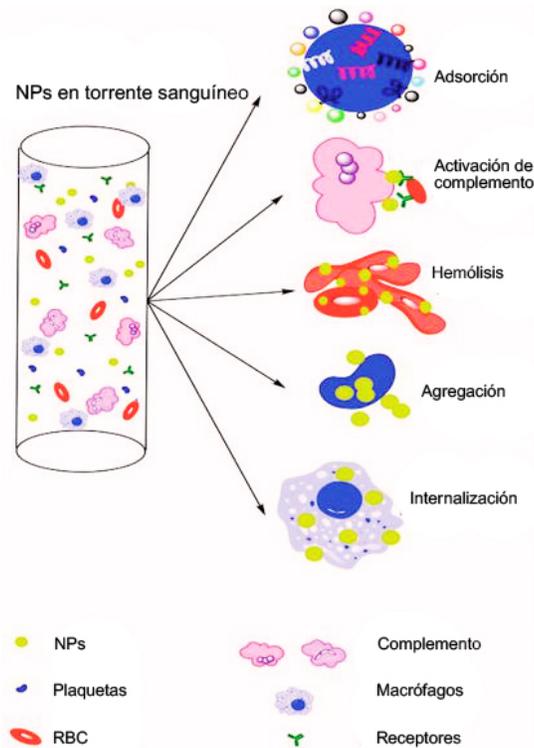


Figura 1. Interacción de NPMs y sangre [6]

En 2018 Cruz *et al* emplearon nanopartículas magnéticas para detener hemorragias internas, esto se logra gracias a que las nanopartículas están combinadas con la enzima trombina directamente en el sitio que se produjo la lesión, con un tamaño de partícula de 50 nm [7].

En 2019 Rodríguez *et al* aplicaron nanopartículas magnéticas en células sanguíneas para conocer la trayectoria que éstas tenían y así poder plantear un modelo matemático que modelara la focalización magnética de medicamentos (MDT) [4].

Cuando la magnetita está en forma de nanopartículas (NPs) tiene diversas aplicaciones en áreas como biotecnología, ambiental, medicina, entre otras. [5] Esto debido a sus propiedades magnéticas, sus procesos de síntesis que resultan ser sencillos, la gran biocompatibilidad con la que cuentan, así como su biodegradación en el organismo

Así mismo, al tratarse de la introducción de NPMs en el cuerpo se requiere del conocimiento de los efectos que éstas puedan tener, por lo que es sumamente importante conocer acerca del sistema vascular, dado que es el encargado de distribuir el oxígeno, hormonas y nutrientes que son esenciales para las células y órganos del cuerpo. [6] Por lo que, la función del sistema vascular implica complejas interacciones entre el endotelio vascular, el músculo liso, el sistema inmunitario y el sistema nervioso, por lo cual si se ven afectadas dichas interacciones se pueden provocar desde lesiones hemorrágicas hasta sutiles modificaciones patogénicas y cambios metabólicos. [6]

Por lo mismo, se ha demostrado que el ciclo redox del Fe afecta varias reacciones biogeoquímicas, como es la disponibilidad de macro y trazas de nutrientes para microorganismo. [7,8]

De lo anterior mencionado, uno de los daños sería la afección de eritrocitos, los cuales se han estudiado ampliamente dado que (i) son un modelo simplificado de las membranas plasmáticas de las

células debido a la ausencia de núcleo y organelos, (ii) su hemólisis se puede monitorizar por espectrofotometría debido a la liberación de hemoglobina, (iii) su gran abundancia y (iv) su importancia en el campo de la hematología. [9]

Por consiguiente, se puede inferir que el uso de nanopartículas magnéticas es seguro, sin embargo, tienen que contar con un recubrimiento biocompatible, para mejorar su estabilidad, farmacocinética, biodistribución y biocompatibilidad; confiriéndole un mejor funcionamiento, por ello en el presente trabajo se buscó estudiar el uso de NPMs con y sin recubrimiento para conocer la interacción de nanopartículas de magnetita con los glóbulos rojos.

1.1. Antecedentes

1.1.1. Nanopartículas magnéticas

Las nanopartículas (NPs) son partículas que tienen al menos una dimensión en el rango nanométrico de hasta ≈ 100 nm. [10] Estas nanoentidades se caracterizan por una elevada relación superficie/volumen y, por tanto, son especialmente fuertes, versátiles y reactivas en comparación con el estado sólido. Estas propiedades específicas ofrecen nuevas e interesantes posibilidades de optimizar las propiedades ópticas, mecánicas y magnéticas de las nanopartículas, entre otras. [11] En 2016 Mangaiyarkarasi *et al.* Usaron Magnetita funcionalizada con quitosano y nanopartículas de tierras raras luminiscentes ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{LaF}_3: \text{Ce}^{3+}, \text{Tb}^{3+}$ /nanopartículas de quitosano) para la administración dirigida de paclitaxel para cáncer de pulmón con NPMs de diámetro de 30 nm esféricas con las que lograron conjugar el fármaco (paclitaxel) en las cuales obtuvieron una buena respuesta biocompatible. [12]

Así mismo en 2015 Mohamed *et al.*, utilizaron nanopartículas de sílice mesoporosa magnética modificada con glicopolímeros para la obtención de imágenes por resonancia magnética y administración selectiva de fármacos, en dicha investigación obtuvieron que las NPMs presentaban una elevada capacidad de carga de fármaco (en un 11.9%) y que tenían una absorción de 10.9% en las células HepG2 en lo cual concluyeron que utilizar NPMs para diagnóstico era muy viable y confiable. [13]

Sin embargo, en 2020 Malhotra *et al.*, estudiaron los posibles efectos tóxicos de las NPMs al ser consideradas como un agente de contraste para resonancia magnética, vehículos de administración de fármacos dirigidos, terapias angiogénica y quimioterapia, examinaron la toxicidad de dichas NPMs para aplicaciones *in vivo*, en el cual obtuvieron que en una concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en estudio *in vitro* con células THP-1 causaron daños. [14]

1.1.2. Sangre y nanopartículas magnéticas

En 2020 Majee *et al.*, llevaron a cabo un estudio sistemático sobre la administración selectiva de fármacos en un flujo inestable de sangre infundida con nanopartículas magnéticas con el fin de comprender el patrón de flujo y la agregación de nanopartículas en un segmento arterial enfermo con aterosclerosis, en donde supervisaron las NPMs con ayuda de un campo magnético, con ello se puede conseguir una alternativa para el tratamiento terapéutico de enfermedades arteriales, tumores, células cancerígenas y eliminación de coágulos sanguíneos, en lo que en su simulación obtuvieron que el flujo sanguíneo aórtico cuando la aglomeración de NPs es mayor. [15]

De igual forma, en el 2020 Abu-Hamdeh *et al.*, examinaron de forma numérica el movimiento de las NPMs en los vasos sanguíneos no newtonianos bajo la influencia del campo magnético, el cual fue aplicado de forma perpendicular a la dirección de transporte de las NPs. El flujo era constante,

laminar, viscoso e incomprensible. En lo cual concluyeron en un fluido newtoniano el sistema no muestra ninguna precipitación de partículas, sin embargo, en un sistema real donde hay variación en el comportamiento, lo cual pudiera ocasionar que se pudiera precipitar buena cantidad de partículas, este resultado pudiera ser muy importante al momento de contar el número de partículas para el suministro de fármaco. [16]

1.2. Problemática

El área de la nanomedicina ha ido incrementando con el paso de los años y con ello el uso de nanopartículas magnéticas, esto porque se buscan terapias menos invasivas y diagnósticos más rápidos [15,7]. Sin embargo, se ha estudiado muy poco acerca de la toxicología que tienen las nanopartículas magnéticas [16] y a largo plazo podrían generar otro tipo de enfermedades o padecimientos que podrían ser aún más complejos de solucionar que el problema inicial. Por lo que determinar el tipo de interacción y posibles efectos adversos que puedan presentar las MNP en células sanguíneas es un paso clave para sus aplicaciones biomédicas.

1.3. Justificación

La sangre es la encargada de proporcionar nutrición al cuerpo, oxígeno, protección inmunitaria al organismo, mantiene el equilibrio del agua en el cuerpo, regula la temperatura, así como de la eliminación de residuos por lo que, el cambio en alguna de las células que la componen podría ocasionar cambios en morfología y bioquímica, entre estas células cabe destacar a los eritrocitos [5]. Aunque existen diversos estudios en los que se utiliza NPMs en sangre poco se conoce sobre la bioacumulación que éstas puedan tener en los eritrocitos [6]. Así mismo, los eritrocitos al ser los encargados de eliminar el dióxido de carbono (CO_2) de los tejidos y de ser los encargados de llevar el oxígeno a los órganos es vital que no se encuentren dañados, pues no podrían cumplir sus funciones vitales y por ende generar problemas en la salud.

1.4. Hipótesis

La interacción de la sangre ovina con nanopartículas magnéticas causa efectos como hemólisis a nivel celular, lo cual permitirá establecer parámetros de seguridad para el manejo y disposición de dichas nanopartículas.

1.5. Objetivo general

Evaluar la interacción de nanopartículas de magnetita en sangre a través del proceso de hemólisis y la tinción de Perls.

1.5.1. Objetivos específicos

- Obtener nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) y magnetita recubierta ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$), mediante la síntesis de coprecipitación química y método Stöber.
- Caracterizar las NPs de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ para conocer morfología, tamaño, cristalinidad, carga superficial y propiedades magnéticas, por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (XRD), potencial zeta e histéresis magnética.
- Identificar el exceso de Fe en eritrocitos a través de tinción de Perls en sangre para observar si hay aglomeración de NPMs.
- Evaluar la interacción de las nanopartículas de magnetita recubiertas de sílice en sangre mediante la prueba toxicológica de agar sangre.

Fundamento Teórico

2.1. Magnetita

La magnetita es un mineral que se forma a partir de la combinación de dos estados de oxidación del hierro (Fe^{2+} Fe^{3+}), lo cual le da propiedades magnéticas (las cuales se dan por los momentos magnéticos de los distintos cationes de hierro del sistema se encuentran fuertemente acoplados).

En 1915 su estructura de la magnetita fue descrita por Bragg, por lo que fue el primer mineral al que se le aplicó difracción de rayos x, dicha estructura es la de una espinela inversa (**Figura 2**). Su forma cristalina es de un cubo centrado en las caras (FCC), los cuales se encuentran comúnmente en el eje de zona $[1\ 1\ 1]$, con un valor de parámetro de red de 0.839 nm [17].

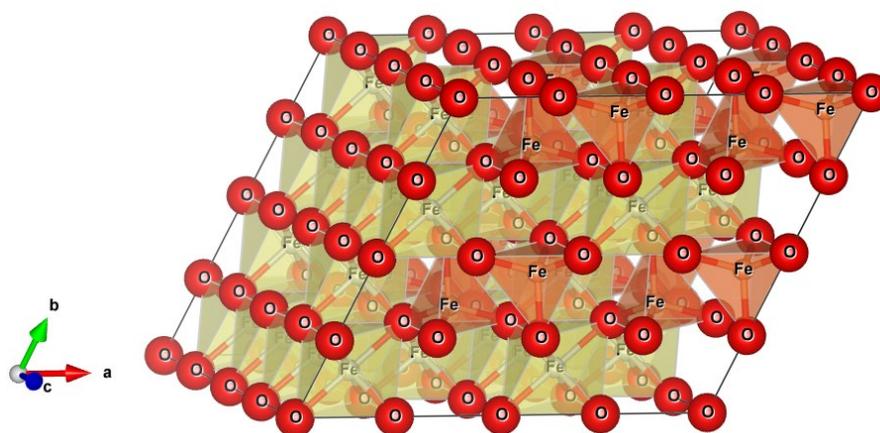


Figura 2. Estructura magnetita

La magnetita a diferencia de los demás óxidos de hierro (hematita, wüstita, maghemita, goethita, lepidocrocita, akaganeita, feroxihihita, ferritidrita, bernalita) contiene ambos iones de hierro, divalente y trivalente en su composición, por lo que al no ser estequiométrica, tiene un catión deficiente Fe III [11]. Tiene propiedad ferromagnética cuando se encuentra a temperatura ambiente, con una temperatura de Curie de 850 K. [17]

El átomo de Fe tiene un fuerte momento magnético dado que se genera un cambio en el comportamiento magnético por la inversión del espín, entonces los cuatro electrones no apareados en sus orbitales 3d forman cristales de átomos de hierro, de lo cual surgen diferentes estados magnéticos. [12] Por lo que, se considera un material ferromagnético; el ferromagnetismo es un fenómeno físico en el que se produce un ordenamiento magnético de todos los momentos magnéticos del material en la misma dirección y sentido. [18]

Así mismo, las nanopartículas de Fe_3O_4 se consideran como materiales de primera clase para aplicaciones biomédicas debido a su excelente magnetismo blando, esto significa que, tienen alta magnetización de saturación, baja fuerza coercitiva, buena compatibilidad y baja citotoxicidad cuando tienen morfología esférica. [16,17] La maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y la magnetita (Fe_3O_4) son las principales nanopartículas magnéticas utilizadas con fines biomédicos debido a su bajo coste, su sencilla preparación, su baja toxicidad y su biocompatibilidad al recubrirse. [16] Sin embargo, las

NPMs podrían contribuir al desarrollo de efectos tóxicos como el estrés oxidativo, la embriotoxicidad, mutagenicidad, genotoxicidad y embolia vascular. Esto es debido a la aglomeración de NPMs en el torrente sanguíneo, la activación del sistema inmunitario y los procesos inflamatorios. [17]

Además, aunque la dosis de óxidos de hierro administrada, por ejemplo, por vía intravenosa es del 1.25-5% del suministro total de hierro en el cuerpo, la focalización magnética en un órgano específico de los óxidos de hierro para maximizar los beneficios del tratamiento o el diagnóstico, el cual conduce a sus altas concentraciones en sus órganos objetivo. [18] Por lo anterior, esta sobrecarga local de hierro puede conducir a altos niveles de concentración de iones de hierro libre en el tejido y con ello provocar reacciones celulares aberrantes, como citotoxicidad, estrés oxidativo y procesos inflamatorios. [17]

2.2. Recubrimientos biocompatibles con nanopartículas de $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}_2^{3+}\text{O}_4$

A menudo se emplean polímeros para recubrir la superficie de las nanopartículas durante o después de la síntesis, esto para evitar la aglomeración. La repulsión electrostática ayuda a dispersar las nanopartículas y mantenerlas en un estado coloidal estable. Las propiedades superficiales de las partículas magnéticas son los principales factores que determinan la estabilidad coloidal de los ferrofluidos [3].

Tales recubrimientos son el polisacárido dextrano, el cual es homopolisacárido de alto peso molecular formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos a (1-6) donde el grado de ramificación en las cadenas varía según el origen de la dextransacarasa, la enzima que sintetiza dextrano [18].

El poli vinil alcohol (PVA) es un polímero hidrosoluble que se presenta en forma de gránulos o polvo blanco. Forma un coloide en agua caliente, pero es insoluble en agua fría [18]. Por sus propiedades emulsionantes proporciona una envoltura biocompatible, catiónica e hidrofílica [19].

Finalmente, el dióxido de silicio (SiO_2) (**Figura 3**), es un material que forma una cubierta de diferentes grosores alrededor de los núcleos magnéticos de las NPMs. Por lo que al tener una carga negativa las NPMs son dispersables y muy estables en soluciones acuosas [20].

