

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL DE
POLICLORURO DE VINILO (PVC) CON PARTÍCULAS DE HIERRO**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
QUÍMICA**

PABLO DANIEL JÁCOME SÁNCHEZ

pablo.jacome01@epn.edu.ec

DIRECTOR: M.Sc. FRANCISCO JAVIER QUIROZ CHÁVEZ

francisco.quiroz@epn.edu.ec

Quito, junio 2017

© Escuela Politécnica Nacional (2017)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Pablo Daniel Jácome Sánchez, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Pablo Daniel Jácome Sánchez

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Pablo Jácome, bajo mi supervisión.

M.Sc. Francisco Javier Quiroz Chávez
DIRECTOR DE PROYECTO

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a mi Dios Padre y mi Lolita, por colmarme de bendiciones y no dejarme caer en los tiempos más difíciles.

A mis padres, quienes nunca dejaron de confiar en mí en este largo proceso y que gracias a los valores que me inculcaron, me permitieron ser una persona fuerte que no se rinde.

A mis hermanos del alma, mi mayor fortaleza. A mi ñaña Andreita, quien con sus contantes logros, es mi inspiración para superarme día a día. A mi bro Estebitan, por tus consejos y por motivarme a seguir creciendo.

A mis queridas abuelitas y a la familia en general, por estar siempre pendientes.

A mis amigos del colegio, universidad y de la vida; gracias por animarme y hacer de este transcurso mucho más ameno.

Al Ing. Francisco Quiroz, por guiarme en este proceso y a la querida familia del CIAP, que estuvo siempre presente.

Al Dr. Juan Anacona, por sus aportes en la investigación. A Darío Nlebeskikwiat del Departamento de Física de la USFQ, por su colaboración en los ensayos de magnetometría. A la Dra. Barrera, por su ayuda en los análisis microbiológicos y a Ivancito, quien siempre colaboró con los ensayos que le solicité. A la Ing. Diana Endara, Thomas, Antonio Díaz y María José, por sus recomendaciones en el trabajo final.

Este sin duda es el comienzo de muchos logros... gracias!

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia y amigos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	ix
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. Partículas de hierro	1
1.1.1. Propiedades magnéticas	1
1.1.1.1. Diamagnetismo y paramagnetismo	2
1.1.1.2. Ferromagnetismo, antiferromagnetismo y ferrimagnetismo	3
1.1.1.3. Curvas de histéresis y superparamagnetismo	5
1.1.1.4. Temperatura de bloqueo	8
1.1.2. Métodos de síntesis	9
1.1.2.1. Co – precipitación química	9
1.1.2.2. Síntesis sonoquímica	10
1.1.2.3. Síntesis hidrotérmica	11
1.1.3. Complejos organometálicos	11
1.1.3.1. Propiedades de los metales de transición	11
1.1.3.2. Clasificación de los ligandos	12
1.2. Propiedades antibacteriales de polímeros con partículas metálicas	13
1.2.1. Nanopartículas metálicas con carácter bactericida	14
1.2.1.1. Nanopartículas de óxido de hierro recubiertas	16
1.2.1.2. Recubrimiento de nanopartículas metálicas con cefalosporinas	16
1.2.2. Polímeros compuestos	18
2. PARTE EXPERIMENTAL	21
2.1. Establecimiento de las condiciones adecuadas para la síntesis de partículas de hierro	22
2.2. Caracterización de las partículas de hierro	24

2.2.1.	Determinación de la forma y tamaño de partícula	25
2.2.2.	Determinación de la presencia de antibiótico en las partículas	25
2.2.3.	Determinación de las fases cristalinas	26
2.2.4.	Análisis térmico	26
2.2.5.	Determinación de las propiedades magnéticas	26
2.3.	Formulación de materiales a partir de PVC y partículas de hierro	27
2.4.	Evaluación de la actividad antibacterial de láminas de PVC con partículas de hierro	28
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1.	Condiciones de síntesis	30
3.2.	Caracterización de las partículas	31
3.2.1.	Forma y tamaño de las partículas	31
3.2.2.	Espectroscopía de infrarrojos por transformada de fourier	35
3.2.3.	Espectroscopía uv – vis	39
3.2.4.	Determinación de fases cristalinas	40
3.2.5.	Calorimetría diferencial de barrido	43
3.2.6.	Propiedades magnéticas	45
3.3.	Evaluación de las propiedades distributivas y dispersivas del material	51
3.4.	Evaluación de la actividad antibacterial de las láminas de PVC con partículas de hierro	53
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57
4.1.	Conclusiones	57
4.2.	Recomendaciones	58
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
	ANEXOS	72

Índice de Tablas

		PÁGINA
Tabla 2.1.	Nomenclatura de los doce ensayos realizados con base en la modificación del pH y temperatura posterior al secado	22
Tabla 2.2.	Nomenclatura y composición másica porcentual de cada una de las láminas de PVC formuladas	27
Tabla 2.3.	Condiciones de operación en el molino de rodillos	28
Tabla 3.1.	Resultados obtenidos del diseño experimental con modelo factorial 4x3	30
Tabla 3.2.	Estimación de la cantidad de magnetita en cada una de las muestras con respecto a los valores de magnetización de saturación de la magnetita a granel	49
Tabla 3.3.	Evaluación semi-cuantitativa del mezclado distributivo y dispersivo en los diferentes materiales de PVC	51
Tabla 3.4.	Resultados del análisis antibacterial en el crecimiento de E. coli entregado por el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB)	53
Tabla 3.5.	Resultados del análisis antibacterial en el crecimiento de S. aureus entregado por el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB)	54
Tabla AI.1.	Datos experimentales obtenidos en el proceso de síntesis	73
Tabla AVI.1.	Evaluación semi – cuantitativa del mezclado distributivo	85
Tabla AVI.2.	Evaluación semi – cuantitativa del mezclado dispersivo	85

Índice de Figuras

		PÁGINA
Figura 1.1.	Comportamiento magnético de los materiales en presencia y ausencia de campo magnético	3
Figura 1.2.	Representación de los dominios ferrimagnéticos	4
Figura 1.3.	Curva de histéresis	5
Figura 1.4.	Esquematación de la relación entre coercitividad y tamaño de partícula	7
Figura 1.5.	Curva de magnetización de tres diferentes tipos de materiales magnéticos	7
Figura 1.6.	Curvas M - T de nanopartículas superparamagnéticas	8
Figura 1.7.	Resumen asociado al comportamiento antibacterial de las nanopartículas metálicas.	15
Figura 1.8.	Estructura química de la ceftriaxona	17
Figura 1.9.	Principales mecanismos de producción de polímeros compuestos con metales	18
Figura 1.10.	Mecanismo del comportamiento antibacterial de polímeros termoplásticos nanocompuestos	19
Figura 2.1.	Equipos diseñados para la síntesis de partículas de hierro a) reactor y b) cámara de secado	23
Figura 2.2.	Soporte diseñado para la medición preliminar de magnetismo	24
Figura 3.1.	Distribución de tamaño de partícula de la muestra NPs07	32
Figura 3.2.	Imágenes AFM de la muestra NPs07 a) escala 620 nm y b) escala 410 nm	33
Figura 3.3.	Distribución de tamaño de partícula de la muestra NPs10	34
Figura 3.4.	Imagen AFM de la muestra NPs10	35
Figura 3.5.	Comparación de espectros IR entre la muestra NPs07 y la ceftriaxona	36
Figura 3.6.	Tentativa estructura del complejo ceftriaxona – hierro II (M)	37

Figura 3.7.	Comparación de espectros IR entre la muestra NPs07 y la ceftriaxona	38
Figura 3.8.	Espectros UV – Vis de las muestras a) ceftriaxona, b) NPs07 y c) NPs10	39
Figura 3.9.	Difractograma de la muestra NPs07	41
Figura 3.10.	Difractograma de la muestra NPs07 calcinada	42
Figura 3.11.	Difractograma de la muestra NPs10	43
Figura 3.12.	Termograma de la ceftriaxona pura	44
Figura 3.13.	Termograma de la muestra NPs07	44
Figura 3.14.	Termograma de la muestra NPs10	45
Figura 3.15.	Curvas M – T medidas a 100 Oe de la muestra NPs07	46
Figura 3.16.	Curvas M – T medidas a 100 Oe de la muestra NPs10	47
Figura 3.17.	Curva M – H medida a 200 K de la muestra NPs07	48
Figura 3.18.	Curva M – H medida a 55K de la muestra NPs07	48
Figura 3.19.	Curva M – H medida a 200 K de la muestra NPs10	49
Figura 3.20.	Curva M – H medida a 55K de la muestra NPs10	50
Figura 3.21.	Lámina de PVC con partículas NPs07 al 1,5% w/w	52
Figura 3.22.	Lámina de PVC con partículas NPs07 al 3,0% w/w	52
Figura 3.23.	Lámina de PVC con partículas NPs10 al 1,5% w/w	52
Figura 3.24.	Lámina de PVC con partículas NPs10 al 3,0% w/w	53
Figura AII.1.	Imágenes AFM de la muestra NPs07 tomadas a diferentes escalas	75
Figura AII.2.	Imágenes AFM de la muestra NPs10 tomadas a diferentes escalas	75
Figura AIII.1.	Histograma de la muestra NPs07	77
Figura AIII.2.	Histograma de la muestra NPs10	77
Figura AV.1.	Termograma y condiciones de operación del DSC para la muestra NPs07	82

Figura AV.2.	Termograma y condiciones de operación del DSC para la muestra NPs10	83
Figura AVI.1.	Estándar semi – cuantitativo de mezclado distributivo	84
Figura AVI.2.	Estándar semi – cuantitativo de mezclado dispersivo	84
Figura AVII.1.	Curva M – H medida a 300 K de la muestra NPs07	87
Figura AVII.2.	Curva M – H medida a 300 K de la muestra NPs10	87

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I Medidas obtenidas en la medición preliminar de magnetismo	73
ANEXO II Complemento de los resultados obtenidos en la microscopia de fuerza atómica (AFM) desarrollado en el Laboratorio de Películas Delgadas en la Facultad de Ciencias de la Escuela Politécnica Nacional	74
ANEXO III Histogramas completos entregados por el Laboratorio de Nuevos Materiales (LANUM) de la Escuela Politécnica Nacional	76
ANEXO IV Resultados de las difracciones de rayos x entregados por el Departamento de Metalurgia Extractiva (DEMEX) de la Escuela Politécnica Nacional	78
ANEXO V Reporte de la calorimetría diferencial de barrido llevado a cabo en el Centro de Investigación Aplicada a Polímeros (CIAP) de la Escuela Politécnica Nacional	81
ANEXO VI Evaluación semi – cuantitativa del mezclado dispersivo y distributivo de las láminas de PVC	84
ANEXO VII Resultados obtenidos de la medición de magnetometría de muestra vibrante (VSM) realizado en el Departamento de Física de la Universidad San Francisco	86
ANEXO VIII Reporte de los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos desarrollados en el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la Escuela Politécnica Nacional	89

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la actividad antibacterial de un material de policloruro de vinilo (PVC) con partículas de óxido hierro ligadas al antibiótico ceftriaxona. A partir del método de co – precipitación química se evaluó el efecto del pH en valores de 10,00, 10,50, 11,00 y 11,50, y la temperatura de post – secado en temperaturas de 25°C, 50°C y 80°C, con el objetivo de obtener partículas con carácter magnético. Los resultados indicaron que el comportamiento magnético se ve afectado por el aumento de pH y no por la temperatura de post – secado.

Las partículas fueron caracterizadas mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), dispersión de luz dinámica (DLS), espectroscopía de infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía UV – VIS, difracción de rayos X (DRX), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y magnetometría de muestra vibrante (VSM). A través de estas caracterizaciones, se determinó tamaños de partícula promedio entre 123,5 nm y 231,9 nm. De la misma manera se estableció coordinación entre los óxidos de hierro y antibiótico. Además, se comprobó la formación de óxidos de hierro con carácter superparamagnético.

Se formularon láminas de PVC con las partículas sintetizadas en concentraciones de 1,5 % y 3,0%, para evaluar la actividad antibacterial. El proceso de formulación fue llevado a cabo mediante la técnica de calandrado. Luego se determinó la actividad antibacterial de cada uno de los materiales formulados por el método de difusión en agar y se utilizaron cepas de *E.coli* y *S.aureus*. Aquí se observó inhibición en las láminas con partículas de menor tamaño. De igual forma, se estableció que el aumento de concentración mejora la inhibición.

Finalmente, se seleccionó el material de PVC con concentración de 3,0 % w/w de partículas de óxido de hierro sintetizadas a pH 11,00 y 25°C de temperatura de post – secado, por los resultados favorables en la actividad antibacterial.

INTRODUCCIÓN

El PVC ha sido evaluado como uno de los principales materiales empleados en instalaciones hospitalarias, para su uso en sondas, bolsas de sangre y sobretodo en la fabricación de catéteres; debido a las propiedades mecánicas que presenta y por su interacción nula con fluidos biológicos (Cappitelli y Sorlini, 2008, pp. 564-569). Sin embargo, se ha estudiado que en materiales inestables como el PVC plastificado existe el riesgo de proliferación de microorganismos debido a la exposición de la superficie cuando hay una migración de plastificante (Flemming, 1998, p. 312). En el año 2012, la Comunidad Científica Internacional de Infecciones Nosocomiales (INICC) reportó que alrededor del 9% de casos de infección en instalaciones hospitalarias de África, América, Asia y Europa, estuvieron asociados a insumos médicos (Rosenthal et al., 2014, p. 949).

Estudios muestran que existen diferentes métodos para controlar la colonización de microorganismos en el PVC, por ejemplo, en la investigación de Merchan et al. (2010), se utiliza ampicilina sódica diluida en solventes de ciclohexanona y N,N-dimetilformamida para obtener láminas de polivinil cloruro por el método de solvent casting. Con este tipo de material se obtienen buenos resultados para inhibir la acción bacteriana de *Staphylococcus aureus*, pero no sucede así con bacterias gram negativas (pp. 2369 – 2377).

En otra investigación realizada por Li et al. (2008) se procesan láminas de PVC recubiertas con nanopartículas de óxido de zinc (ZnO). El material obtenido por dilución – ultrasonido de las nanopartículas y posterior recubrimiento – prensado en el PVC, tiene buenas propiedades bactericidas tanto para bacterias gram positivas como para gram negativas (pp. 2161 – 2167).

Datos obtenidos por la INICC, indican la eficacia del uso de ceftriaxona para inhibir la acción de bacterias gram positivas y gram negativas en catéteres de vías urinarias y bolsas de transfusión de sangre (Rosenthal et al., 2014, p. 948). Del mismo modo, Anacona y Rodríguez (2005) demuestran que la ceftriaxona puede tener coordinación con iones metálicos como manganeso, cobalto, cobre y cadmio

(pp. 897 – 900). Los iones de hierro presentes en los óxidos, a diferencia de los ejemplos mencionados anteriormente, se caracterizan por tener propiedades magnéticas notables cuando se llevan a escalas entre micras y nanómetros (Sun et al., 2006, pp. 47 – 56).

La implementación del presente trabajo busca aportar con una nueva alternativa en la elaboración de films de PVC con propiedades antibacteriales. Con los métodos actuales en la síntesis de este tipo de material ya se ha logrado inhibir el crecimiento de microorganismos. No obstante, el espectro de acción es limitado en la mayoría de ellos y en consecuencia se tienen materiales resistentes únicamente a bacterias gram positivas y no a gram negativas, o viceversa. Por otra parte, la ceftriaxona, es una cefalosporina de tercera generación de amplio espectro que se utiliza para la inhibición de bacterias tanto gram positivas como gram negativas. La coordinación de este antibiótico con iones de hierro permite la formación de partículas con propiedades antibacteriales y magnéticas. Además, se podrían llegar a obtener tamaños de partícula en la escala nanométrica.

Los resultados de este proyecto podrían contribuir en un futuro para el desarrollo de aplicaciones en insumos médicos como catéteres, sondas, bolsas de sangre, entre otros, que puedan utilizarse con fines antibacteriales en instalaciones hospitalarias.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. PARTÍCULAS DE HIERRO

El hierro es un metal de transición que se encuentra en el período 4 del grupo 8 en la tabla periódica. Se caracteriza por ser el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre y por lo general se encuentra en forma de minerales como hematita (α - Fe_2O_3), maghemita (γ - Fe_2O_3) o magnetita (Fe_3O_4).

De acuerdo con el mecanismo de obtención, los óxidos de hierro pueden llegar a alcanzar tamaños en la escala nanométrica. Cuando se alcanzan tamaños muy pequeños, las partículas de óxido de hierro presentan propiedades remarcables en comparación con el material a granel. El comportamiento magnético, por ejemplo, es una propiedad que cambia conforme se disminuye el tamaño. (Sugimoto, 2000, p. 671)

1.1.1. PROPIEDADES MAGNÉTICAS

El magnetismo es un fenómeno que se origina por la formación de momentos magnéticos en los materiales. A su vez, los momentos magnéticos de un átomo libre están relacionados por el spin con el que están dotados los electrones y la rotación de los mismos alrededor del núcleo (Kittel, 2005, p. 299).

Los átomos que tienen sus capas llenas de electrones, presentan un spin nulo y del mismo modo se anula el momento magnético. Por otro lado, existe la presencia de momentos magnéticos cuando no se completan las capas con los electrones. Cuando un grupo considerable de electrones desapareados están alineados con sus momentos en la misma dirección, estos se combinan para producir un momento magnético único, lo suficientemente fuerte como para ser detectado en una escala macroscópica (Mohn, 2006, pp. 80 - 83).

La magnetización (M) está definida como el número de momentos magnéticos (μ) por unidad de volumen, mientras que la susceptibilidad magnética por unidad de volumen está definida por la ecuación 1.1.

$$\chi = \frac{M}{H} \quad [1.1]$$

Donde H es la intensidad macroscópica del campo magnético. De esta manera, la susceptibilidad magnética es un factor que permite diferenciar el comportamiento magnético entre materiales procedentes de distinta naturaleza (Kittel, 2005, p. 300).

1.1.1.1. Diamagnetismo y paramagnetismo

Todos los materiales magnéticos contienen momentos magnéticos; sin embargo, su alineación al aplicar una determinada magnetización difiere uno de otros, como muestra de un diferente comportamiento magnético.

Un material diamagnético está compuesto por átomos que no presentan un momento magnético neto. Al aplicar un campo magnético, se manifiesta una cierta reacción y los momentos tienden a alinearse en dirección opuesta al mismo como se observa. En consecuencia, la susceptibilidad magnética se encuentra en valores por debajo del cero. Los gases nobles monoatómicos (He, Ne o Ar), que tienen estructuras electrónicas completas en sus orbitales, son ejemplos de materiales diamagnéticos (Cullity y Graham, 2009, p.90).

El paramagnetismo está dado por una distribución aleatoria de los momentos magnéticos del material, en ausencia de campo. A diferencia del diamagnetismo, en los materiales paramagnéticos los momentos magnéticos se alinean a favor del campo magnético aplicado. En este caso, la susceptibilidad magnética es mayor a cero. Para mencionar algunos ejemplos de estos materiales están el aluminio, magnesio, wolframio, entre otros (Cullity y Graham, 2009, p.90).

1.1.1.2. Ferromagnetismo, antiferromagnetismo y ferrimagnetismo

Estos materiales se caracterizan por manifestar una magnetización espontánea, en ausencia de campo aplicado.

El ferromagnetismo es una propiedad magnética en el que todos los momentos magnéticos se alinean paralelamente en dirección al campo magnético. Por lo general, el hierro puro presenta este tipo de comportamiento (Cullity & Graham, 2009, pp. 115 – 116).

El antiferromagnetismo, es un tipo de magnetismo que presentan sólidos como el óxido de manganeso (MnO) en el cual los momentos magnéticos se alinean en disposiciones opuestas, con iguales magnitudes y a temperaturas relativamente bajas (Cullity & Graham, 2009, p. 165).

El ferrimagnetismo es otra propiedad magnética que se obtiene cuando al aplicar un campo externo los momentos magnéticos del material se colocan en posiciones antiparalelas con diferentes magnitudes. Los compuestos ferrimagnéticos más notables son los óxidos de hierro como la magnetita o maghemita (Cullity & Graham, 2009, p. 175).

En la Figura 1.1 se ilustra el comportamiento magnético de cada uno de los materiales descritos.

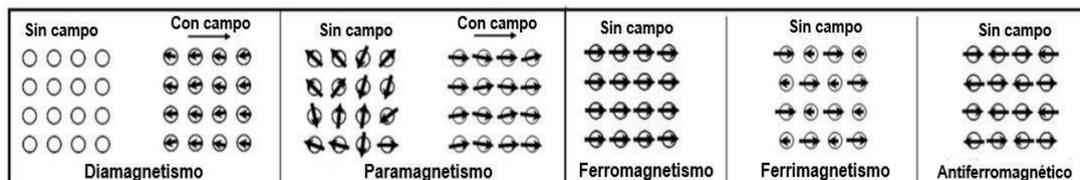


Figura 1.1. Comportamiento magnético de los materiales en presencia y ausencia de campo magnético

(Kolhatkar, Jamison, Litvinov, Willson, & Lee, 2013, p. 15979)

El comportamiento magnético de un óxido de metal es complejo. La magnetización espontánea de un material ferrimagnético desaparece cuando se somete a temperaturas mayores que la crítica (T_c), denominada Temperatura de Curie.

Sobre esta temperatura, su comportamiento pasa a ser paramagnético. Por lo tanto, la Temperatura de Curie se define como una temperatura de transición entre el estado ferrimagnético y paramagnético (Jiles , 2016, p. 90).

Un material ferrimagnético a granel, se encuentra dividido en dominios. Los dominios, como se observa en la Figura 1.2, son secciones de un cristal en los cuales los momentos están alineados en la misma dirección, sin embargo, en el material como conjunto, las direcciones de los dominios son diferentes entre sí. Empero, si se aplica un campo a estos materiales, es posible realinear los momentos individuales de cada dominio en una única dirección, obteniendo así un monodominio o dominio único (Akbarzadeh , Samiel y Soodabeh, 2012, pp. 3 – 4).

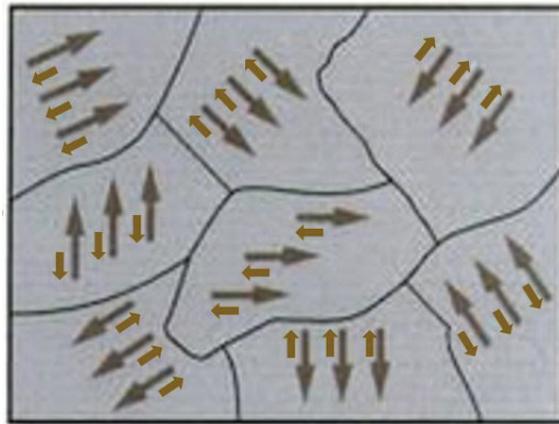


Figura 1.2. Representación de los dominios ferrimagnéticos
(Tipler y Mosca, 2006, p.816)

Cuando se lleva un mineral de hierro a la temperatura de Curie los momentos magnéticos presentan un orden de corto alcance, pero no de largo alcance. Un orden de corto alcance es aquel en el que un momento se alinea en una dirección y el momento contiguo también apunta en la misma dirección. Esta tendencia se mantiene en distancias cortas, pero no en distancias largas. Por el contrario, un orden de largo alcance sí mantiene alineados sus momentos en largas distancias. Esta es la razón por la cual al calentar a altas temperaturas un mineral de hierro, este pierde progresivamente su intensidad magnética, ya que pasa de un orden de largo alcance a uno de corto alcance (Akbarzadeh , Samiel y Soodabeh, 2012, pp. 3 – 4).

1.1.1.3. Curvas de histéresis y superparamagnetismo

La respuesta de un material ferrimagnético ante un campo aplicado se puede describir a través de la curva de histéresis. Esta curva indica la relación entre la magnetización (M) y la intensidad de campo magnético aplicado (H) y se la representa a través de la curva que se observa en la Figura 1.3 (Akbarzadeh, Samiel, y Soodabeh, 2012, p. 4).

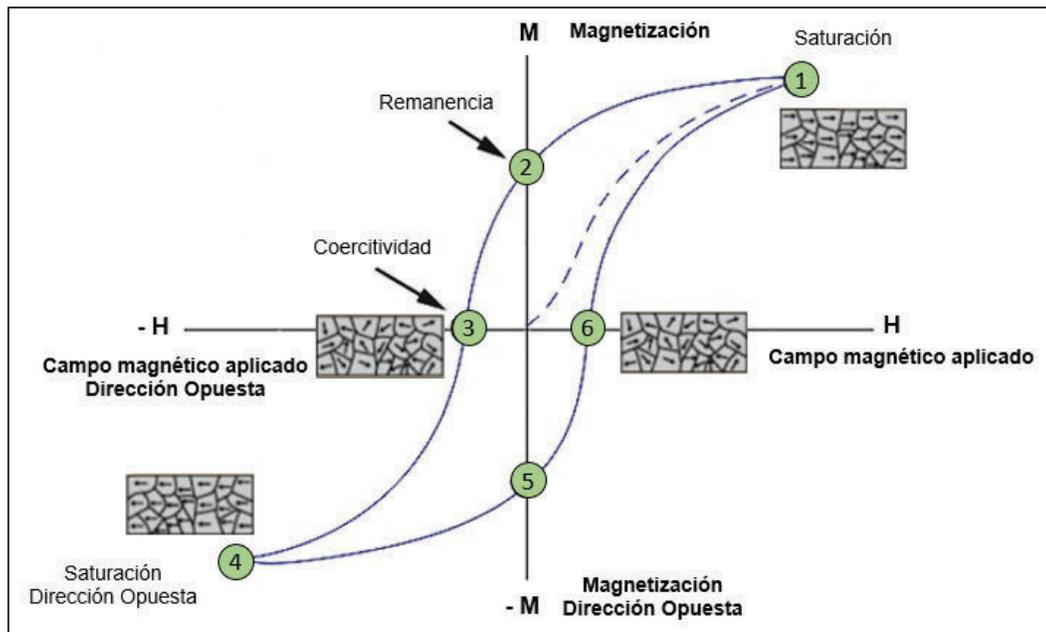


Figura 1.3. Curva de histéresis
(Mohn, 2006, p.44)

Un material ferrimagnético que nunca ha sido previamente magnetizado o que ha sido completamente desmagnetizado seguirá la línea discontinua a medida que se aumenta H . Como indica la línea, mientras mayor es la cantidad de corriente aplicada ($H+$), más fuerte es el campo magnético en el componente ($M+$). En el punto 1 casi todos los dominios magnéticos están alineados y un aumento adicional en H producirá muy poco aumento en M . En esta etapa el material alcanza la saturación magnética (M_s). Cuando H se reduce a cero, la curva se moverá desde el punto 1 hasta el punto 2. Aquí, es fácil apreciar que una cierta magnetización permanece en el material, aunque el campo magnético sea cero. Por ello, a este punto en la gráfica se lo conoce como remanencia e indica el nivel de magnetismo

residual en el material, ya que algunos de los dominios magnéticos permanecen alineados pero otros han perdido esta alineación. Cuando se invierte H , la curva se desplaza hasta el punto 3, donde M se reduce a cero. A este punto se lo conoce como coercitividad e indica que el campo H invertido ha invertido suficiente cantidad de dominios como para que la magnetización neta dentro del material sea cero. Así, la fuerza necesaria para eliminar el magnetismo residual del material se denomina fuerza coercitiva o coercitividad del material. A medida que se incrementa H en la dirección negativa, el material volverá a ser saturado magnéticamente, pero en la dirección opuesta (punto 4). Cuando se reduce H a cero se llega al punto 5 de la curva, que tiene una remanencia igual al obtenido en la otra dirección.

