



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL



FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIAL DE AMPLIO ESPECTRO DE LOS NANOCOMPÓSITOS MAGNÉTICOS A BASE DE ÓXIDO DE GRAFENO Y NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE BASADOS EN LA ACCIÓN BIMODAL FOTODINÁMICO/FOTOTÉRMICO

TRABAJO DE TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE
MAGISTER EN MATERIALES

CORALÍA FABIOLA CUADRADO PUMALEMA
coralia.cuadrado@epn.edu.ec

DIRECTORA:
María Paulina Romero Obando, Ph.D.
maria.romerom@epn.edu.ec

Julio 2023

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por **CORALÍA FABIOLA CUADRADO PUMALEMA**, bajo mi supervisión.



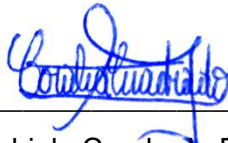
María Paulina Romero

DIRECTORA DE PROYECTO

DECLARACIÓN

Yo, **Coralía Fabiola Cuadrado Pumalema**, declaro bajo juramento 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.

A través de la presente declaración cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondiente a este trabajo, a la Escuela Politécnica Nacional, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.



Coralía Fabiola Cuadrado Pumalema

DEDICATORIA

A mis padres, Fabiola Pumalema y mi ángel del cielo Edwin Cuadrado por su amor, sacrificio y esfuerzo para formarme como la mujer que soy ahora, por guiarme y ser mi apoyo siempre. A mi hijo, Mateo Limaico, por ser mi fuente de inspiración e infinito amor para salir adelante y superarme cada día. Y a mi tía Berthita, que está en el cielo, por haber sido una fuente de amor infinita que permanecerá eternamente en nuestros corazones.

Coralía.

AGRADECIMIENTO

A mi Padre Dios, por guiarme y permitirme culminar una nueva etapa de mi vida. Por regalarme una familia maravillosa, un hijo amoroso y unas excelentes amigas que han estado presentes en cada momento de mi vida apoyándome.

A mis Padres: Edwin Cuadrado y Fabiola Pumalema, quienes jamás han dudado de mis capacidades y me han apoyado día a día para forjar un futuro prometedor.

A la Doctora Paulina Romero, por su motivación, apoyo y dedicación en mi formación académica, por guiarme en mi vida profesional y brindarme sus amplios conocimientos.

Al Centro de Investigación para la Salud en América Latina (CISeAL) por brindarme la apertura para el desarrollo de este proyecto en sus instalaciones, especialmente al equipo dirigido por la Dra. Myrian Rivera, por su colaboración en los ensayos microbiológicos de este trabajo.

A la Escuela Politécnica Nacional, LANUM, CIAP y en particular a la Planta Docente del Departamento de Materiales, por haber compartido su conocimiento aportando en mi desarrollo profesional.

Coralía

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
Pregunta de investigación	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos.....	3
Alcance	3
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Terapia fotodinámica y terapia fototérmica	5
1.2. Aplicaciones biológicas de los nanomateriales a base de carbono basadas en la técnica bimodal PDT/PPT.....	9
1.3. Nanopartículas magnéticas de hierro y aplicaciones basadas en la técnica bimodal PDT/PPT	13
1.4. Métodos de síntesis de nanopartículas magnéticas de hierro en presencia de nanomateriales a base de carbono	14
1.4.1. Síntesis por coprecipitación.....	14
1.4.2. Método solvotermal	15
1.4.3. Amidación mediada por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC)	15
1.5. Técnicas de caracterización para nanocompuestos magnéticos a base de carbono	16
1.5.1. Técnicas espectroscópicas	17
1.5.2. Microscopías electrónicas	21
1.5.3. Difracción de rayos X.....	23
1.5.4. Microscopía de fuerza atómica	24
1.5.5. Magnetometría de muestra vibrante	25
2. MATERIALES Y MÉTODOS	27
2.1. Materiales	27
2.1.1. Síntesis y funcionalización de los nanocompuestos MNPs-GO-ZnMintPc y MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.....	27
2.1.2. Síntesis del hidrogel VCL/PEGDA	27
2.1.3. Caracterizaciones de los nanocompuestos.....	27

2.1.4. Estudios fototérmico, fotodinámico y magnético.....	28
2.1.5. Estudios antimicrobianos.....	28
2.1.6. Estudios morfológicos.....	29
2.2. Métodos	29
2.2.1. Purificación de los MWCNTs.....	29
2.2.2. Síntesis de los nanocompuestos magnéticos MNPs-MWCNTs y MNPs-GO	29
2.2.3. Síntesis del hidrogel VCL/PEGDA	29
2.2.4. Funcionalización de MNPs-MWCNTs; MNPs-GO con ZnMintPc en presencia de VCL/PEGDA	30
2.2.5. Propiedades magnéticas	30
2.2.6. Estudio fotodinámico	31
2.2.7. Estudios fototérmicos	31
2.2.8. Estudios antimicrobianos.....	32
2.2.9. Estudios morfológicos.....	33
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
3.1. Resultados	34
3.1.1. Composición y caracterización estructural de MNPs-MWCNTs y MNPs-GO...	34
3.1.2. Propiedades magnéticas	37
3.1.3. Propiedades ópticas de los nanocompuestos magnéticos.....	40
3.1.4. Análisis fotodinámicos de los nanocompuestos magnéticos.....	45
3.1.5. Estudios fototérmicos	49
3.1.6. Estudios morfológicos de nanocompuestos magnéticos.....	50
3.1.7. Estudios morfológicos de bacterias en nanocompuestos magnéticos	53
3.1.8. Efecto antimicrobiano de los nanocompuestos magnéticos	55
3.2. Discusión.....	57
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	61
4.1. Conclusiones	61
4.2. Recomendaciones	62
Referencias bibliográficas	64