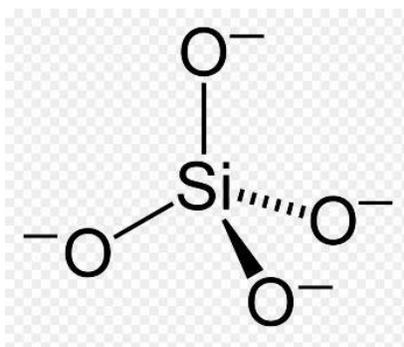


Figura 3. Estructura química del SiO_2 [16]

Los recubrimientos de sílice son hidrofílicos que pueden modificarse con otros grupos funcionales, por eso tienen ventajas derivadas a la estabilidad en condiciones acuosas (si el pH es entre 3 y 4), modifica la superficie, facilita las interacciones intermoleculares tanto en solución como dentro de las estructuras, mediante la variación del grosor de la capa [12]. Dicho grosor varía de acuerdo con

la concentración de amonio, así como la relación entre el tetraetoxisilano (TEOS) y H₂O [3]. Dado que la sílice y la superficie de la magnetita tienen gran afinidad el depósito y adhesión es sencilla [3].

2.3. Sistema vascular

Un sistema circulatorio es cualquier sistema de fluidos en movimiento que reduce la distancia de difusión funcional que los nutrientes, gases y productos de desecho metabólicos, independientemente de su origen embriológico o de su diseño. [20] El sistema circulatorio es el encargado de bombear, transportar y distribuir la sangre por todo el cuerpo, integrándose con el corazón y los vasos sanguíneos (arterias, venas y capilares). [21] las arterias son las encargadas de transportar sangre oxigenada del corazón a los tejidos, mientras que las venas llevan la sangre no oxigenada en dirección del corazón y los capilares son el sitio en donde se tiene lugar el intercambio de nutrientes y gases entre la sangre y los tejidos. [22]

El sistema vascular sanguíneo está formado por espacios llenos de sangre (vasos, senos, hemocelos y/o órganos de bombeo) dentro del compartimento de tejido conjuntivo, que es continuo alrededor y entre todas las capas de tejido del cuerpo. Por ejemplo, en los invertebrados los espacios están revestidos sólo por la matriz. Los vertebrados han desarrollado un revestimiento celular secundario, denominado endotelio. [23]

De igual forma, el sistema vascular sanguíneo sirve para el transporte de sustancias como nutrientes, oxígeno y dióxido de carbono, así como la regulación del calor (esto mediante flujo contracorriente), ultrafiltración (riñón), defensa (mediante el suministro de factores de coagulación, células inmunitarias) e integración de todo el organismo (regulación hormonal). [24]

La sangre como se mencionó es importante para el correcto funcionamiento del cuerpo, por lo que se infiere que un mal funcionamiento de esta podría alterar no sólo el correcto funcionamiento de órganos y sistemas, sino que esto a su vez pudiera causar daños crónicos en el organismo.

2.4. Tipo de lisis

Anteriormente se mencionó la importancia de la sangre en el organismo para su correcto funcionamiento. Por lo que, al haber un tipo de ruptura de los glóbulos rojos, su funcionamiento se ve afectado lo que ocasiona que la lisina salga de la membrana celular. [25] La lisis celular es un paso esencial en muchos estudios relacionados con la biología y la medicina. Existen distintos tipos de lisis; en función de la escala y el medio en que se realiza la lisis celular, existen tres tipos principales de lisis celular: 1) Lisis mecánica, 2) lisis química y 3) lisis por bacterias.

- 1) Lisis mecánica: la membrana celular se rompe físicamente mediante el uso de pura fuerza. La técnica consiste en dañar directamente la estructura celular para liberar los componentes intracelulares. [26]
- 2) Lisis química: se utilizan tampones de lisis para romper la membrana celular. Se utilizan los detergentes para solubilizar las proteínas de membrana y romper a la membrana celular para liberar su contenido. [27]
- 3) Lisis por bacterias: lisis provocada por acción de enzimas bacterianas y se clasifican en tres tipos (**Figura 4**)

Hemólisis alfa es una lisis parcial de eritrocitos que produce una coloración verde que se observa alrededor de las colonias, esto por la liberación de un producto de degradación de la hemoglobina llamado biliverdina [28].

Hemólisis beta es un halo de hemólisis completamente claro [28].

Hemólisis gamma es la ausencia de hemólisis [28].

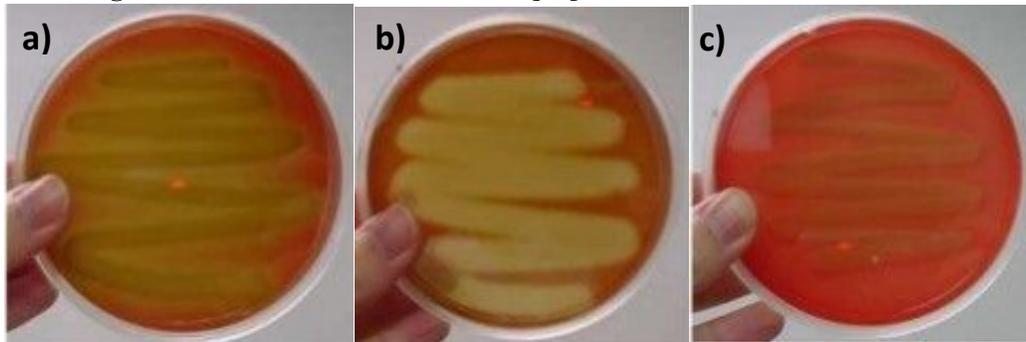


Figura 4. Tipos de hemólisis a) α -hemólisis, b) β -hemólisis y c) γ -hemólisis [28,29]

Metodología

3.1. Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$: método de coprecipitación química y método Stöber

Una de las metodologías utilizadas para obtener NPMs fue coprecipitación química (**Figura 5**), mediante la cual se prepararon y mezclaron una solución de FeCl_3 0.5 M y FeSO_4 0.5 M con baño ultrasónico (BRANSON 1510) durante un tiempo de 15 minutos en una atmósfera inerte. Después mediante goteo lento se agregó NH_4OH en baño sónico durante 15 minutos. Posteriormente se hicieron lavados con etanol (EtOH) hasta obtener un pH neutro. [28] Finalmente se calcinó en la mufla a distintas temperaturas: 120, 160, 200, 350 y 600 °C.

Para recubrir las NPMs se dispersaron 0.1 g de NPMs en una solución de 80 ml de EtOH, 10 ml de agua destilada y 4 ml de NH_4OH (30 %) en baño ultrasónico (BRANSON 1510) durante 15 minutos. Después de agregó una solución de 24 ml de EtOH con 0.5 ml de TEOS (tetraetilo ortosilicato) en baño ultrasónico durante 15 minutos. Se procedió a realizar lavados con EtOH por triplicado para colocar en horno de convección durante un tiempo de 12 h a 50 °C. [29]

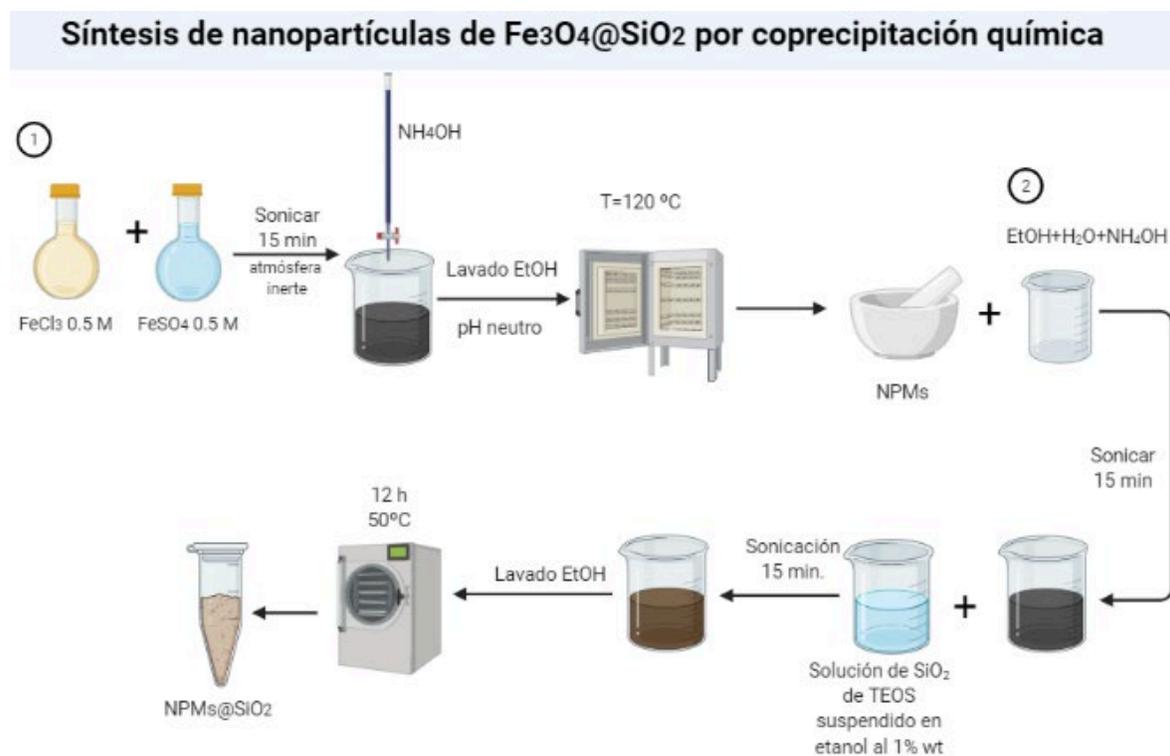


Figura 5. Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ por coprecipitación química

3.2. Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$: método de reducción química y método Stöber

Para el método de reducción química se disolvieron 0.27 g de FeCl_3 en 20 ml de agua destilada y se mezclaron con una solución de 0.55 g de pirrol ($\text{C}_4\text{H}_5\text{N}$) en 20 ml de agua destilada. Posteriormente

se añadió lentamente una solución de 0.75 g de borohidruro de sodio (NaBH_4) en 10 ml de agua destilada con agitación magnética. [30] (Figura 6)

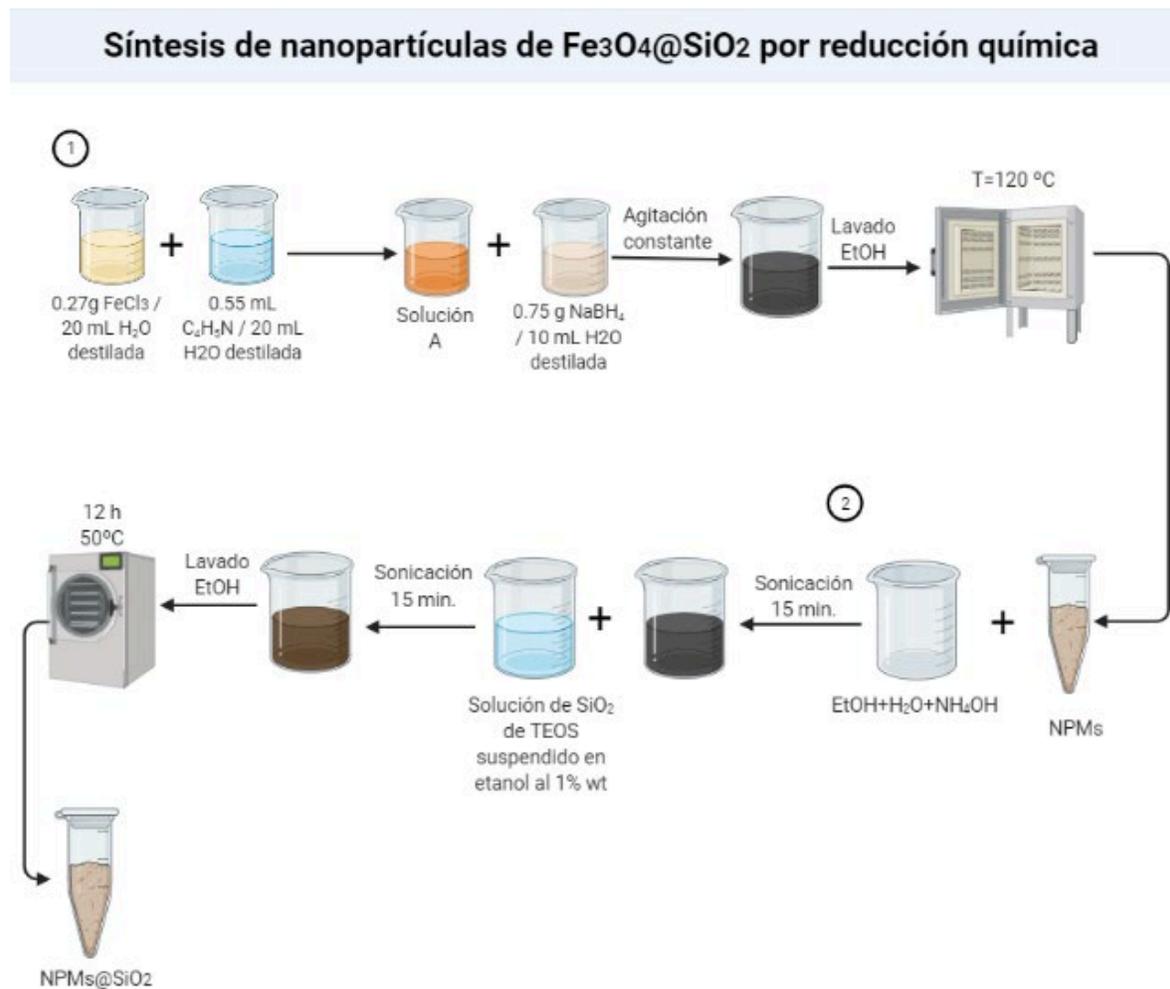


Figura 6. Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$ por reducción química

Para el recubrimiento se utilizó el mismo método de Stöber mencionado en síntesis de coprecipitación química.

La caracterización fisicoquímica se realizó mediante técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM) la cual se realizó con un microscopio *JOEL JEM 2000 FX*, Potencial Z utilizando un *ZETASIZER ULTRA MALDS*, histéresis magnética y difracción de rayos X (XRD). XRD se realizó por método de polvo fino con un difractómetro *BRÜKER D8 ADVANCE* con radiación $\text{Cu}_{k\alpha}$ con longitud de onda de 0.15405 nm dentro de un rango de 2θ de 10-100 °.