Como se puede observar la curva no regresa al origen del gráfico, ya que se necesita cierta fuerza para eliminar el magnetismo residual. La curva tomará una trayectoria diferente desde el punto 6 de regreso hasta el punto de saturación, donde se completará la curva (Tipler y Mosca, 2006, pp. 817 – 819).

La estructura de dominio de los materiales ferrimagnéticos determina el nivel de dependencia de su comportamiento magnético. Cuando el tamaño de un material ferrimagnético es reducido por debajo de un valor crítico, se convierte en monodominio. El magnetismo de las partículas finas proviene de los efectos del tamaño. Se asume que el estado de menor energía libre de las partículas ferrimagnéticas tiene una magnetización uniforme, para partículas más pequeñas que un cierto tamaño crítico (monodominio) y tiene una magnetización no uniforme para partículas más largas (multidominio).

Cuando el tamaño de las partículas monodominio disminuye por debajo del diámetro crítico, la coercitividad se convierte en cero, y las partículas se convierten en superparamagnéticas. El superparamagnetismo es causado por efectos térmicos, ya que en estas partículas, las fluctuaciones térmicas son suficientemente fuertes como para desmagnetizar espontáneamente un conjunto previamente saturado, y por lo tanto, no presentan coercitividad y no tienen histéresis. Es decir, las constantes fluctuaciones de los momentos magnéticos provocan que estas se cancelen entre sí y es por ello que se obtiene una coercitividad nula. Por lo tanto,

las nanopartículas se vuelven magnéticas en presencia de un campo aplicado, pero regresan a su estado original una vez que se retira el campo (Lacheisserie, Gignoux y Schlenker, 2005, pp. 115 – 116). En la Figura 1.4 se puede observar la relación de tamaño de partícula con respecto al tipo de dominio.

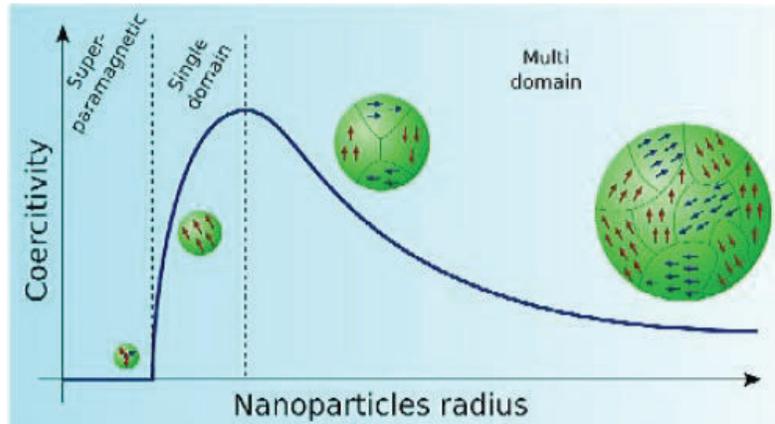


Figura 1.4. Esquemización de la relación entre coercitividad y tamaño de partícula (Akbarzadeh , Samiel y Soodabeh, 2012, p.3)

Un material superparamagnético, en realidad es un material ferromagnético o ferrimagnético (dependiendo de la naturaleza del material a granel) que se ha logrado reducir el tamaño a tal punto que se obtiene un único momento magnético. Por su parte, comparte el comportamiento paramagnético, debido a las fluctuaciones aleatorias de los momentos en ausencia de campo magnético (Lacheisserie, Gignoux y Schlenker, 2005, pp. 115 – 116). En la Figura 1.5 se indican las curvas M – H de estos materiales.

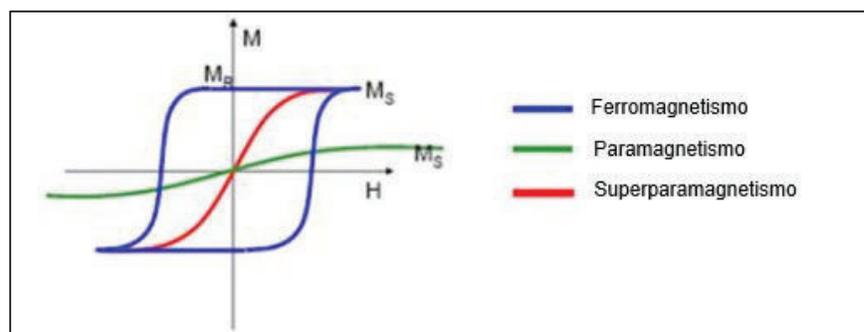


Figura 1.5. Curva de magnetización de tres diferentes tipos de materiales magnéticos (Akbarzadeh , Samiel y Soodabeh, 2012, p.3)

1.1.1.4. Temperatura de bloqueo

En las gráficas M - T se obtienen dos tipos de curvas diferentes para materiales superparamagnéticos y son: ZFC (Zero – field – cooling) y FC (Field – cooling), como se puede observar en la Figura 1.6. Para obtener la curva ZFC, se enfría el material en ausencia de campo magnético hasta una determinada temperatura. Una vez que se llega a la baja temperatura establecida, se aplica campo magnético y se mide la variación de la magnetización conforme aumenta la temperatura. Por el contrario, para la curva FC, se mide la variación de la magnetización mientras se enfría el sistema hasta la misma temperatura establecida, en presencia del campo magnético que se aplicó en la curva ZFC.

En la curva ZFC, el momento inicialmente incrementa con la temperatura y luego decrece, mientras que en la curva FC el momento decrece. La temperatura en el punto máximo de la curva ZFC se la denomina *Temperatura de bloqueo* (T_B). A bajas temperaturas, la energía térmica de las partículas se hace más pequeña y los momentos magnéticos se bloquean. Debajo de la temperatura de bloqueo, un material superparamagnético pierde la dirección preferencial de magnetización en campo magnético cero (Goya & Morales, 2004, p. 677).

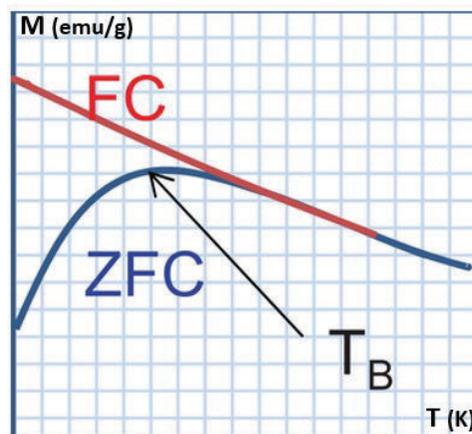


Figura 1.6. Curvas M - T de nanopartículas superparamagnéticas
(Kolhatkar, Jamison, Litvinov, Willson y Lee, 2013, p. 15979)

Con respecto al campo magnético aplicado, mientras mayor sea su magnitud, se requerirá menor energía térmica para superar la energía de barrera entre las dos

orientaciones de momento magnético y así lograr la magnetización de las partículas. De esta forma, la temperatura de bloqueo disminuye a medida que se incrementa el campo magnético (Issa, Obaidat, Albiss y Haik, 2013, pp. 21289 - 21291).

Asimismo, se tiene una mayor temperatura de bloqueo para partículas grandes, en comparación con las pequeñas. Esto se explica ya que las partículas pequeñas tienen menor volumen y por lo tanto disminuye la energía de barrera. Además, la distribución de tamaños puede influenciar en la forma de la curva $M - T$. Los picos más definidos se obtienen con distribuciones estrechas, mientras que para una distribución de gran tamaño se obtienen picos amplios (Issa, Obaidat, Albiss y Haik, 2013, pp. 21289 - 21291).

1.1.2. MÉTODOS DE SÍNTESIS

Con respecto a las nanopartículas de óxido de hierro, éstas han surgido como opciones prometedoras para aplicaciones biomédicas, resonancia magnética, liberación controlada de fármacos, hipertermia, detección temprana de cáncer y diabetes, entre otras. Para todas estas aplicaciones biomédicas se requiere que las nanopartículas presenten altos valores de magnetización, no obstante, prepararlas es un proceso complejo. Por esta razón se han propuesto varias rutas para su síntesis (Mody, Siwale, Singh, & Mody, 2010, p. 282).

1.1.2.1. Co – precipitación química

El método más convencional para obtener Fe_3O_4 y $\gamma - Fe_2O_3$ es por co – precipitación. El método consiste en reducir sales de hierro en soluciones muy alcalinas a temperatura ambiente o altas temperaturas. La forma y el tamaño de las nanopartículas depende en el tipo de sal que se utilice (cloruros, sulfatos, nitratos, percloratos, etc.), la relación molar que se emplee, la temperatura de reacción, el valor de pH y parámetros de reacción como: el tiempo de agitación, la velocidad de

agitación o la rapidez con que se añade la base. Las nanopartículas de Fe_3O_4 no son muy estables en el ambiente y así mismo son fácilmente oxidables a Fe_2O_3 . Es por eso, que la síntesis de estas partículas debe ser llevada a cabo bajo una atmósfera inerte (Wu, He, y Jiang, 2008, pp. 398 – 399).

Por lo general, las partículas que se obtienen presentan diferentes propiedades químicas y físicas. Por ejemplo, los valores de magnetización en las nanopartículas son menores a los que presenta el mineral como tal. Se ha comprobado experimentalmente que el valor de magnetización en nanopartículas de óxido de hierro está entre 30 – 80 emu/g, mientras que en el mineral se reporta 100 emu/g. Además, este método genera partículas con una gran distribución de tamaño de partícula. En consecuencia, existe un amplio rango de temperaturas de bloqueo (T_B), ya que ésta temperatura se encuentra estrechamente ligada al tamaño de partícula y, por lo tanto no hay un comportamiento magnético ideal para muchas aplicaciones (Kang, Risbud, Rabolt, & Stroeve, 1997, pp. 2209 – 2211).

1.1.2.2. Síntesis sonoquímica

La sonoquímica es la aplicación de ultrasonido, cuyo efecto en líquidos es el fenómeno de cavitación acústica. A su vez, la cavitación acústica se describe como la formación, crecimiento y posterior colapso implosivo de burbujas en medio acuoso. La implosión de estas burbujas produce calentamientos locales intensos (5000K), altas presiones (1800 atm) y grandes flujos de calentamiento y enfriamiento (1010 K/s) (Nag et al., 2012, pp. 848 – 849).

Este método ha sido aplicado para la síntesis de varios nanomateriales, y su versatilidad ha sido satisfactoriamente demostrada en la preparación de nanopartículas de óxido de hierro. Cuando se sintetizan nanopartículas de magnetita por esta ruta, estas alcanzan tamaños de hasta 10 nm, con propiedades superparamagnéticas y bajas magnetizaciones a temperatura ambiente (Pinkas et al., 2008, p. 261)

1.1.2.3. Síntesis hidrotérmica

La síntesis hidrotérmica consiste en la cristalización de una solución acuosa a temperaturas en el rango de 130 a 250°C y a presiones de vapor entre 0,3 y 4 MPa. Esta técnica es utilizada sobre todo para la obtención de monocristales libres de dislocaciones y del mismo modo, los granos que se forman en el proceso pueden tener mejor cristalinidad que los que se obtienen en los otros procesos. De esta manera, la síntesis hidrotérmica es idónea para la producción de nanopartículas de hierro altamente cristalinas (Ge et al., 2009, pp. 13596-13597).

Otra ventaja de este método es que se logra obtener nanopartículas, en el caso del óxido de hierro, de 40 nm sin la necesidad de utilizar surfactantes. Igualmente, las magnetizaciones de saturación son altas, alrededor de 85 emu/g (Ge et al., 2009, pp. 13596-13597).

1.1.3. COMPLEJOS ORGANOMETÁLICOS

Los complejos organometálicos son aquellos que se forman a través del enlace entre el carbono proveniente de un grupo orgánico y un metal. Sin embargo, no hay que confundir estos complejos con los complejos de coordinación, que son aquellos que se forman a través de la interacción de ligandos orgánicos e inorgánicos con átomos centrales de un metal (Mehrotra y Singh, 2004, pp. 33 – 35).

1.1.3.1. Propiedades de los metales de transición

Los iones de metales de transición como el Zn, Mn, Cu y Fe pueden actuar como ácidos de Lewis (aceptores de electrones), ya que poseen espacios libres de electrones en sus orbitales d. Estos iones se enlazan con ligandos de origen orgánico o inorgánico a través de interacciones que a menudo son fuertes y selectivas. A su vez, los ligandos imparten su propia funcionalidad y pueden

modificar las propiedades globales del complejo (Hawker y Twigg, 2006, pp. 27 - 29).

Los complejos de coordinación entre metal y ligando, abarcan una gama de geometrías de coordinación que les dan formas únicas en comparación con las moléculas orgánicas. Las longitudes de enlace, los ángulos de enlace y el número de sitios de coordinación pueden variar dependiendo del metal y su estado de oxidación (Paley, 2006, p. 38).

Los iones metálicos con alta afinidad electrónica pueden polarizar significativamente los grupos que están coordinados con ellos, facilitando las reacciones de hidrólisis. Los centros metálicos que son ácidos de Lewis fuertes pueden activar ligandos coordinados para luego reaccionar. Por ejemplo, una molécula de agua coordinada con un centro de Fe (II) se convierte en un potente nucleófilo para la hidrólisis de un enlace amida en un grupo orgánico (Haas y Franz, 2009, p. 4924).

Asimismo Haas y Franz (2009) proponen que el funcionamiento de un metal como ácido de Lewis requiere la formación de quelatos con un ligando, tal y como ocurre con las enzimas (p. 4930).

1.1.3.2. Clasificación de los ligandos

Los ligandos en los complejos organometálicos se los puede clasificar por la forma como interactúan los ligandos con los metales de transición

Ligandos donantes: son aquellos que son capaces de donar un par de electrones al metal y se estabilizan a través de la formación de un enlace molecular. Para mencionar algunos ejemplos se tiene el NH_3 , H_2O , H^- , OH^- o Cl^- (Spessard y Miessler, 2010, pp. 22 – 35).

Ligandos aceptores: por el contrario, este tipo de ligandos, son aquellos que tienen la habilidad de aceptar electrones provenientes de la nube electrónica del metal. Estos ligandos corresponden a CO, CN⁻ y PR₃ (Spessard y Miessler, 2010, pp. 22 – 35).

O por la forma como inciden en la superficie de las partículas

Ligandos complementarios: este tipo de ligandos son utilizados como estabilizadores, ya que permiten controlar el crecimiento y tamaño de las partículas. Su función consiste en liberar sitios vacantes para coordinación.

Dentro de este grupo se puede nombrar a los tioles, aminas, fosfinas y alcoholes. Los tioles y las fosfinas son principalmente utilizados para la estabilización de nanopartículas de platino y oro. Las aminas promueven el crecimiento de las partículas a través de la coalescencia, debido a que son ligantes débiles y por lo tanto, pueden ser fácilmente desplazados de la superficie. Los alcoholes, al igual que las aminas, son ligandos débiles que permiten la estabilización de sustancias coloidales por largos períodos de tiempo bajo atmósfera inerte (Chaudret, 2005, pp. 243 – 249).

Ligandos activos: este grupo de ligandos está orientado a los hidruros, carbenos y grupos alquílicos. Desempeñan un rol importante en la reactividad de las partículas para formar complejos (Chaudret, 2005, pp. 243 – 249).

1.2. PROPIEDADES ANTIBACTERIALES DE POLÍMEROS CON PARTÍCULAS METÁLICAS

La alta incidencia de infección bacteriana y la creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos convencionales han sido los factores determinantes para el desarrollo de nuevos materiales con propiedades antibacteriales. Las partículas metálicas de tamaño nanométrico han sido consideradas como agentes antibacteriales novedosos con alta área superficial y alta reactividad. Los materiales

compuestos por polímero y metal emergen como una ruta para ampliar aún más las propiedades bactericidas de los metales, ya que un gran porcentaje de infecciones adquiridas en instalaciones hospitalarias se propagan a través de contactos de superficie o catéteres elaborados mayoritariamente de plásticos (Curtis , 2008, p. 211).

1.2.1. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON CARÁCTER BACTERICIDA

La nanotecnología está definida como la manipulación de la materia en una escala atómica, molecular y supramolecular, involucrando el diseño, producción, caracterización y aplicación de diferentes nanomateriales en diferentes áreas (Bathia, 2016, pp. 34 – 35).

La nanotecnología es la rama de la ciencia e ingeniería que se encarga del estudio de materiales con dimensiones en el orden de 5 a 100 nm (Binns, 2010, pp. 8 – 9). Sin embargo, el criterio de tamaño considerado como nanopartícula varía de acuerdo con la aplicación. Por ejemplo, el tamaño de las nanopartículas aplicadas en el campo de la biotecnología está considerado entre 10 y 500 nm, rara vez superior a 700 nm (Mody, Siwale, Singh, y Mody, 2010, p. 283). Sucede lo mismo en el campo de la liberación controlada de fármacos, donde se ha ampliado la definición de este rango hasta tamaños aproximados de 500 nm (Pathak y Thassu, 2009, p. 128).

En el campo de la biotecnología se ha comprobado que las nanopartículas metálicas se pueden solubilizar más rápido en un determinado volumen de solución en comparación con partículas más grandes, liberando por lo tanto mayor cantidad de iones metálicos. Es por esta razón que las nanopartículas deberían presentar efectos antimicrobianos más fuertes que las micropartículas, como es el caso de la corrosión de nanopartículas de cobre en agua destilada, que presenta un comportamiento diferente que las micropartículas. La proporción de transformación de Cu^{2+} de las micropartículas aumenta lentamente con respecto al tiempo de

inmersión, mientras que en las nanopartículas esta relación de transformación aumenta bruscamente (Karlsson et al., 2013, pp. 60 - 68).

Como se puede observar en la Figura 1.7, existen algunos mecanismos tóxicos por los cuales las nanopartículas metálicas atacan las células bacterianas, dependiendo de las características celulares en la escala nanométrica y del tamaño mismo de la nanopartícula. Uno de ellos es el mecanismo del caballo de Troya, en el cual las nanopartículas metálicas ingresan al interior de la célula mediante el proceso de endocitosis. La alta concentración de iones intracelulares que se obtiene por disolución de las nanopartículas resulta en una oxidación masiva dentro de la célula y consecuentemente una muerte celular (Studer et al., 2010, pp. 170 – 173).

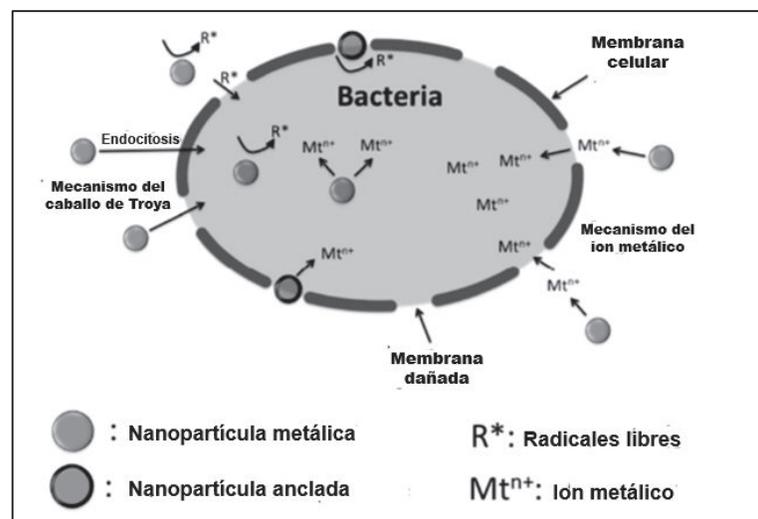


Figura 1.7. Resumen asociado al comportamiento antibacterial de las nanopartículas metálicas.

(Palza, 2015, p. 2104)

En el caso de las nanopartículas de plata, el efecto más notorio está en la actividad metabólica celular y la membrana, provocando daños en las mismas. Estas nanopartículas tienen la capacidad de anclarse a la pared celular bacteriana y luego penetrarla, causando cambios estructurales en la membrana celular como la permeabilidad y posteriormente la muerte celular (Prabhu y Poulouse, 2012, pp. 6 – 7). La formación de radicales libres alrededor de la superficie de la bacteria es otra

teoría para explicar la muerte celular en las bacterias. Estos radicales que provienen de las nanopartículas se acumulan en la superficie de la célula hasta un punto en que perforan la pared celular (Li, y otros, 2008, pp. 4593-4594).

1.2.1.1. Nanopartículas de óxido de hierro recubiertas

Por lo general las nanopartículas de óxido de hierro no son conocidas por tener una actividad antibacterial remarcable, sin embargo, se aprovecha la biocompatibilidad de éstas para producir agentes antibacteriales mediante el recubrimiento de las partículas. Por lo tanto, las nanopartículas vienen a ser un buen vehículo para conducir las moléculas al sitio deseado (Gordon et al., 2011, pp. 3). Uno de los recubrimientos más utilizados es el zinc, que posee un poder catalítico y que reduce el H₂O₂ en la formación de radicales libres. El óxido de hierro solo, no presenta efectos significativos sobre el aumento bacteriano de *E. coli* y *S. aureus*, mientras que el zinc solo, sí mata estas cepas. Por consiguiente, la actividad antibacterial de las nanopartículas de hierro aumenta considerablemente con la presencia de zinc. Mientras más zinc recubra las partículas, mejores efectos bactericidas se tienen. No obstante, este efecto es menos notorio que cuando actúa el zinc solo (Gordon et al., 2011, p. 6).

Las nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de plata o una combinación de plata y oro, no resultan muy dañinas para las células. Asimismo, contrario a lo observado en las nanopartículas de plata, las nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de plata no logran perforar la membrana celular y en consecuencia, producen poco o nada de especies reactivas del oxígeno (ERO o ROS por sus siglas en inglés) (Hajipour et al., 2012, pp. 501 – 502).

1.2.1.2. Recubrimiento de nanopartículas metálicas con cefalosporinas

Las cefalosporinas son un grupo de antibióticos β – lactama semisintéticos, provenientes del *Cephalosporium* (género de hongo de la clase Hifomicetos). Al igual

que todas las β – lactamas, interfieren con el último paso en la síntesis de la pared celular bacteriana, exponiendo de esta manera la membrana osmótica menos estable. Posteriormente se puede dar la lisis celular, razón por la cual estos fármacos son bactericidas. Las cefalosporinas son únicamente eficaces contra los organismos de crecimiento rápido que sintetizan una pared celular de peptidoglucano. Por lo tanto, son inactivos frente a organismos desprovistos de esta estructura, como es el caso de los protozoos, hongos y virus (Ali, Elbashir y Aboul-Enein, 2015, p. 23).

La ceftriaxona es una cefalosporina de tercera generación que se ha empleado últimamente para la formación de complejos metálicos. Esta cefalosporina, como se puede observar en la Figura 1.8, presenta grupos funcionales en su estructura que son capaces de interactuar con la nube electrónica de los metales, y por lo tanto, desempeñar el papel de ligando con metales de transición como el Mn, Co, Cu, Cd y Fe (III) (Anacona y Rodriguez, 2005, pp. 897 – 900). Se ha visto que estos complejos tienen mayor actividad bactericida que la ceftriaxona pura para combatir bacterias Gram – negativas como *P. mirabilis*, *P. aeuruginosa* y *Klebsiella spp.* Por el contrario, la ceftriaxona tiene mayor efecto antibacterial contra bacterias Gram – positivas como *S. aureus* que los complejos metálicos (Hasanova et al., 2015, pp. 223 – 234).

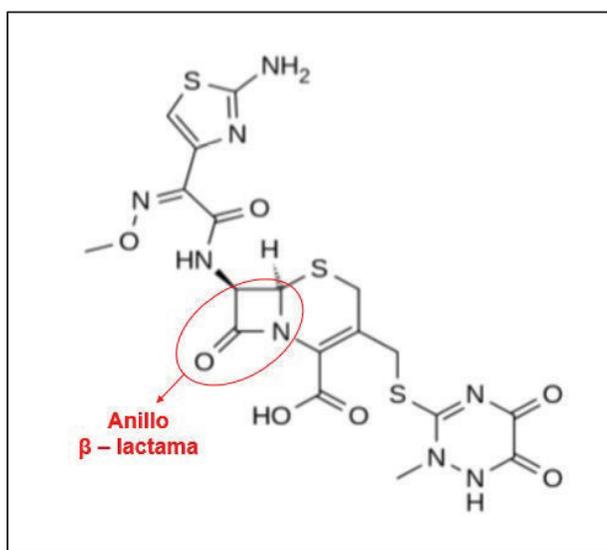


Figura 1.8. Estructura química de la ceftriaxona
(Hasanova et al., 2015, p. 226)

1.2.2. POLÍMEROS COMPUESTOS

Para ampliar aún más las aplicaciones de las nanopartículas antibacteriales, varias investigaciones se han centrado en introducirlas en polímeros, para obtener materiales compuestos. Estos materiales se obtienen cuando los metales se incorporan a la superficie del polímero o bien se incrustan dentro de la matriz. La principal ventaja de los nanocompuestos radica en la cantidad extremadamente baja de relleno que se necesita para alcanzar los requerimientos deseados, que pueden ser una o dos veces menos que los microrrellenos convencionales (Paul y Robeson, 2008, p. 3190).