ANEXOS.....	84
Anexo I: Figuras de estudios morfológicos de cada nanocompósito magnético.	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Principios y mecanismos de la terapia fotodinámica.	7
Figura 1.2. Mecanismo de acción de la Terapia Fototérmica.	8
Figura 1.3. Esquema de la acción de nanomateriales basados en PTT/PDT.	9
Figura 1.4. Alótropos del carbono según su dimensión.	10
Figura 1.5. (a) Proceso de síntesis de CDs/Cur; (b) Efecto antimicrobial de CDs/Cur basados en PTT/PDT.	12
Figura 1.6. Principio de funcionamiento del Espectrómetro FTIR.	18
Figura 1.7. Dispersión Raman.	19
Figura 1.8 Esquema de funcionamiento en DRX.	23
Figura 1.9. Esquema de funcionamiento de un AFM.	25
Figura 1.10. Esquema de un magnetómetro de muestra vibrante.	26
Figura 3.1. Espectros FT-IR: (a) MNPs-MWCNTs; (b) MNPs-GO.	35
Figura 3.2. Espectros Raman: (a) MWCNTs no purificados, (b) MWCNTs purificados, (c) MNPs-MWCNTs; (d) Fe-MNPs; (e). GO; (f) MNPs-GO; Eláser = 2.33 eV, λ = 532 nm.	36
Figura 3.3. Propiedades magnéticas: (a) Magnetización vs. campo magnético aplicado: (i) las nanopartículas independientes MNPs, (ii) VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs, y (iii) VCL-PEGDA-MNPs-GO. (b) Magnetización de saturación en función de la temperatura: (iv) las nanopartículas independientes, (v) VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs y (vi) VCL-PEGDA-MNPs-GO.	38
Figura 3.4. Propiedades ópticas: (a) espectros UV-VIS de DMF(3mL) con diferentes concentraciones de ZnMintPc, (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA(3mL) con diferentes concentraciones de ZnMintPc, (c). Espectros UV-VIS de VCL/PEGDA (3mL) con MNPs-MWCNTs a diferentes concentraciones. d). VCL/PEGDA con MNPs-MWCNTs y ZnMintPc a diferentes concentraciones.	41
Figura 3.5. Propiedades ópticas de los nanocompuestos magnéticos: (a) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA (3mL) con diferentes concentraciones de MNPs-GO, (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA (3mL) con MNPs-GO-ZnMintPc a diferentes concentraciones.	42

Figura 3.6. a) Curva de calibración de compuestos con ZnMintPc (0.52 μM) a partir de: PS en DMF, VCL/PEGDA, VCL/PEGDA-MNPs-GO y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNT; b) Absorbancia de ZnMintPc-DMF y nanocompuestos.	43
Figura 3.7. Curvas de estabilidad en el tiempo para (a) VCL-PEGDA-ZnMintPc; b) VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y c) VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc; ZnMintPc = 0.27 μM	44
Figura 3.8. Curvas de decaimiento de: VCL/PEGDA-ZnMintPc, VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc. ZnMintPc = 0.27 μM	45
Figura 3.9. Análisis fotodinámicos de: (a) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs+DPBF y (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-GO+DPBF.	46
Figura 3.10. Análisis fotodinámicos de: (a) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc. ...	47
Figura 3.11. Curvas de fotooxidación de DPBF en: (a) VCL/PEGDA-MNPs-GO y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs; b) VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. DPBF = 18.5 mM, GO= 3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MWCNTs = 3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MNPs = 93.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y ZnMintPc = 8.1 μM	48
Figura 3.12. Estudios térmicos: agua desionizada (línea negra de control), VCL/PEGDA (línea roja), MNPs (línea azul), GO (línea violeta), MWCNTs (línea azul claro), VCL/PEGDA-MNPs-GO (línea amarilla) y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs (línea marrón). GO = 3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MWCNTs = 3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MNPs = 93.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	50
Figura 3.13. a) Imágenes SEM y TEM de MWCNTs purificados; b) TEM de GO; c) SEM de las MNPs. d) TEM de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. e) TEM de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc; f) Análisis XRD de MNPs-GO.	52
Figura 3.14. STEM de (a) <i>S. aureus</i> ; b) <i>S. aureus</i> + C1; c) <i>S. aureus</i> + C2; d) <i>E. coli</i> ; e) <i>E. coli</i> + C1; f) <i>E. coli</i> + C2. C1= VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, C2= VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.	54
Figura 3.15. Efecto antimicrobiano basado en PDT/PTT. Resultado estandarizado de LOG(UFC/mL) por: (a) <i>S. aureus</i> ; b) <i>E. coli</i> y c) <i>C. albicans</i> basados en nanocompuestos C1, C2, C3 y C4. La concentración de MNPs en C1, C2, C3 y C4 fue de 93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de ZnMintPc en C1 y C2 fue de 8,1 μM . La concentración de GO en C1 y C3 fue de 3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de MWCNTs en C2 y C4 fue de 3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. El tiempo de irradiación de los nanocompuestos C1 y C2 fue de 30 min y para C3 y C4 fue de 40 min. Diferencias significativas en las medias según la prueba de Tukey (***) $p \leq 0,001$	56