3.3. Determinación de lisis en agar sangre

Se suspendieron 4 gramos del medio (mezcla de infusión de músculo de corazón, peptona, cloruro de sodio y agar) en 100 mL de agua destilada. Se dejó reposar por 5 minutos y después se mezcló hasta obtener una consistencia homogénea. Luego se calentó con agitación constante e hirvió durante 1 minuto para su disolución total. [31]

Posteriormente se esterilizó a 120 °C durante 20 minutos. Una vez terminado se preparó el agar sangre donde se agregó un 10 % de sangre ovina desfibrinada y estéril al medio previamente fundido y enfriado a 40-50 °C, se homogenizó y finalmente se distribuyó uniformemente en placas de Petri estériles. Para la colocación de la muestra fue necesario estriar sobre la placa de Petri con el agar sangre a una temperatura de 35-37 °C incubado durante 48 horas (**Figura 7**). [31]

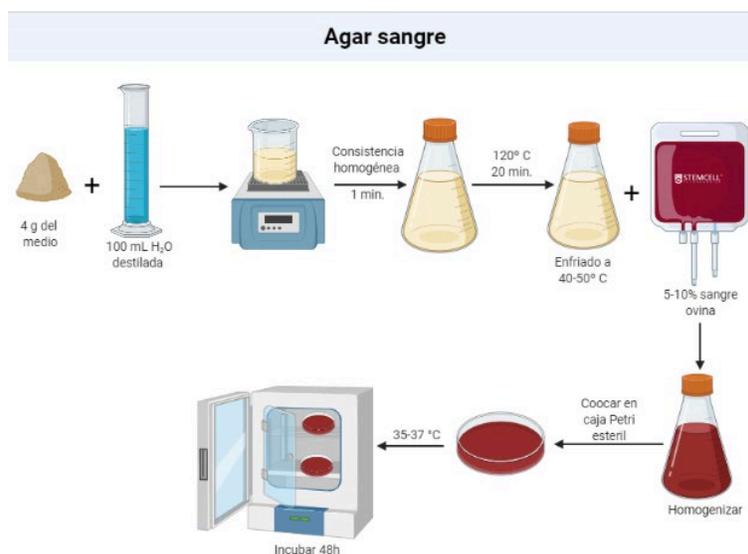


Figura 7. Metodología para preparar placas de agar sangre

Una vez realizada la caracterización fisicoquímica se procedió a realizar análisis de agar sangre para estudiar las NPMs y poder discernir entre los distintos tipos de hemólisis. Los resultados mostrados a continuación fueron realizados con diluciones de nanopartículas magnéticas obtenidas por dos métodos de síntesis diferentes, coprecipitación química asistida por ultrasonido y reducción química a distintas temperaturas de calcinación (120, 160, 200, 350 y 600 °C). Así mismo, se realizó recubrimiento de las nanopartículas mediante el método de Stöber, por lo que el estudio se llevó a cabo con 252 muestras de agar sangre (de cada temperatura de calcinación, las cuatro diluciones 0.0001, 0.001, 0.01 y 0.1 mg/ml se realizaron por triplicado), los cultivos de agar sangre fueron realizados con el 10 % de sangre de carnero, dejando incubar 48 horas a una temperatura de 37 °C. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a colocar las nanopartículas magnéticas (NPMs) (se aplicó 1 ml de cada dilución para cada prueba) haciendo un ligero movimiento de agitación para esparcir uniformemente las nanopartículas, posteriormente se dejó incubar los cultivos de agar durante 24 horas más a temperatura de 37 °C. Después de este tiempo se procedió a tomar las fotos y observar los resultados de la interacción de las NPMs con el agar sangre. A continuación, se detalla **Tabla 1** con los criterios de análisis de hemólisis alfa, beta y gamma.

Tabla 1. Parámetros de análisis

Variable	Tipo de variable	Indicadores	Escala de medición	Valor	Resultado observable
Hemólisis alfa	Cualitativa	Destrucción parcial de los glóbulos rojos, seguida de una coloración verdosa	Nominal	a) Presencia b) Ausencia	
Hemólisis beta	Cualitativa	Destrucción total de los glóbulos rojos, seguida de tener ausencia de color o muy clara	Nominal	a) Presencia b) Ausencia	
Hemólisis gamma	Cualitativa	No hay presencia de actividad hemolítica ni cambio en coloración	Nominal	a) Presencia b) Ausencia	

3.4. Determinación de exceso de hierro por tinción de Perls

Se realizaron raspados de las placas de agar sangre y se fijaron con metanol, después se lavaron con agua destilada tres veces. Luego se añadió una mezcla de partes iguales de ferrocianuro de potasio al 2 % y ácido clorhídrico (HCl) exento de hierro (Fe) al 2 %. Una vez terminado este proceso se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente y pasado este tiempo se lavó con agua destilada. Por último, se agregó una solución de safranina durante un lapso de 30 a 45 segundos. Finalmente se observó en microscopio óptico los precipitados de azul de Prusia (**Figura 8**) [32]. Tomando como referencia los parámetros desplegados en **Tabla 2**.

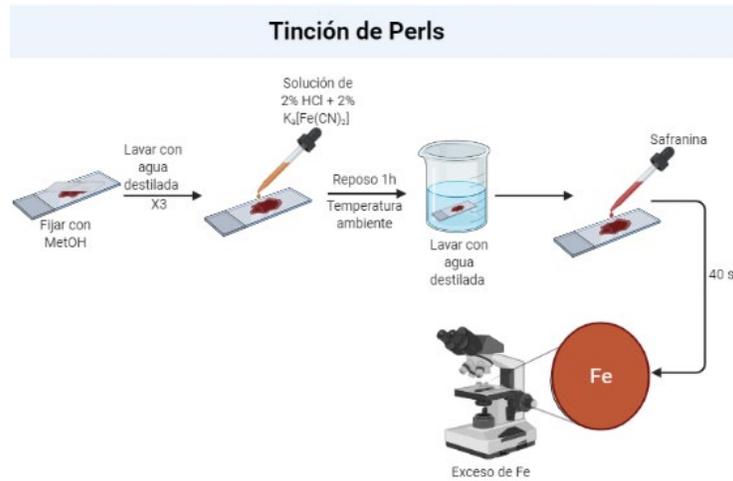
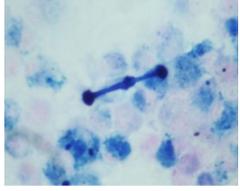


Figura 8. Metodología Tinción de Perls

Tabla 2. Parámetros de tinción de Perls

Variable	Tipo de variable	Indicadores	Escala de medición	Valor	Resultado observable
Tinción Perls	Cualitativa	Presencia de coloración azul en glóbulos rojos	Nominal	a) presencia de Fe b) Ausencia de Fe	

Discusión de Resultados

4.1. Caracterización fisicoquímica de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$

De acuerdo con lo obtenido mediante SEM se observa que las NPMs (nanopartículas magnéticas), en un aumento de 20 μm sintetizadas por el método de coprecipitación química (CQ), no tienen una morfología definida que aún al aumentar la temperatura de calcinación no se presenta cambio. (Figura 9)

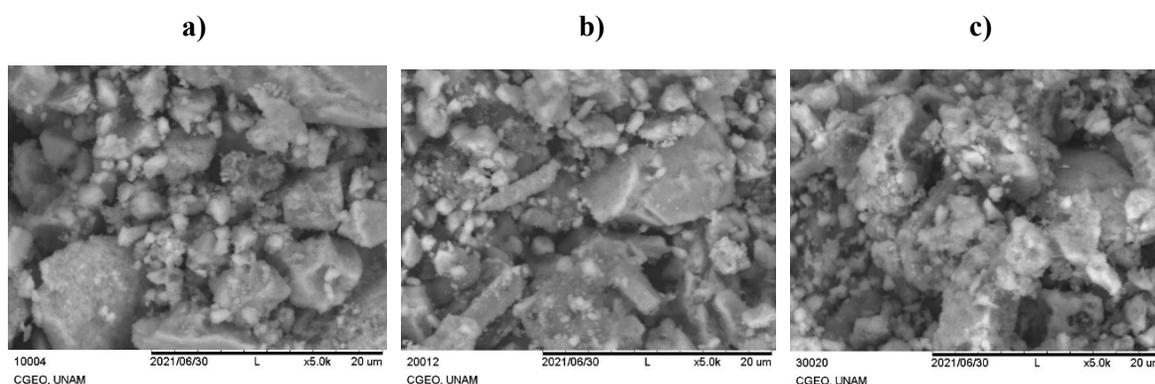


Figura 9. Fe_3O_4 sintetizadas mediante CQ **a)** 120 °C, **b)** 160 °C y **c)** 200 °C

Se observa en la **Figura 9** una morfología de hilos que al aumentar la temperatura de calcinación se van compactando. Sin embargo, en ambas síntesis se logra observar que hay pequeñas partículas dentro de los aglomerados en **Figura 9** y **Figura 10** por lo que se realizó un análisis TEM para obtener un tamaño promedio de partícula.

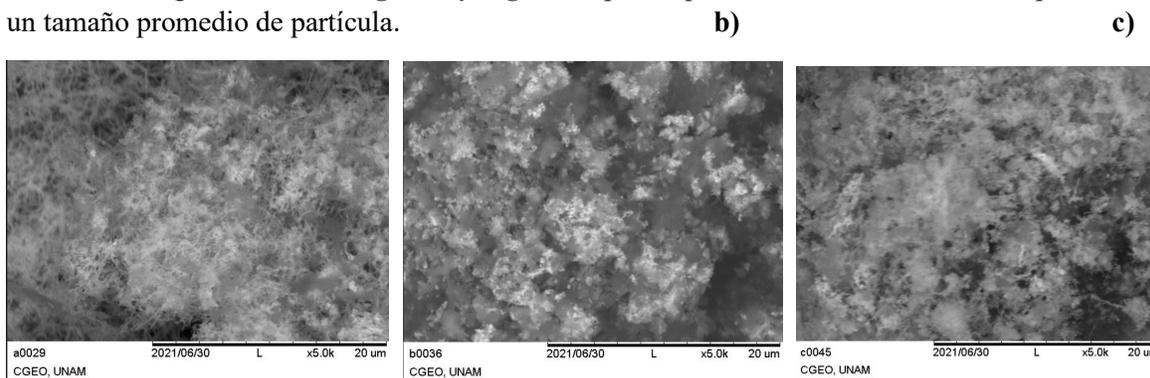
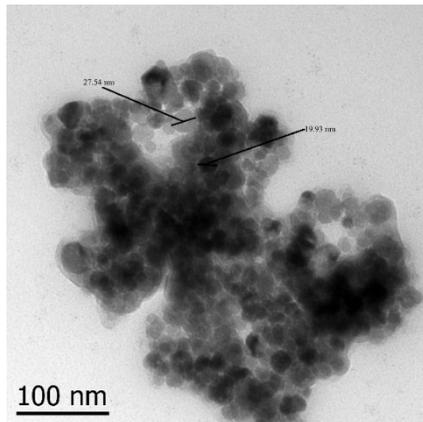


Figura 10. Fe_3O_4 sintetizadas mediante RQ **a)** 120 °C, **b)** 160 °C y **c)** 200 °C

a)



b)

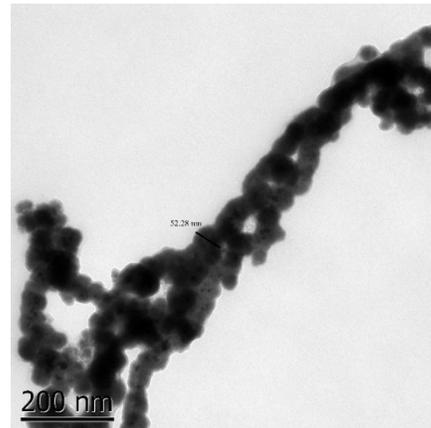
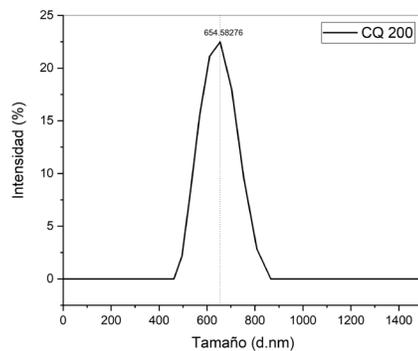


Figura 11. Fe_3O_4 a) sintetizada mediante CQ a $120\text{ }^\circ\text{C}$ y b) sintetizada mediante RQ a $120\text{ }^\circ\text{C}$

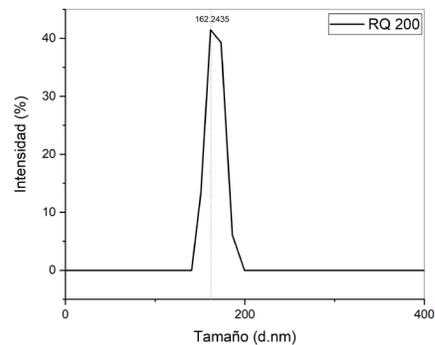
Se observa en la **Figura 11 a)** que el tamaño promedio de partícula es de 27.54 nm y 19.93 nm, mientras que la **Figura 11 b)** al ser una morfología de hilos se obtiene un tamaño promedio de 52.28 nm a una temperatura de calcinación de $120\text{ }^\circ\text{C}$.

Una vez obtenida la morfología y tamaño promedio de partícula se procedió a realizar el análisis de las partículas en suspensión a través de Potencial Z, tanto en NPMs con recubrimiento y sin recubrimiento, lo cual nos proporcionó información sobre la estabilidad coloidal y distribución del tamaño de éstas. En la **Figura 12** se muestran los resultados de NPMs sin recubrir en CQ (coprecipitación química), RQ (reducción química), así también como de CQ y RQ recubiertas en la temperatura de $200\text{ }^\circ\text{C}$.

a)



b)



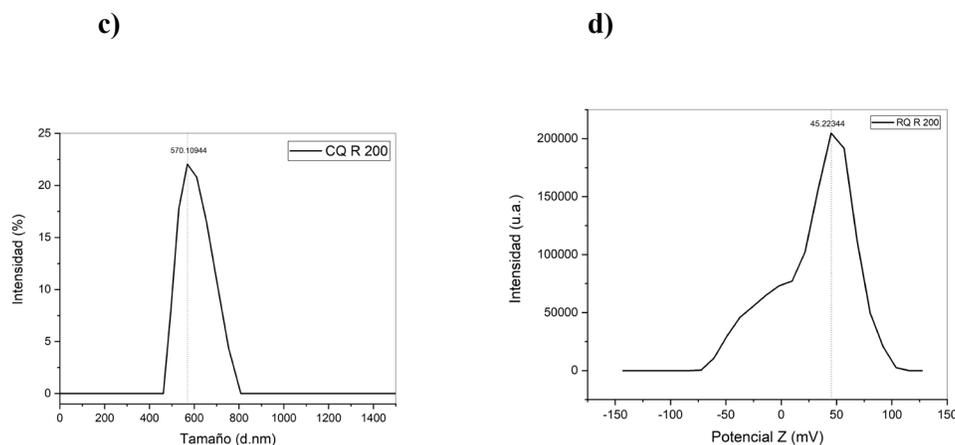


Figura 12. Distribución de tamaño de Fe_3O_4 sintetizadas mediante **a)** CQ 200 °C, **b)** RQ 200 °C, **c)** CQ recubierta 200 °C y **d)** RQ recubierta 200 °C

En la **Figura 12** se observa que la distribución de tamaño de partícula va disminuyendo cuando se cambia de síntesis a la misma temperatura y a su vez, va modificándose cuando se cambian las condiciones, es decir, cuando se recubren. Se puede obtener que 654.58 nm en CQ y 162.24 nm en RQ, esto nos podría explicar que las NPMs en CQ tienen una menor uniformidad en su distribución a comparación de RQ. [33] Así mismo, se observa que al recubrirse las NPMs se hacen más uniformes, sin embargo, en RQ se obtuvo que posiblemente el recubrimiento no fue tan uniforme. [34]

En relación con la distribución de las NPMs obtenidas por los dos tipos de síntesis obtuvimos lo mostrado en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Distribución de Fe_3O_4 a distintas temperaturas a dos síntesis con y sin recubrimiento

Síntesis	Temperatura (°C)	Tamaño (d.nm)
<i>Coprecipitación química</i>	120	2297.30962
	160	374.601
	200	654.58276
<i>Reducción química</i>	120	170.26904
	160	374.601
	200	162.2435
<i>Coprecipitación química recubierta</i>	120	152.12038
	160	325.76379
	200	570.10944
<i>Reducción química recubierta</i>	120	246.05563
	160	374.28181
	200	569.76744

En la **Tabla 3**, se percibe que en RQ se obtiene una mejor distribución de partícula a distintas temperaturas, mientras que en CQ se analiza que es menor uniforme. Sin embargo, al aumentar la temperatura de calcinación mejora la distribución de las NPMs. Cuando se recubren las NPMs el radio hidrodinámico mejora. Aunque el cambio es mínimo, se procedió a realizar estabilidad coloidal (**Figura 13**) para estudiar cómo influía esta distribución de partículas.