En la Figura 1.9 se observa que existen dos aproximaciones generales, dependiendo del lugar donde las nanopartículas fueron sintetizadas, que pueden ser distinguidas para la preparación de nanocompuestos de polímero y metal. La primera es *in situ*, en el cual la matriz polimérica actúa como medio de reacción y la segunda, *ex situ*, que quiere decir que la partícula es sintetizada aparte y la matriz polimérica se utiliza como medio de dispersión (Palza, 2015, p. 2106).

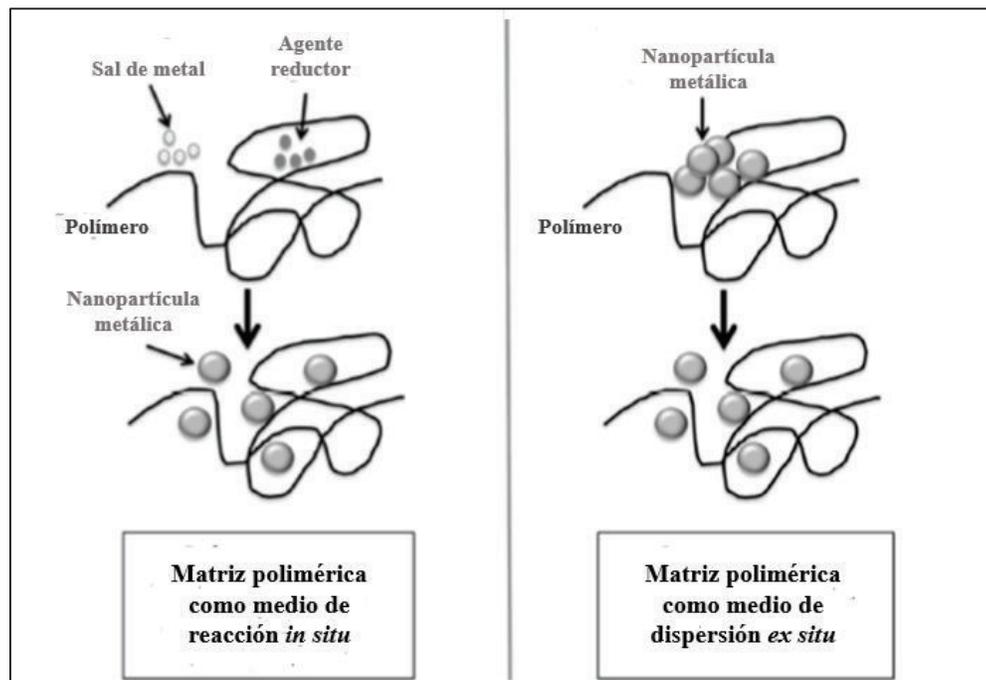


Figura 1.9. Principales mecanismos de producción de polímeros compuestos con metales (Palza, 2015, p. 2106)

En general, la aproximación *in situ* se lo usa frecuentemente para nanocompuestos poliméricos de hidrogel, donde los grupos funcionales y el medio acuoso presentes en las macromoléculas favorecen la dispersión y estabilización de las partículas metálicas. El enfoque *ex situ* se utiliza en compuestos termoplásticos ya que la alta viscoelasticidad de la matriz en el estado de fusión mejora la dispersión de las nanopartículas (Palza, 2015, p.2106).

Por otro lado, el mecanismo tóxico de materiales antibacteriales provenientes de la mezcla entre un agente bactericida y un polímero no activo, es similar al mecanismo del agente por sí solo. Como se había mencionado anteriormente los dos caminos principales de los efectos tóxicos de las nanopartículas son la liberación de iones metálicos o la absorción de la partícula en la bacteria (Muñoz-Bonilla y Fernández-García, 2012, p. 283).

En el caso de los polímeros termoplásticos con nanopartículas incrustadas, el mecanismo que se sigue es la liberación de iones metálicos. En estos materiales, las partículas no se encuentran en la superficie del polímero o se encuentran en concentraciones más bajas que en el seno del material. En la Figura 1.10 se visualiza el mecanismo de acción.

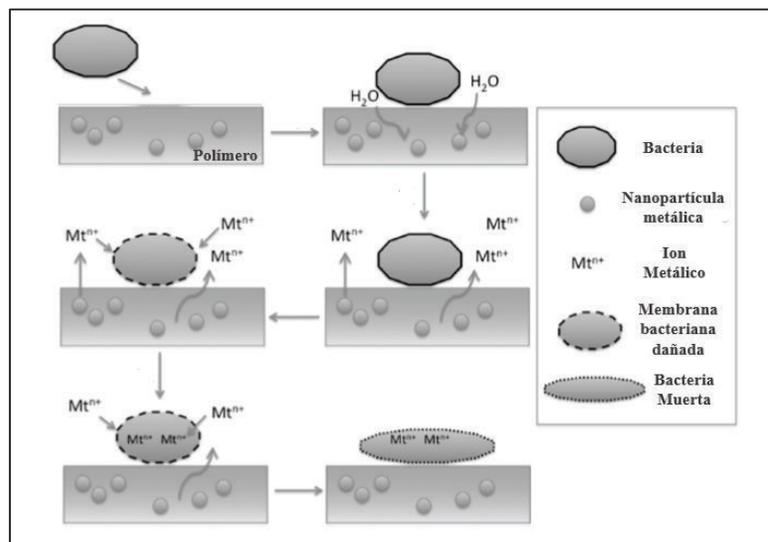


Figura 1.10. Mecanismo del comportamiento antibacterial de polímeros termoplásticos nanocompuestos (Palza, 2015, p. 2111)

El primer paso es la adsorción de la bacteria en la superficie polimérica, que desencadena en la difusión del agua (procedente del medio bacteriano) a través de la matriz. Incluso las matrices no polares como el polietileno o polipropileno permiten la difusión del agua a través de la molécula, sin embargo, este mecanismo está más orientado a las matrices polares (Damm, Munstedt y Rosch, 2008, pp. 64 – 65). Luego, el agua con oxígeno disuelto llega hasta las partículas metálicas y empieza el proceso de corrosión estándar. Posteriormente, los iones provenientes de la corrosión se difunden a través de la matriz y finalmente son liberadas. En seguida, los iones atacan la membrana celular de las bacterias y por último se difunden dentro de la misma, provocando la muerte celular (Palza, 2015, p. 2110).

2. PARTE EXPERIMENTAL

En una primera etapa se sintetizaron las partículas de hierro mediante el método de co – precipitación química y se estudió el efecto del pH y la temperatura de post – secado en la preparación de las mismas. Se caracterizaron las partículas mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), dispersión de luz dinámica (DLS), espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía UV – VIS, difracción de rayos X (DRX), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y magnetometría de muestra vibrante (VSM). Estas técnicas permitieron determinar el tamaño, forma, estructura y magnetismo de las partículas sintetizadas.

Posteriormente se incorporaron las partículas obtenidas en láminas de PVC mediante la técnica de calandrado. Por último, se utilizaron cepas *E. coli* y *S. aureus* para determinar la actividad antibacterial de cada una de las láminas formuladas a través del método de difusión en agar. Los materiales, equipos y reactivos que se utilizaron fueron los siguientes:

Materiales

- Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 mL
- Vasos de precipitación de 50 mL
- Matraces Erlenmeyer de 125 mL
- Agitadores magnéticos

Equipos

- pH metro de mesa, Hanna Instruments, modelo HI-2223, capacidad medida pH en 14 puntos, sensibilidad medida pH en 0,01 puntos
- Plancha de calentamiento con agitación, AREC
- Balanza analítica, Denver, modelo AA-200, capacidad 200 g, sensibilidad 0,0001 g
- Estufa, MMM – Group, modelo Venticell, capacidad 200°C, sensibilidad 1°C

- Reactor
- Cámara de secado

Reactivos

- Ceftriaxona, 99% pureza, LabVitalis
- NaOH (hidróxido de sodio), grado analítico, Merck
- FeSO₄.7H₂O (sulfato ferroso heptahidratado), grado analítico, Fisher

2.1. ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES ADECUADAS PARA LA SÍNTESIS DE PARTÍCULAS DE HIERRO

Para establecer las condiciones adecuadas en la síntesis de partículas de hierro se empleó un modelo experimental factorial 4x3. Por un lado, se estudió la influencia del pH en niveles de 10,00, 10,50, 11,00 y 11,50 y por otra parte, se evaluó la temperatura posterior al secado de las partículas (post – secado) en valores de 25°C, 50°C y 80°C, durante 30 min cada una. La variable de respuesta se reportó a través de la medida preliminar de magnetismo de cada una de las muestras. En la Tabla 2.1 se detalla la nomenclatura utilizada en los distintos ensayos del diseño experimental.

Tabla 2.1. Nomenclatura de los doce ensayos realizados con base en la modificación del pH y temperatura posterior al secado

		Temperatura posterior al secado (°C)		
		25	50	80
pH	10,00	NPs01	NPs02	NPs03
	10,50	NPs04	NPs05	NPs06
	11,00	NPs07	NPs08	NPs09
	11,50	NPs10	NPs11	NPs12

El proceso empezó con la mezcla en fase sólida de ceftriaxona y sulfato de ferroso heptahidratado (FeSO₄.7H₂O) con una relación molar 1:4, respectivamente. Luego, la mezcla sólida se diluyó en 10 mL de agua. Posteriormente, se reguló el pH con

soluciones de hidróxido de sodio 1M y 0,1 M, bajo agitación constante hasta alcanzar valores de 10,00, 10,50, 11,00 o 11,50 de acuerdo al tipo de ensayo que se haya realizado.

Después se trasvasó la solución resultante junto con el agitador hacia un reactor. Este se elaboró incorporando en un matraz Erlenmeyer, dos mangueras a través de un tapón de caucho, como se ve en la Figura 2.1 (a). El objetivo del reactor consistió en obtener una atmósfera inerte mediante el burbujeo de nitrógeno en la solución y por consecuencia el desplazamiento del aire presente. Luego, se dio paso a la reacción mediante agitación continua por un período de tiempo de 4 h; el cual se lo definió a partir de pruebas preliminares.

Una vez concluida la reacción se procedió al proceso de secado. Para ello, se depositó la solución en una caja Petri, la misma que fue introducida en una cámara diseñada con el mismo objetivo que el reactor, es decir, mantener una atmósfera inerte, tal y como se observa en la Figura 2.1 (b). Las muestras tardaron alrededor de 48 h para secarse.

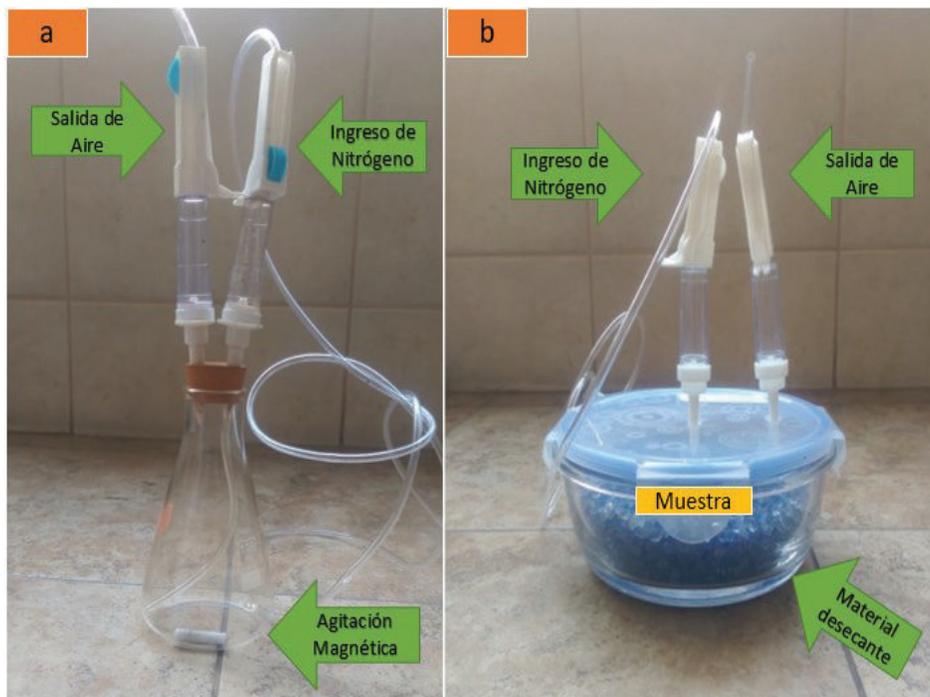


Figura 2.1. Equipos diseñados para la síntesis de partículas de hierro a) reactor y b) cámara de secado

Por último, se raspó el sólido obtenido y se colocó en la estufa a la temperatura de 25°C, 50°C o 80°C, según sea el tipo de ensayo, y se pesaron las muestras.

En la Figura 2.2 se visualiza el sistema que permitió cuantificar el magnetismo. El sistema consistió en colocar un imán en la balanza analítica y con la ayuda de un soporte se colocaron las muestras de tal forma que se encontraron siempre a 1 cm de distancia con respecto al imán.

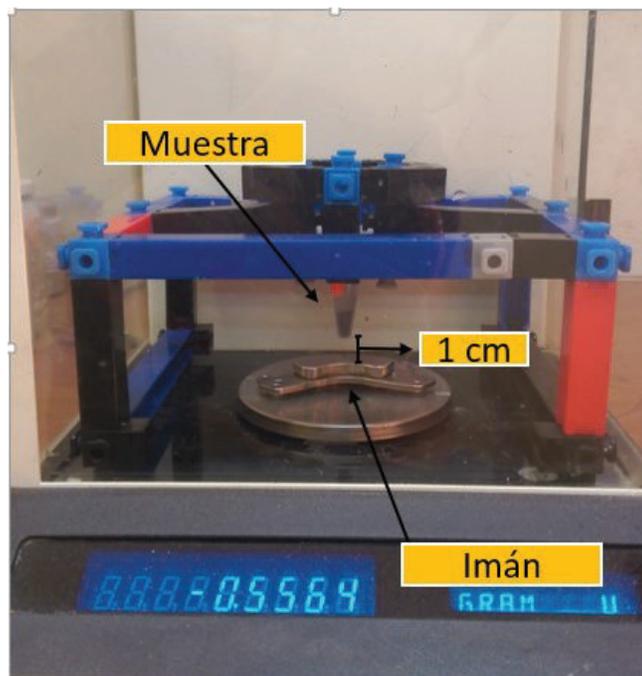


Figura 2.2. Soporte diseñado para la medición preliminar de magnetismo

Finalmente, se registró el peso marcado en la balanza. Se utilizó una relación de peso entre la marcada con el imán y la propia de la muestra, para cuantificar de forma preliminar el magnetismo.

2.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE HIERRO

Del diseño experimental mencionado, se escogieron dos muestras para la respectiva caracterización. Los valores más altos obtenidos en la medición preliminar de magnetismo fue el criterio de selección de las mismas.

2.2.1. DETERMINACIÓN DE LA FORMA Y TAMAÑO DE PARTÍCULA

A través de la microscopía de fuerza atómica (AFM) y dispersión de luz dinámica (DLS) se pudo determinar el tamaño y forma de las partículas obtenidas, así como el grado de aglomeración de las mismas.

Para estos ensayos las dispersiones fueron preparadas con aproximadamente 10 mg de muestra en 7 mL de agua. La microscopía de fuerza atómica se la llevó a cabo en un microscopio Nanosurf – Naio AFM, mientras que la dispersión de luz dinámica se ejecutó en un analizador de tamaño de partícula de marca Brookhaven Instruments Corporation – Nanobrook 90 plus.

Además, se utilizó el Software WSxM 5.0 Develop 8.2 para medir el tamaño de partícula de los resultados del AFM.

2.2.2. DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTIBIÓTICO EN LAS PARTÍCULAS

Mediante la técnica de espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) se determinó la posible estructura molecular de las partículas a través de la identificación de las bandas de absorción características de los grupos funcionales.

De igual manera, los análisis de espectroscopía UV-VIS permitieron determinar la presencia de antibiótico en las mismas, mediante la comparación del espectro del antibiótico y las partículas metálicas. Los espectros de FTIR se los realizaron en el equipo Perkin Elmer Spectrum One, en el rango de banda entre 450 y 4000 cm^{-1} . Se prepararon tres suspensiones para la espectroscopía UV-VIS: dos correspondientes a las muestras del diseño y una con el antibiótico puro. Se dispersaron aproximadamente 10 mg de muestra en 7 mL de agua.

Estos ensayos fueron efectuados en un espectrómetro Agilent Technologies Carry 60 UV-Vis en un rango de longitudes de onda entre 200 y 800 nm.

2.2.3. DETERMINACIÓN DE LAS FASES CRISTALINAS

Se realizaron ensayos de difracción de rayos X (DRX) con el objetivo de identificar las fases cristalinas en las partículas sintetizadas. En total se analizaron tres muestras: una calcinada y dos sin calcinar.

Para la preparación de la muestra calcinada, se calentaron 2g a 950°C durante 2h, con ciclos de temperatura. Estos ensayos se los llevaron a cabo en el Departamento de Metalurgia Extractiva (DEMEX) de la Escuela Politécnica Nacional, con un difractor Norelco Philips modelo TC 216 con radiación de Cu Ka, 35 kV, 1,54 A, a 1°/min para ángulos 2θ y corridos de 15° a 70°.

Los difractogramas fueron ejecutados en el Software Match con versión 3.0.

2.2.4. ANÁLISIS TÉRMICO

Se analizaron las temperaturas de transición tanto del antibiótico como del metal, presentes en las partículas sintetizadas a partir de la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC). Estos ensayos se los ejecutaron en un calorímetro Netzsch DSC 204 F1 Phoenix.

En el proceso se pesaron entre 15 a 20 mg de muestra y a través de un calentamiento dinámico de 40°C/min se calentaron hasta 550 °C.

2.2.5. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES MAGNÉTICAS

La magnetometría de muestra vibrante (VSM, por su siglas en inglés) permitió describir el comportamiento magnético de las partículas. Se realizaron curvas de magnetización M (H) con temperatura constante de 55 K. De igual forma, las curvas ZFC y FC se las obtuvieron manteniendo el campo magnético constante, en un valor de 100 Oe. Los análisis se realizaron en el Departamento de Física de la

Universidad San Francisco (USFQ), en un magnetómetro de marca VersaLab free de 3 Teslas.

2.3. FORMULACIÓN DE MATERIALES A PARTIR DE PVC Y PARTÍCULAS DE HIERRO

En total se formularon seis láminas a partir de policloruro de vinilo (PVC) y partículas de hierro: sin partículas sintetizadas (blanco I), con 1,5% en peso de antibiótico ceftriaxona (blanco II) y con 1,5% y 3,0% de cada una de las partículas seleccionadas en el diseño experimental.

En la Tabla 2.2 se indican los ensayos realizados y la formulación que se utilizó en cada una de las láminas.

Tabla 2.2. Nomenclatura y composición másica porcentual de cada una de las láminas de PVC formuladas

Nomenclatura	PVC05*	PVC06	PVC07	PVC01	PVC03	PVC04
Contenido	Sólo PVC	Ceftriaxona	NPs07	NPs07	NPs10	NPs10
% m/m						
Partículas de óxido de hierro	--	--	1,50	3,00	1,50	3,00
Ceftriaxona	--	1,50	--	--	--	--
PVC	54,00	53,66	53,66	52,84	53,66	52,84
DOP	44,07	42,92	42,92	42,24	42,92	42,24
Aceite de soja (ESBO)	1,62	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61
Ácido esteárico	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Estabilizante	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*(Córdoba y Medina, 2009, p.149)

De acuerdo con la composición porcentual másica que se propone en Córdoba y Medina (2009), se prepararon 40 g de material. El polivinil cloruro (PVC), ácido esteárico, aceite de soja epoxidado (ESBO) y estabilizador bario – cadmio fueron mezclados en un vaso de precipitación. Por separado, se dispersaron las partículas

syntheticized in plasticizer di – n – octylphthalate (DOP). Se adicionó la suspensión a la mezcla inicial y bajo agitación mecánica se formó una masa heterogénea.

Para el proceso de calandrado de PVC se utilizó un molino de rodillos marca COLLIN modelo W 100 T y en el proceso se trabajó a una temperatura de 140°C con el fin de evitar la descomposición del antibiótico en las partículas. En la Tabla 2.3 se muestran las condiciones a las que se operó el molino y a partir de las cuales se pudo observar la presencia de banco de mezcla en el procesamiento del material. Una vez que se plastificó el polímero, se retiró la lámina formada.

Tabla 2.3. Condiciones de operación en el molino de rodillos

Tiempo (s)	Apertura de los rodillos (mm)	Velocidad (rpm)
0	0,1	3,1
90	0,2	3,1
150	0,3	3,1
190	0,4	3,1
240	0,4	2,5

De acuerdo con Zloczower (1996), se establecieron patrones cualitativos del mezclado distributivo y dispersivo (p. 78). Se fijó una cuadrícula de dos filas y cuatro columnas en los materiales formulados con las partículas sintetizadas y se procedió a comparar cada segmento con los patrones establecidos, que se encuentran en el ANEXO VI. Finalmente, se realizó un promedio de valores obtenidos y se estableció de manera semi – cuantitativa el mezclado dispersivo y distributivo de los materiales.

2.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL DE LÁMINAS DE PVC CON PARTÍCULAS DE HIERRO

Se evaluó la actividad antibacteriana de las seis láminas formuladas, a partir del método de difusión en agar. Con base en las sugerencias de Araya, Prat y Ramírez

(2015) se realizaron los procedimientos en la preparación de las muestras (pp. 10 – 17). Se utilizaron cepas de microorganismos de coliformes *Escherichia coli* (gram – negativa) y *Staphylococcus aureus* (gram – positiva).

Se recortaron cuadrados de 1x1 cm y 2x2 cm de cada una de las láminas con la ayuda de tijeras y pinzas que fueron previamente esterilizadas. Posteriormente, se sembraron los microorganismos en el agar de las cajas Petri esterilizadas y se colocaron los cuadrados de las láminas en cada mitad de las cajas. A su vez, para comprobar la eficacia del método, se utilizaron discos de muestra referencial de inhibición de Gentamicina (30 µg) para la siembra. Finalmente, se dejaron incubar las placas a 37°C durante 24 h.

El factor para determinar si el material presentó o no propiedades bactericidas fue la formación de halos de inhibición alrededor de las muestras, como resultado de la interrupción del crecimiento microbiano.

Se reportaron las medidas de los halos de inhibición para las muestras que mostraron actividad antibacterial y se seleccionó el material que tuvo mayor tamaño de inhibición.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CONDICIONES DE SÍNTESIS

En la Tabla 3.1 se reportan los resultados del diseño experimental con la medida de magnetismo preliminar, como variable de salida. Estos resultados fueron obtenidos a partir de los valores del ANEXO I.

Tabla 3.1. Resultados obtenidos del diseño experimental con modelo factorial 4x3

Nomenclatura	pH	Temperatura (°C)	Magnetismo Preliminar
NPs01	10,00	25	0,0
NPs02		50	0,2
NPs03		80	0,3
NPs04	10,50	25	0,6
NPs05		50	0,8
NPs06		80	0,9
NPs07	11,00	25	2,7
NPs08		50	2,7
NPs09		80	2,8
NPs10	11,50	25	5,0
NPs11		50	4,7
NPs12		80	4,5

Se comprueba que el magnetismo aumenta conforme aumenta el pH. En el caso de la temperatura de post – secado, también se evidencia un aumento de magnetismo a medida que incrementa la magnitud de esta variable, entre cada nivel de pH. Sin embargo, este comportamiento ocurre hasta un pH de 10,50; en pHs mayores, no se observan cambios del magnetismo con respecto a la temperatura de post – secado. Este fenómeno concuerda con la investigación de Benitez et al. (2011), quienes proponen que la temperatura de post – secado de 80 °C, favorece la formación de estructuras con carácter magnético como la maghemita. No obstante, para pHs de 11 en adelante se favorece de mejor manera la formación óxidos de hierro con carácter magnético, y por lo tanto, la temperatura de post – secado ya no influye como lo hace con pHs más bajos (p. 11). A su vez, en los estudios de Ota, Yamazaki, Tomitaka, Yamada y Takemura (2014) se propone que

la temperatura de post – secado permite emular el efecto de la hipertermia, que es un tratamiento donde las partículas magnéticas se pueden unir a ligandos orgánicos, provocando una mejor adherencia. Se trabajó con temperaturas entre 40°C y 50°C, y se obtuvieron nanopartículas con carácter magnético entre tamaños de partícula de 20 a 30 nm (pp. 320 – 324). Por otro lado, Ramadan, Kareem, Hannover y Shanta (2011) estudiaron el efecto del pH entre 10 y 12,5 a temperaturas entre 25°C y 60°C, concluyendo que a estas condiciones todas las muestras de los diferentes ensayos presentaron comportamiento magnético (pp. 131 – 132).

Es por ello que la investigación se centró en estudiar el efecto del pH y temperatura de post – secado, para obtener partículas con comportamiento magnético y en consecuencia, como se había visto en el subcapítulo 1.1.1.3, obtener partículas con menor tamaño de partícula posible. Por otra parte, como se mencionó en la sección 2.2, se llevaron a cabo convenios con laboratorios externos a la Facultad y a la Universidad, de manera que no se tuvo una completa disposición de los equipos. Por esta razón y por el tiempo requerido para efectuar los doce ensayos totales, no se realizaron repeticiones del diseño experimental. Es así que, no se pudo establecer un análisis estadístico.

Por último, las condiciones de síntesis que se establecieron fueron aquellas representadas por las muestras NPs07 y NPs10 que, como se observan resaltadas en la Tabla 3.1, presentaron los valores más altos de magnetismo preliminar.

3.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS

3.2.1. FORMA Y TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS

La distribución de tamaño de la muestra NPs07 obtenida por DLS se muestra en la Figura 3.1. Se obtuvo un tamaño de diámetro efectivo de 123,5 nm con una polidispersidad de 0,287 y se observa que a medida que aumenta el volumen de las partículas grandes, la señal de las partículas pequeñas disminuye, lo que indica

una dispersión bimodal. Boyd, Pichaimuthu y Cuenat (2011) afirman que este hecho se da porque la capacidad de una partícula para dispersar luz es proporcional a su diámetro a la sexta potencia, y por tal motivo la intensidad de luz dispersada por partículas grandes oculta casi por completo la señal de aquellas más pequeñas. Por lo tanto, sería errado considerar que las partículas grandes se encuentran en mayor proporción que las pequeñas. (p. 40).