Figura 3.16. Efecto antimicrobiano de nanocompuestos C1 y C2 en <i>C. albicans in vitro</i> . C1: GO-MNPs-VGLPEGDA- ZnMintPc, C2: MWCNT-MNPs-VGLPEGDA- ZnMintPc, C3: GO-MNPs-VGLPEGDA, C4: MWCNT-MNPs-VGLPEGDA. La concentración de MNPs en C1, C2, C3 y C4 fue de 93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de ZnMintPc en C1 y C2 fue de 8,1 μM . La concentración de GO en C1 y C3 fue de 3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de MWCNTs en C2 y C4 fue de 3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	57
Figura I. 1. (a) Análisis SEM, (b) análisis TEM, (c) imagen de microscopía de fuerza atómica (AFM) (d) perfil de altura a lo largo de la línea del panel de GO (e) Análisis EDS y (f) XRD de GO.	84
Figura I. 2. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de MWCNTs.	85
Figura I. 3. a) SEM, b) Distribución de tamaño, c) TEM, d) EDS y e) Análisis XRD de Fe-MNPs.	86
Figura I. 4. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de MNPs-GO.	87
Figura I. 5. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de MNPs-MWCNTs.	88
Figura I. 6. (a) SEM, (b) TEM, (c) Análisis EDS de VCL/PEGDA-MNPs-GO.	89
Figura I. 7. (a) SEM, (b) TEM, (c) Análisis EDS de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs.	90
Figura I. 8. (a) SEM, (b) TEM, (c) EDS y (d) Análisis XRD de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc.	91
Figura I. 9. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Nanocompuestos para estudio fotodinámico.....	31
Tabla 2.2. Nanocompuestos y nanomateriales para estudio fototérmico	32
Tabla 3.1. Parámetros magnéticos para las tres muestras estudiadas: magnetización de saturación M_0 a $T_0 = -273.15$ °C, magnetización de saturación M_S a 20 °C, una fracción del volumen de las nanopartículas que permanecen ferromagnéticas (f), y constante de onda de espín (B).....	39
Tabla 3.2. Porcentaje de Absorbancia de ZnMintPc en cada Nanocompuesto.....	43
Tabla 3.3. Decaimiento del ZnMintPc en los nanocompuestos a lo largo de 24 h.....	45
Tabla 3.4. Tiempos de fotooxidación de DPBF en cada nanocompuesto.....	48

RESUMEN

A lo largo de la historia, las enfermedades microbianas causadas por microorganismos como bacterias, virus, hongos y protozoos, han tenido un impacto significativo en la humanidad, causando millones de muertes y afectando a comunidades enteras. Por esta razón, durante los últimos años se ha generado un gran interés en el desarrollo de nanocompuestos con capacidad antimicrobiana que permitan combatir esta amenaza. En la presente investigación se obtuvieron nanocompuestos magnéticos basados en nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y óxido de grafeno (GO). Estos nanocompuestos magnéticos se sintetizaron en tres pasos: primero, la síntesis por coprecipitación de nanopartículas magnéticas en óxido de grafeno y nanopartículas magnéticas en nanotubos de carbono de pared múltiple, obteniendo los dos primeros nanocompuestos MNPs-GO y MNPs-MWCNTs, respectivamente; segundo, la funcionalización con el fotosensibilizante Mentol-Ftalocianina de Zinc (ZnMintPc); y por último, los nanocompuestos magnéticos MNPs-GO y MNPs-MWCNTs portadores de ZnMintPc (MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y MNPs-GO-ZnMintPc) se dispersaron en el hidrogel biocompatible poli(N-vinil caprolactama-co-poli(etilenglicol)diacrilato) poli(VCL-co-PEGDA) abreviado como VCL/PEGDA, obteniendo así el tercer y cuarto nanocompuesto magnético: VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. Este estudio abordó las propiedades ópticas, morfológicas, magnéticas y fotofísicas de los nanocompuestos. Se evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* de los cuatro nanocompuestos magnéticos en las bacterias *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y la levadura *Candida albicans* (*C. albicans*) en base en el efecto fotodinámico/fototérmico (PTT/PDT) aplicando una longitud de onda de 630 nm y una dosis de luz de $65.5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$. Los resultados obtenidos en el estudio del efecto antimicrobiano mostraron que las colonias de *C. albicans* fueron totalmente eliminadas por los nanocompuestos MNPs-GO (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, GO=3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y MNPs-MWCNTs (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MWCNT=3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) basándose en la estrategia bimodal PTT/PDT. Adicionalmente, por estrategia PDT, las colonias de *E. coli* y *S. aureus* fueron completamente eliminadas por el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, ZnMintPc=8,1 μM , GO=3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), mientras que los tres microorganismos fueron completamente eliminados por el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, ZnMintPc=8,1 μM , MWCNT=3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), por lo cual, este último nanocompuesto magnético se considera un agente antimicrobiano de amplio espectro para PDT.