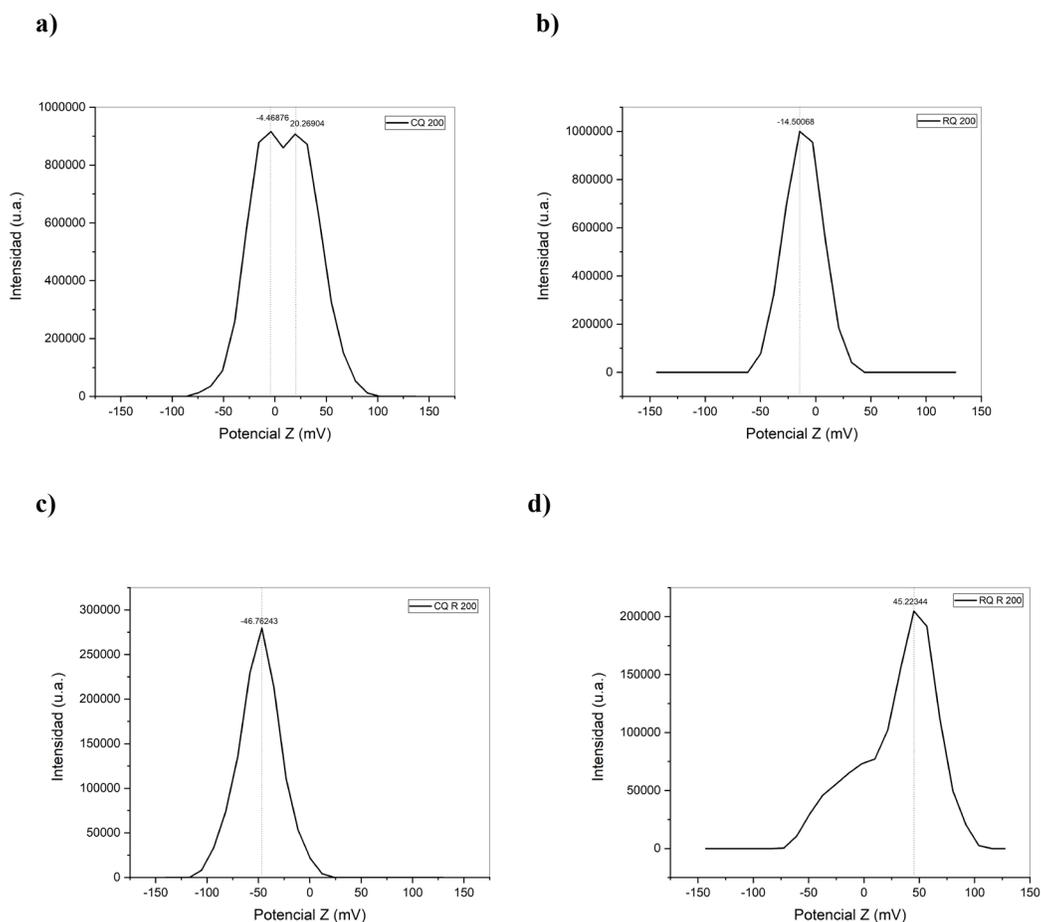


Figura 13. Estabilidad coloidal de NPMs **a)** CQ 200 °C, **b)** RQ 200 °C, **c)** CQ recubierta 200 °C y **d)** RQ recubierta 200 °C.

Como se puede analizar en la **Figura 13** la estabilidad coloidal de las NPMs es mejor cuando se recubren, en las NPMs sintetizadas con método CQ se ve un cambio considerable, dado que varía de 20.26 mV y -4.46 mV a -46.76 mV. Así mismo, se observa que en RQ la estabilidad coloidal cambia, pasando de -14.50 mV a 45.22 mV. En la **Tabla 4** se despliegan los valores obtenidos en las diferentes temperaturas de calcinación.

Tabla 4. Valores de potencial Zeta a distintas temperaturas

Síntesis	Temperatura (°C)	Potencial zeta (mV)
<i>Coprecipitación química</i>	120	6.39535
	160	3.11218
	200	-4.46876
<i>Reducción química</i>	120	7.02234
	160	-7.82034
	200	-14.50068
<i>Coprecipitación química recubierta</i>	120	-52.34838
	160	34.39352
	200	-46.76243

<i>Reducción química recubierta</i>	120	17.15686
	160	18.59325
	200	45.22344

Cuando se sintetizan las NPMs por CQ no se obtiene una buena estabilidad coloidal, en CQ 120 °C se obtiene un valor de 6.39535 mV que al aumentar la temperatura de calcinación mejora a 200 °C (Figura 13) con un valor de 20.26904 mV. Sin embargo, se obtienen valores inferiores de 30 mV, el cual es un indicativo de poca estabilidad coloidal [34]. En el valor de RQ a 120 °C se obtuvo una estabilidad coloidal de 7.02234 mV, pero al ser calcinadas a 160 °C se obtiene un valor de -7.82034 mV y en CQ 200 °C mejora ligeramente la estabilidad coloidal de -14.50068 mV, por lo que al comparar las dos síntesis CQ y RQ hay menor estabilidad en RQ. Sin embargo, cuando se recubren las NPMs (CQ y RQ), en CQ recubierta mejora la estabilidad coloidal cambiando de 6.39535 mV a -52.34838 mV, lo cual indica una buena estabilidad coloidal por lo que se puede inferir que el recubrimiento confirió estabilidad. No obstante, en RQ recubierta (120 °C y 160 °C) se observa que mejora la estabilidad coloidal, aunque al aumentar la temperatura mejora la estabilidad coloidal. [34]

Para analizar la magnetización de las NPMs se realizó Histéresis Magnética, se muestran los resultados en Figura 14a y Figura 14b.

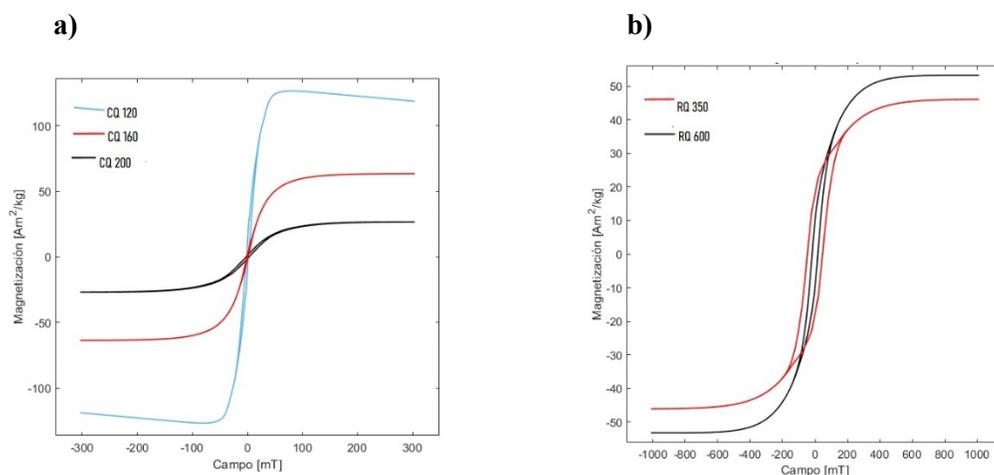


Figura 14. Curvas de magnetización de Fe_3O_4 a) CQ 120 °C, 160 °C y 200 °C; b) RQ 350 °C y 600 °C

En Figura 14a se observa que las NPs sintetizadas mediante CQ tienen un comportamiento superparamagnético porque ocurre un cambio magnético por una inversión del espín [35] cual nos puede indicar que hay presencia de NPs que ocasionan que las NPs tiendan a generar agregados, obteniéndose un comportamiento histérico. [36] En la Figura 14b se observa que las NPMs sintetizadas mediante RQ presentan bucles histéricos resultando un comportamiento ferromagnético con cambio en la magnetización paramagnética. [36]

Finalmente, en la caracterización fisicoquímica se realizó XRD para confirmar la presencia de la estructura cristalina correspondiente del material Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (Figura 15) y se compararon con los difractogramas de la base de datos de Materials Project (mp-19306, mp-716814).

Obteniéndose que en el material hay distintas fases cristalinas como magnetita, hematita, wüstita y hematita en distintos porcentajes, así como el tamaño de cristalito.

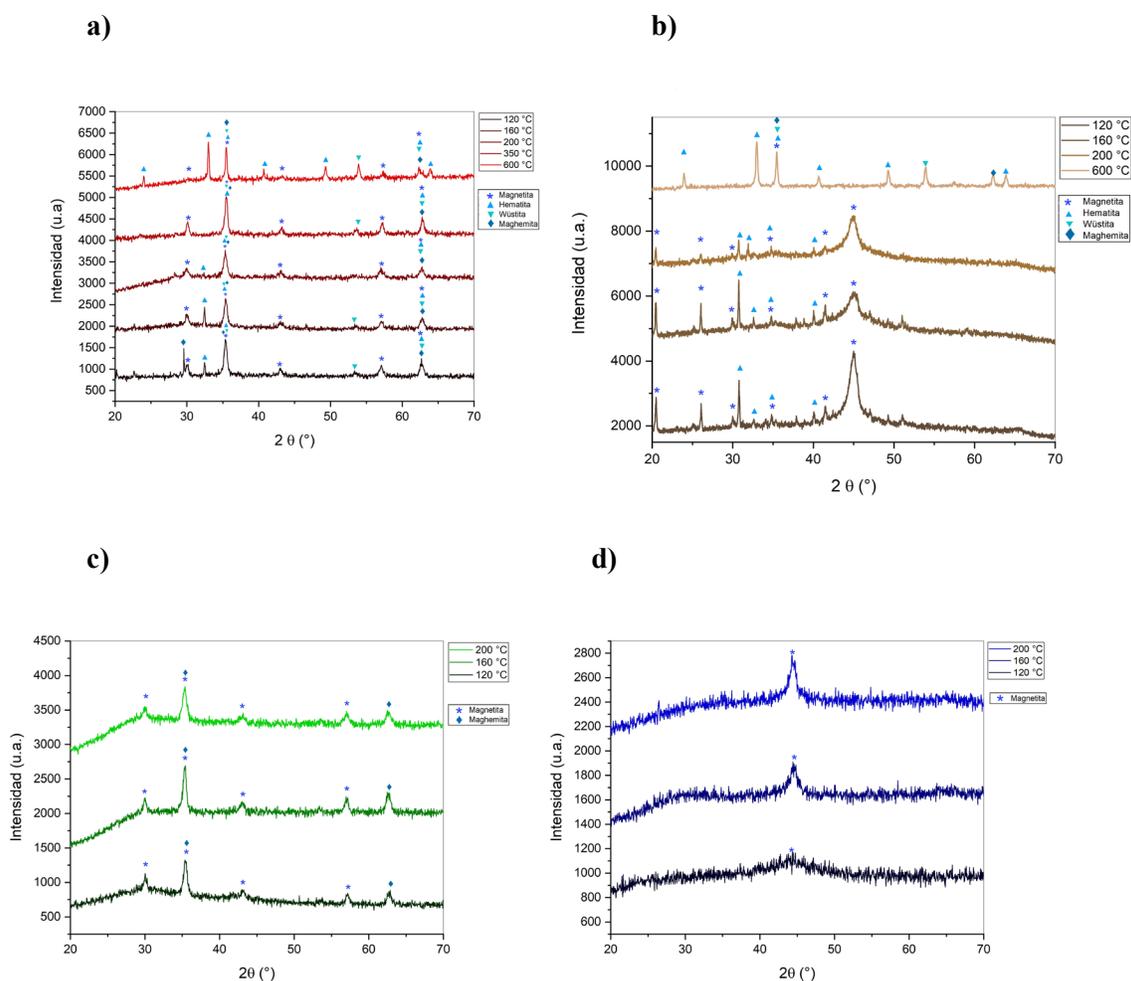


Figura 15. Difractogramas de Fe₃O₄ a) CQ; b) RQ; c) CQ R; d) RQ R

Para realizar el cálculo del tamaño de cristalito de cada una de las muestras se utilizó el método de Williamson-Hall y Debye-Scherrer. Resultando distintos tamaños de cristalito como se puede observar en **Tabla 5**.

Tabla 5. Tamaño de cristalito

Síntesis	Temperatura (°C)	Método	
		Debye-Scherrer (nm)	Williamson Hall (nm)
<i>Coprecipitación química</i>	120	21.95	19.19
	160	24.47	39.47
	200	17.77	31.6
	350	24.56	21.19
	600	32.61	86.04
<i>Reducción química</i>	120	89.74	91.12
	160	41.08	39.05
	200	33.61	35.67
	600	26.62	41.52

<i>Coprecipitación química recubierta</i>	120	11.45	5.82
	160	14.02	15.23
	200	21.69	155.43
<i>Reducción química recubierta</i>	120	1.56	
	160	6.98	
	200	7.88	

Los cristalitas de mayor tamaño se obtuvieron por coprecipitación química, esto podría deberse a la morfología amorfa con la que cuentan, como se observó en SEM (**Figura 9**). Por consiguiente, los valores de tamaño promedio de cristalitas más acertados son los calculados por Williamson-Hall, debido a que utiliza la regresión lineal del tamaño de los cristalitas. [32]

En la síntesis de reducción química se pueden ver pocas reflexiones con mayor intensidad, esto podría deberse a su morfología que se observó en TEM, por lo que las nanopartículas al tener forma de nanohilos es probable que crezcan orientados en una dirección, a diferencia de los aglomerados que crecen de forma desordenada.

Para el cálculo de las fases cristalinas (**Tabla 6**) se propuso utilizar la ecuación (1) para obtener un porcentaje de las distintas fases cristalinas, hay que resaltar que los porcentajes con la fórmula propuesta no son de cantidad de masa, sino con las intensidades que arrojaron los difractogramas. [36]

$$\% \text{ fase} = \frac{\text{Área de fase total}}{\text{Área de reflexiones total}} * 100$$

[1]

Tabla 6. Porcentajes de fases

Síntesis	Temperatura (°C)	Porcentaje de fase			
		Magnetita	Hematita	Wüstita	Maghemita
<i>Coprecipitación química</i>	120	74.94	5.17	4.69	15.16
	160	72.97	7.35	3.83	15.82
	200	82.13	-	-	17.86
	350	67.44	45.51	4.34	17.31
	600	32.15	41.93	13.04	12.85
<i>Reducción química</i>	120	91.1	8.89	-	-
	160	94.84	5.15	-	-
	200	94.04	5.95	-	-
	600	18.36	58.5	14.65	8.46
<i>Coprecipitación química recubierta</i>	120	85.06	-	-	14.93
	160	81.71	-	-	18.28
	200	79.26	-	-	20.73

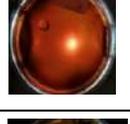
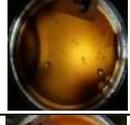
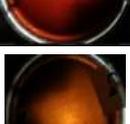
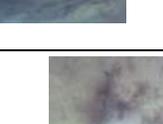
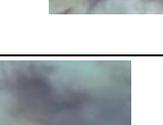
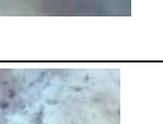
Las NPs sintetizadas por CQ en comparación con las sintetizadas por RQ obtuvieron mayor porcentaje de magnetita (**Tabla 6**), esto se le podría atribuir al uso de atmósfera inerte en la síntesis, esto ayudó a que el producto final tuviera menos tiempo de exposición a la oxidación a comparación de las de reducción química. Así mismo, comparando las NPs sintetizadas por CQ y RQ recubiertas se obtiene que en las de RQ al recubrirse se obtiene mayor porcentaje de magnetita a comparación de las sintetizadas por CQ recubiertas, esto podría deberse a la fórmula que se utilizó para calcular los

porcentajes de fases presentes en las nanopartículas, en la cual se basó de acuerdo con las reflexiones de las distintas fases.