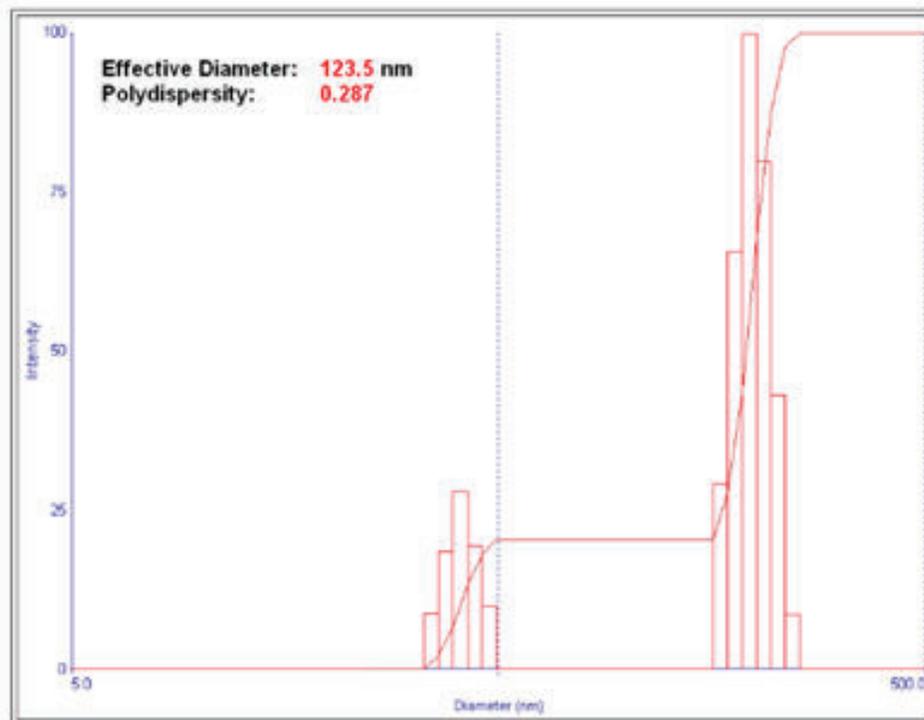


Figura 3.1. Distribución de tamaño de partícula de la muestra NPs07

En la Figura 3.2, correspondiente a las imágenes obtenidas por AFM de la muestra NPs07, se observa que las partículas presentan formas irregulares y en el caso de las más pequeñas, con tendencia a esféricas. En la medición del tamaño de partícula, se visualiza particularmente una con 315 nm de diámetro en medio de partículas en el orden de 40 nm. De esta forma, se corrobora lo evaluado en la distribución de tamaño y además se comprueba la presencia de partículas con tamaño en el orden nanométrico.

Las amplias distribuciones de tamaño de partícula se deberían a la formación de aglomerados o coloides. Esta hipótesis concuerda con Wu, He y Jiang (2008),

quienes afirman que la alta relación entre el área superficial y el volumen de partículas pequeñas provee a las mismas de una alta energía superficial. En ausencia de recubrimientos superficiales, como en el caso del presente trabajo, las partículas se aglomeran entre sí para reducir esta energía, lo que genera la formación de largos complejos y por consiguiente, el aumento del tamaño de partícula (pp. 400 – 401).

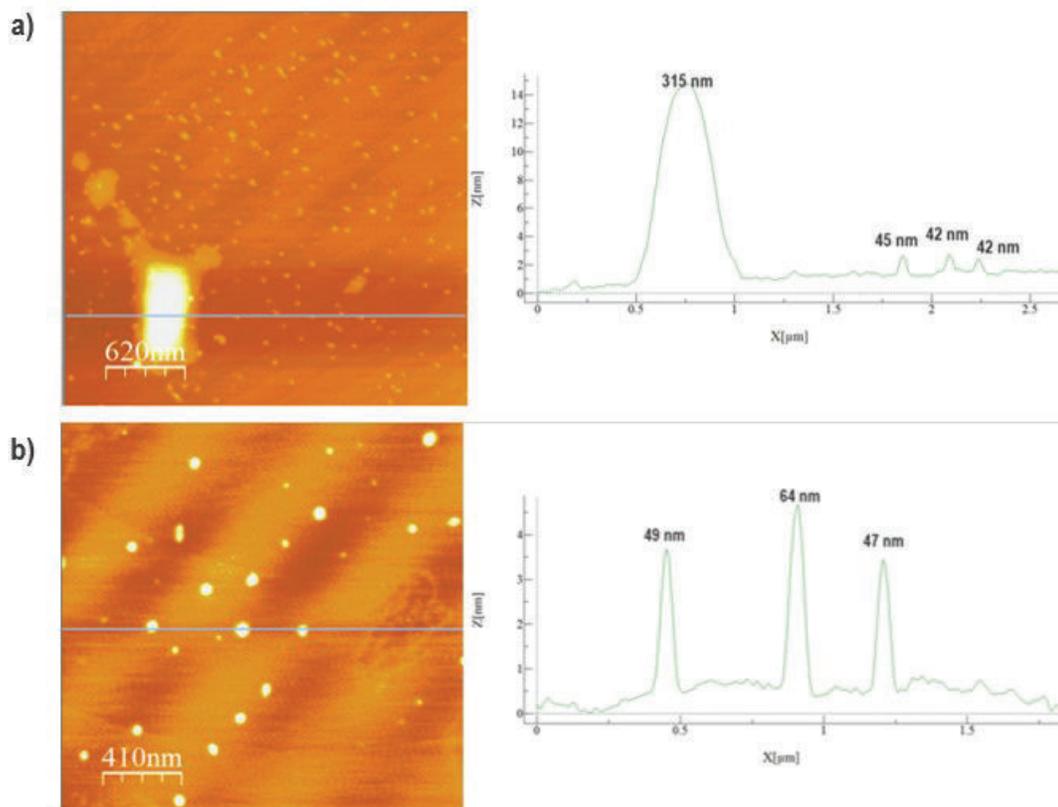


Figura 3.2. Imágenes AFM de la muestra NPs07 a) escala 620 nm y b) escala 410 nm

La distribución de tamaño de la muestra NPs10 se indica en la Figura 3.3. Esta muestra reportó un tamaño de diámetro efectivo de 231,9 nm y una polidispersidad de 0,33. Al igual que en el anterior caso, se observa una dispersión bimodal. Al comparar ambas muestras se evidencia el mismo comportamiento, sin embargo, en la muestra NPs07 se obtuvo un menor tamaño de partícula. La diferencia entre estas muestras es el pH. De acuerdo con Baalousha (2009) al aumentar el pH se disminuye la carga superficial de las partículas significativamente, provocando una aglomeración. De esta manera, las fuerzas de repulsión entre las partículas también

disminuyen, lo que implicaría que cada colisión de las partículas contra los agregados conduzca a la adherencia de las mismas (p. 2096).

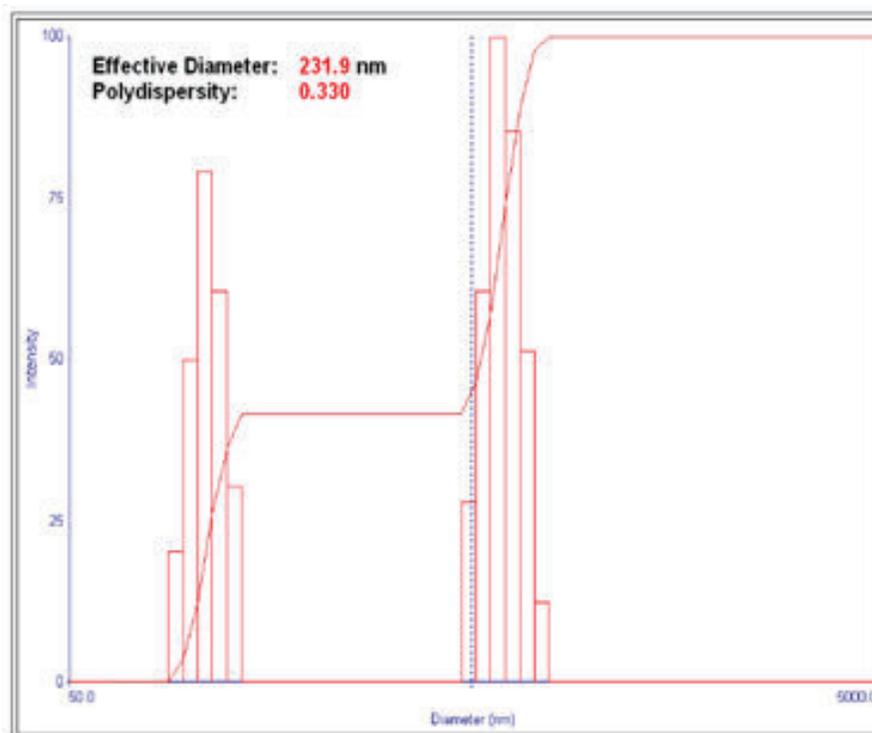


Figura 3.3. Distribución de tamaño de partícula de la muestra NPs10

Como se observa en la Figura 3.4, correspondiente a la imagen de AFM obtenida de la muestra NPs10, las partículas asemejan formas individuales y esféricas. Del mismo modo, se aprecia en algunas de ellas una especie de núcleo metálico recubierto por la parte orgánica. No obstante, al igual que con la muestra anterior, es notable la amplia distribución de tamaños de partícula y se corrobora igualmente la información de la Figura 3.3. En este caso, las partículas alcanzan tamaños en el orden de las micras.

El no haber empleado procesos de lavado y filtración, es una causa para que se obtenga una mezcla de productos a más de las partículas de hierro con antibiótico. En este enfoque, la incorporación de las impurezas dentro de la red cristalina de las partículas se atribuye como el factor para obtener grandes tamaños de partícula,

aparte de las otras hipótesis ya discutidas. Sin embargo, este tema será discutido con mayor detalle en el análisis de los difractogramas de rayos X.

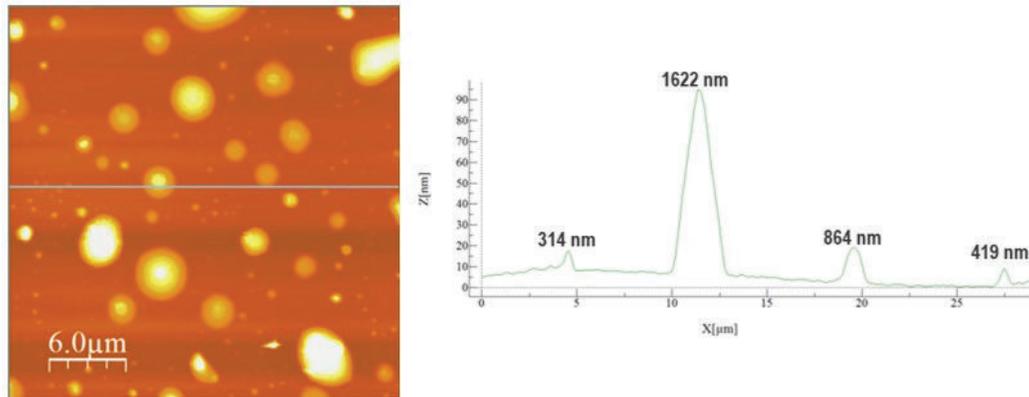


Figura 3.4. Imagen AFM de la muestra NPs10

Finalmente, con base en la Comisión Europea (2011), el tamaño promedio de las dos muestras de partículas de hierro analizadas estarían por sobre el límite superior de 100 nm para ser consideradas nanopartículas, sin embargo, en el mismo artículo se establece que para casos específicos como la salud y consecuentemente aplicaciones biomédicas, este rango puede ser superior (pp. 1 – 3). Por ejemplo, Bai, Xia, Yow, Chu y Xu (2011) trataron células cancerígenas con nanopartículas en el orden de 400 a 700 nm, obteniendo excelentes resultados (p. 497). Por lo tanto, las muestras sintetizadas se consideran como nanopartículas en estado de aglomeración.

3.2.2. ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADA DE FOURIER

Los ensayos de espectroscopía de infrarrojos (FTIR) fueron llevados a cabo para determinar la formación de enlaces entre la ceftriaxona y el hierro. En la Figura 3.5 se observa que los espectros IR de la ceftriaxona y la muestra NPs07 son similares, por lo que se confirma la presencia de ceftriaxona en las partículas. La banda de absorción localizada en 1740 cm^{-1} , corresponde al grupo carbonilo (C=O) del anillo β – lactama, ya que según Silverstein, Webster y Kiemle (2014) este anillo presenta

una fuerte absorción alrededor de $1760 - 1730 \text{ cm}^{-1}$ (p.101). En las partículas se identifica un desplazamiento de esta banda hacia 1752 cm^{-1} , por lo que se trataría de una coordinación. Este análisis concuerda con Anacona y Rodriguez (2005), quienes proponen que la coordinación del ligando se da a través del átomo de oxígeno en el grupo carbonilo del anillo β – lactámico (p.898).

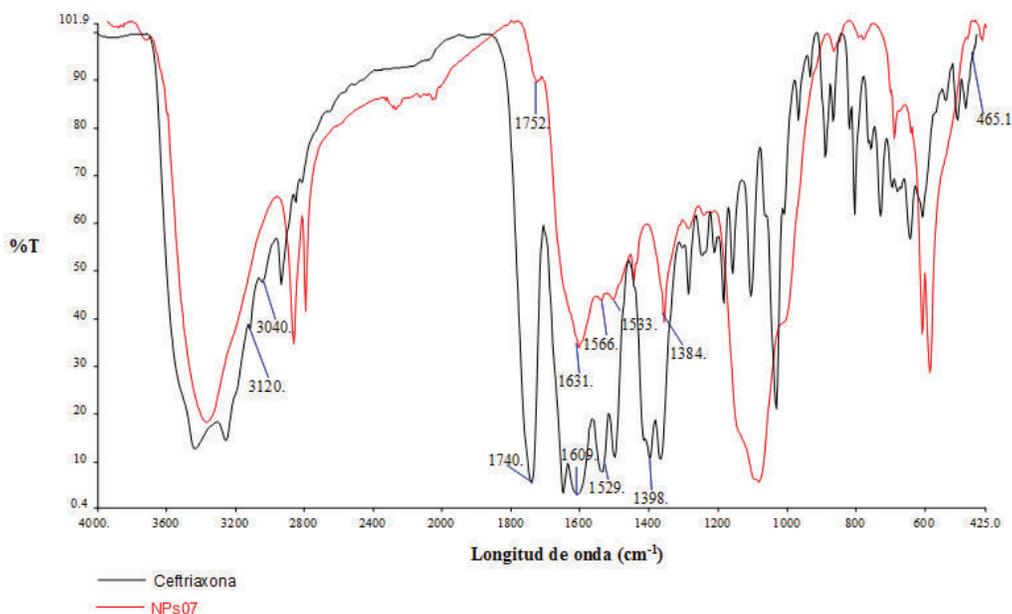


Figura 3.5. Comparación de espectros IR entre la muestra NPs07 y la ceftriaxona

La banda localizada alrededor de 1609 cm^{-1} en el antibiótico puro, se atribuye a la vibración del anión carboxilato asimétrico, que presenta fuertes absorciones en el rango de $1650 - 1550 \text{ cm}^{-1}$ (Silverstein, Webster y Kiemle, 2014, p. 96). De igual manera, se estimaría una coordinación con este grupo, ya que en las partículas esta banda se recorre hacia 1631 cm^{-1} (Anacona y Rodriguez, 2005, p. 899).

Asimismo, la banda ubicada alrededor de 1400 cm^{-1} , correspondiente al anión carboxilato simétrico (Silverstein, Webster y Kiemle, 2014, p. 96), cambia como resultado de una coordinación. Con base en Nakamoto (2009), un ligando de anión carboxilato puede coordinarse con un metal como ligando monodentado o bidentado, dependiendo de los cambios relativos en las posiciones de las vibraciones de estiramiento antisimétricas y simétricas. La gran diferencia de

valores de número de onda ($>200\text{ cm}^{-1}$) se la atribuye como una interacción monodentada del anión carboxilato (p. 250), tal como se muestra en la Figura 3.6.

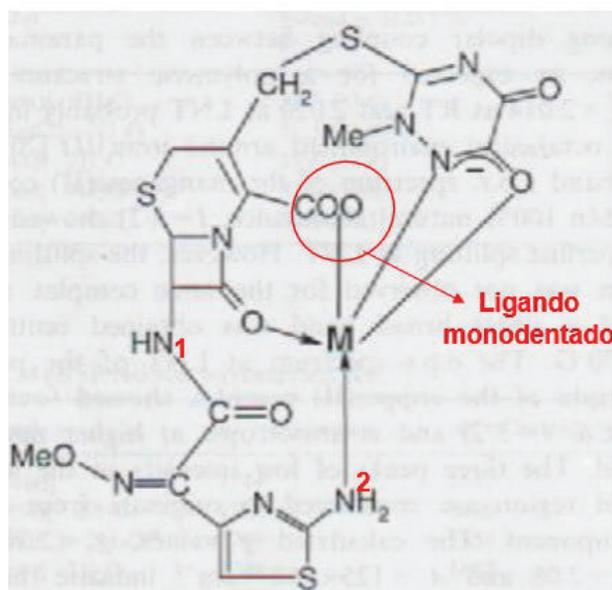


Figura 3.6. Tentativa estructura del complejo ceftriaxona – hierro II (M)
(Anacona y Rodríguez, 2005, p. 900)

En la Figura 3.7 se puede observar que las partículas NPs10 muestran un comportamiento similar al descrito por la anterior muestra. De igual forma, la banda de absorción del grupo carbonilo β – lactámico se recorre hacia un valor de 1754 cm^{-1} , con un menor porcentaje de transmitancia que en la anterior muestra. Se presume que la variación en el pH es la razón por la cual disminuye este parámetro en la coordinación. La hipótesis de una coordinación monodentada del grupo COO también se manifiesta en esta muestra, pues es marcada la diferencia de valores de número de onda de los aniones carboxilato antisimétrico y simétrico.

En los espectros IR de ambas muestras se encuentra una banda característica entre metal y nitrógeno (M–N) alrededor de 464 cm^{-1} que no se encuentra en el antibiótico. Por lo tanto, el grupo amina se enlazaría con el Fe (II) a través del N en la posición 2 de la Figura 3.6. No obstante, la estructura tentativa propuesta por Anacona y Rodríguez no contempla otras suposiciones. Por ejemplo, las bandas de absorción en las regiones de número de onda entre $3257 - 3099\text{ cm}^{-1}$ y $3047 -$

2814 cm^{-1} , corresponden a los grupos $\nu(\text{NH})$ y $\nu(\text{CONH})$, respectivamente (Silverstein, Webster y Kiemle, 2014, p. 103). En las partículas estas bandas desaparecen y Hasanova et al. (2015) establecen como una evidencia para que estos grupos estén relacionados con procesos de quelación en la superficie de las partículas metálicas (p. 229). Es decir, que el N en la posición 1 de la Figura 3.6, correspondiente al grupo amina, estaría igualmente inmerso en la coordinación. La razón para establecer esta hipótesis es que el grupo amina es relativamente ácido y la presencia de aniones hidróxido en el medio básico de la reacción provocaría una deprotonación y la consecuente formación de agua y amida. De esta manera, el hierro se oxidaría a Fe (III) en caso de coordinación con el grupo amida (Chaudret, 2005, p. 245).

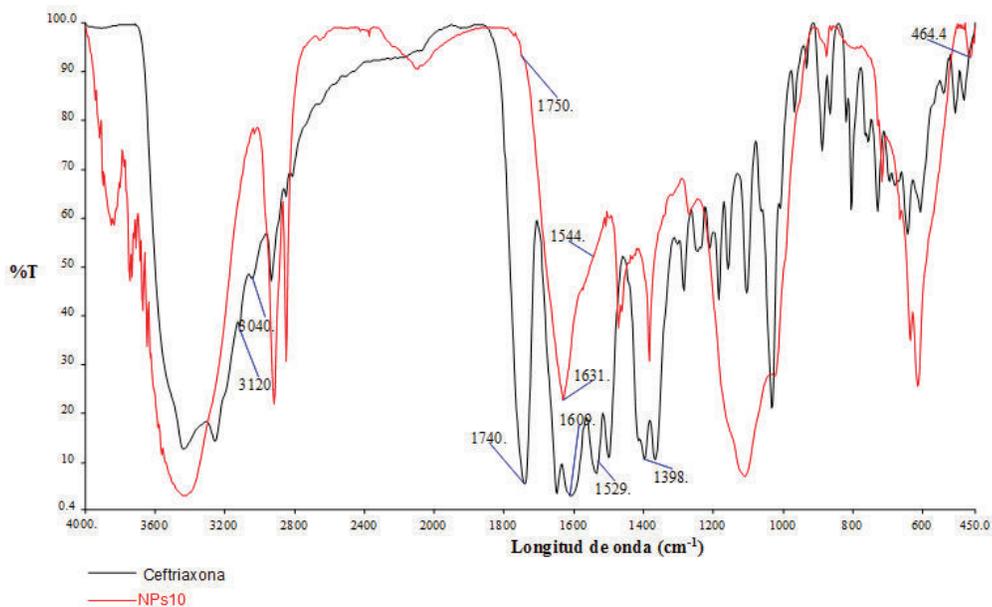


Figura 3.7. Comparación de espectros IR entre la muestra NPs10 y la ceftriaxona

De igual manera se sustenta que los aniones hidróxido del medio básico reaccionarían con el hierro, formando complejos de hidróxido de hierro $\text{Fe}(\text{OH})_x$. Esto se daría principalmente por el carácter oxofílico del hierro y que los aniones hidróxido tienden a ser fuertes ligandos (Chaudret, 2005, p. 256).

Por último, se plantea que el enlace C–O del anillo triazólico interactuaría junto con el ion metálico, ya que esta banda aparece en 1529 cm^{-1} en la ceftriaxona libre y se

desplaza hasta 1533 cm^{-1} en el caso de la muestra NPs07 (Anacona y Ortega, 2014, p. 365).

3.2.3. ESPECTROSCOPIA UV – VIS

Para determinar la presencia del antibiótico ceftriaxona en las respectivas muestras sintetizadas, se realizaron los análisis UV – Vis, y en la Figura 3.8 se aprecia los resultados obtenidos. Como se observa, todas las muestras presentaron una absorbancia en la región ultravioleta.

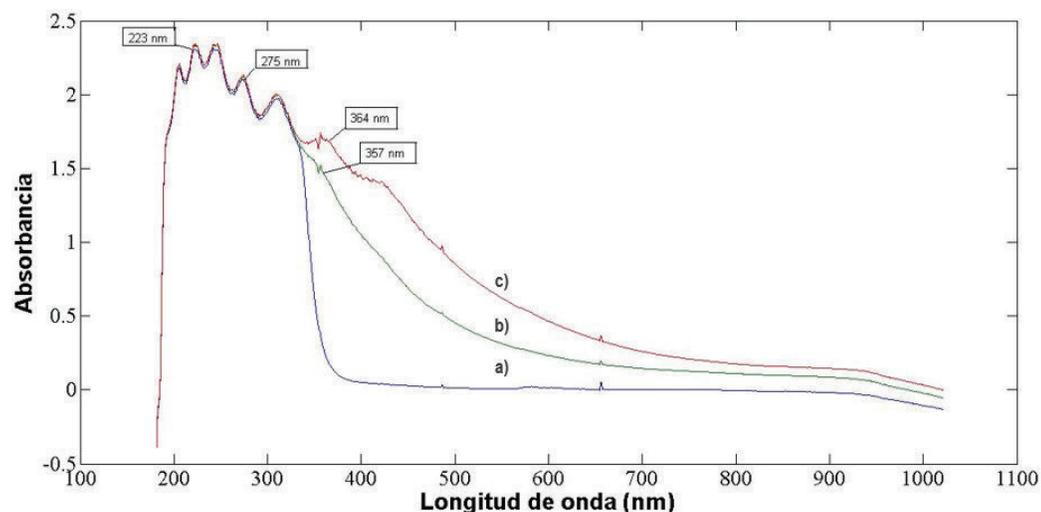


Figura 3.8. Espectros UV – Vis de las muestras a) ceftriaxona, b) NPs07 y c) NPs10

Con base en Brittain (2003), las bandas localizadas a 223 nm y 275 nm son propias de la ceftriaxona (p. 35). Aparte de estas bandas, Anacona y Rodríguez (2005) establecen que la absorción a 245 nm corresponde a una transición de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, originado por las vibraciones del enlace N–C–S, mientras que la banda en 305 nm representaría la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ dentro del anillo triazólico. Asimismo, las bandas en la región de 360 nm representan las transiciones de tipo $n \rightarrow \pi^*$, debido a los átomos de azufre (p. 899).

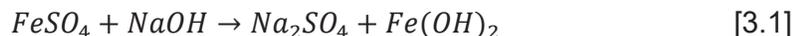
En las dos muestras de partículas sintetizadas se constata la presencia de la ceftriaxona, al observar las mismas bandas descritas por la ceftriaxona. De acuerdo

con los estudios realizados por Sirimuthu, Syme y Cooper (2011), se atribuye un fenómeno de adsorción física cuando en los espectros no se evidencia desplazamiento alguno de las bandas de absorción (p. 4100). Por lo tanto, se sustenta que el tipo de interacción que se tiene en las partículas sintetizadas se debe más a una adsorción física que por quimisorción. Además, en el trabajo realizado por Gustafsson y Andersson (2004) se indica que los desplazamientos cortos de longitud de onda que se obtienen en los espectros IR es una característica distintiva de la fisisorción (p. 7752). De esta manera, se ratifica una interacción de tipo física en las muestras.

3.2.4. DETERMINACIÓN DE FASES CRISTALINAS

Las difracciones de rayos X permitieron determinar las fases cristalinas presentes en las diferentes muestras. En la Figura 3.9 se indica el difractograma de la muestra NPs07. Es relevante mostrar en este resultado el favorecimiento de la formación de thenardita (Na_2SO_4) en las partículas, ya que la mayor cantidad de la muestra corresponde a este mineral.