Palabras clave: nanomateriales antimicrobianos, fotoinactivación, hidrogel, nanopartículas magnéticas, efecto fotodinámico, efecto fototérmico.

ABSTRACT

Throughout history, microbial diseases caused by microorganisms such as bacteria, viruses, fungi, and protozoa, have had a significant impact on humanity, causing millions of deaths and affecting entire communities. For this reason, in recent years there has been a great interest in the development of antimicrobial nanocomposites that can combat this threat. In the present research, magnetic nanocomposites based on multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) and graphene oxide (GO) were obtained. These magnetic nanocomposites were synthesized in three steps: first, the coprecipitation synthesis of magnetic nanoparticles in graphene oxide and magnetic nanoparticles in multi-walled carbon nanotubes, obtaining the first two nanocomposites MNPs-GO and MNPs-MWCNTs, respectively; second, functionalization with the photosensitizer Menthol-Zinc Phthalocyanine (ZnMintPc); and finally, the magnetic nanocomposites MNPs-GO and MNPs-MWCNTs carrying ZnMintPc (MNPs-MWCNTs-ZnMintPc and MNPs-GO-ZnMintPc) were dispersed in the biocompatible hydrogel poly(N-vinyl caprolactam-co-poly(ethylene glycol) diacrylate) poly(VCL-co-PEGDA) abbreviated as VCL/PEGDA, thus obtaining the third and fourth magnetic nanocomposite: VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc and VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. This study addressed the optical, morphological, magnetic, and photophysical properties of nanocomposites. The *in vitro* antimicrobial effect of the four magnetic nanocomposites obtained on the bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and the yeast *Candida albicans* (*C. albicans*) was evaluated based on the photodynamic/photothermal effect (PTT/PDT) applying a wavelength of 630 nm and a light dose of $65.5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$. The results obtained in the study of the antimicrobial effect showed that the colonies of *C. albicans* were completely eliminated by the MNPs-GO (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, GO=3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) and MNPs-MWCNTs (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MWCNT=3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) nanocomposites based on the bimodal PTT/PDT strategy. Additionally, by the PDT strategy, the *E. coli* and *S. aureus* colonies were completely eliminated by the nanocomposite VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, ZnMintPc=8,1 μM , GO=3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), while the three microorganisms were completely eliminated by the nanocomposite VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (MNP=93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, ZnMintPc=8,1 μM MWCNT=3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), therefore, this last magnetic nanocomposite is considered a broad-spectrum antimicrobial agent for PDT.

Keywords: antimicrobial nanomaterials, photoinactivation, hydrogel, magnetic nanoparticles, photodynamic effect, photothermal effect.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado a las enfermedades microbianas como una de las principales amenazas para el ser humano. Esto debido a su rápida capacidad de crecimiento y propagación en diferentes medios [1]. Para lograr combatir las enfermedades infecciosas causadas por patógenos como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Neisseria gonorrhoeae*, entre otros, se han desarrollado diferentes tipos de terapias con antibióticos, pero estos han ido perdiendo su eficiencia [2]. La pérdida de la eficiencia de los antibióticos se debe a que los microorganismos han ido desarrollando nuevos mecanismos para adaptarse y crecer en presencia de antibióticos que antes los eliminaban, es decir se vuelven resistentes a los antibióticos de uso común [3], [4]. Por lo cual, es necesario el desarrollo de nuevos tratamientos antimicrobianos que sean efectivos y de fácil obtención [5].

Una herramienta alternativa para la lucha contra microorganismos patógenos es la utilización de nanotecnología para desarrollo de nanocompuestos capaces de eliminar diferentes tipos de microorganismos [6], [7]. El uso de nanomateriales en fototerapias como la Terapia Fotodinámica (PDT) y la Terapia Fototérmica (PTT), han logrado gran efectividad sobre la eliminación de microorganismos debido a su selectividad, mínima invasividad, alta especificidad y bajo riesgo de desarrollar resistencia a los medicamentos [8], [9].

Los nanomateriales a base de carbono como: óxido de grafeno (GO, por su nombre en inglés Graphene Oxide), fullerenes (C_{60}), nanotubos de carbono (CNTs), puntos de carbono (CDs) y nanodiamantes (ND); son ampliamente utilizados en aplicaciones antimicrobianas. Estos pueden ser modificados o funcionalizados con otros compuestos o nanopartículas para mejorar su solubilidad, biocompatibilidad, cargarlos con fármacos [10]–[12]. Además, pueden ser combinados en las fototerapias mejorando así su eficacia.