La síntesis que mayor porcentaje de magnetita se obtuvo fue la de coprecipitación química, esto se podría atribuir a la atmósfera inerte que evitó que se oxidaran al momento de la síntesis. Los tamaños promedio de cristalitos de mayor tamaño se obtuvieron por coprecipitación química, esto podría deberse a la morfología amorfa con la que cuentan, como se observó en SEM y TEM. Por consiguiente, los valores de tamaño promedio de cristalitos más acertados son los calculados por Williamson-Hall, debido a que utiliza la regresión lineal de los cristalitos. [32] Algo importante a destacar también es que cuando se calculó el porcentaje aproximado de las fases cristalinas de acuerdo con las intensidades, en el ángulo de 35° y 62° se encontraban muy intensas y definidas, esto porque, corresponden a distintos planos de magnetita, hematita, wüstita y maghemita, lo que nos indica que las intensidades en estos ángulos no se le podría atribuir al cien por ciento a la magnetita. El método propuesto para el análisis de porcentaje de fase no podría indicarnos cuantitativamente que porcentaje específico de las diferentes fases se encuentra en las reflexiones de 35° y 62° . Al no tener una buena calidad cristalina como en las de coprecipitación química, las reflexiones que se observan son muy pequeñas que se podrían perder con el ruido que los difractogramas presentados. Con esto podemos conocer las características fisicoquímicas que nos servirán de base para comprender su comportamiento en las pruebas biológicas. A continuación, en **Tabla 7** se despliegan los valores de agar sangre y tinción de Perls.

4.2. Pruebas toxicológicas

Tabla 7. Resultados de agar sangre y tinción de Perls de NPMs obtenidas por CQ, RQ, CQ recubiertas y RQ recubiertas a concentración de 1 mg/mL

Síntesis	Temperatura (°C)	Concentración (mg/mL)	Valor	Resultado	Valor	Resultado
Control			Presencia de hemólisis γ		Ausencia Fe	
			Presencia de hemólisis β		Presencia Fe	
<i>Coprecipitación química</i>	120	<i>1</i>	*		Ausencia Fe	
	160		*		Presencia Fe	
	200		*		Presencia Fe	
	350		*		Presencia Fe	
	600		Presencia de hemólisis γ		Presencia Fe	
	<i>Reducción química</i>		120	*		Presencia Fe
160		Presencia de hemólisis γ		Presencia Fe		
200		*		Presencia Fe		
350		Presencia de hemólisis γ		Presencia Fe		
600		*		Presencia Fe		
<i>Coprecipitación química recubierta</i>		120	*		Ausencia Fe	
	160	*		Ausencia Fe		
	200	*		Presencia Fe		
	350	*		Presencia Fe		
	600	*		Presencia Fe		
	<i>Reducción química recubierta</i>	120	Presencia de hemólisis γ		Ausencia Fe	
160		Presencia de hemólisis γ		Presencia Fe		
200		Presencia de hemólisis γ		Presencia Fe		
350		Presencia de hemólisis γ		Presencia Fe		
600		*		Presencia Fe		

Los resultados que tienen (*) indican que no corresponden a algún tipo de hemólisis, estos resultados corresponden a una acumulación de las NPMs en el agar sangre

Comparando ambas síntesis sin recubrir se observa que hay mayor hemólisis gamma en los agares que interactuaron con nanopartículas sintetizadas por coprecipitación química que los de reducción química. Sin embargo, se observó mayor acumulación de nanopartículas magnéticas en los agares que interactuaron con nanopartículas magnéticas sintetizadas por método de reducción química, esto se podría deber a su poca estabilidad coloidal que presentan de acuerdo con lo analizado en Potencial Zeta. [47] En las dos síntesis recubiertas, se obtuvo que hay mayor acumulación de nanopartículas magnéticas en las sintetizadas por coprecipitación química que en las de reducción química, esto podría deberse a su morfología, que las nanofibras lograrían internalizarse. [47] pero en coprecipitación química recubierta y sin recubrir se observa que se obtuvo mayor acumulación en las nanopartículas recubiertas que en las no recubiertas y en reducción química recubierta y sin recubrir se observa que hay mayor hemólisis gamma en las recubiertas que en las no recubiertas y mayor acumulación en las no recubiertas, esto podría deberse a que con el recubrimiento lograrían ser más biocompatibles, permitiendo su absorción sin causar un daño aparente.

Así mismo, las nanopartículas magnéticas (NPMs) en ambas síntesis se acumularon en la superficie de los agares sangre, obteniéndose así dos posibles resultados acumulación ó hemólisis gamma, es decir, que no se observó hemólisis tipo alfa o beta causado por las NPMs, por lo que se si bien el uso de agar sangre ha sido utilizado a lo largo de la historia para pruebas bacterianas en 2018 Khan *et al.*, utilizaron agar sangre para estudiar la hemólisis de AuNPs (Nanopartículas de Oro) en donde no obtuvieron biocompatibilidad. [49]

Estos resultados de acumulación en la superficie podrían deberse a que son materiales que tienden a la aglomeración de acuerdo con los resultados observados en potencial zeta, así como del tamaño de cristalito y de las fases presenten en las NPMs, el daño y la bioacumulación no se podría atribuir cien por ciento a la magnetita porque hay otras fases de hierro y en distintos porcentajes como se analizó en XRD.

Comparando las dos síntesis se obtuvo que las nanopartículas con mayor presencia de hierro en superficie son las sintetizadas por coprecipitación química. Así mismo en coprecipitación química tanto recubiertas y no recubiertas, se obtuvo una mayor presencia de hierro en las NPMs no recubiertas. Las nanopartículas recubiertas y no recubiertas de reducción química se observaron que hay mayor presencia de hierro en las nanopartículas no recubiertas que en las recubiertas.

La tinción de Perls fue útil para corroborar que hubiera hierro en los agares una vez pasado el tiempo de interacción con las NPMs. Sin embargo, aunque se observó en los resultados de agar presencia de bioacumulación de NPMs en la superficie, al realizar tinción de Perls no en todos los casos dio positivo a esta prueba y esto podría ser resultado que cuando se realizaban los raspados de agar para colocarlos en el portaobjetos pudieran quedarse en las espátulas con las que se realizaban.

Conclusiones

Las NPMs cambian sus propiedades fisicoquímicas son diferentes cuando se cambia el método de síntesis, esto quiere decir, que la morfología cambia, esto porque se tienen diferentes reactivos, lo que les confiere propiedades diferentes, como lo es la morfología, cristalinidad, tamaño promedio de cristalito y magnetismo, estas propiedades a su vez se ven modificadas por la temperatura de calcinación; por lo observado en XRD a menores temperaturas se obtiene mayor porcentaje de magnetita.

La disminución de la cantidad de magnetita con el aumento de la temperatura de calcinación se ve afectada por la oxidación que se provoca en la magnetita, lo que provoca que se generen otras fases cristalinas (wüstita, hematita y maghemita).

De igual forma al modificar la síntesis, su comportamiento magnético también se ve afectado, en CQ se obtuvo un comportamiento superparamagnético, esto por la presencia de NPs que tienden a la aglomeración, mientras que en la síntesis de RQ tienen un comportamiento ferromagnético, lo cual genera cambios en la estabilidad coloidal, mientras que en CQ se obtiene una mejor estabilidad coloidal, en RQ se ve afectada esta estabilidad coloidal. Así mismo, en ambas síntesis al recubrirlas se obtuvo mejor estabilidad coloidal.

En los análisis de agar sangre se obtuvo mayormente acumulación de NPMs en la superficie de los agares y hemólisis gamma, la cual es un indicativo de ausencia de hemólisis. Esto se pudo deber a algunos factores como que agar sangre no es propiamente una técnica de análisis toxicológico, lo cual no colaboró con una interacción más directa con la sangre ovina. Dado que agar sangre no es propiamente una prueba utilizada en nanotecnología, dado que aún se están construyendo protocolos para poder discernir la toxicidad, la nanotecnología al ser una ciencia relativamente nueva aún se encuentra en investigación para estandarizar protocolos que permitan conocer los daños presentes y futuros al utilizar NPMs. Sin embargo, al proponer una alternativa *in vitro*, se pudo obtener que no es una técnica que se pudiera utilizar para trabajos futuros. De igual forma, en la tinción de Perls se obtuvieron en su mayoría exceso de hierro, esto pudiera deberse a que las NPMs se bioacumularon en la superficie, porque al realizar la tinción de Perls reaccionó con las NPMs de la superficie, generando una colocación azul.

Perspectivas

Con lo obtenido en la investigación realizada, se propone que el trabajo continúe para cubrir aspectos restantes, tales como:

- Cambiar la metodología de análisis para discernir hemólisis. Se propone poner en contacto directo las NPMs con la sangre a concentraciones mayores de NPMs.
- En el método de síntesis de RQ se propone utilizar atmósfera inerte como en el caso de CQ para mejorar la calidad cristalina.
- Una vez realizada la interacción de las NPMs con la sangre realizar una prueba de ferritina para cuantificar el exceso de hierro en la sangre y de esta forma establecer parámetros.

Bibliografía

1. Qamar, S. A., Asgher, M., Khalid, N., & Sadaf, M. (2019). Nanobiotechnology in health sciences: Current applications and future perspectives. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101388–101420. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101388>
2. *What is Nanomedicine - Revolutionizing Medicine*. (2021). Precision Nanosystems. <https://www.precisionnanosystems.com/resources-and-community/what-is-nanomedicine>
3. Guo, T., Lin, M., Huang, J., Zhou, C., Tian, W., Yu, H., Jiang, X., Ye, J., Shi, Y., Xiao, Y., Bian, X., & Feng, X. (2018). The Recent Advances of Magnetic Nanoparticles in Medicine. *Journal of Nanomaterials*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/7805147>
4. Rodríguez Patarroyo D.J., Roa Barrantes L.M., Pantoja Benavides F. (2019, julio). Efecto del campo magnético en la trayectoria de nanopartículas magnéticas en flujo sanguíneo, un modelo computacional. 17th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology. 1-4. http://laccei.org/LACCEI2019-MontegoBay/student_papers/SP527.pdf
5. Gregorio-Jáuregui, K., Rivera-Salinas, J., Saade-Caballero, H., López-Campos, R., Martínez- Hernández, J., & Llina, A. (2020). Las nanopartículas magnéticas y sus múltiples aplicaciones. Universidad Autónoma de Coahuila.
6. Hoffman, M. (2019, 18 mayo). Human Anatomy: Blood - Red and White Cells, Plasma, Circulation, and More. WebMD. <https://www.webmd.com/heart/anatomy-picture-of-blood>
7. Cruz, G. G. D. L., Rodríguez-Fragoso, P., Reyes-Esparza, J., Rodríguez-López, A., Gómez- Cansino, R., & Rodríguez-Fragoso, L. (2018). Interaction of Nanoparticles with Blood Components and Associated Pathophysiological Effects. *Unraveling the Safety Profile of Nanoscale Particles and Materials - From Biomedical to Environmental Applications*, 37-59. DOI: 10.5772/intechopen.69386
8. Científicos rusos usan imanes y nanopartículas magnéticas para detener hemorragias internas. (2018, 3 abril). N+I: artículos científicos, noticias de ciencia, cosmos, gadgets, tecnología. <https://nmas1.org/news/2018/04/03/nanoparticulas-hemorragia>
9. Shen, C.-C., H. Liang, C.-C. Wang, M. Liao y T.-R. Jan. 2011. A role of cellular glutathione in the differential effects of iron oxide nanoparticles on antigen-specific T cell cytokine expression. *International Journal of Nanomedicine*, 6: 2791–8. DOI: 10.2147/IJN.S25588.
10. Gregorio-Jáuregui, K., Rivera-Salinas, J., Saade-Caballero, H., López-Campos, R., Martínez- Hernández, J., & Llina, A. (2020). Las nanopartículas magnéticas y sus múltiples aplicaciones. Universidad Autónoma de Coahuila
11. Schwertmann, U.; Cornell, R. M. *The Iron Oxides in the Laboratory: preparation and characterization*, 2th ed. Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, 2000; pp. 32, 113
12. Mangaiyarkarasi, R., Chinnathambi, S., Karthikeyan, S., Aruna, P., & Ganesan, S. (2016). Paclitaxel conjugated Fe₃O₄@LaF₃:Ce³⁺,Tb³⁺ nanoparticles as bifunctional targeting carriers for Cancer theranostics application. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 399, 207–215. doi:10.1016/j.jmmm.2015.09.084
- 13 An, J., Zhang, X., Guo, Q., Zhao, Y., Wu, Z., & Li, C. (2015). Glycopolymer modified magnetic mesoporous silica nanoparticles for MR imaging and targeted drug delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 482, 98–108. doi:10.1016/j.colsurfa.2015.04.035

14. Malhotra, N., Lee, J., Liman, R. A. D., Ruallo, J. M. S., Villaflores, O. B., Ger, T., & Hsiao, C. (2020). Potential toxicity of iron oxide magnetic Nanoparticles: A review. *Molecules*, 25(14), 3159. <https://doi.org/10.3390/molecules25143159>
15. Majee, S., & Shit, G. C. (2020). Modeling and simulation of blood flow with magnetic nanoparticles as carrier for targeted drug delivery in the stenosed artery. *European Journal of Mechanics - B/Fluids*. doi:10.1016/j.euromechflu.2020.04.004
16. Abu-Hamdeh, N. H., Bantan, R. A. R., Aalizadeh, F., & Alimoradi, A. (2020). Controlled drug delivery using the magnetic nanoparticles in non-Newtonian blood vessels. *Alexandria Engineering Journal*. doi:10.1016/j.aej.2020.07.010
17. S.J. Schneider, *Engineered Materials Handbook: Ceramics and Glasses*, ASM International, Materials Park, OH, 1991.
18. Guo, L., Liu, G., Hong, R. Y., Li, H. Z., *Marine Drugs*, 2010, 8, 2212-222.
19. Chaudhary, V., & Chaudhary, R. (2018). *Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Functionalization, and Applications* (Vol. 28). American Scientific Publishers. https://www.researchgate.net/publication/329774276_Magnetic_Nanoparticles_Synthesis_Functionalization_and_Applications
20. Toyos Rodríguez, Celia (2019). Nanopartículas magnéticas en biomedicina (Tesis de maestría). Universidad de Oviedo, España. Recuperado de: https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/51714/TFM_CeliaToyosRodriguez.pdf?sequence=3&isAllowed=y
21. (era la 27 en protocolo) *Stea, M. (2020, enero 9). Óxido de silicio (SiO2): estructura, propiedades, usos, obtención. Lifeder. https://www.lifeder.com/oxido-de-silicio/*
22. Schafer, F. Q., S. Y. Qian y G. R. Buettner. 2000. Iron and free radical oxidations in cell membranes. *Cell. Mol. Biol.*, 46: 657–662.
- 23 Sans-Sabrafen, J., Raebel, C. B., & Corrons, J. L. V. (2006). *Hematología clínica* (4.a ed.). Elsevier Gezondheidszorg.
24. Buxton, R. (2005, 30 septiembre). Blood Agar Plates and Hemolysis Protocols. American Society for Microbiology. <https://asm.org/getattachment/7ec0de2b-bb16-4f6e-ba07-2aea25a43e76/protocol-2885.pdf>
25. Savardi, M., Ferrari, A., & Signoroni, A. (2018). *Automatic hemolysis identification on aligned dual-lighting images of cultured blood agar plates. Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 156, 13–24. doi:10.1016/j.cmpb.2017.12.017
26. Fissan, H.; Ristig, S.; Kaminski, H.; Asbacha, C.; Epple, M. Comparison of different characterization methods for nanoparticle dispersions before and after aerosolization. *Anal. Methods* 2014, 6, 7324.
27. Modabber, G., Sepahi, A. A., Yazdian, F., & Rashedi, H. (2020). *Surfactin production in the bioreactor: Emphasis on magnetic nanoparticles application. Engineering in Life Sciences*. doi:10.1002/elsc.201900163
28. Crudo, C., Erramouspe, B., Sueldo, E., & Arias, M. (2016, 28 abril). Tinción de hierro medular. *Coloración de Perls. LABORATORIO EN HEMATOLOGÍA*, 20(2). <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/14%20vol%2020%20N2%20%202016.pdf>
29. de Santiago Colín, D. M., Martínez-Chávez, L. A., Cuán, A., Elizalde-Peña, E. A., Rivera, J. A., Guzmán, C., Escobar-Alarcón, L., & Esquivel, K. (2018). Sonochemical coupled synthesis of Cr-TiO₂ supported on Fe₃O₄ structures and chemical simulation of the degradation mechanism of Malachite Green dye. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 364, 250-261. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2018.06.004