En general, comprender el mecanismo de reacción entre los diferentes reactivos empleados en este trabajo resulta complicado, ya que la ceftriaxona es un compuesto orgánico con varios grupos funcionales. Sin embargo, se puede predecir la formación de la thenardita a través de la ecuación 3.1.



La sosa cáustica empleada para la regulación del pH reacciona con el sulfato ferroso para formar sulfato de sodio e hidróxido ferroso. Como se mencionó en la sección 3.2.1, la presencia de esta impureza se debe al hecho de no haber realizado un lavado posterior a la reacción. La explicación principal para no haber realizado este proceso se debe al bajo rendimiento que se obtenía en pruebas preliminares, entre 11% y 15% aproximadamente. Además de la formación de aglomerados, este factor complementa la razón por la cual se identifican partículas

muy grandes en medio de partículas pequeñas, en las imágenes AFM de las muestras.

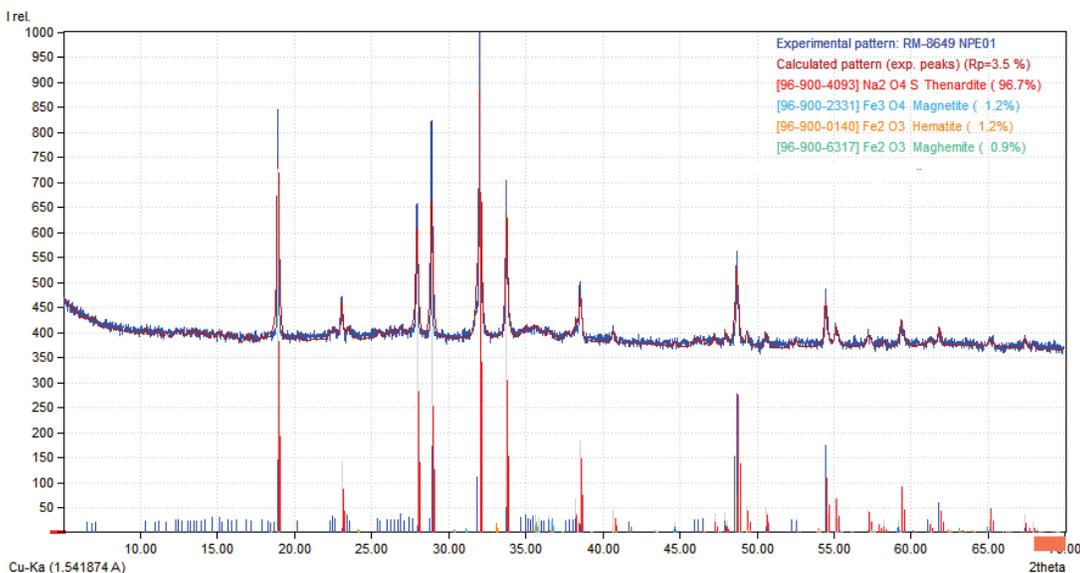


Figura 3.9. Difractograma de la muestra NPs07

No obstante, pese a la poca cantidad de óxidos de hierro obtenidos según el difractograma de la Figura 3.9, existen otros factores para argumentar la formación de estos compuestos. Los resultados en los espectros IR apuntan a la interacción entre óxidos de hierro con la ceftriaxona. Asimismo, en los próximos subcapítulos se analizarán el comportamiento térmico a través de análisis DSC y el comportamiento magnético mediante VSM, de las muestras sintetizadas, técnicas donde se puede comprobar la presencia de óxidos de hierro. Además, Mandile y Hutton (1995), establecen que cuando existe materia orgánica en la muestra, se obtienen difractogramas con mucho ruido y por tal motivo los análisis semi – cuantitativos no son completamente fiables (p. 54).

Por este motivo, se calcinó la muestra NPs07 a 950°C durante dos horas para eliminar la materia orgánica y determinar las fases cristalinas que se forman. En la Figura 3.10 se indica el difractograma de la muestra calcinada.

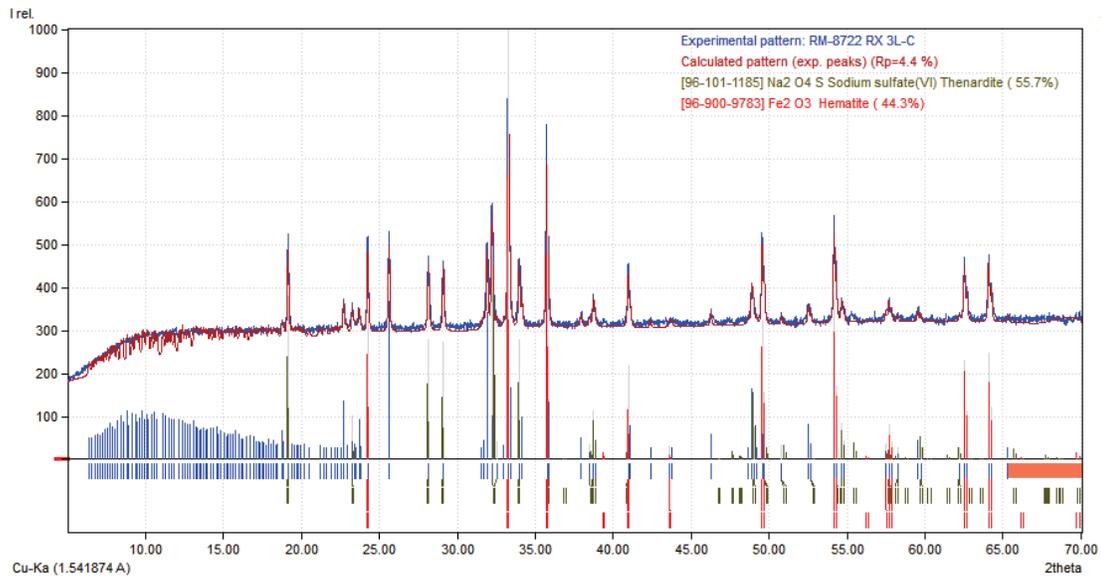


Figura 3.10. Difractograma de la muestra NPs07 calcinada

Como se esperaba, al calcar la muestra se obtiene una mejor resolución del difractograma. Aquí se puede ver que la cantidad de óxido de hierro en forma de hematita aumenta, pese a que la thenardita se encuentra todavía en mayor cantidad. Al tratarse de la misma muestra, se puede inferir que inicialmente el hierro se encuentra como óxidos o hidróxidos, que no fueron detectados en la muestra original y después de la calcinación se favoreció la oxidación hasta Fe_2O_3 .

Por su parte, el difractograma correspondiente a la muestra NPs10 se indica en la Figura 3.11. En Petcharoen y Sirivat (2012) se establece que los picos de difracción que se visualizan a $30,0^\circ$, $35,5^\circ$, $43,0^\circ$, $53,4^\circ$, $56,8^\circ$ y $62,7^\circ$ con índices (220), (311), (400), (422), (511) y (440), respectivamente, corresponden al cristal de magnetita con una estructura cúbica espinel. De esta manera, aunque la presencia de thenardita sigue siendo mayor, se puede ver con mayor claridad la presencia de magnetita en esta muestra.

Con base en Hermansson (2004), la magnetita es termodinámicamente estable a temperatura ambiente entre valores de pH de 7 a 12, empero, la estabilidad aumenta conforme el medio se vuelve más alcalino (p. 43). Por lo tanto, la razón por la cual se observa mayor formación de magnetita en la muestra NPs10 en comparación con la muestra NPs07, se debe al aumento de pH.

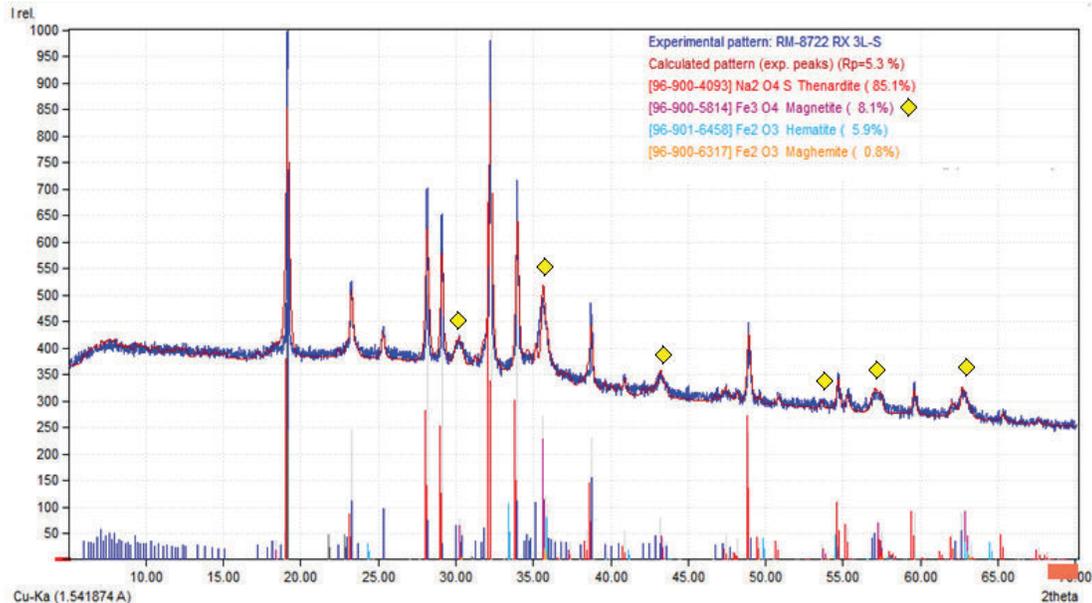


Figura 3.11. Difractograma de la muestra NPs10

3.2.5. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Se realizaron análisis DSC para evaluar el comportamiento térmico de las partículas sintetizadas. En la Figura 3.12 se muestra el DSC de la ceftriaxona pura y se identifica una banda exotérmica a 262,5 °C. Tange et al. (2013) realizaron la caracterización de ocho diferentes formulaciones de ceftriaxona y establecieron que esta temperatura correspondería a una transición entre estado de fusión y descomposición del fármaco (p. 1124). De igual manera, los resultados reportados por los ensayos UV – Vis tienen concordancia con la Figura 3.13 y Figura 3.14, correspondientes a los termogramas de las muestras NPs07 y NPs10, respectivamente; pues, la banda exotérmica ubicada entre 231°C y 238°C, se debe a la descomposición de la ceftriaxona presente en las partículas sintetizadas.

Con base en TsaKalakos, Ovidko y Vasudevan (2001), la banda endotérmica localizada alrededor de los 70°C se debe al proceso de deshidratación en cada una de las muestras e igualmente la banda exotérmica que se observa alrededor de los 370°C, corresponde al cambio de fase de magnetita a maghemita.

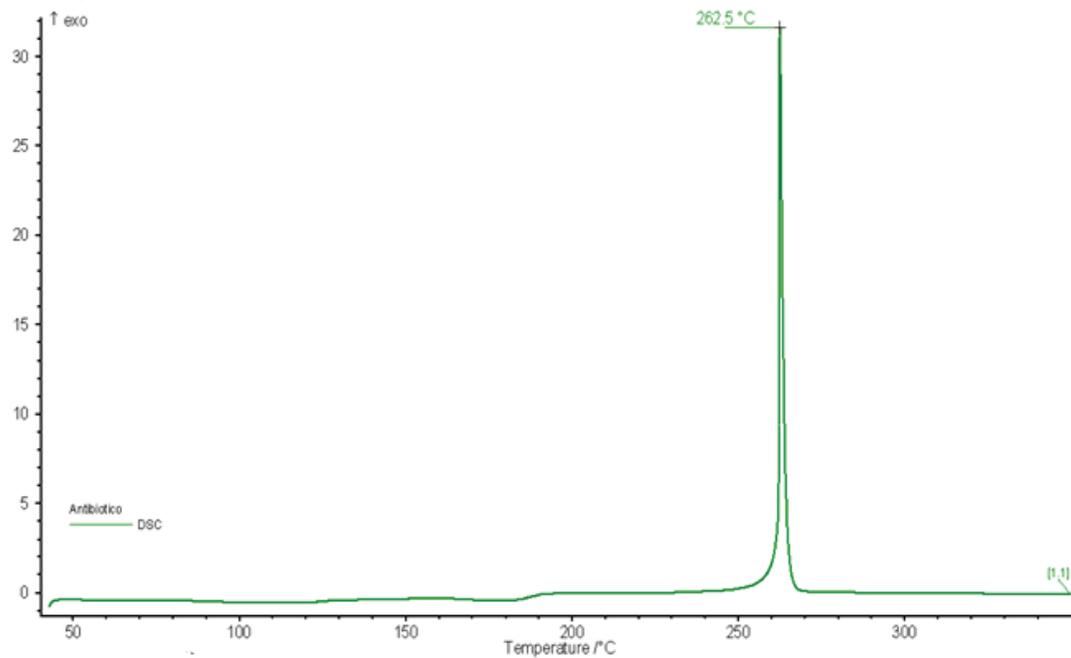


Figura 3.12. Termograma de la ceftriaxona pura

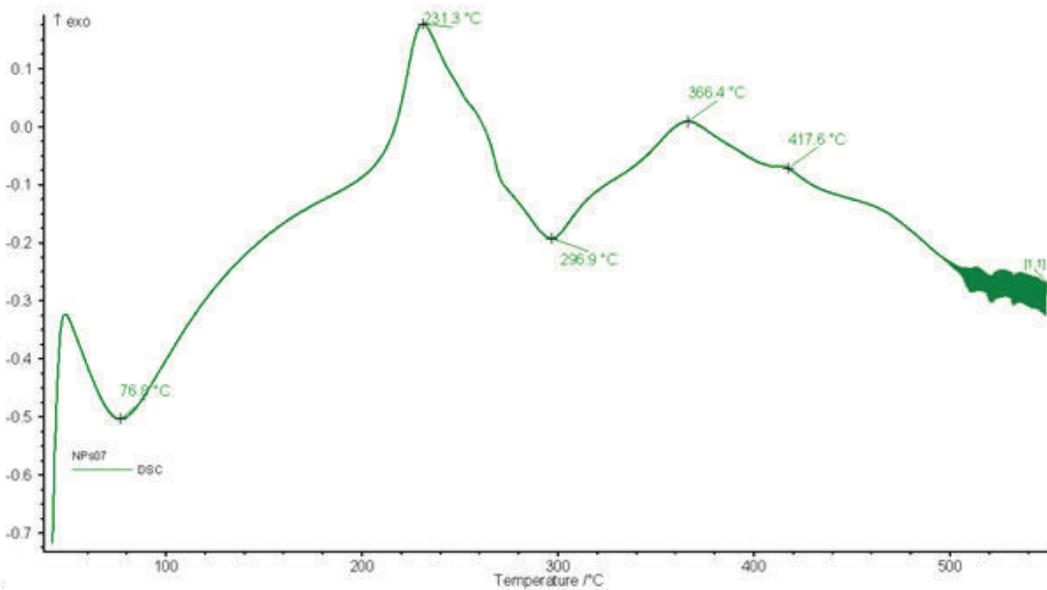


Figura 3.13. Termograma de la muestra NPs07

La siguiente banda exotérmica entre 408°C y 417°C se lo atribuye a la oxidación de maghemita a hematita (p. 65). Lehlooh, Mahmood, & Aljarayesh (1994), en su trabajo sobre el desarrollo de nanopartículas de magnetita establecen igualmente

que la temperatura de transición de magnetita a maghemita se encuentra a temperaturas mayores a 350°C, mientras que la oxidación de maghemita a hematita se obtiene sobre los 415°C (p. 147). Es así, que se comprueba que a temperatura ambiente existe la presencia de óxido de hierro, principalmente en forma de magnetita, en ambas muestras.

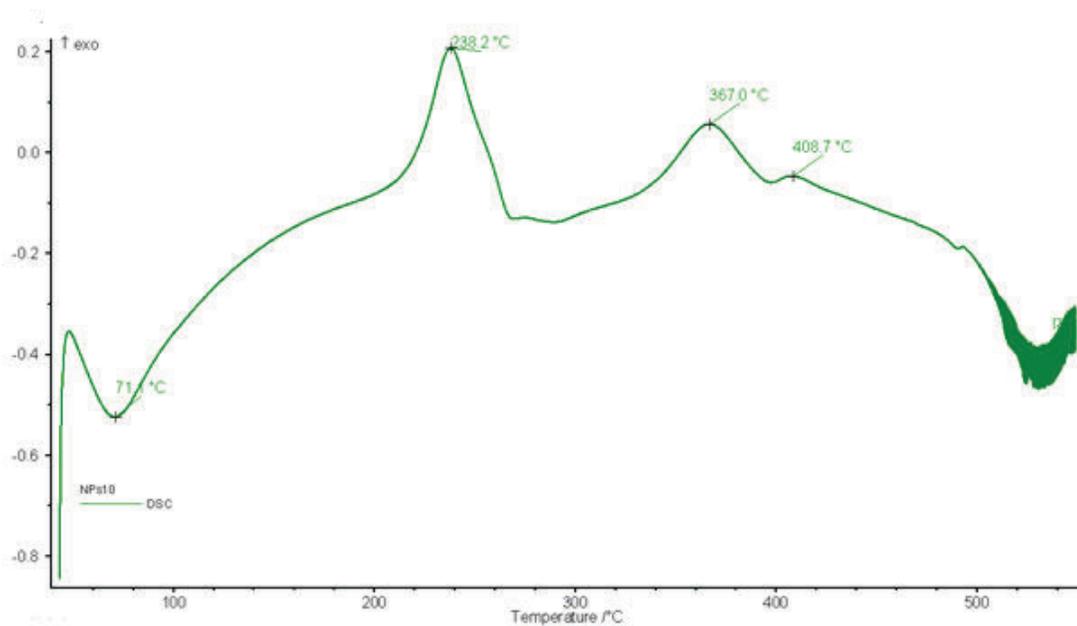


Figura 3.14. Termograma de la muestra NPs10

3.2.6. PROPIEDADES MAGNÉTICAS

Los ensayos VSM fueron llevados a cabo para analizar el comportamiento magnético de las partículas sintetizadas. Las curvas FC y ZFC medidas a un campo magnético de 100 Oe de las partículas NPs07 se muestra en la Figura 3.15. Se obtuvo una temperatura de bloqueo de 155,6 K.

Si bien es cierto que los análisis VSM sólo consideran la parte magnética de la muestra y no todo el material en sí, como el DLS o el AFM, se puede visualizar una cierta concordancia con lo mostrado en el tamaño y distribución de tamaño de estas dos muestras, ya que las curvas M – T entregan información sobre la distribución de tamaño de las partículas. De acuerdo con Vargas, Knobel, y Socolovsky (2004)

cuando las curvas ZFC y FC comienzan a separarse a medida que aumenta la temperatura, se debe a que existe una gran distribución de tamaños entre las partículas. En este caso, se observa una separación entre estas las curvas ZFC y FC, por lo que se estima una amplia distribución de tamaño en la muestra.

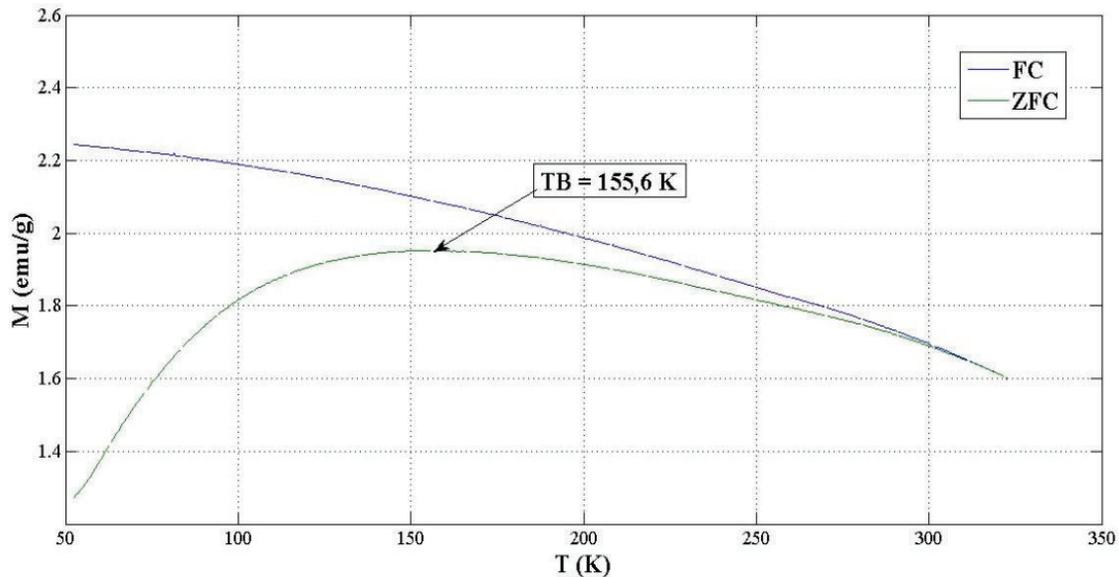


Figura 3.15. Curvas M – T medidas a 100 Oe de la muestra NPs07

En la Figura 3.16 se visualiza las curvas FC y ZFC de la muestra NPs10 medidas a 100 Oe. La temperatura de bloqueo que se obtuvo fue de 315,1 K. Con base en Kolhatkar, Jamison, Litvinov, Willson y Lee (2013) la temperatura de bloqueo es un indicador del tamaño de partícula y se tiene menor tamaño en aquel material que presente una menor temperatura de bloqueo (p. 15983). Al comparar estos valores, se deduce entonces que la muestra NPs07 presenta menor tamaño de partícula que la muestra NPs10 y se corrobora así, lo observado en los ensayos DLS.

Por otra parte, en la Figura 3.16 no se alcanza a distinguir el punto de unión entre las curvas FC y ZFC en el rango de temperaturas de 50 – 350 K y aparte, se tiene una gran separación entre estas curvas, lo que indica una amplia distribución de tamaños. En ambas muestras se observa que la curva FC tiende a crecer conforme se disminuye la temperatura. Este factor indica que las partículas no interactúan

entre sí (Carvell et al., 2010, p. 103913-4) y se reivindica la hipótesis de que la ceftriaxona podría tener un papel de estabilizante entre las partículas.

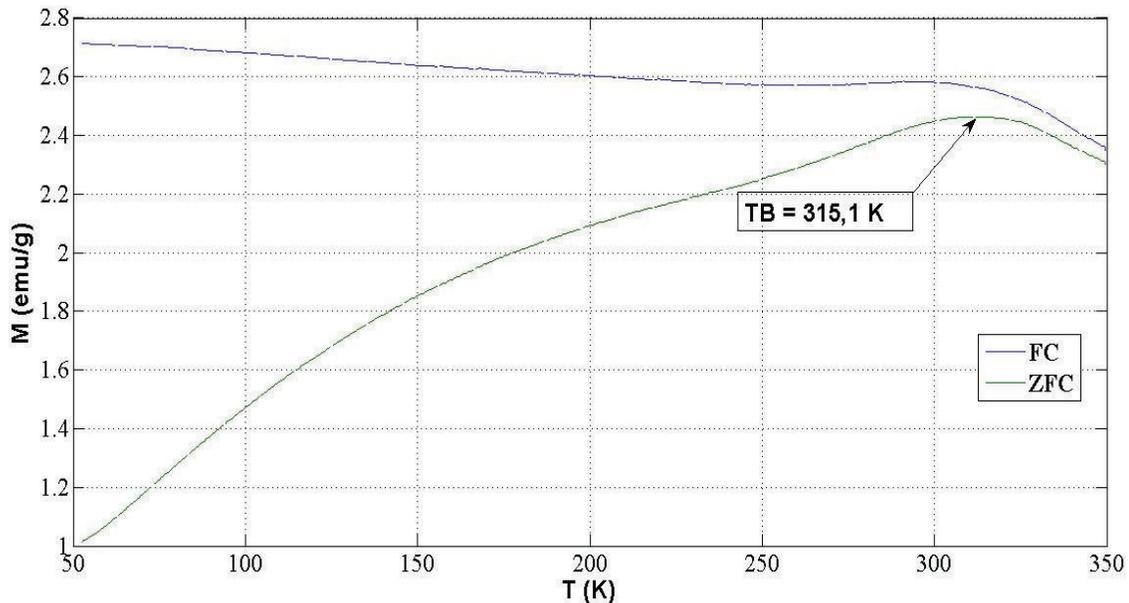


Figura 3.16. Curvas M – T medidas a 100 Oe de la muestra NPs10

En ambas muestras las curvas M – T siguen la tendencia de lo mencionado en la sección 1.1.1.4. Es decir, la curva ZFC aumenta hasta un punto máximo y decrece conforme aumenta la temperatura; mientras que la curva FC tiende al crecimiento a medida que la temperatura disminuye.

La curva M – H medida a 200 K de la muestra NPs07 se indica en la Figura 3.15. Recapitulando, en esta temperatura las partículas se encuentran desbloqueadas y es posible determinar un comportamiento magnético. Por la forma de la curva, se establece a primera vista que se trata de un material superparamagnético, pues como se había visto en la sección 1.1.1.3, el comportamiento superparamagnético se obtiene cuando la coercitividad es igual a cero. No obstante, se trata de un criterio teórico y en la parte experimental puede haber ciertas consideraciones. Por ejemplo, en Guardia, Labarta y Batlle (2011) se sintetizaron nanopartículas de Fe_3O_4 con coercitividades en el rango de 70 a 340 Oe, atribuyendo carácter superparamagnético al material (p. 392).