La fotoinactivación de microorganismos basada en la técnica PDT se lo realiza gracias a la interacción de tres elementos importantes: luz, fotosensibilizante (PS) y oxígeno molecular que, al combinarse en dosis adecuadas, generan especies reactivas de oxígeno (ROS). La generación de ROS provoca un aumento en la permeabilidad del microorganismo, daños físicos en la membrana, daño de proteínas, lípidos y ADN del microorganismo; causando finalmente la muerte bacteriana [13], [14].

Otra fototerapia que ha tenido un gran impacto en la inactivación bacteriana es la PTT. La cual se basa en la interacción de agentes fototérmicos (PTAs) con luz de cierta longitud de onda. Durante la interacción luz-PTAs, la luz se convierte en calor focalizado a través de un proceso de relajación vibracional no radiativo [15], [16]. Este calor es capaz de producir

la muerte de microorganismos por efectos de hipertermia como: ruptura de membrana celular, desnaturalización de enzimas y proteínas, evaporación del líquido celular, y cavitación celular [17]. Dado que las terapias fototérmica y fotodinámica se utilizan dentro de rango de luz visible e infrarrojo cercano [18], se pueden usar en sinergia para mejorar el efecto antimicrobial [19], [20].

Durante las últimas cinco décadas se han estudiado las nanopartículas magnéticas (MNPs), debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas, su naturaleza magnética intrínseca, su estabilidad química, biocompatibilidad y producción de bajo costo [21]. Las MNPs han sido utilizadas ampliamente en la biomedicina para: terapia celular, hipertermia, separación magnética, imágenes de resonancia magnética, sensores de biomoléculas, administración de fármacos, tratamiento y diagnóstico de cáncer (teranóstico), agentes antimicrobianos, entre otros [22]–[24].

Las MNPs de Hierro (Fe-MNPs), como la magnetita, maghemita y la hematita son obtenidas a partir de óxidos de hierro y se utilizan ampliamente en biomedicina, ya que son biocompatibles y a concentraciones inferiores a $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ no presentan citotoxicidad [25]. Actualmente un uso importante de las Fe-MNPs, es su aplicación antimicrobiana ya que puede actuar como agente antimicrobiano o en sinergia con otros agentes antimicrobianos, nanoestructuras y fototerapias [22], [23].

Una característica indispensable de los fotosensibilizantes y nanomateriales para aplicaciones biológicas es su total dispersión en un medio acuoso [7], [26]. Para este fin, se hace uso de surfactante, ajuste de pH, uso codisolventes como etanol, metanol o sulfóxido de dimetilo (DMSO) y la dispersión en hidrogeles [27], [28]. El obtener un nanomaterial disperso en solución acuosa brinda mejoras en su estabilidad, biocompatibilidad y bioactividad [29]–[31]. En la presente investigación se hace uso del hidrogel biocompatible poli(N-vinil caprolactama-co-poli (etilenglicol) diacrilato) poli(VCL-co-PEGDA) abreviado como VCL/PEGDA, el cual posee una temperatura de solución crítica más baja (LCST, del inglés Lower Critical Solution Temperature) de $32 \text{ }^\circ\text{C}$ y es utilizado para entrega de fármacos, llegando a liberar un 68 % del fármaco a $38 \text{ }^\circ\text{C}$ al cabo de 24 h según es estudio de Romero et al., 2021 [32].

El presente estudio plantea desarrollar los nanocompuestos magnéticos a base de GO y MWCNT: MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. Se evaluarán sus propiedades físicas, químicas mediante espectroscopia FT-IR, espectroscopía Raman, espectroscopía UV-VIS, Magnetización (M), difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Las

propiedades antimicrobianas basado en la fototerapia bimodal PDT/PTT de los dos compuestos serán evaluados en las bacterias *S. aureus*, *E. coli*, y la levadura *Cándida albicans*.

Pregunta de investigación

¿Los nanocompuestos magnéticos: MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, poseen propiedades antimicrobianas bajo la acción bimodal fotodinámico/fototérmico?

Objetivo general

Evaluar la capacidad antimicrobiana de los nanocompuestos magnéticos a base de GO y MWCNT basado en el efecto bimodal fotodinámico/fototérmico.

Objetivos específicos

- Sintetizar los nanocompuestos magnéticos MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.
- Caracterizar los nanocompuestos obtenidos desde el punto de vista químico y físico.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de los compuestos MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc en los microorganismos *S. aureus*, *E. coli*, y la levadura *C. albicans* mediante el efecto bimodal PTT/PDT aplicando una longitud de onda de 630 nm y una dosis de luz de $65.5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Alcance

Este estudio tiene como objetivo evaluar la capacidad antimicrobiana de los nanocompuestos magnéticos: MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, basado en el efecto bimodal fotodinámico/fototérmico, aplicando una longitud de onda de 630 nm y una dosis de luz de $65.5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$. Se propone sintetizar los nanocompuestos magnéticos basados en MWCNTs y GO a través de tres pasos: primero, sintetizar los nanocompuestos magnéticos MNPs-GO y MNPs-MWCNTs por el método de coprecipitación, segundo funcionalizar con el PS ZnMintPc los nanocompuestos magnéticos obtenidos y tercero dispersarlos con el hidrogel VCL-PEGDA. Para estudiar las propiedades físicas y químicas de los materiales adquiridos se deberá realizar un seguimiento paso a paso de los nanocompuestos

VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPsGO-ZnMintPc a través de caracterizaciones: ópticas, espectroscópicas, morfológicas, fotofísicas y magnéticas.