30. Ankamwar, B., & Thorat, A. (2013). Rod-Shaped Magnetite Nano/Microparticles Synthesis at Ambient Temperature. *Journal of Chemistry*, 2013, 1–6. doi:10.1155/2013/537976
31. Britania Lab. (s. f.). Sangre Agar Base. Britania. Recuperado 1 de febrero de 2022, de <https://www.britaniainlab.com/back/public/upload/productos/upl\ 5b6b262facd0e.pdf>
32. Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). *Methods for characterization of nanoparticles. Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, 43–58. doi:10.1016/b978-0-08-100557-6.00003-1
33. Li, Y., & Shen, W. (2014). Morphology-dependent nanocatalysts: Rod-shaped oxides. *Chem. Soc. Rev.*, 43(5), 1543–1574. doi:10.1039/c3cs60296f
34. Tauxe, L., Mullender, T. A. T., & Pick, T. (1996). Porbellies, was-waists, and superparagnetism in magnetic hysteresis. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, 101(B1), 571–583. <https://doi.org/10.1029/95jb03041>
35. Xiao, Y., & Du, J. (2019). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*.
36. Paterson, G. A., Zhao, X., Jackson, M., & Heslop, D. (2018). Measuring, Processing, and Analyzing Hysteresis Data. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 19(7), 1925–1945. <https://doi.org/10.1029/2018gc007620>
37. Himabindu, B., Latha Devi, N. S. M. P., & Rajini Kanth, B. (2021). *Microstructural parameters from X-ray peak profile analysis by Williamson-Hall models; A review. Materials Today: Proceedings*. doi:10.1016/j.matpr.2021.06.256
38. Werkman, C.H (1930). An improved technic for Voges-Proskauer Test. *Sociedad Estadounidense de Microbiología*, 121–125. <https://journals.asm.org/journal/jb.20.2.121-125.1930.pdf>
39. Iida, H., Takayanagi, K., Nakanishi, T., & Osaka, T. (2007). *Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with various sizes and magnetic properties by controlled hydrolysis. Journal of Colloid and Interface Science*, 314(1), 274–280. doi:10.1016/j.jcis.2007.05.047
40. Múzquiz-Ramos, E. M., Guerrero-Chávez, V., Macías-Martínez, B. I., López-Badillo, C. M., & García-Cerda, L. A. (2015). *Synthesis and characterization of maghemite nanoparticles for hyperthermia applications. Ceramics International*, 41(1), 397–402. doi:10.1016/j.ceramint.2014.08.083
41. Fuentes-García, J. A., Alavarse, A. C., de Castro, C. E., Giacomelli, F. C., Ibarra, M. R., Bonvent, J.-J., & Goya, G. F. (2021). *Sonochemical route for mesoporous silica-coated magnetic nanoparticles towards pH-triggered drug delivery system. Journal of Materials Research and Technology*, 15, 52–67. doi:10.1016/j.jmrt.2021.08.014
42. Tkeshelashvili, L. K., Tsakadze, K. J., & Khulusauri, O. V. (1989). *Effect of some nickel compounds on red blood cell characteristics. Biological Trace Element Research*, 21(1), 337–342. doi:10.1007/bf02917273
43. Özçelik, S., Yalçın, B., Arda, L., Santos, H., Sáez-Puche, R., Angurel, L. A., ... Özçelik, B. (2021). *Structure, magnetic, photocatalytic and blood compatibility studies of nickel nanoferrites prepared by laser ablation technique in distilled water. Journal of Alloys and Compounds*, 854, 157279. doi:10.1016/j.jallcom.2020.157279
44. Bacterial reverse mutation test ASTM-F756-00 (2013) Standard practice for assessment of hemolytic properties of materials
45. Medina-Ramírez, I. E., Díaz de León-Macias, C. E., Pedroza-Herrera, G., Gonzáles-Segovia, R., Zapien, J. A., & Rodríguez-López, J. L. (2020). *Evaluation of the biocompatibility and growth inhibition of bacterial*

biofilms by ZnO, Fe₃O₄ and ZnO@Fe₃O₄ photocatalytic magnetic materials. *Ceramics International*. doi:10.1016/j.ceramint.2019.12.145

46. Xie, Y., Guan, Z., Cheng, J., Zhou, Y., & Yan, M. (2020). Competition between Al(III) and Fe(III) for Binding onto Natural Organic Matter: In situ Monitoring by UV-Vis Absorbance Spectroscopy. *Chemosphere*, 128655. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128655

47. Akhtar, K., Khan, S. A., Khan, S. B., & Asiri, A. M. (2018). Scanning Electron Microscopy: Principle and Applications in Nanomaterials Characterization. *Handbook of Materials Characterization*, 113–145. doi:10.1007/978-3-319-92955-2_4

48. Goldstein, J. K., & Yakowitz, H. (1975). Practical scanning electron microscopy: Electron and ion microprobe analysis (p. 582). New York: Plenum Press.

49. Khan, A., Khan, T. H., Ahamed, M., El-Toni, A. M., Aldalbahi, A., Alam, J., & Ahamad, T. (2018). Temperature-Responsive Polymer MicroGel-Gold NanoRods Composite Particles: Physicochemical characterization and cytocompatibility. *Polymers*, 10(1), 99. <https://doi.org/10.3390/polym10010099>

50. Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Echlin, P., & Joy, D. C. (1992). Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis (2nd ed.). New York: Plenum Press.

51. Brabazon, D., & Raffer, A. (2010). 3 – advanced characterization techniques for nanostructures. In W. Ahmed & M. J. Jackson (Eds.), *Emerging nanotechnologies for manufacturing* (pp. 59–91). Boston: William Andrew Publishing.

52. McMahon, G. (2007). Analytical instrumentation: A guide to laboratory, portable and miniaturized instruments (1st ed.p. 296). Chichester: Wiley

53. Alyamani, A., & Lemine, O. M. (2012). FE-SEM characterization of some nanomaterial. In V. Kazmiruk (Ed.), *Scanning electron microscopy*. InTech. London

54. Bondeson, D. (2007). Biopolymer-based nanocomposites: Processing and properties. In Department of engineering design and materials (p. 114). Trondheim: Norwegian University of Science and Technology.

55. jove.com. (2012). *Scanning Electron Microscopy (SEM)*. JoVe. Recuperado 16 de junio de 2022, de <https://www.jove.com/es/v/5656/scanning-electron-microscopy-sem?language=Spanish>

56. G. V Lowry, R.J. Hill, S. Harper, A.F. Rawle, C.O. Hendren, F. Klaessig, U. Nobbmann, P. Sayre, J. Rumble, Guidance to improve the scientific value of zeta-potential measurements in nanoEHS, *Environ. Sci. Nano*. 3 (2016) 953–965.

57. S. Bhattacharjee, DLS and zeta potential–what they are and what they are not?, *J. Control. Release*. 235 (2016) 337–351.

58. Paterson, G. A., Zhao, X., Jackson, M., & Heslop, D. (2018b). Measuring, Processing, and Analyzing Hysteresis Data. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 19(7), 1925–1945. <https://doi.org/10.1029/2018gc007620>

59. Zachariasen, W. H. (1967). A general theory of X-ray diffraction in crystals. *Acta Crystallographica*, 23(4), 558–564. <https://doi.org/10.1107/s0365110x67003202>

60. Nidhi, Shalini Dubey, Arpit Swarup Mathur, B.P. Singh, Devendra Kumar, Estimation of Elastic Properties of Zinc Oxide Nanomaterial using Williamson Hall Method, *Journal of Nanoscience and Technology, J. Nanosci. Tech.* – Vol. 5 no. 2, (2019), pp 666–668.

61. Manju Kurian, Christy Kunjachan, Investigation of size dependency on lattice strain of nanoceria particles synthesised by wet chemical methods, *Int Nano Lett* 4 (4) (2014) 73–80.

62. E. F. Bertaut. An alternative approach to the quantitative determination of grain-size distribution in X-ray diffraction A comment E F. Bertaut, *Acta Cryst.* 39 5 1983 818 819 10.1107/S0108767383001609
63. Bindu, P., & Thomas, S., Estimation of lattice strain in ZnO nanoparticles: X-ray peak profile analysis *Journal of Theoretical and Applied Physics*, Vol.8, no. 4, (2014), pp 123–134.
64. K. Venkateswarlu, D. Sreekanth, M. Sandhyarani, V. Muthupandi, A. C. Bose, and N. Rameshbabu, X-Ray Peak Profile Analysis of Nanostructured Hydroxyapatite and Fluorapatite, *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 2, No. 6, (2012), pp. 389-393
65. R. Srinivasan, n. Rajeswari yogamalar, r. Justin joseyphus and a. Chandra bose, Estimation of lattice strain, stress, energy density and crystallite size of the spherical yttrium oxide nanoparticles, *functional Materials Letters*, Vol. 2, No. 3, (2009), pp 131–134.
66. S. Shanmugan, N. Saravanan, V. Chithambaram, B. Deepanraj, G. Palani, Investigation on single crystal by tartaric acid–barium chloride: growth and characterization of novel NLO materials, *Bull. Mater. Sci.* 43 (1) (2020) 202.
67. K. Venkateswarlu, A. Chandra Bose, N. Rameshbabu, X-ray peak broadening studies of nanocrystalline hydroxyapatite by Williamson-Hall analysis, *Phys. B* 405 (20) (2010) 4256–4261.
68. P.M. Kibasomba, S. Dhlamini, M. Maaza, C.-P. Liu, M.M. Rashad, D.A. Rayan, B. W. Mwakikunga, Strain and grain size of TiO₂ nanoparticles from TEM, Raman spectroscopy and XRD: The revisiting of the Williamson-Hall plot method, *Results Phys.* 9 (2018) 628–635.
69. Ahmad Monshi, Mohammad Reza Foroughi, Mohammad Reza Monshi, Modified Scherrer Equation to Estimate More Accurately Nano-Crystallite Size Using XRD, *World Journal of Nano Science and Engineering*, (2012) 2, 154- 160.
70. J.I. Langford, A.J.C. Wilson, Scherrer after sixty years: A survey and some new results in the determination of crystallite size, *J. Appl. Crystallogr.* 11 (2) (1978) 102–113, <https://doi.org/10.1107/s0021889878012844>.
71. Mustapha, S., Ndamitso, M. M., Abdulkareem, A. S., Tijani, J. O., Shuaib, D. T., Mohammed, A. K., & Sumaila, A. (2019). *Comparative study of crystallite size using Williamson-Hall and Debye-Scherrer plots for ZnO nanoparticles. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 10(4), 045013. doi:10.1088/2043-6254/ab52f7
72. Werkman, C. H. (1930). An improved technic for the Voges-Proskauer test. *Journal of Bacteriology*, 20(2), 121-125.
73. Grigorov, E.; Kirov, B.; Marinov, M.B.; Galabov, V. Review of Microfluidic Methods for Cellular Lysis. *Micromachines* 2021, 12, 498. <https://doi.org/10.3390/mi12050498>
74. Zhou, Y., Basu, S., Laue, E.D. et al. Dynamic monitoring of single cell lysis in an impedance-based microfluidic device. *Biomed Microdevices* 18, 56 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10544-016-0081-z>
75. Chen, X., Cui, D., Liu, C., & Cai, H. (2006). Microfluidic Biochip for Blood Cell Lysis. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 34(11), 1656–1660. doi:10.1016/s1872-2040(07)60017-6
76. Kirschvink, J. L., Kobayashi-Kirschvink, A., & Woodford, B. J. (1992). Magnetite biomineralization in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(16), 7683-7687. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.16.7683>
77. Sant’Ovaia, H., Marques, G., Santos, A. et al. Magnetic susceptibility and isothermal remanent magnetization in human tissues: a study case. *Biometals* 28, 951–958 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10534-015-9879-z>

76. Mahmoudi, M., Simchi, A., Imani, M., Shokrgozar, M. A., Milani, A. S., Häfeli, U. O., & Stroeve, P. (2010). A new approach for the in vitro identification of the cytotoxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 300-309. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.08.044>
77. Shehadul Islam, M., Aryasomayajula, A., & Selvaganapathy, P. (2017). A Review on Macroscale and Microscale Cell Lysis Methods. *Micromachines*, 8(3), 83. <https://doi.org/10.3390/mi8030083>
78. Seo, H., Choi, H., Park, J., Park, J., & Lee, I. M. (2017). Crack Detection in Pillars Using Infrared Thermographic Imaging. *Geotechnical Testing Journal*, 40(3), 20150245. <https://doi.org/10.1520/gtj20150245>
79. Wallyn, Anton, & Vandamme. (2019). Synthesis, Principles, and Properties of Magnetite Nanoparticles for In Vivo Imaging Applications—A Review. *Pharmaceutics*, 11(11), 601. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110601>

A.1. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Los ojos humanos tienen algún límite y son capaces de resolver dos puntos que están a 0.2 mm entre sí, lo que se denomina poder de resolución del ojo humano. Sin embargo, mediante la adición de una lente o un grupo de lentes (ojo asistido), el ojo humano está capacitado para una alta resolución y puede resolver los dos puntos que están más cerca de 0.1-0.2 mm entre sí. Todo lo que esté por debajo de 0.1-0.2 mm requiere algún tipo de aumento; por lo tanto, para superar estas limitaciones de la vista humana, el microscopio fue desarrollado y como una herramienta de aumento eficaz. El microscopio tiene una resolución mucho mayor y se ha utilizado como una poderosa herramienta para estudiar y caracterizar una amplia gama de materiales. [50]

El SEM es un instrumento avanzado y versátil que se emplea en gran medida para observar los fenómenos superficiales de los materiales. La muestra se dispara en un SEM utilizando electrones de alta energía, y se analizan los electrones/rayos X salientes. Estos electrones/rayos X salientes proporcionan información sobre la topografía, la morfología, la composición, orientación de los granos, información cristalográfica, etc. de un material. La morfología indica la forma y el tamaño, mientras que la topografía indica las características de la superficie de un objeto o "su aspecto", su textura, suavidad o rugosidad. Asimismo, la composición significa los elementos y compuestos que constituyen el material, mientras que la cristalografía significa la disposición de los átomos en los materiales. El SEM es el aparato líder que es capaz de lograr una imagen visual detallada de una partícula con una alta calidad y una resolución espacial de 1 nm. [51-53]