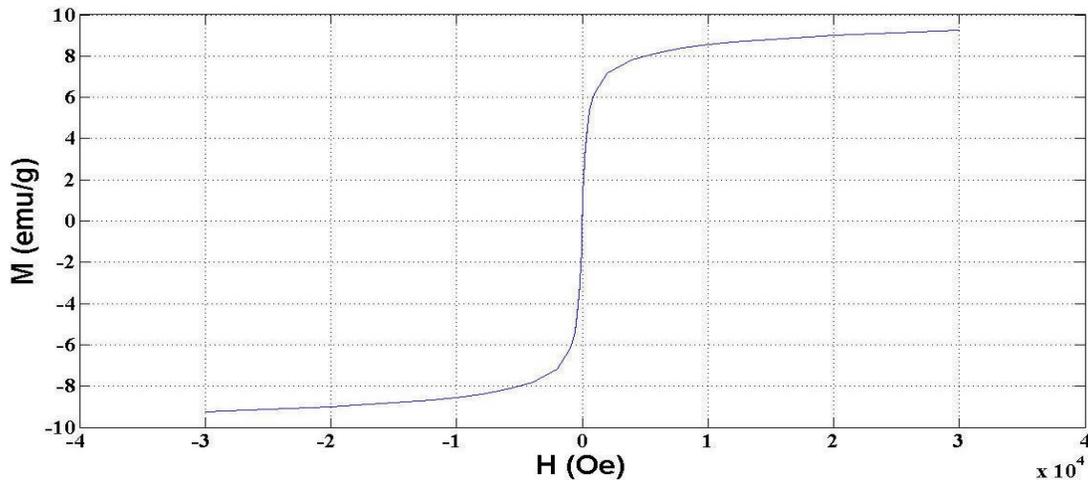


Figura 3.17. Curva M – H medida a 200 K de la muestra NPs07

En la Figura 3.18 se indica la curva M – H medida a 55 K de la muestra NPs07. Al medir la curva a una temperatura por debajo de la temperatura de bloqueo, las partículas están bloqueadas y se evidencia una coercitividad aproximada de 50 Oe. Además, se obtiene una saturación de magnetización de 8,95 emu/g.

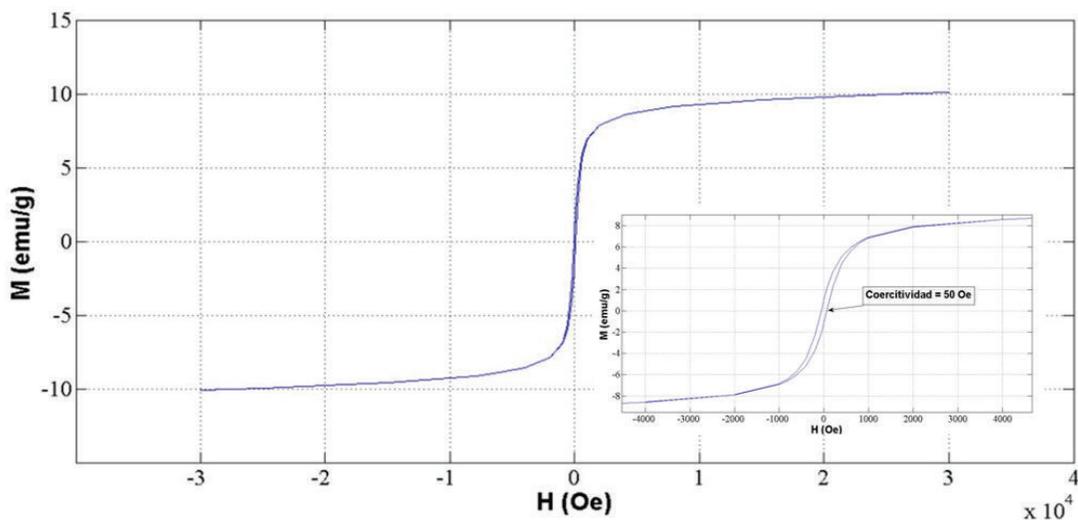


Figura 3.18. Curva M – H medida a 55K de la muestra NPs07

Con respecto a la magnetización de saturación obtenida, ésta es mucho menor que la magnetización de saturación de la magnetita (100 emu/g) y la maghemita (80 emu/g) (Kucheryavy et al., 2013, p. 715). El método de co – precipitación química es un factor por el cual se obtienen bajos valores de este parámetro, principalmente

por la inestabilidad del Fe_3O_4 para oxidarse a $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (Wu , He , & Jiang, 2008, p. 398).

En la Tabla 3.2 se indican los valores estimados de la cantidad de magnetita presente en cada una de las muestras, tomando como referencia el valor de saturación de magnetización de la magnetita a granel de 100 emu/g. Este dato corrobora la pequeña cantidad de magnetita presentes en la difracción de rayos X. Cabe recalcar, que los análisis VSM consideran únicamente la parte magnética del material y por esta razón, los valores mostrados son mayores que los reportados en la difracción de rayos X.

Tabla 3.2. Estimación de la cantidad de magnetita en cada una de las muestras con respecto a los valores de magnetización de saturación de la magnetita a granel

Muestra	NPs07	NPs10
Magnetización de saturación (emu/g)	8,95	13,71
Cantidad Magnetita (%)	8,95	13,71

En la Figura 3.19 se muestra la curva M – H a 200 K de las partículas NPs10. Al igual que en la anterior muestra se observa una coercitividad casi nula en estas condiciones de la medición.

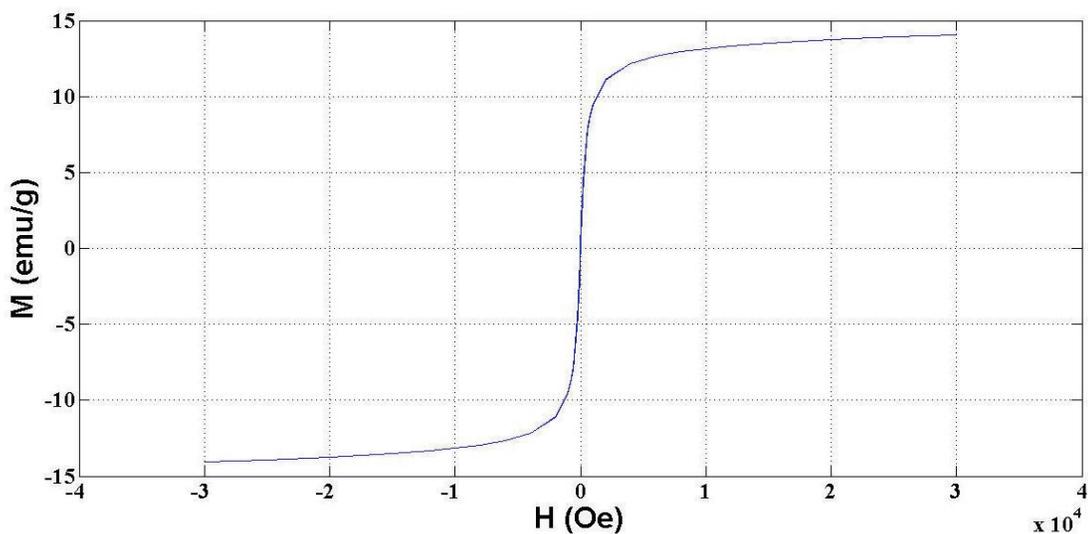


Figura 3.19. Curva M – H medida a 200 K de la muestra NPs10

Al disminuir la temperatura por debajo de la temperatura de bloqueo se obtienen valores de coercitividad y magnetización de saturación de 112,5 Oe y 13,71 emu/g, respectivamente, tal y como se observa en la Figura 3.20. La coercitividad es casi el doble que el anterior caso y la principal causa es el aumento del tamaño de partícula.

De igual manera, el aumento de magnetización de saturación en esta muestra, concuerda con la difracción rayos X de la Figura 3.11, en la cual se definían mejor las bandas correspondientes a magnetita, con respecto a la muestra NPs07.

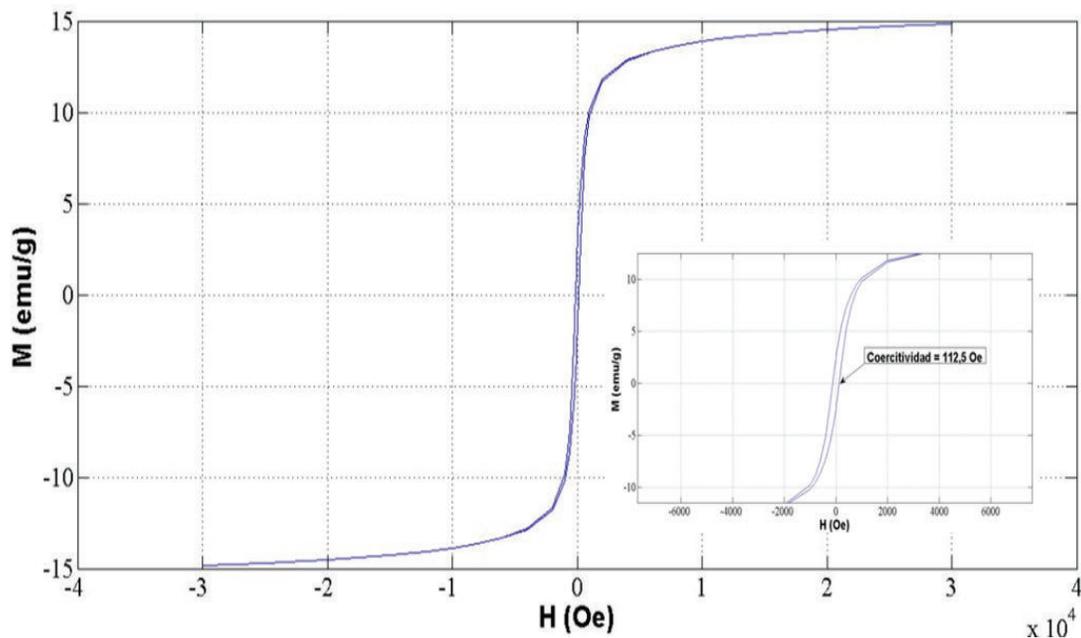


Figura 3.20. Curva M – H medida a 55K de la muestra NPs10

Finalmente, el comportamiento superparamagnético observado en las partículas sintetizadas es otra evidencia para estimar que se tratan de nanopartículas. Como se estableció en la sección 1.1.1.3, el superparamagnetismo surge cuando se eliminan las paredes internas de multidominio hasta obtener un monodominio por debajo del tamaño crítico. En el caso de la magnetita este tamaño crítico es 84 nm (Salabas, 2004, p. 14) y con relación a los resultados AFM, en la muestra NPs07 existen partículas por debajo de este valor. Por lo tanto, se ratifica la presencia de nanopartículas.

3.3. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DISTRIBUTIVAS Y DISPERSIVAS DEL MATERIAL

En la Tabla 3.3 se indican los resultados obtenidos en el análisis de mezclado distributivo y dispersivo de las diferentes partículas en el PVC.

Tabla 3.3. Evaluación semi-cuantitativa del mezclado distributivo y dispersivo en los diferentes materiales de PVC

Muestra	Mezclado Distributivo (%)	Mezclado Dispersivo (%)
NPs07 al 1,5% w/w	75	69
NPs07 al 3% w/w	69	59
NPs10 al 1,5% w/w	66	69
NPs10 al 3% w/w	75	38

Se observa que la lámina de PVC con partículas NPs07 al 1,5% w/w presenta las mejores propiedades en cuanto al tipo de mezclado y esto se da por la baja concentración y por tener menor tamaño de partícula. Si se comparan las fotografías de los diferentes materiales formulados, que se muestran a partir de la Figura 3.21 hasta la Figura 3.24, se corrobora que en ningún caso se alcanza un mezclado distributivo perfecto (100%).

Según Rauwendaal (1998), este fenómeno se debe a la segregación del material particulado. Asimismo, la segregación se da por la mezcla de materiales con características diferentes, como en el caso de incorporar una muestra de origen metálico en PVC, donde las partículas tienden a desplazarse hacia ciertas regiones del material (p. 30).

Por otro lado, es relevante observar el bajo porcentaje de mezclado dispersivo del material con partículas NPs10 al 3% w/w. Se atribuye este resultado a dos factores: la concentración y el tamaño de partícula. De acuerdo con Rauwendaal (1998), cuando aumenta el tamaño de partícula, se tiende a formar aglomerados cohesivos dentro del polímero (p. 50). Además, como se había visto anteriormente, los complejos organo – metálicos sintetizados tendrían una interacción debido a las

fuerzas electrostáticas, las mismas que provocarían la formación de aglomerados cohesivos en el material de PVC. A su vez, el aumento de la concentración de las partículas aumenta la probabilidad de interacciones cohesivas entre las partículas.

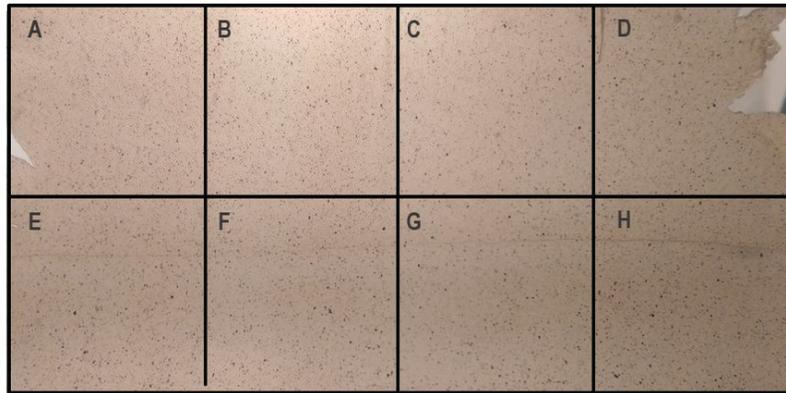


Figura 3.21. Lámina de PVC con partículas NPs07 al 1,5% w/w

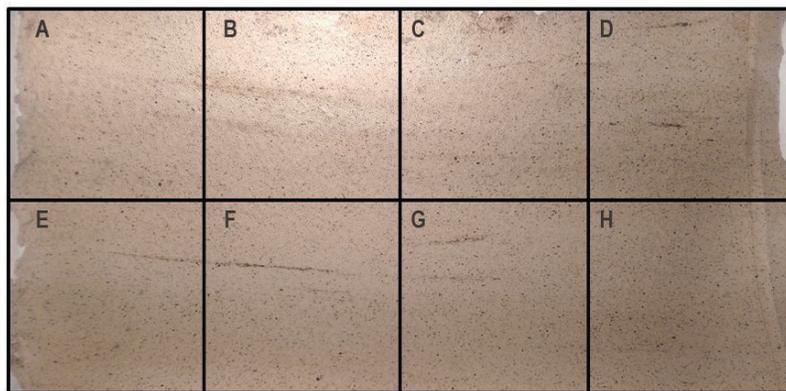


Figura 3.22. Lámina de PVC con partículas NPs07 al 3% w/w

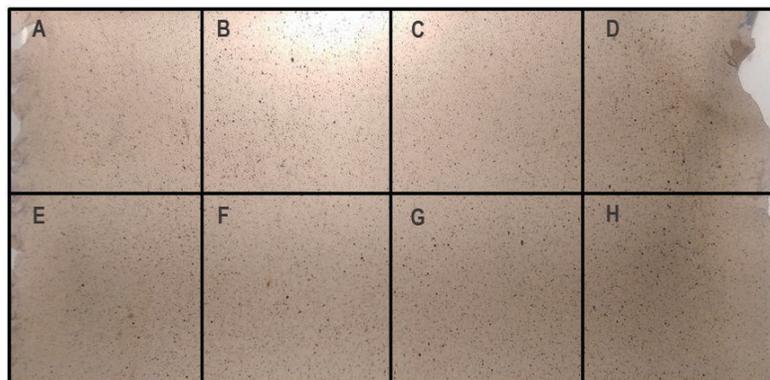


Figura 3.23. Lámina de PVC con partículas NPs10 al 1,5% w/w

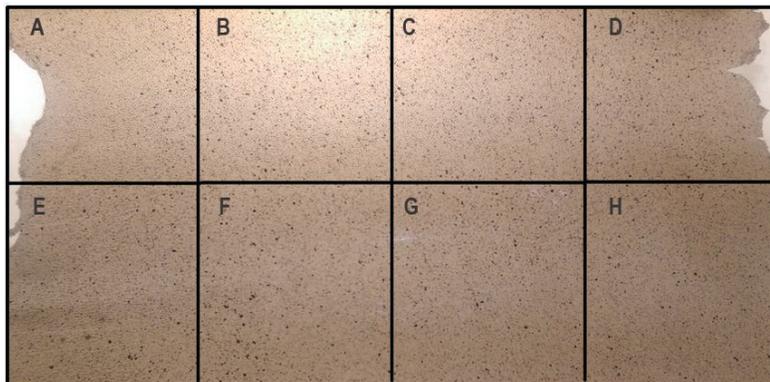


Figura 3.24. Lámina de PVC con partículas NPs10 al 3% w/w

3.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL DE LAS LÁMINAS DE PVC CON PARTÍCULAS DE HIERRO

El resultado de la susceptibilidad bacteriana de láminas de PVC con partículas de hierro en el crecimiento de *E. Coli* se presenta en la Tabla 3.4. En comparación con la lámina Blanco I, se indica que los halos de inhibición de las diferentes muestras preparadas con la muestra NPs07, fueron afectadas significativamente por la presencia de las partículas sintetizadas.

Tabla 3.4. Resultados del análisis antibacterial en el crecimiento de *E. coli* entregado por el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB)

Dimensiones lámina (cm ²)	Halo de inhibición (mm)	
	1x1	2x2
Blanco I	0	0
Blanco II	8	8
NPs07 al 1,5% w/w	1	4
NPs07 al 3,0% w/w	11	11
NPs10 al 1,5% w/w	0	0
NPs10 al 3,0% w/w	0	0

El material preparado con las partículas NPs07 al 3,0 % fue el que tuvo una mayor inhibición. Además, se puede ver que el halo de inhibición de esta muestra es mayor al obtenido por el material con ceftriaxona pura. Para la muestra NPs10 se observó crecimiento de los microorganismos encima del material por lo cual no se pudo

apreciar ningún halo de inhibición. Asimismo, se comprueba que la muestra preparada con ceftriaxona pura (Blanco II) indicó efecto sobre el crecimiento microbiológico.

Los resultados que se muestran en la Tabla 3.5 indican el valor del tamaño de los halos de inhibición de los diferentes materiales en el crecimiento de *S. aureus*.

Tabla 3.5. Resultados del análisis antibacterial en el crecimiento de *S. aureus* entregado por el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB)

Dimensiones lámina (cm ²)	Halo de inhibición (mm)	
	1x1	2x2
Blanco I	0	0
Blanco II	7	7
NPs07 al 1,5% w/w	3	4
NPs07 al 3,0% w/w	9	9
NPs10 al 1,5% w/w	0	0
NPs10 al 3,0% w/w	0	0

Al igual que en la inhibición de *E. coli* se identifica que las muestras con partículas NPs07 presentan inhibición bacteriana para el *S. aureus* y de igual forma, las muestras con partículas NPs10 no mostraron efecto alguno. De esta manera, es notable que se repiten los patrones de inhibición bacteriana tanto para bacterias Gram – positivas (*S. aureus*) como para bacterias Gram – negativas (*E. coli*).

Primero, es preciso comparar los resultados obtenidos entre los materiales preparados con las diferentes muestras de partículas de óxido de hierro. A lo largo de este trabajo, se han mencionado las diferencias estructurales y morfológicas entre estas dos muestras. Para empezar, en los análisis AFM y DLS se reportó que la muestra NPs07 presenta un menor tamaño de partícula. En consecuencia, se argumenta que el tamaño de partícula es influyente en la susceptibilidad bacteriana. Sirelkhathim et al. (2015) concluyeron en sus investigaciones con nanopartículas de diferentes óxidos metálicos que el crecimiento bacteriano disminuye cuando se reduce el tamaño de partícula, debido a la internalización y consecuente acumulación de partículas dentro de las células (p. 228).

En cuanto a la estructura química que se estudió en los ensayos FTIR y UV – Vis, se comprobó una semejanza en los resultados obtenidos para ambas muestras. Empero, una pequeña diferencia que se estableció fue la intensidad de la banda carbonilo del anillo β – lactama. Recapitulando, las partículas NPs07 mostraron mayor intensidad en esta banda que las partículas NPs10 y por lo tanto, se estima que la concentración de este grupo es mayor en la muestra NPs07. En las cefalosporinas, el anillo β – lactama es el grupo que interviene en la lisis de la pared celular y en consecuencia la muerte de la bacteria (Ali, Elbashir, & Aboul-Enein, 2015, p. 23). Como resultado, en el material con NPs07 se logra interrumpir el crecimiento celular.

Por otra parte, la presencia de excipientes como resultado de no lavar ni filtrar las partículas, podrían actuar como agentes bactericidas. No obstante, al considerar esta teoría, se debió observar en el material con la muestra NPs10 la formación de halos de inhibición en alguna cepa, ya que en el difractograma de rayos X se comprobó la presencia de impurezas, al igual que en las partículas NPs07. Por tal motivo, las anteriores hipótesis resultan más adecuadas.

Se debe agregar que se confirmó la actividad antibacteriana nula del PVC, a través del crecimiento bacteriano sobre las láminas blancas. Del mismo modo, las láminas con ceftriaxona sí mostraron efecto con ambas cepas, tal y como se esperaba. Aquí es importante resaltar que el tamaño del halo de inhibición de los materiales que mostraron efecto, disminuye con la cepa de *S. aureus* en comparación con la cepa de *E. coli*. Hirai (2011) establece este fenómeno como algo probable, ya que las cefalosporinas en general, tienen efecto bactericida tanto con bacterias Gram – positivas como negativas, sin embargo, en el caso de las últimas generaciones como lo es la ceftriaxona, observaron que se tiene más efecto en las Gram negativas que las positivas (p. 219).

De los resultados obtenidos, se aprecia que la concentración de las partículas influye en la interrupción del crecimiento bacteriano. En ambos ensayos el material de PVC con partículas NPs07 al 3,0 % w/w, reportaron los mayores tamaños de halo de inhibición. En este contexto, en las partículas NPs10, se esperaba apreciar

un pequeño halo de inhibición al utilizar el material con 3,0 % w/w, sin embargo, así existiese la posibilidad de la interacción de los excipientes, la concentración de los mismos no es la suficiente como para retener el crecimiento bacteriano.

De igual manera, se afirma que la coordinación entre la ceftriaxona y las partículas de óxido de hierro mejora las propiedades bactericidas del antibiótico puro. En ambos ensayos con diferentes cepas, se registraron tamaños de halo de inhibición mayores en aquellos materiales con partículas NPs07 al 3,0 % w/w, en comparación con los halos reportados por el material con ceftriaxona libre.

Para finalizar, se selecciona la muestra de PVC con partículas NPs07 al 3% w/w como el material más adecuado para futuras investigaciones en el campo de la biomedicina, pues, reportó los mejores resultados en la evaluación antibacteriana.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- El pH tuvo un efecto determinante en la síntesis de partículas de hierro. Conforme aumentó el pH, se favoreció el comportamiento magnético en las partículas. Por otro lado, no se evidenciaron cambios en el magnetismo preliminar a partir de la temperatura de post – secado. De esta manera, se estableció un pH adecuado para la síntesis de partículas de hierro entre 11,00 y 11,50, mientras que el valor de la temperatura de post – secado se fijó en 25 °C.
- A través de los ensayos DLS se determinaron tamaños de partícula promedio de 123,5 nm y 231,9 nm, en ambos casos con una distribución de tamaño bimodal. Estos valores permitieron definir a las partículas obtenidas como nanopartículas en estado de aglomeración.
- A partir de los espectros IR y UV – Vis, se confirmó la presencia de antibiótico ceftriaxona en cada una de las muestras evaluadas. Además, los resultados de la espectroscopía UV – Vis, indicaron que se obtuvo una adsorción física entre el antibiótico y el metal.
- Los ensayos DSC, permitieron definir una temperatura de descomposición de la ceftriaxona en las partículas, a partir de 231°C. Aparte, se estimó una primera transición de magnetita a maghemita alrededor de los 370°C.
- Mediante los difractogramas de rayos X se observó el hierro en estado de oxidación mayoritariamente como magnetita, maghemita y hematita. Sin embargo, una gran parte de las fases cristalinas de las muestras correspondió a thenardita, como consecuencia de las impurezas presentes.

- Las muestras analizadas por VSM indicaron un comportamiento superparamagnético. Por tal motivo, se comprobó la presencia de óxidos de hierro con carácter magnético, principalmente de la magnetita. Además, se obtuvieron magnetizaciones de saturación entre 8,95 y 13,71 emu/g.
- Las láminas de PVC que se formularon con las partículas sintetizadas, mostraron un mejor mezclado distributivo con respecto al mezclado dispersivo.
- Las láminas de PVC con partículas de óxido de hierro sintetizadas a pH 11,00 y 25°C exhibieron actividad antibacterial en la inhibición de microorganismo gram – positivos (*S. aureus*) y gram – negativos (*E. coli*); mientras que las láminas de PVC con partículas de óxido de hierro sintetizadas a pH 11,50 y 25°C, no mostraron comportamiento bactericida.
- El tamaño de partícula y la concentración de las partículas en las láminas de PVC fueron factores influyentes en la actividad antibacterial. Mientras más pequeñas sean las partículas y mayor sea su concentración, se favorece el carácter bactericida del material.

4.2. RECOMENDACIONES

- Como no se observó cambios en el magnetismo preliminar de las muestras, con base en la temperatura de post – secado, se recomienda estudiar el efecto de la temperatura en el proceso de síntesis.
- Debido a la gran presencia de impurezas en las partículas sintetizadas, se recomienda en futuras investigaciones, realizar procesos de lavado posteriormente a la reacción y además trabajar con una relación molar diferente, para mejorar los rendimientos de la reacción.