Finalmente, se evalúa el efecto antimicrobiano basado en el efecto PDT/PTT para eliminar las bacterias *S. aureus*, *E. coli*, y la levadura *C. albicans* sometidas a irradiación en presencia de los nanocompuestos magnéticos MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.

1. MARCO TEÓRICO

En este capítulo se presenta una revisión de los conceptos sobre Terapia Fotodinámica (PDT, por sus siglas en inglés Photodynamic Therapy) y Terapia Fototérmica (PTT, por sus siglas en inglés Photothermal Therapy) y su acción bimodal, así como las aplicaciones de nanomateriales magnéticos y a base de carbono con sus aplicaciones basadas en PDT/PTT. Finalmente se muestran diversos métodos de síntesis de MNPs en presencia de nanomateriales a base de carbono, las técnicas de caracterización y las propiedades antimicrobianas de los materiales a base de carbono desarrollados para este estudio.

1.1. Terapia fotodinámica y terapia fototérmica

Actualmente existen tratamientos que aprovechan las diversas interacciones fototérmicas, fotoquímicas o fotomecánicas que se producen durante la interacción entre la luz con células, tejidos o microorganismos y en algunos fármacos [33]. Dentro de estos tratamientos se tiene a la Terapia Fotodinámica (PDT) y la Terapia Fototérmica (PTT), que son mínimamente invasivos y no quirúrgicos [34], [35].

La PDT se basa en la interacción de la luz con un fotosensibilizante (PS). La luz a una longitud de onda específica es capaz de activar al PS dando como resultado una serie de reacciones fotoquímicas que desencadenan la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por su nombre en inglés reactive oxygen species), y la destrucción de células por apoptosis o necrosis [36]. Los PS generalmente se clasifican por su longitud de onda de activación, duración y penetración tisular.

Los primeros PS que se utilizaron en ensayos clínicos fueron los de primera generación, que son: la hematoporfirina derivada (HpD) y el porfímero sódico, conocido comercialmente como Photofrin® [37]. Los PS de primera generación se emplearon con éxito en el tratamiento de carcinomas cutáneos, laríngeos, cerebrales, pulmonares, esofágicos y gástricos [38], [39]. Dentro de esta familia se encuentra el primer PS aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration, FDA) que es el Photofrin®, un PS que pertenece a la familia de las porfirinas y es un derivado de la hematoporfirina [40]. Los PS de primera generación poseen ciertas limitaciones como: su compleja composición, síntesis y purificación complejas, corta longitud de onda de excitación, larga vida media lo que facilita la toxicidad fotosensible cutánea y baja tasa de absorción de la luz [37]. Debido a estas limitaciones se desarrollaron PS con propiedades terapéuticas mejoradas, a los cuales se los conoce como PS de segunda generación [41].

Los PS de segunda generación son compuestos sintéticos derivados o hechos de porfirinas, bacterioclorinas, ftalocianinas (Pcs), clorinas, benzoporfirinas, curcumina sintetizada y otros conjugados con varias moléculas diana [42]. Dentro de las ventajas de los PS de segunda generación se tiene: longitudes de onda de absorción más largas lo cual permite una mayor penetración de luz en tejido, pueden ser activados por luz infrarroja cercana (NIR, 650-700 nm), mejor selectividad tisular, mayor profundidad de efecto, se metabolizan rápidamente, reduciendo así efectos secundarios y un alto rendimiento cuántico de oxígeno singlete 1O_2 [39], [41]. Debido a estas características los PS de segunda generación son los más utilizados en ensayos clínicos basados en la estrategia PDT. Dentro de los PS de segunda generación aprobados por la FDA se tiene: la protoporfirina IX endógena (PpIX) inducida por ácido 1,5-aminolevulínico exógeno (ALA o Levulan Kerasticks), el éster metílico de ALA, aminolevulinato de metilo (MAL, Metvix® o Metvixia®), el hexaminolevulinato, el éster n-hexílico de ALA (HAL, Hexvix®, Cysview®), el Verteporfirina o BPD-MA (Visudyne®) y la temoporfina o m-tetrahidroxifenilclorina (mTHPC o Foscan).

Los PS de segunda generación han sido combinados con sustancias particulares como anticuerpos, carbohidratos, aminoácidos o péptidos, encapsularlos en transportadores como liposomas, micelas o nanopartículas. La finalidad de combinarlos es aumentar la acumulación de PS en sitios específicos de tratamiento, adquirir mejores estrategias transporte de PS, mejorar la especificidad del objetivo y la farmacocinética [43]. A estos PS de segunda generación modificados se los llama PS de tercera o última generación [44].