Los aumentos de este tipo de aparatos pueden llegar a ser de hasta 300.000 veces por lo que el SEM se utiliza sólo para visualizar imágenes de la superficie de un material y no da ninguna información interna. [57] Sin embargo, se sigue considerando como un potente instrumento que puede utilizarse para caracterizar características cristalográficas, magnéticas y eléctricas de la muestra y para determinar si cambios morfológicos de la partícula después de modificar la superficie de la muestra con otras moléculas. [54] El SEM es capaz de proporcionar varias informaciones cualitativas de la muestra, incluyendo su topografía, morfología, composición e información cristalográfica. En otras palabras, proporciona información sobre las características de la superficie y la textura, la forma, el tamaño y la disposición de las partículas que se encuentran en la superficie de la muestra. El tipo de elementos y compuestos de la muestra y sus proporciones relativas, así como la disposición de los átomos en las partículas monocristalinas de los átomos en las partículas de un solo cristal y su grado de orden. [54-57]

Fundamento

El SEM dispone de un portamuestras específico en el que se debe fijar el trozo que contiene la muestra en la superficie. Generalmente, se utiliza una llave de carbón para pegar la muestra. En primer lugar, debe fijarse una llave de carbono de dos caras en el soporte y, a continuación, se colocará una fina capa de material en la llave de carbono. una capa delgada o una pequeña cantidad de material, porque la capa delgada se adhiere correctamente a la toma de carbono, lo que reduce el problema de la carga y ayuda a obtener una buena imagen. Algunos requisitos son necesarios cuando se realiza análisis de SEM. Además, cuando se utiliza el SEM, las muestras tienen que ser eléctricamente conductoras para evitar la sobrecarga en la superficie. Esta sobrecarga puede introducir un brillo extremo y unas imágenes pobres. Por ello, las muestras no conductoras, como los polímeros se suelen recubrir con sputter [58] con una fina capa de carbono [59] o metal que refleja fácilmente los electrones y

proporciona una superficie conductora para los electrones, por ejemplo, el oro y el platino. [60, 62] Los materiales no conductores deben ser pulverizados para reducir el problema de la carga. A continuación, el trozo de cubierta de la muestra se fijará en él y se colocará en la cámara de muestras. En contraste con el TEM, las muestras relativamente gruesas pueden ser examinadas por microscopía electrónica de barrido. [53]

El instrumento SEM se basa en el principio de que los electrones primarios liberados de la fuente proporcionan energía a los electrones atómicos de la muestra que pueden ser liberados como electrones secundarios (ES) y una imagen puede ser formada recogiendo estos electrones secundarios de cada punto de la muestra, el requisito básico para que el SEM funcione bajo vacío para evitar las interacciones de los electrones con las moléculas de gas para obtener una alta resolución. Además, los electrones primarios producidos y emitidos por el cañón de electrones se aceleran mediante el calentamiento o aplicando alta energía en el rango de 1-40 keV. [55, 57] Estos electrones emitidos se concentran y confinan en un haz monocromático (con un diámetro de 100 nm o menos) mediante lentes de campo magnético y rendijas metálicas dentro de una columna vacía. Los electrones primarios confinados se escanean a través de la superficie de la muestra mediante bobinas de barrido en un patrón de trama patrón. [58, 59]

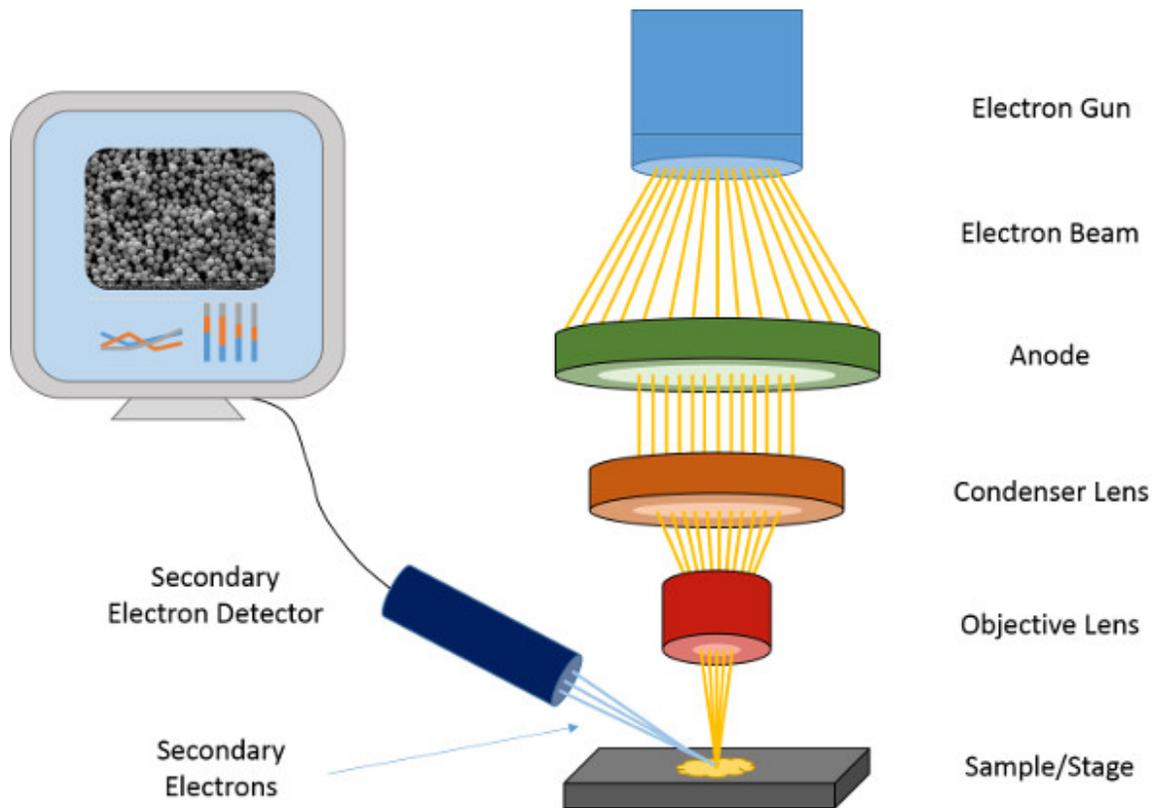


Figura 16. Funcionamiento de SEM [59]

A.2. Potencial Zeta

Es una medida de la estabilidad de una partícula e indica el potencial que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula para desestabilizarla. Por lo tanto, el potencial zeta es la potencia electrostática que existe entre la separación de las capas que rodean a la partícula. El desarrollo de una red de carga eléctrica en la superficie de la partícula puede afectar la distribución

de iones en una región interfacial vecina, y provocar un aumento de la concentración de iones contados (iones de carga contraria a las partículas) cerca de la superficie. Cada partícula dispersa en una solución se rodea de iones cargados con carga opuesta que se denomina capa fija. Fuera de esta capa fija, existen distintas composiciones de iones de polaridad opuesta, formando un área nebulosa. De esta manera se crea una capa doble eléctrica en la región de interfase partícula- líquido. [63] La capa doble consiste en dos partes: una región interna que incluyen iones unidos fuertemente a la superficie y una externa, o región de difusión donde la distribución de iones se determina por un balance de fuerzas electrostáticas y movimiento termal aleatorio. [64]

El potencial zeta es una función de la superficie cargada de una partícula, cualquier capa adsorbida en la interfase y la naturaleza y composición del medio en el que la partícula está suspendida. El potencial zeta puede calcularse con la fórmula de Smoluchowski's

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{\epsilon} x U x 300 x 300 x 1000 \quad (3)$$

Donde ζ es el potencial zeta en mV, η la viscosidad de la solución, ϵ es la constante dieléctrica, $U = \frac{v}{L}$ es la movilidad dieléctrica, v es la velocidad de la partícula (cm/sec), V es el voltaje en volts y L la distancia del electrodo. Así mismo, para continuar con el análisis de la estabilidad de las nanopartículas se procedió a calcular el radio dinámico de los mismos.

A.3. Histéresis Magnética

Sirve para conocer la tendencia de un material a conservar su magnetismo en ausencia de un estímulo que genera dicho comportamiento. El análisis de la susceptibilidad magnética nos sirve para conocer la sensibilidad magnética de un material cuando se ve influenciado por un campo magnético externo. Para conocer el comportamiento de dichos materiales, se hace medición de un bucle de histéresis magnética, la cual comienza por saturar el momento magnético (M) de una muestra en un gran campo positivo o negativo (B). Por lo que cuando en un bucle de histéresis magnética tiene picos en los que se observe un aumento en la magnetización del material se puede atribuir a partículas de menor tamaño. [65] Entonces para realizar la medición de un bucle de histéresis magnética se comienza a saturar primero el momento magnético (M) de una muestra en un gran campo positivo (o negativo) (B). La intensidad del campo se reduce hasta cero y se aumenta en la dirección opuesta hasta la saturación negativa (o positiva). Finalmente, el campo se barre de nuevo hasta la saturación positiva (o negativa) para completar el bucle. El barrido de saturación positiva a negativa se denomina rama superior y el barrido de saturación negativa a positiva rama inferior. En condiciones ideales y para la mayoría de los especímenes de material natural las ramas superior e inferior son simétricas inversas (de rotación) en torno al origen. [65]

A.4. Difracción de Rayos X (XRD)

Se desarrolla una teoría general de la difracción de rayos X en un cristal finito sobre la base de un tratamiento aproximado del acoplamiento entre los haces incidentes y los difractados. [66]

En los nanocristales, el tamaño del cristalito, la estructura cristalina y la fase presente en las muestras sintetizadas se investigaron mediante difracción de rayos X (XRD), que ilustra las reflexiones de Bragg difractados característicos correspondientes a los diferentes planos de reflexión. Si un cristal se extiende en todas las direcciones, es un cristal ideal; ningún cristal es perfecto debido a su tamaño.

El ensanchamiento de la reflexión de XRD es la desviación de la cristalinidad ideal. La deformación intrínseca existe debido al confinamiento del tamaño, la línea dislocaciones, fallas de apilamiento, tensión de sinterización. [66-68] Los parámetros microestructurales y las propiedades estructurales variaron por varios parámetros de síntesis. [67]

El ensanchamiento del pico (Bragg) en XRD se debe a dos parámetros: uno es el tamaño del cristalito y el otro es la deformación de la red. El tamaño del cristalito es un dominio de difracción coherente. El grado de distribución de las constantes de red, junto con las dislocaciones de los defectos del cristal se conoce como tensión de red. [67, 71]

Los tamaños de los cristalitos y de las partículas no suelen ser similares debido a de agregados policristalinos en una partícula. [69, 70]

Método de Debye-Scherrer

A partir de los patrones de XRD, se estiman la intensidad de las reflexiones de Bragg, la posición, la anchura, los datos del FWHM y los parámetros de red a , b y c son estimados. Además, a partir de los resultados de XRD, se investigó el tamaño medio de los cristalitos (D) a partir del plano de reflexión correspondiente al pico agudo e intenso, utilizando la fórmula de Debye-Scherrer. [71, 72]

$$\text{Tamaño de cristalito } (D) = \frac{k\lambda}{\beta_D \cos(\theta)} \quad (4)$$

En donde D es el tamaño medio de los cristalitos (nm), k es la constante de Scherrer (0.89), λ es la longitud de onda de los rayos X, b es FWHM en radianes, h es la posición de la reflexión en radianes. [72] El valor de k varía entre 0.8 y 1.2 (usualmente igual a 0.9). [73] De acuerdo con Scherrer $k=0.94$, mientras que para Bragg $k=0.89$, en ambos casos se emplea la FWHM en lugar de la amplitud integral. La FWHM es más fácil de calcular a partir del perfil del pico de la difracción observado que la amplitud integral.

Método de Williamson-Hall

La anchura de la reflexión de Bragg se debe principalmente al tamaño y a la microdeformación de la muestra. En el análisis del tamaño del cristalito, Scherrer utilizó la anchura de la reflexión a la mitad de la altura entre el máximo de la reflexión y el fondo, lo que se denomina FWHM (b). Así, la resultante sólo nos da el efecto del tamaño y no contiene una microrelación con el ensanchamiento de la reflexión. La amplitud integral que abarca toda la región bajo la reflexión divide la altura de la reflexión en el modelo de Williamson-Hall. Como resultado, la anchura y la altura del rectángulo serán las mismas de una reflexión. El final del patrón XRD requiere una evaluación cuidadosa y un fondo. [75]

$$\beta \cos\theta = \frac{k\lambda}{D} + 4\epsilon \sin\theta \quad (5)$$

Donde D es el tamaño del cristalito (nm), k es una constante (0,94 para partículas esféricas), λ es la longitud de onda de la radiación de rayos X (Cu-K α = 0,1541 nm), β es la anchura total a la mitad del máximo (FWHM) de las reflexiones de Bragg intensas y amplias, θ es el ángulo de Bragg o ángulo de difracción. [76]

A.6. Pruebas de hemólisis con sangre humana

Metodología

Se realizaron los análisis por triplicado de las muestras que contenían sangre, a las cuales se les añadió 100 μ L de sangre, se metieron a baño María a una temperatura de 35 $^{\circ}$ C durante un tiempo de interacción de 5 horas, después se centrifugaron a una velocidad de 3500 rpm por 5 minutos para después tomar 2 ml y colocar en una celda de plástico y obtener absorbancia en UV-Vis. Así mismo, se obtuvo la absorbancia de nanopartículas a las mismas concentraciones (0.1, 0.3, 0.5, 0.7 y 0.9 mg/ml) con las mismas condiciones de exposición a 35 $^{\circ}$ C en baño María durante 5 horas, después se centrifugaron a una velocidad de 3500 rpm durante 5 minutos y finalmente se obtuvo la absorbancia en UV-Vis. Posteriormente se realizó una resta de las absorbancias con su par homólogo, es decir, a la muestra de concentración de nanopartículas magnéticas de 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 y 0.9 g/ml se le restó la absorbancia de las nanopartículas sin sangre de concentración de 0.1 mg/ml, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9. Finalmente se calculó el porcentaje de hemólisis que tenían las distintas concentraciones de las nanopartículas magnéticas (2) (**Figura 22**).

$$\% \text{ hemólisis} = \left(\frac{\text{Absorbancia muestra analizada}}{\text{Absorbancia control positivo}} \right) * 100$$

(2)