- Se podría modificar el proceso de co – precipitación química para favorecer la formación de óxidos de hierro con carácter magnético. Para ello se establecería como primer paso la formación de magnetita y una vez obtenida, se colocaría la ceftriaxona. Además, se recomienda trabajar desde el inicio con un sistema cerrado; de esta forma, estaría siempre presente la atmósfera inerte.
- Se puede desarrollar una investigación para evaluar el comportamiento bactericida de las partículas en otras matrices poliméricas y con cepas diferentes a las que se estudiaron en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akbarzadeh , A., Samiel, M. y Soodabeh, D. (2012). Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Research Letters*, 144(7), 1-13. doi:10.1186/1556-276X-7-144
2. Ali, S. M., Elbashir, A. A. y Aboul-Enein, H. Y. (2015). Spectroscopic Methods for Analysis of Cephalosporins in Pharmaceutical Formulations. *World Journal of Analytical Chemistry*, 3(1A), 21-32. doi:10.12691/WJAC-3-1A-5
3. Anacona , J. R. y Rodriguez, A. (2005). Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Transition Metal Chemistry*, 30(7), 897 - 901. doi:10.1007/s11243-005-6219-0
4. Anacona, J. R. y Ortega, G. (2014). Metal-Based Antibacterial Agents: Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation of Ternary Mn(II) and Co(II) Complexes Containing Sulfamethoxazole and Cephalosporins. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 45(3), 363-369. doi:10.1080/15533174.2013.840793
5. Araya, I., Prat, S. y Ramírez, V. (2015). Recomendaciones para el control de calidad en bacteriología. *Ministerio de Salud de Chile*, 1-17. Recuperado de http://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendacion_Contro_Calidad_Bacteriologia.pdf (Enero, 2017)
6. Baalousha, M. (2009). Aggregation and disaggregation of iron oxide nanoparticles: Influence of particle concentration, pH and natural organic matter. *Science of the Total Environment*, 407(6), 2093-2101. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.11.022

7. Bai, D., Xia, X., Yow, C. M., Chu, E. S. y Xu, C. (2011). Hypocrellin B-encapsulated nanoparticle-mediated rev-caspase-3 gene transfection. *European Journal of Pharmacology*, 650(2), 496-500. doi:10.1016/j.ejphar.2010.10.017
8. Bathia, S. (2016). *Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae*. Gurgaon, India: Springer. doi:10.1007/978-3-319-41129-3
9. Benitez, M. J., Mishra, D., Szary, P., Badini, G. A., Feyen, M., Lu, A. H., . . . Zabel, H. (2011). Structural and magnetic characterization of self-assembled iron oxide nanoparticle arrays. *Journal of Physics Condensed Matter*, 23(1), 1 – 12.
10. Binns, C. (2010). *Introduction to Nanoscience and Nanotechnology*. New Jersey, Estados Unidos: John Wiley & Sons, Inc. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=3QA2n4sWGTIC&printsec=frontcover&dq=nanotechnology&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=nanotechnology&f=false (Noviembre, 2016)
11. Boyd, R. D., Pichaimuthu, S. K. y Cuenat , A. (2011). New approach to inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements; using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering. *Colloids and Surfaces*, 387(3), 35-42. doi:10.1016/j.colsurfa.2011.07.020
12. Cappitelli, F. y Sorlini, C. (2008). Microorganisms Attack Synthetic Polymers in Items Representing Our Cultural Heritage. *American Society for Microbiology*, 74(3), 564-569. doi:10.1128/AEM.01768-07

13. Carvell, J., Ayieta, E., Gavrin, A., Cheng, R., Shah, V. R. y Sokol, P. (2010). Magnetic properties of iron nanoparticle. *Journal of Applied Physics*, 107(10), 103913(1)-103913(5). doi:10.1063/1.3428415
14. Chaudret, B. (2005). Surface and Interfacial Organometallic Chemistry and Catalysis. *Top Organomet Chem*, 16, 233-259. doi:10.1007/b105251
15. Comisión Europea. (2011). Relativa a la definición de nanomaterial. *Diario Oficial de la Unión Europea*. Recuperado de <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:ES:PDF>. (Abril, 2016)
16. Córdoba, A. y Medina, J. (2009). Optimización de formulaciones de PVC Flexible: Sistema Plastificante DOP – ESBO. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 9(3), 143 – 165. Recuperado de: <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/MAY09/cordoba.pdf>. (Abril, 2016)
17. Cullity, B. D. y Graham, C. D. (2009). *Introduction to Magnetic Materials* (Segunda ed.). New Jersey, Estados Unidos : John Wiley & Sons, Inc.
18. Curtis, L. T. (2008). Prevention of hospital-acquired infections: review of non - pharmacological interventions. *The Journal of hospital infection*, 69(3), 204 - 219. doi:10.1016/j.jhin.2008.03.018
19. Damm, C., Munstedt, H. y Rosch, A. (2008). The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. *Materials Chemistry and Physics*, 108(1), 61-66. doi:10.1016/j.matchemphys.2007.09.002
20. Flemming, H. C. (1998). Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. *Polymer Degradation and Stability*, 59(1), 309-315. doi:10.1016/S0141-3910(97)00189-4
21. Ge, S., Shi, X., Sun, K., Li, C., Baker, J., Banaszak Holl, M. y Orr, B. G. (2009). A Facile Hydrothermal Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles

- with Tunable Magnetic Properties. *The journal of physical chemistry. C, Nanomaterials and interfaces*, 113(31), 13593-13599. doi:10.1021/jp902953t
22. Gordon, T., Perlstein, B., Houbara, O., Felner, I., Banin, E. y Margel, S. (2011). Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 374(1), 1-8. doi:10.1016/j.colsurfa.2010.10.015
23. Goya , G. F. y Morales, M. P. (2004). Field dependence of blocking temperature in magnetite. *Journal of Metastable and Nanocrystalline Materials*, 20 - 21, 673 - 678. doi:10.4028/www.scientific.net/JMNM.20-21.673
24. Guardia, P., Labarta, A. y Batlle, X. (2011). Tuning the Size, Shape, and Magnetic Properties of Iron Oxide Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C*, 115(2), 390-396. doi:10.1021/jp1084982
25. Gustafsson, K. y Andersson, S. (2004). Infrared spectroscopy of physisorbed and chemisorbed O₂ on Pt(111). *Journal of Chemical Physics*, 120(16), 7750-7754. doi: 10.1063/1.1676180
26. Haas, K. y Franz, K. (2009). Application of Metal Coordination Chemistry to Explore and Manipulate Cell Biology. *Chemical Reviews*, 109(10), 4921-4960. doi:10.1021/cr900134a
27. Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., Jimenez de Aberasturi, D., Ruiz de Larramendi, I., Rojo, T. y Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499-511. doi:10.1016/j.tibtech.2012.06.004

28. Hasanova, U. A., Ramazanov, M. A., Maharramov, A. M., Eyvazova, Q. M., Agamaliyev, Z. A., Parfyonova, Y. V. y Veliyeva, S. B. (2015). Nano-Coupling of Cephalosporin Antibiotics with Fe₃O₄ Nanoparticles: Trojan Horse Approach in Antimicrobial Chemotherapy of Infections Caused by *Klebsiella* spp. *Scientific Research Publishing*, 6(1), 225-235. Recuperado de <http://www.scirp.org/journal/jbnb> <http://dx.doi.org/10.4236/jbnb.2015.63021> (Noviembre, 2016)
29. Hawker, P. y Twigg, M. (2006). Encyclopedia of Inorganic and Biorganic Chemistry. En J. Burgess, & M. Twigg, *Iron: Inorganic & Coordination Chemistry* (págs. 1-45). Nueva York, Estados Unidos: John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1002/0470862106.ia108
30. Hermansson, H. P. (2004). *The Stability of Magnetite and its Significance as a Passivating Film in the Repository Environment*. Recuperado de http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/42/022/42022527.pdf (Enero, 2017)
31. Hirai, Y. (2011). Treatment Options for Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: Focus on Ceftriaxone. *Clinical Medicine Reviews*, 3(1), 215-234. doi:10.4137/CMRT.S1612
32. Issa, B., Obaidat, I. M., Albiss, B. A. y Haik, Y. (2013). Magnetic Nanoparticles: Surface Effects and Properties Related to Biomedicine Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), 21266 - 21305.
33. Jiles, D. (2016). *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials* (Tercera ed.). Nueva York, Estados Unidos: CRC Press. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=2diYCgAAQBAJ&pg=PA90&dq=curie+temperature+magnetism&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=curie%20temperature%20magnetism&f=false (Noviembre, 2016)

34. Kang, Y. S., Risbud, S., Rabolt, J. F. y Stroeve, P. (1997). Synthesis and Characterization of Nanometer - magnetite and maghemite Particles. *American Chemical Society*, 8(9), 2209 - 2211. doi:10.1021/cm960157j
35. Karlsson, H. L., Cronholm, P., Hedberg, Y., Tornberg, M., De Battice, L., Svedhem, S. y Wallinder, I. O. (2013). Cell membrane damage and protein interaction induced by copper containing nanoparticles- Importance of the metal release process. *Toxicology*, 313(1), 59-69. doi:10.1016/j.tox.2013.07.012
36. Kittel, C. (2005). *Introduction to Solid State Physics* (8va ed.). Nueva York, Estados Unidos: John Wiley & Sons.
37. Kolhatkar, A. G., Jamison, A. C., Litvinov, D., Willson, R. C. y Lee, T. R. (2013). Tuning the Magnetic Properties of Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), 15977 - 16009. doi:10.3390/ijms140815977
38. Kucheryavy, P., He , J., John, V. T., Maharjan, P., Spinu, L., Goloverda, G. Z. y Kolesnichenko, V. L. (2013). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles with variable size and an iron oxidation state as prospective imaging agents. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 29(2), 710-716. doi:10.1021/la3037007
39. Lacheisserie, É. T., Gignoux, D., & Schlenker, M. (2005). *Magnetism: Fundamentals*. Nueva York, Estados Unidos: Springer. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=MgCExarQD08C&pg=PA115&dq=superparamagnetism&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=superparamagnetism&f=false (Diciembre, 2016)

40. Lehlooh, A. F., Mahmood, S. y Aljarayesh, I. A. (1994). Mossbauer and X-ray diffraction studies of heat-treated Fe₃O₄ fine particles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 136(1), 143-418. doi:10.1016/0304-8853(94)90458-8
41. Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D., Brunet, L., Liga, M., Li, D. y Alvarez, P. (2008). Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research*, 42(18), 4591-4602. doi:10.1016/j.watres.2008.08.015
42. Mandile, A. J. y Hutton, A. C. (1995). Quantitative X-ray diffraction analysis of mineral and organic phases in organic-rich rocks. *International Journal of Coal Geology*, 28(1), 51-69. doi:10.1016/0166-5162(95)00004-W
43. Mehrotra, R. y Singh, A. (2004). *Organometallic Chemistry: A Unified Approach* (Segunda ed.). Nueva Delhi, India: New Age International. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=NSQy3mFKRM8C&printsec=frontcover&dq=introduction+to+organometallic+chemistry+pdf&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (Noviembre, 2016)
44. Merchan, M., Sedlarikova, J., Sedlarik, V., Machovsky, M., Svobodova, J., y Saha, P. (2010). Antibacterial Polyvinyl Chloride/Antibiotic Films: The Effect of Solvent on Morphology, Antibacterial Activity, and Release Kinetics. *Journal of Applied Polymer Science*, 118(4), 2369-2378. doi:10.1002/app.32185
45. Mody, V., Siwale, R., Singh, A. y Mody, H. (2010). Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of pharmacy and bioallied sciences*, 2(4), 282-289. doi:10.4103/0975-7406.72127

46. Mohn, P. (2006). *Magnetism in the Solid State: An Introduction*. Nueva York, Estados Unidos: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/3-540-30981-0
47. Muñoz-Bonilla, A. y Fernández-García, M. (2012). Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 281-339. doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.08.005
48. Nag, P., Banerjee, S., Lee, Y., Bumajdad, A., Lee, Y. y Devi, P. S. (2012). Sonochemical Synthesis and Properties of Nanoparticles of FeSbO. *Inorganic Chemistry*, 51(2), 844-850. doi:10.1021/ic201353u
49. Nakamoto, K. (2009). *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds* (6ta ed.). Nueva York, Estados Unidos: Wiley. doi: 10.1002/9780470405840
50. Ota, S., Yamazaki, N., Tomitaka, A., Yamada, T. y Takemura, Y. (2014). Hyperthermia Using Antibody-Conjugated Magnetic Nanoparticles and Its Enhanced Effect with Cryptotanshinone. *Nanomaterials*, 4(1), 319-330. doi:10.3390/nano4020319
51. Paley, R. S. (2006). Iron: Organometallic Chemistry. *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, 1-83. doi:10.1002/9781119951438.eibc0103
52. Palza, H. (2015). Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 2099-2116. doi:10.3390/ijms16012099
53. Pathak, Y. y Thassu, D. (2009). *Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization* (Vol. 191). Nueva York, Estados Unidos: Informa Healthcare USA, Inc. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=0YzLBQAAQBAJ&pg=PA68&dq=drug+delivery+nanoparticles&hl=es->

419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=drug%20delivery%20nanoparticles&f=false (Noviembre, 2016)

54. Paul, D. R. y Robeson, L. M. (2008). Polymer nanotechnology: Nanocomposites. *Polymer*, 49(1), 3187-3204. doi:10.1016/j.polymer.2008.04.017
55. Petcharoen, K. y Sirivat, A. (2012). Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. *Material Science and Engineering B*, 177(5), 421-427. doi:10.1016/j.mseb.2012.01.003
56. Pinkas, J., Reichlova, V., Zboril, R., Moravec, Z., Bezdicka, P. y Matejkova, J. (2008). Sonochemical synthesis of amorphous nanoscopic iron(III) oxide from Fe(acac)₃. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(3), 257 - 264. doi:10.1016/j.ultsonch.2007.03.009
57. Prabhu, S. y Poulouse, E. K. (2012). Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), 1-10. doi:10.1186/2228-5326-2-32
58. Ramadan, W., Kareem, M., Hannover, B. y Shanta, S. (2011). Effect of pH on the structural and magnetic properties of magnetite nanoparticles synthesised by co-precipitation. *Advanced Materials Research*, 324(1), 129-132. doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.324.129
59. Rauwendaal, C. (1998). *Polymer Mixing: A Self - Study Guide*. New York, Estados Unidos: Hanser.
60. Rosenthal, V. C., Maki, D., Mehta, Y., Leblebicioglu, H., Memish, Z., Al-Mousa, H. y Aguirre, G. (2014). International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 43 countries for

2007 – 2012. Device – associated module. *American Journal of Infection Control*, 42(1), 942-956. Recuperado de <http://www.inicc.org/media/docs/2014-AJIC-INICCRReport2007-2012-1.pdf>

61. Salabas, E. L. (2004). *Structural and Magnetic Investigations of Magnetic Nanoparticles and Core-Shell Colloids*. (Tesis aprobada para la obtención del grado académico de Doctor en Ciencias no publicado). Universidad de Duisburg-Essen, Horezu, Rumania.
62. Silverstein, R. M., Webster, F. X. y Kiemle, D. J. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (8va ed.). Nueva York, Estados Unidos: Wiley.
63. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Mohamad, N. H., Ann, L. C., Mohd, S. K. y Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.*, 7(3), 219-242. doi:10.1007/s40820-015-0040-x
64. Sirimuthu, N. M., Syme, C. D., y Cooper, J. M. (2011). Investigation of the stability of chemisorbed and physisorbed labelled nanoparticles for SE(R)RS measurements in cells. *The Royal Society of Chemistry*, 47(3), 4099-4101. doi:10.1039/C0CC05723A
65. Spessard, G. O. y Miessler, G. L. (2010). *Organometallic Chemistry* (Segunda ed.). Nueva York, Estados Unidos: Oxford University Press, Inc.
66. Studer, A. M., Limbach, L. K., Van Duc, L., Krumeich, F., Athanassiou, E. K., Gerber, L. C., . . . Stark, W. J. (2010). Nanoparticle cytotoxicity depends on intracellular solubility: Comparison of stabilized copper metal and degradable copper oxide nanoparticles. *Toxicology Letters*, 197(3), 169-174. doi:10.1016/j.toxlet.2010.05.012

67. Sugimoto, T. (2000). *Fine Particles: Synthesis, Characterization, and Mechanisms of Growth* (Vol. 92). Nueva York, Estados Unidos: Marcel Dekker, Inc. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=lurWPtFnTRsC&pg=PA671&dq=iron+particles&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=iron%20particles&f=false (Noviembre, 2016)
68. Sun, Y., Li, X., Cao, J., Zhang, W. y Wang, H.P. (2006). Characterization of zero-valent iron nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*. 120. 47-56.
69. Tange, M., Hattori, Y., Otsuka, M., Yoshida, M., Haginaka, J. y Uchida, T. (2013). Comparison of the Dissolution Rate of Ceftriaxone Sodium Preparations for Injection. *Chem. Pharm. Bull*, 61(11), 1121-1129. doi:10.1248/cpb.c13-0042
70. Tipler, P. A. y Mosca, G. (2006). *Física para la ciencia y la tecnología: Electricidad y magnetismo* (Quinta ed., Vol. 2A). Barcelona, España: Editorial Reverté. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=Bi8v4VNUt2IC&pg=PA810&dq=diamagnetismo+ferromagnetismo+paramagnetismo&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=diamagnetismo%20ferromagnetismo%20paramagnetismo&f=false (Noviembre, 2016)
71. TsaKalakos, T., Ovidko, I. A. y Vasudevan, A. K. (2001). *Nanostructures: Synthesis, Functional Properties and Applications*. Crete, Grecia: Springer. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=z2ryCAAAQBAJ&pg=PA65&dq=dsc+magnetite+particles&source=bl&ots=htwc0VKFhR&sig=3hQgc0uaqQycJKObEGbtj7BeGQE&hl=es->

419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=dsc%20magnetite%20partic
es&f=false (Noviembre, 2016)

72. Vargas, J. M., Knobel, M. y Socolovsky, L. M. (2004). Propiedades magnéticas y de transporte de sistemas nanocristalinos: conceptos básicos y aplicaciones a sistemas reales. *Revista Mexicana de Física*, 50(1), 8-28. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57063102> (Enero, 2017)
73. Wu , W., He , Q., y Jiang, C. (2008). Magnetite Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. *Nanoscale Res Lett*, 3(11), 397-415. doi:10.1007/s11671-008-9174-9
74. Zloczower, I. M. (1996). Analysis of mixing efficiency in polymer processing equipment. *Macromolecular Symposia*, 112(1), 77-84. doi:10.1002/masy.19961120112

ANEXOS

ANEXO I

MEDIDAS OBTENIDAS EN LA MEDICIÓN PRELIMINAR DE MAGNETISMO

Las medidas preliminares de magnetismo se obtuvieron a través de la relación entre el peso marcado por la balanza de la Figura 2.1 y el peso de la muestra.

Tabla AI.1. Datos experimentales obtenidos en el proceso de síntesis

Nomenclatura	pH	Temperatura (°C)	Peso muestra (g)	Peso con imán (g)	Magnetismo (g/g)
NPs01	10,00	25	0,2133	-0,0008	-0,0039
NPs02		50	0,2088	-0,0216	-0,1033
NPs03		80	0,2105	-0,0303	-0,1440
NPs04	10,50	25	0,2174	-0,0820	-0,3773
NPs05		50	0,2351	-0,1075	-0,4574
NPs06		80	0,1986	-0,1012	-0,5098
NPs07	11,00	25	0,2163	-0,3399	-1,5714
NPs08		50	0,2215	-0,3500	-1,5803
NPs09		80	0,2091	-0,3345	-1,5998
NPs10	11,50	25	0,2049	-0,5953	-2,9053
NPs11		50	0,1928	-0,5309	-2,7535
NPs12		80	0,1853	-0,4803	-2,5921

Se estableció una regla de tres, para obtener las medidas reportadas en la Tabla 3.1. Se asignó un valor de cinco para el máximo valor obtenido y se fijaron las demás medidas con base en ese valor.

Ejemplo de cálculo:

$$\text{Magnetismo}_{NPs07} = \frac{m_{NPs07} \times 5}{m_{NPs10}}$$

$$\text{Magnetismo}_{NPs07} = \frac{-1,5714 \times 5}{-2,9053}$$

$$\text{Magnetismo}_{NPs07} = 2,7$$

ANEXO II

**COMPLEMENTO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA
MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA (AFM) DESARROLLADO
EN EL LABORATORIO DE PELÍCULAS DELGADAS EN LA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA ESCUELA POLITÉCNICA
NACIONAL**

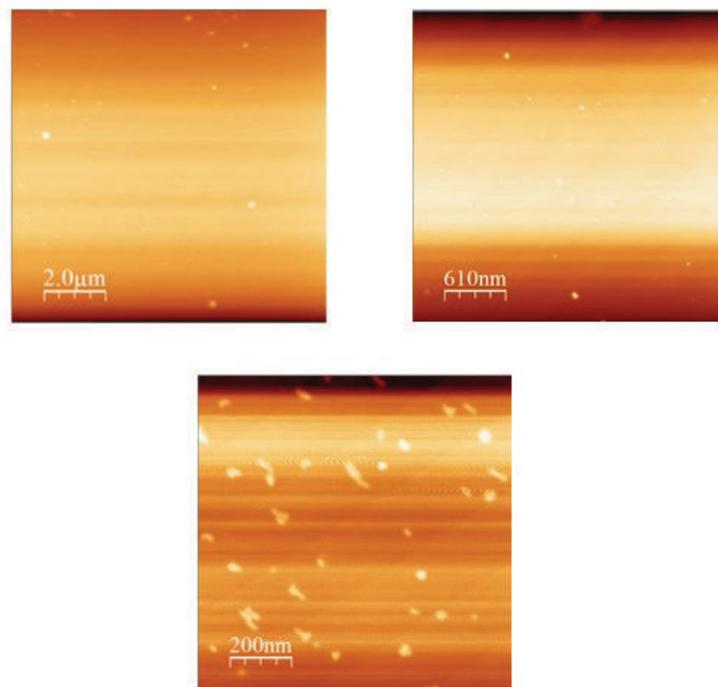


Figura AII.1. Imágenes AFM de la muestra NPs07 tomadas a diferentes escalas

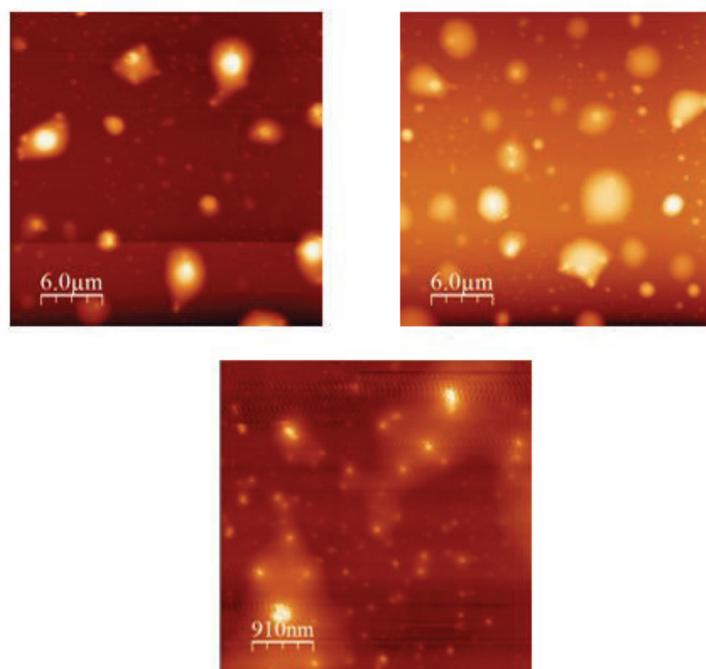


Figura AII.2. Imágenes AFM de la muestra NPs010 tomadas a diferentes escalas

ANEXO III

**HISTOGRAMAS COMPLETOS ENTREGADOS POR EL
LABORATORIO DE NUEVOS MATERIALES (LANUM) DE LA
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

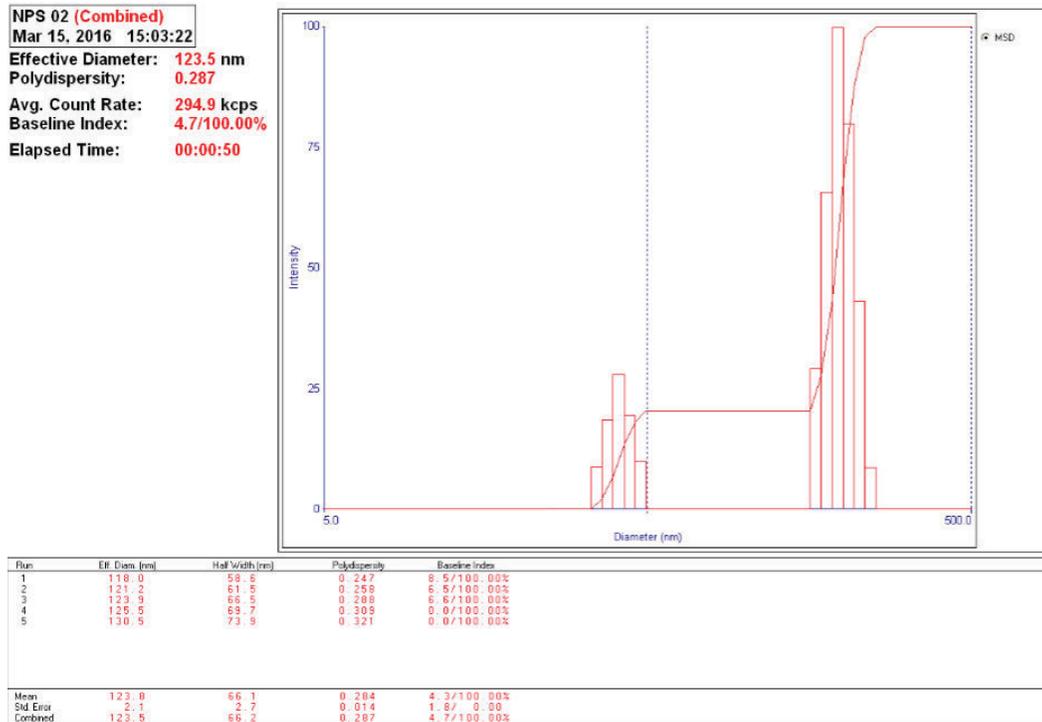


Figura AIII.1. Histograma de la muestra NPs07

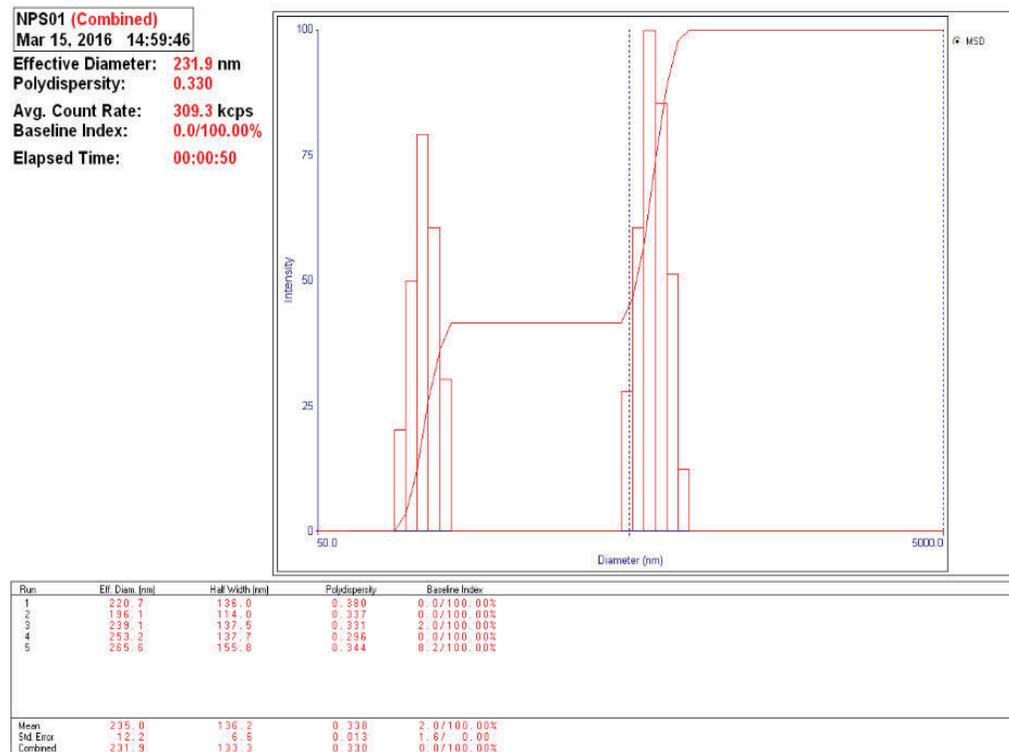


Figura AIII.2. Histograma de la muestra NPs10

ANEXO IV

**RESULTADOS DE LAS DIFRACCIONES DE RAYOS X
ENTREGADOS POR EL DEPARTAMENTO DE METALURGIA
EXTRACTIVA (DEMEX) DE LA ESCUELA POLITÉCNICA
NACIONAL**



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE METALURGIA EXTRACTIVA



Resultados Análisis de Rayos X

Solicitante : Sr. Pablo Jácome (DECAB)
 No. Referencia : 8649
 Fecha : 10 - 08 - 2016
 Muestras recibidas : Dos muestras sólidas denominadas:
 Muestra 1 : NPE 01 (Código Cliente)
 Muestra 2 : A.B. Fe (Código Cliente)

La determinación de los compuestos con cristalización definida presentes en la muestra se realizó empleando el Difractómetro D8 ADVANCE y el programa Diffrac plus (EVA Y TOPAS) para cualificación y semi-cuantificación. A continuación se detallan los resultados obtenidos del análisis.