La Figura 1.1 muestra el mecanismo de acción de la PDT, al irradiar con una longitud de onda específica al PS en estado fundamental, absorbe fotones (1) y pasa a estar en un estado excitado ($^1PS^*$). El $^1PS^*$ puede regresar a su estado fundamental perdiendo energía por conversión interna (2) o emisión de fluorescencia (3), lo cual sucede en nanosegundos (10 a 1000 ns) [45]. Alternativamente, por un cruce intersistemas (4) el $^1PS^*$ puede pasar a un estado de triplete excitado ($^3PS^*$) que puede durar microsegundos (30-300 ms) [46]. En este cruce intersistemas el $^3PS^*$ puede pasar a un estado singlete 1PS por emisión de fosforescencia (5) directamente o experimentar dos tipos de reacciones al interactuar con las moléculas de su alrededor. En la reacción de tipo I (6), el $^3PS^*$ reacciona directamente con el sustrato biológico, que puede ser una molécula de la membrana celular y le transfiere un electrón o protón dando lugar a formación de radicales orgánicos. Los radicales orgánicos reaccionan directamente con el oxígeno formando ROS como: peróxido de hidrógeno (H_2O_2), hidroperóxido (OOH^*), radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y radical hidroxilo (OH^*) [29]. En la reacción de tipo II (7), el $^3PS^*$ es capaz de transferir directamente su

energía al oxígeno molecular para generar 1O_2 , una ROS altamente reactiva y aprovechada en la PDT [47]–[49]. Las ROS, son capaces de causar la muerte por apoptosis o necrosis en células y de microorganismos debido a su alta citotoxicidad [13], [50]–[52]. Esta terapia se ha utilizado para tratar enfermedades de la piel y cánceres como cáncer de próstata, cuello, pulmón, mama y vejiga [53]–[56].

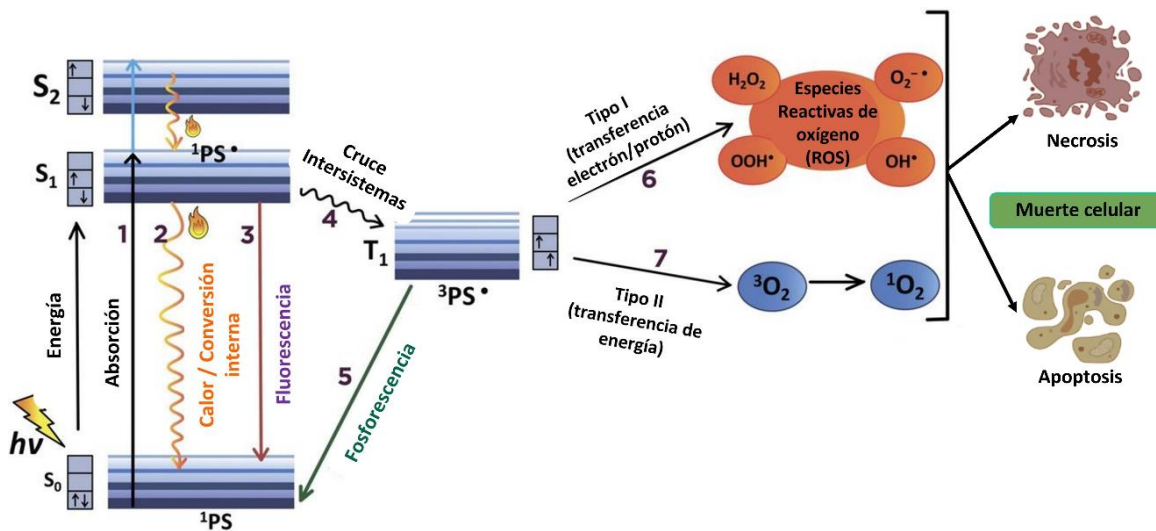


Figura 1.1. Principios y mecanismos de la terapia fotodinámica.
(Fuente: modificado de [57])

La PTT consiste en el uso de agentes fototérmicos (PTAs) capaces de absorber luz y transformarla en calor, lo cual genera un aumento de temperatura local y conlleva a la muerte celular al superar los $42^\circ C$ [20], [58]. En la Figura 1.2 se observa que para la activación de los PTAs es necesario utilizar una longitud de onda específica, los PTAs absorben energía y pasan de un estado fundamental a un estado excitado. Para regresar a su estado fundamental el PTA excitado sufre una relajación vibratoria no radiativa, en donde los PTAs excitados colisionan con moléculas de su alrededor, generando un aumento de energía cinética. Este aumento de energía cinética da como resultado un aumento de la temperatura local, que puede causar hipertermia generando varios efectos como: desnaturalización de proteínas, ruptura de la membrana celular, evaporación del citosol, lisis celular [20], [59]; terminando en una muerte por apoptosis, necrosis o necroptosis del microorganismo o tejido tratado [60], [61].

Los PTAs por lo general deben poseer una alta eficiencia de conversión fototérmica, fotoestabilidad, facilidad de síntesis y rápida eliminación del cuerpo humano [62], [63]. Los PTAs más utilizados son: nanomateriales a base de carbono, nanomateriales de metales nobles (Ag y Au), nanomateriales de sulfuro de cobre y sulfuro de molibdeno,

nanomateriales a base de polímeros y nanoestructuras a base de moléculas pequeñas [64], [65]. La PTT también puede ser combinada con otras estrategias como: la liberación controlada de fármacos y PDT [66], [67].