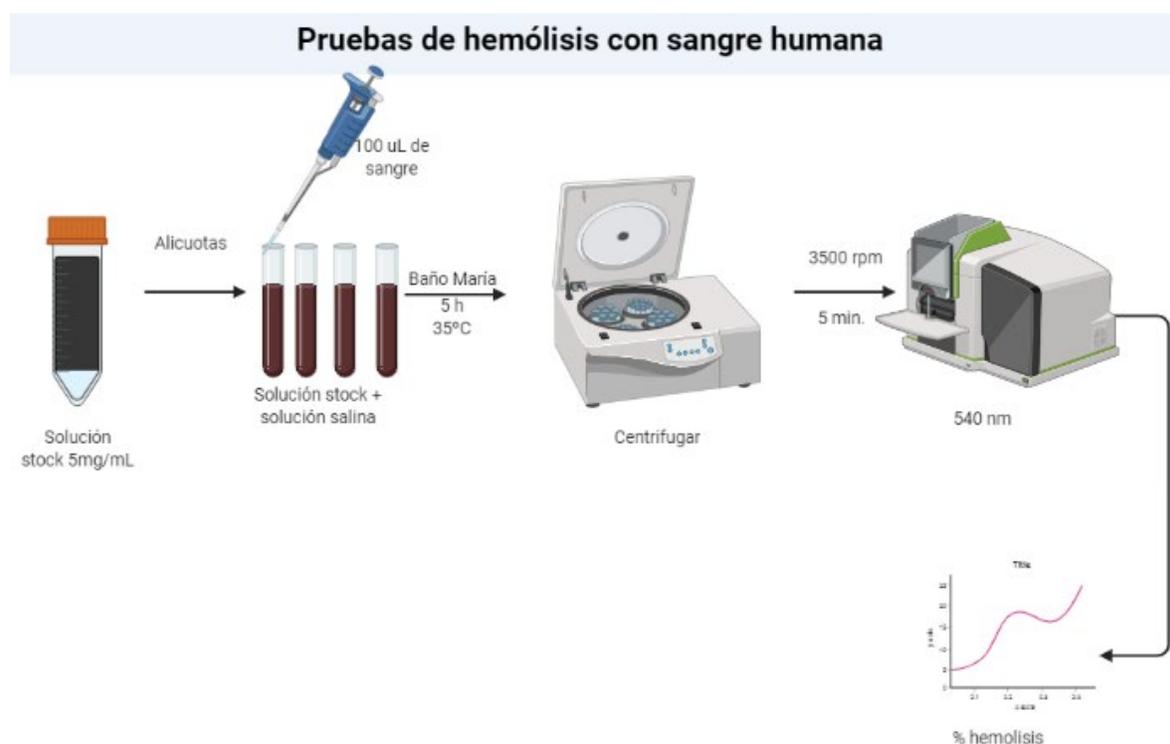


Figura 18. Metodología de pruebas de hemólisis con sangre humana

Resultados

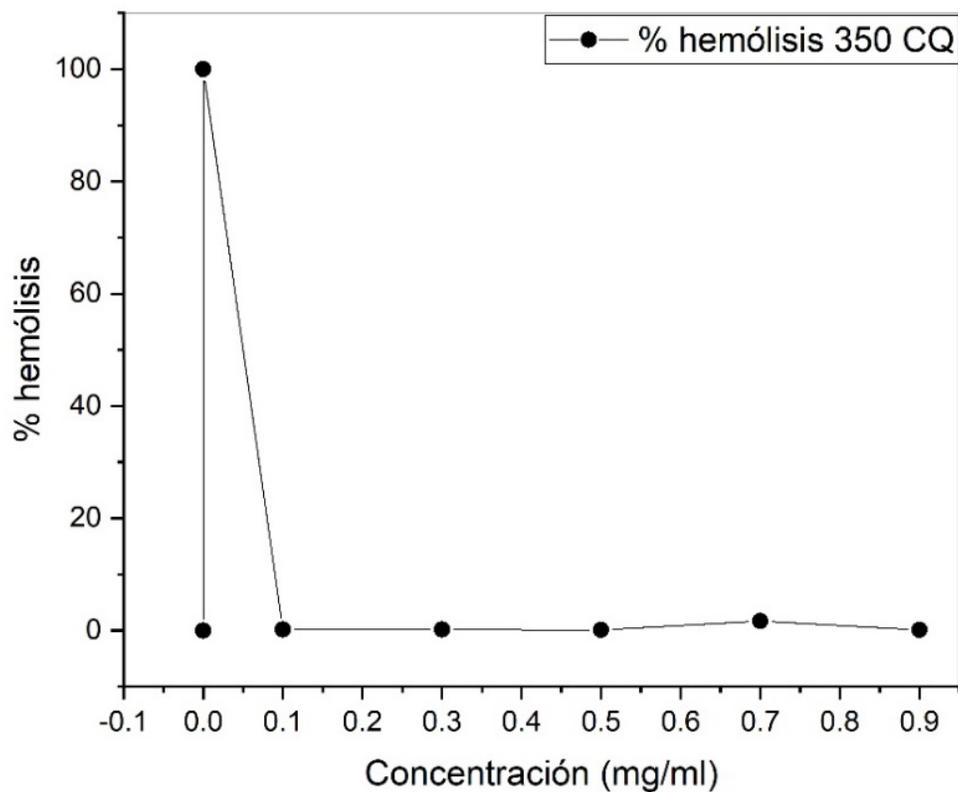
Coprecipitación química 350 °C

Tabla 9. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por coprecipitación química calcinadas a 350 °C con 100 μ L de sangre y porcentaje de hemólisis

NPs con sangre (CQ 350)							
Muestra	Concentración (mg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Abs final	% hemólisis
Control (-)	0	0	0	0	0	0	0
Control (+)	0	1.365	1.383	1.371	1.373	1.373	100
1	0.1	0.009	0.005	0.001	0.005	0.002	0.14566642
2	0.3	0.001	0.006	0.005	0.004	0.002	0.14566642
3	0.5	0.007	0.005	0.007	0.00633333	0.00133333	0.09711095
4	0.7	0.073	0.043	0.057	0.05766667	0.02266667	1.65088614
5	0.9	0.021	0.004	-0.017	0.00266667	0.00166667	0.12138869

En **Tabla 9** se despliegan los valores de las absorbancias de las nanopartículas con sangre por triplicado, así como la absorbancia promedio y la *absorbancia final*, la cual se obtuvo de restarle a la absorbancia promedio la absorbancia de las nanopartículas sin sangre. Y también se obtuvo el valor del porcentaje de hemólisis. En **Gráfica 1** se observa el comportamiento.



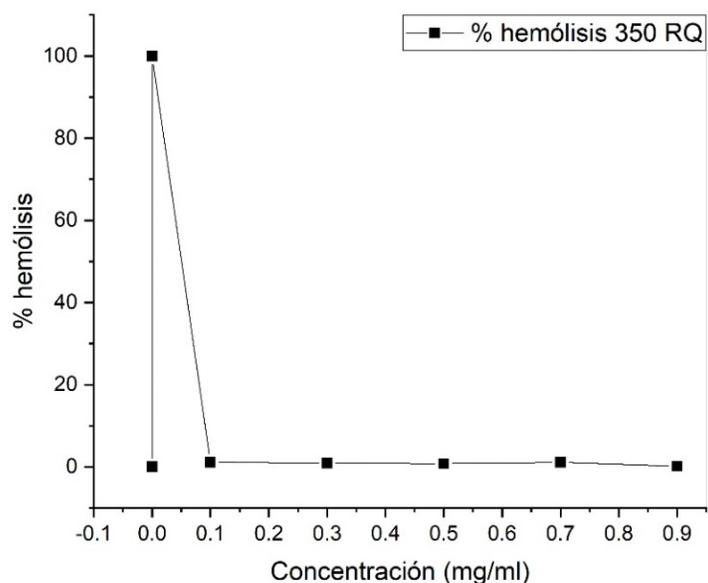
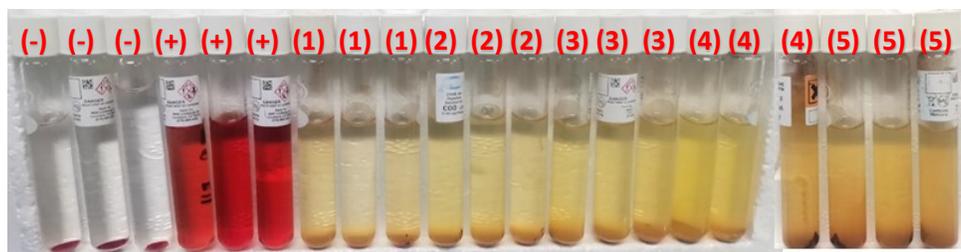


Gráfica 1. Concentración de nanopartículas magnéticas por coprecipitación química calcinadas a 350 °C contra porcentaje de hemólisis

Reducción química 350 °C

Tabla 10. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por reducción química calcinadas a 350 °C con 100 μ L de sangre y porcentaje de hemólisis

NPs con sangre (RQ 350)							
Muestra	Concentración (mg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Abs final	% hemólisis
Control (-)	0	0			0	0	0
Control (+)	0	1.365	1.383	1.371	1.373	1.373	100
1	0.1	0.035	0.038	0.036	0.03633333	0.01533333	1.11677592
2	0.3	0.053	0.053	0.054	0.05333333	0.01233333	0.89827628
3	0.5	0.082	0.058	0.059	0.06633333	0.01033333	0.75260986
4	0.7	0.114	0.114	0.113	0.11366667	0.01466667	1.06822044
5	0.9	0.114	0.124	0.121	0.11966667	0.00166667	0.12138869



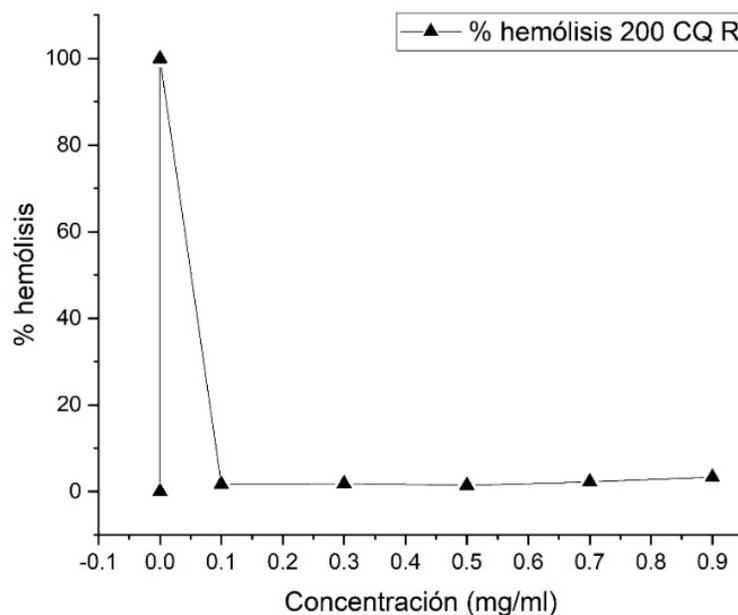
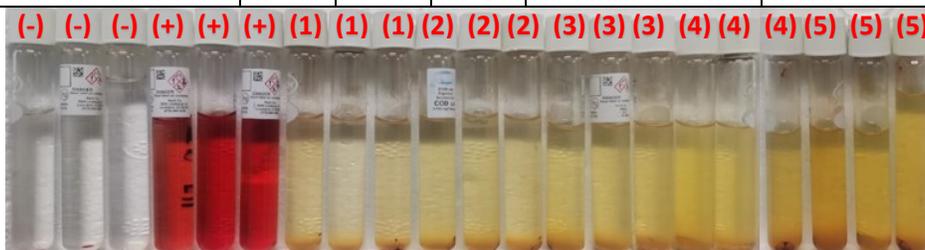
Gráfica 2. Concentración de nanopartículas magnéticas por reducción química calcinadas a 350 °C contra porcentaje de hemólisis

Coprecipitación química recubierta 200 °C

Tabla 11. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por coprecipitación química calcinadas a 200 °C recubiertas con 100 μ L de sangre y porcentaje de hemólisis

NPs con sangre (CQ R 200)							
Muestra	Concentración (mg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Abs final	% hemólisis
Control (-)	0	0	0	0	0	0	0
Control (+)	0	1.365	1.383	1.371	1.373	1.373	100
1	0.1	0.031	0.03	0.03	0.030333333	0.023333333	1.69944161
2	0.3	0.039	0.038	0.038	0.038333333	0.025333333	1.84510804
3	0.5	0.041	0.039	0.04	0.04	0.02	1.45666424
4	0.7	0.065	0.066	0.066	0.065666667	0.030666667	2.23355183

5	0.9	0.087	0.086	0.092	0.088333333	0.045333333	3.30177227
---	-----	-------	-------	-------	-------------	-------------	------------



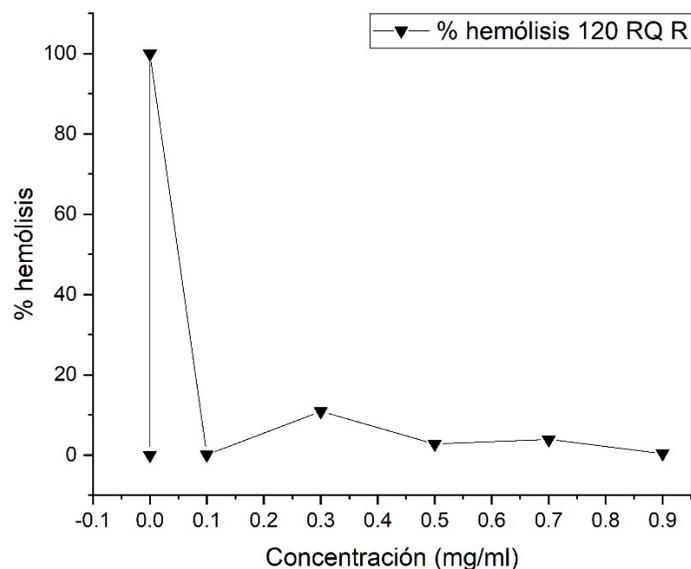
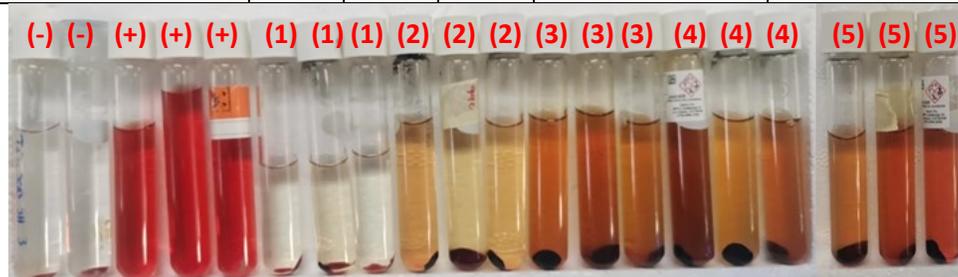
Gráfica 3. Concentración de nanopartículas magnéticas por coprecipitación química calcinadas a 200 °C recubiertas por método Stöber contra porcentaje de hemólisis

Reducción química recubierta 120 °C

Tabla 12. Absorbancias de nanopartículas magnéticas sintetizadas por reducción química calcinadas a 120 °C recubiertas con 100 μ L de sangre y porcentaje de hemólisis

NPs con sangre (RQ R 120)							
Muestra	Concentración (mg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Abs final	% hemólisis
Control (-)	0	0	0	0	0	0	0
Control (+)	0	1.403	1.398	1.403	1.40133333	1.40133333	100
1	0.1	0.005	0.007	0.006	0.006	0.001	0.07136061
2	0.3	0.196	0.197	0.199	0.19733333	0.15233333	10.8705994
3	0.5	0.394	0.491	0.294	0.393	0.039	2.78306375

4	0.7	0.322	0.455	0.676	0.48433333	0.05433333	3.87725975
5	0.9	0.603	0.595	0.618	0.60533333	0.00533333	0.38058991



Gráfica 4. Concentración de nanopartículas magnéticas por reducción química calcinadas a 120 °C recubiertas por método Stöber contra porcentaje de hemólisis

De acuerdo con la American Society for Testing and Materials (ASTM) [78] un material que presenta una hemólisis menor a 2% no se considera hemolítico, sin embargo, cuando un material presenta un porcentaje de hemólisis entre 2-5% se considera ligeramente hemolítico y superior al 5% como hemolítico, por lo anterior y de los resultados obtenidos se obtuvo que los materiales ligeramente hemolíticos pudieran ser los de nanopartículas sintetizadas por coprecipitación química recubiertas calcinadas a 200 °C en las concentraciones mayores (0.7 y 0.9 mg/ml) y las sintetizadas por RQ R a 120 °C en las concentraciones de 0.5 y 0.7 mg/ml, aunque la concentración de 0.3 mg/ml de acuerdo a su porcentaje de 10.8% y la ASTM resultaría hemolítico. Sin embargo, también se logró observar que los materiales lixivaban (iones de Fe^{3+}) [79], por lo que este resultado en las NPMs sintetizadas mediante RQ R 120 °C en la concentración de 0.3 mg/ml afectando la absorbancia que obtuvo la muestra. [80]