Mineral	Fórmula	Muestra 1 Contenido (%)	Muestra 2 Contenido (%)
Thenardita	Na ₂ SO ₄	95	63
Magnetita	Fe ₃ O ₄	1	26
Maghemita	Fe ₂ O ₃	2	9
Halita	NaCl	1	1
Hematita	Fe ₂ O ₃	-	1
Grupo plagioclasa	(Na,Ca)Al(Si,Al)Si ₂ O ₈	1	-

NOTA: El límite de detección del equipo empleado es del 1% para compuestos con cristalización definida. Las muestras presentan gran cantidad de amorfos no cuantificados por esta técnica.


 Ing. Alicia Guevara PhD.
 Jefe de Departamento


 Ing. Kieber Collantes
 Responsable



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE METALURGIA EXTRACTIVA



Resultados Análisis de Difracción de Rayos X

Solicitante : M.Sc. Francisco Javier Quiroz Sanchez
 No. Referencia : RM- 8722
 Fecha : 13 - 10 - 2016
 Muestras recibidas : Una muestra sólida denominada:
 Muestra 1 : RX 3.1 calcinada (Código Cliente)

La determinación de los compuestos con cristalización definida presentes en la muestra se realizó empleando el Difractómetro D8 ADVANCE y el programa Difracc plus (EVA Y TOPAS) para cualificación y semi-cuantificación. A continuación se presentan los resultados obtenidos del análisis.

Mineral	Fórmula	Muestra 1* Contenido (%)
Hematite	Fe_2O_3	40
Thenardite	Na_2SO_4	40
Sodium Sulfate	Na_2SO_4	20

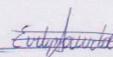
NOTA: El límite de detección del equipo empleado es del 1% para compuestos con cristalización definida.

*La muestra presenta cantidades menores de material amorfo, no identificado por esta técnica de análisis.


 Ing. Alisia Guevara Ph.D.
 Jefe de Departamento




 Ing. Kléber Collantes
 Responsable


 MSc. Evelyn Criollo
 Jefe de Laboratorio

ANEXO V

REPORTE DE LA CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO LLEVADO A CABO EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA A POLÍMEROS (CIAP) DE LA ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

Instrument:	NETZSCH DSC 204 F1 Phoenix	Sample name:	NPs07
Project:		Sample Mass:	19.12 mg
Filename:	Pablo NPs07.ngb-sd7	Reference name:	
Sample identity:	Pablo	Reference Mass:	0 mg
Date/Time:	06/10/2016 7:54:35	Reference Crucible Mass:	40 mg
End Date/Time:	06/10/2016 9:42:13	Material:	
Laboratory:	CIAP	Temp.Calib.:	Cal sep 2016.ngb-td7
Operator:	Iván Ch	Sensitivity:	Cal marzo 2012 entalpia.ngb-ed7
Mode:	DSC	Crucible:	Pan AI, open
Measurement Type:	Sample		

Remark:

Furnace:	Standard DSC 204F1	Furnace TC:	E
Sample carrier:	DSC 204F1 t-sensor	Sample TC:	E
Measurement End:	Normal end	Crucible Mass:	39.83 mg

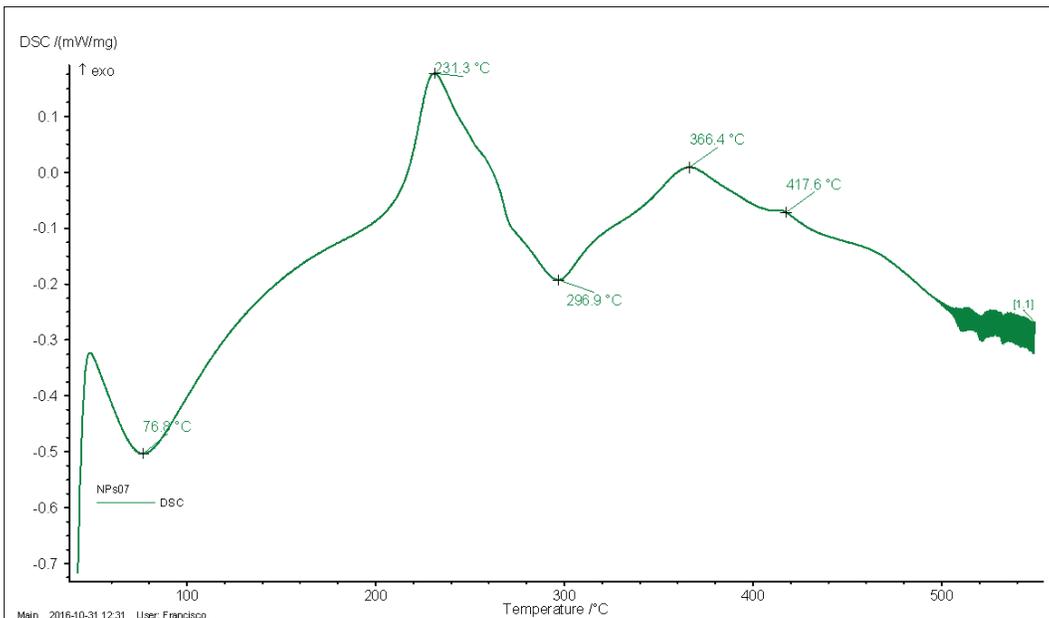
Purge 2 MFC: NITROGEN **Flow range:** 250.0 ml/min **predefined**
Protective MFC: NITROGEN **Flow range:** 250.0 ml/min **predefined**

Start criteria

Reset after maximum standby time: No

List of temperature steps:

Num	Mode	Temp. °C	HR K/min	Acq.Rate pts/min	Duration hh:mm	STC	P2:N2	PG:N2	IC	BC
---	Stand-by heating	42.0	40.000			1	20.0	70.0	0	0
---	Stand-by isothermal	42.0			02:00	1	20.0	70.0	0	0
1	Dynamic	550.0	10.000	300.00	00:51	1	20.0	70.0	0	0
2	Isothermal	550.0		50.00	00:05	1	20.0	70.0	1	0
3	Dynamic	20.0	10.000	300.00	00:53	1	20.0	70.0	1	0
---	Emergency	600.0				1	20.0	70.0	1	0
---	Final stand-by heating	20.0	40.000		00:00	1	20.0	70.0	1	0



Main 2016-10-31 12:31 User: Francisco

Instrument: NETZSCH DSC 204F1 Phoenix File: C:\NETZSCH\Proteus\data59\Pablo NPs07.ngb-sd7			
Project:	Pablo	Sample:	NPs07, 19.12 mg
Identity:	Pablo	Reference:	
Date/time:	06/10/2016 7:54:35	Material:	
Laboratory:	CIAP	Corr.temp.cal:	/ Cal sep 2016.ngb-td7
Operator:	Iván Ch	Sens.file:	Cal marzo 2012 entalpia.ngb-ed7
		Range:	42/10.0/(3min)/550
		Sample car.TC:	DSC 204F1 t-sensor / E
		Mode/type of meas.:	DSC / Sample
		Segments:	1/3
		Crucible:	Pan AI, open
		Atmosphere:	N2, 20.0ml/min / N2, 70.0ml/min
		Corrn. range:	000/5000 µV

Created with NETZSCH Proteus software

Figura AV.1. Termograma y condiciones de operación del DSC para la muestra NPs07

Instrument:	NETZSCH DSC 204 F1 Phoenix	Sample name:	NPs10
Project:		Sample Mass:	15.52 mg
Filename:	Pablo NPs10.ngb-sd7	Reference name:	
Sample identity:	Pablo	Reference Mass:	0 mg
Date/Time:	06/10/2016 14:40:30	Reference Crucible Mass:	40 mg
End Date/Time:	06/10/2016 16:28:08	Material:	
Laboratory:	CIAP	Temp.Calib.:	Cal sep 2016.ngb-td7
Operator:	Iván Ch	Sensitivity:	Cal marzo 2012 entalpia.ngb-ed7
Mode:	DSC	Crucible:	Pan Al, open
Measurement Type:	Sample		

Remark:

Furnace:	Standard DSC 204F1	Furnace TC:	E
Sample carrier:	DSC 204F1 t-sensor	Sample TC:	E
Measurement End:	Normal end	Crucible Mass:	39.45 mg

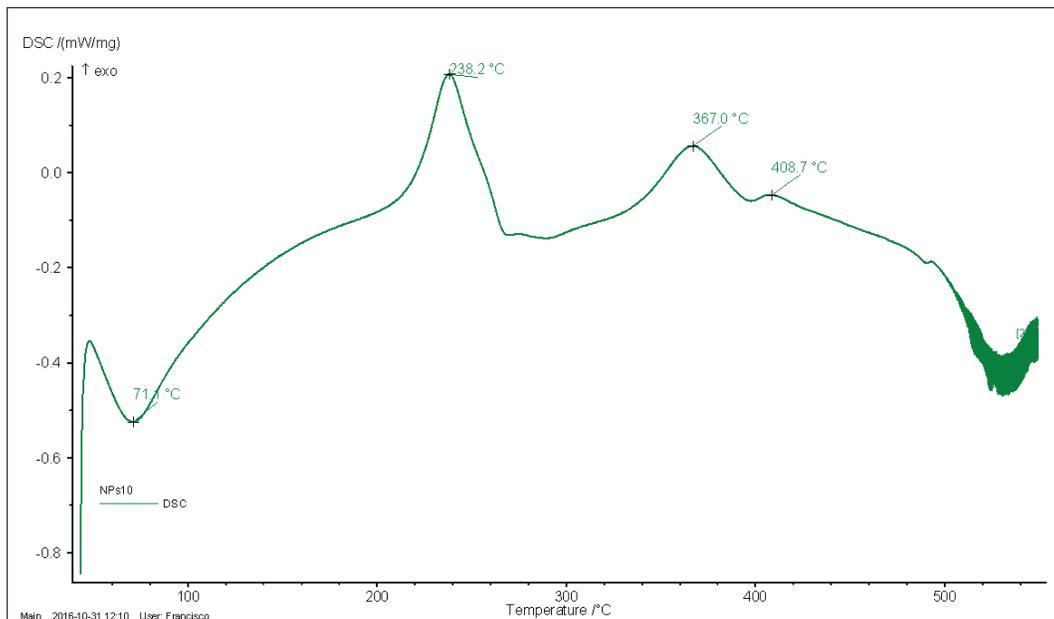
Purge 2 MFC: NITROGEN **Flow range:** 250.0 ml/min **predefined**
Protective MFC: NITROGEN **Flow range:** 250.0 ml/min **predefined**

Start criteria

Reset after maximum standby time: No

List of temperature steps:

Num	Mode	Temp. °C	HR K/min	Acq.Rate pts/min	Duration hh:mm	STC	P2:N2	PG:N2	IC	BC
---	Stand-by heating	42.0	40.000			1	20.0	70.0	0	0
---	Stand-by isothermal	42.0			02:00	1	20.0	70.0	0	0
1	Dynamic	550.0	10.000	300.00	00:51	1	20.0	70.0	0	0
2	Isothermal	550.0		50.00	00:05	1	20.0	70.0	1	0
3	Dynamic	20.0	10.000	300.00	00:53	1	20.0	70.0	1	0
---	Emergency	600.0					20.0	70.0	1	0
---	Final stand-by heating	20.0	40.000		00:00	1	20.0	70.0	1	0
---	Final stand-by isothermal	20.0			02:00	1	20.0	70.0	1	0



Main 2016-10-31 12:10 User: Francisco		Temperature /°C	
Instrument :	NETZSCH DSC 204F1 Phoenix	File :	C:\NETZSCH\Proteus\data5\IPablo NPs10.ngb-sd7
Project :	Pablo	Sample :	NPs10, 15.52 mg
Date/time :	06/10/2016 14:40:30	Reference :	
Laboratory :	CIAP	Material :	
Operator :	Iván Ch	Corr.temp.cal :	/ Cal sep 2016.ngb-td7
		Sens.file :	Cal marzo 2012 entalpia.ngb-ed7
		Range :	42/10.0(K/min)/550
		Sample car.TC :	DSC 204F1 t-sensor / E
		Mode/type of meas. :	DSC / Sample
		Segments :	1/3
		Crucible :	Pan Al, open
		Atmosphere :	N2, 20.0ml/min / N2, 70.0ml/min
		Corr/m. range :	000/5000 µV

Created with NETZSCH Proteus software

Figura AV.2. Termograma y condiciones de operación del DSC para la muestra NPs10

ANEXO VI

**EVALUACIÓN SEMI-CUANTITATIVA DEL MEZCLADO
DISPERSIVO Y DISTRIBUTIVO DE LAS LÁMINAS DE PVC**

Se indican los estándares que se utilizaron para evaluar el mezclado dispersivo y distributivo de las láminas de PVC formuladas con partículas de hierro.

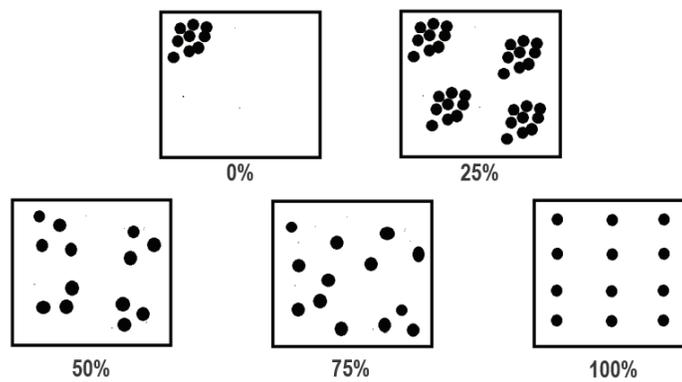


Figura AVI.1. Estándar semi-cuantitativo de mezclado distributivo

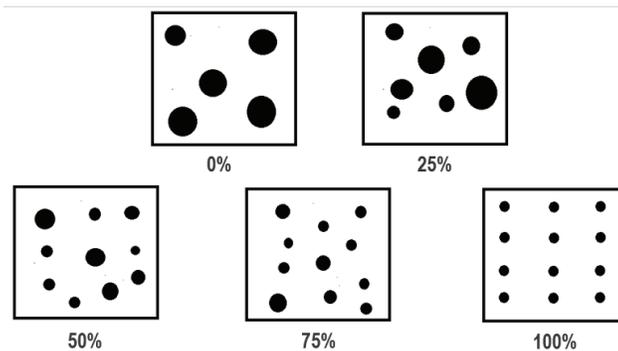


Figura AVI.2. Estándar semi-cuantitativo de mezclado dispersivo

Tabla AVI.1. Evaluación semi-cuantitativa del mezclado distributivo

Cuadrante	Muestra			
	NPs07 (1,5%)	NPs07 (3%)	NPs10 (1,5%)	NPs10 (3%)
A	75%	75%	50%	25%
B	100%	75%	75%	100%
C	75%	50%	100%	100%
D	50%	50%	50%	100%
E	75%	75%	25%	75%
F	75%	75%	100%	75%
G	50%	50%	100%	50%
H	100%	100%	25%	75%
Total	75%	69%	66%	75%

Tabla AVI.2. Evaluación semi-cuantitativa del mezclado dispersivo

Cuadrante	Muestra			
	NPs07 (1,5%)	NPs07 (3%)	NPs10 (1,5%)	NPs10 (3%)
A	50%	50%	100%	25%
B	50%	25%	50%	25%
C	75%	25%	75%	50%
D	75%	50%	50%	50%
E	75%	75%	75%	50%
F	75%	75%	100%	0%
G	100%	75%	50%	50%
H	50%	100%	50%	50%
Promedio	69%	59%	69%	38%

ANEXO VII

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MEDICIÓN DE MAGNETOMETRÍA DE MUESTRA VIBRANTE (VSM) REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE FÍSICA DE LA UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO

Además de las mediciones VSM que se indicaron en el presente documento, se realizaron curvas M – H a 300 K, para cada una de las muestras.

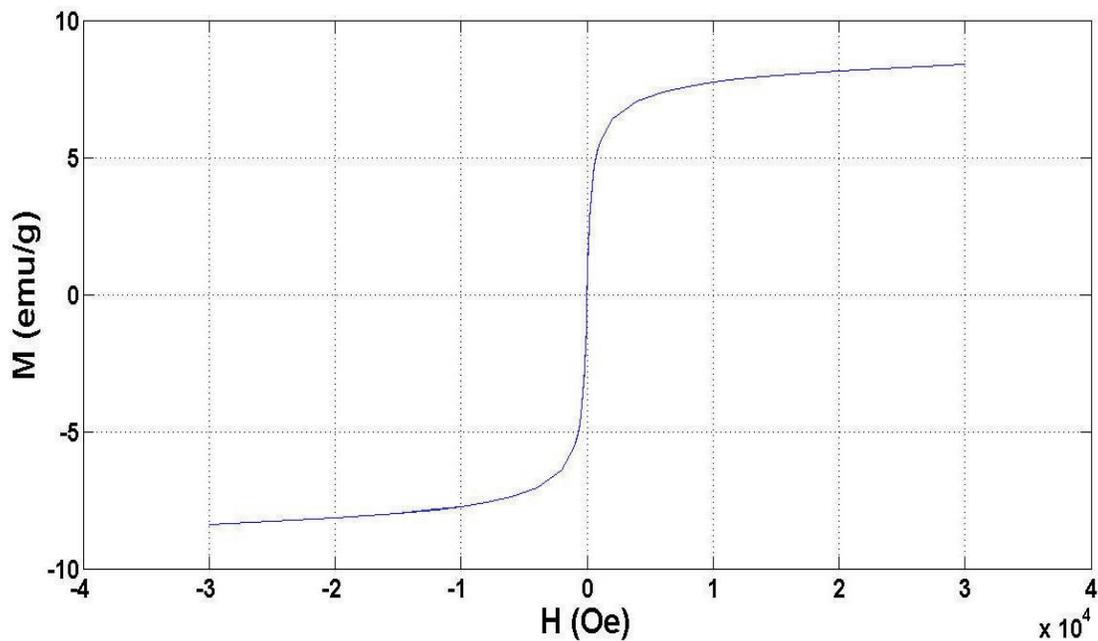


Figura AVII.1. Curva M – H medida a 300 K de la muestra NPs07

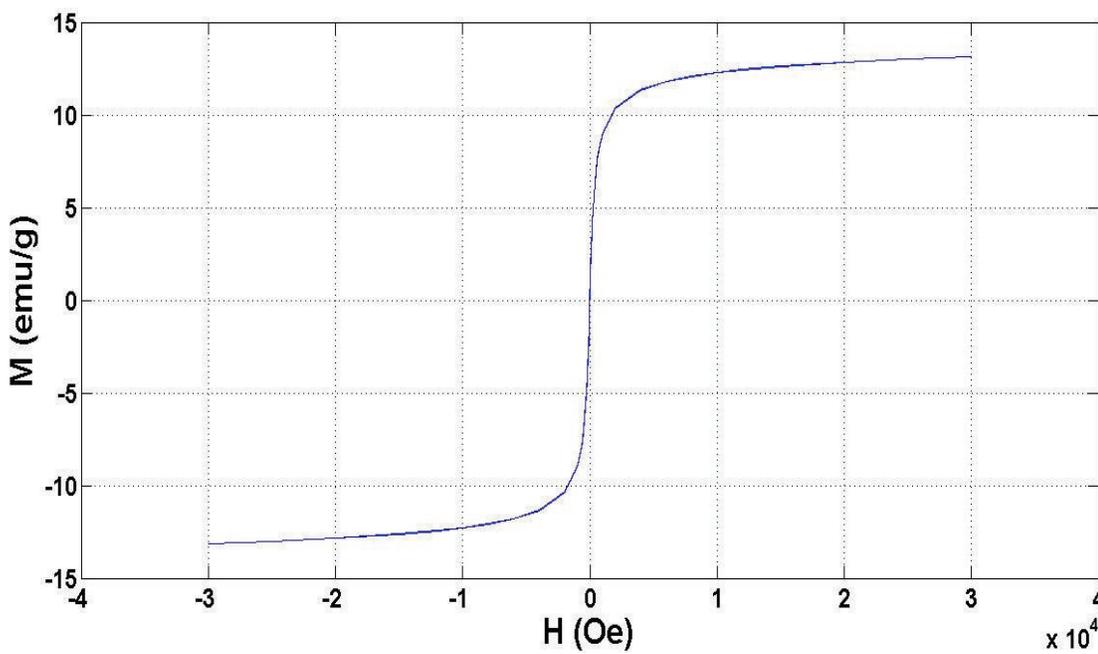


Figura AVII.2. Curva M – H medida a 300 K de la muestra NPs10

Del mismo modo, se muestra el ejemplo de cálculo para la cantidad estimada de magnetita en cada una de las muestras.

Ejemplo de cálculo

Se realizó una regla de tres simple, en donde la magnetización de saturación de la magnetita a granel (100 emu/g) se consideró como el 100%. Para la muestra NPs07, se tiene:

$$\% \text{ Magnetita NPs07} = \frac{8,95 \frac{\text{emu}}{\text{g}} \times 100\%}{100 \frac{\text{emu}}{\text{g}}} = 8,95\%$$

ANEXO VIII

REPORTE DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DESARROLLADOS EN EL DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB) DE LA ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2976300
 Personas de Contacto: Ing. Silvia Oleas. Telf.: 2976300 ext. 4236 e-mail: silvia.oleas@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2976300 ext. 2122 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



OBSERVACIÓN.-

-Las diferentes pruebas se realiza en presencia del estudiante testista y con su colaboración.

PROFESIONAL RESPONSABLE DEL ANÁLISIS

Dra. Rosario Barrera

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2976300
 Personas de Contacto: Ing. Silvia Oleas. Telf. : 2976300 ext. 4236 e-mail: silvia.oleas@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2976300 ext. 2122. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Diluciones:

De: 1 : 0.5 mL + 9.5 mL TSB---A 0,107

La Muestra con dilución A. con Absorbancia 0,107, es la muestra de *Estafilococos Aureus*, con la que se realiza las siembras.

5.- RESULTADOS DE SIEMBRA EN CAJAS

5.-1 Hay crecimiento de microorganismos en todos las cajas con muestras de Bacterias.

5.-2 La caja en blanco de medio no tiene crecimiento de bacterias.

5.-3 La siembra con disco de una muestra referencia de inhibición de Gentamicina 30 ug presenta halo de inhibición.

5.- 4 Los resultados obtenidos son los siguientes:

Muestra	Halo de inhibición <i>Estafilococos Aureus</i> , mm
-Referencia Gentamicina 30 ug	5,2
1.- PVC01: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	11 11
2.- PVC02: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	9 9
3.- PVC03: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	0 0
4.- PVC04: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	0 0
5.- PVC05: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	0 0
6.- PVC06: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	7 7
7.- PVC07: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	3 4
8.- PVC08: 1 x 1 cm ² 2 x 2 cm ²	1 2



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2976300
 Personas de Contacto: Ing. Silvia Oleas. Telf.: 2976300 ext. 4236 e-mail: silvia.oleas@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2976300 ext. 2122 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



OBSERVACIÓN.-

-Las diferentes pruebas se realiza en presencia del estudiante tesista y con su colaboración.

PROFESIONAL RESPONSABLE DEL ANÁLISIS

Rosario Barrera

Dra. Rosario Barrera

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se la entrega.

Actividad	Servicio/Análisis
Actividad	Actividad
Actividad	Actividad

DESARROLLO DE LA PRUEBA

- 1.- Muestra de 10 ml. de *Escherichia coli* en congelación.
 - 2.- Muestra de 10 ml. de *Escherichia coli* en forma sólida.
 - 3.- Muestra de 10 ml. de *Escherichia coli* en forma líquida.
 - 4.- RESULTADOS INCUBACION TUBOS CON TSB Y MICROORGANISMOS
- Letras de Turbidez de tubos 150 con bacterias
 Se hace la lectura espectrofotométrica a 625 nm. Hay necesidad de hacer diluciones para obtener lecturas de absorbancia de 0,05-0,1.

Tubo 24 horas incubación:	Absorbancia
1.- 10 ml. <i>Escherichia coli</i>	1,429
2.- 10 ml. <i>Escherichia coli</i>	1,414