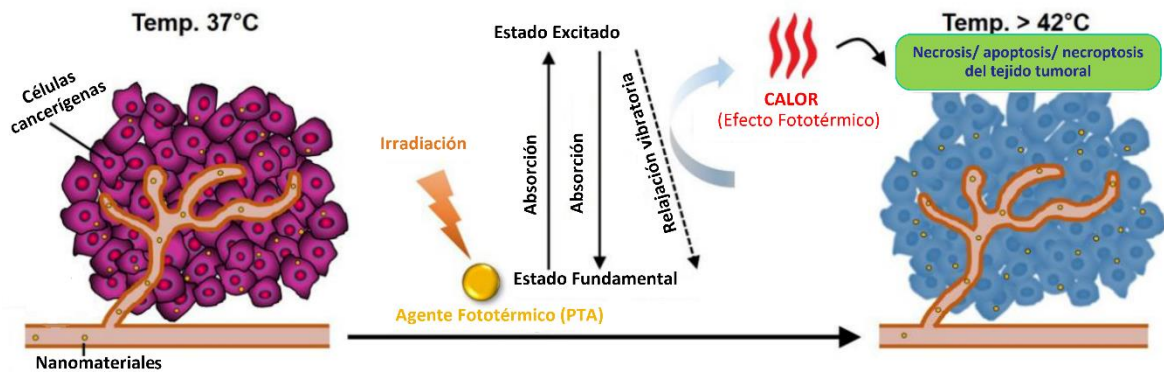


Figura 1.2. Mecanismo de acción de la Terapia Fototérmica.
(Fuente: modificado de [60])

La combinación de las fototerapias descritas anteriormente forma una terapia bimodal PTT/PDT que se encuentra entre los métodos más efectivos para provocar muerte de estructuras biológicas debido a su alta especificidad, mínima invasividad, bajo riesgo de desarrollar resistencia a los medicamentos y selectividad [8], [9]. En la Figura 1.3 se puede observar que para esta terapia bimodal es necesario el uso de un nanomaterial fototérmico y fotosensible (A). Hay ciertos nanomateriales capaces de actuar como PTA y PS como el GO, C₆₀, CNTs y CDs [68]–[72], a estos nanocompuestos se les puede brindar mayor especificidad al añadirles moléculas de señalización como antígenos, hormonas, neurotransmisores y factores de crecimiento [73]–[75]. La sinergia entre estas dos estrategias PTT/PDT permitirá que tras la irradiación (B), se produzcan las mismas reacciones que en las estrategias PDT y PTT (C) [76]. Además, que el efecto fototérmico facilitará la absorción de PS debido a que el aumento de temperatura generará un aumento de la permeabilidad celular. Al mismo tiempo, por efecto fotodinámico, el PS producirá ROS, capaces de destruir proteínas, lípidos y ADN, causando la muerte celular y aumentando la efectividad del PTT, ya que son capaces de reducir la resistencia al calor de las diferentes estructuras celulares [19], [20].

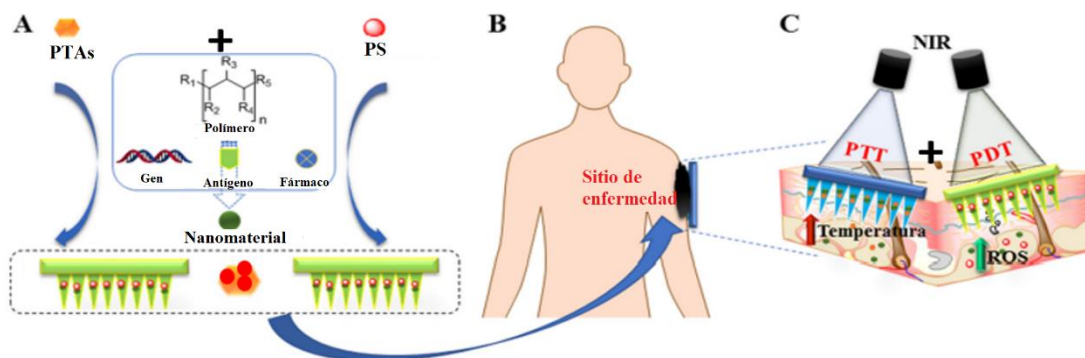


Figura 1.3. Esquema de la acción de nanomateriales basados en PTT/PDT.
(Modificado de: modificado de [77])

1.2. Aplicaciones biológicas de los nanomateriales a base de carbono basadas en la técnica bimodal PDT/PPT

Los nanomateriales a base de carbono han tenido un gran impacto durante los últimos debido a sus grandes propiedades ópticas, mecánicas, físicas, eléctricas [78], que varían según el tipo. Estas propiedades los hace aptos para diversos campos como: mecánica, farmacia, biología, ingeniería aeroespacial, automovilística, etc [78], [79]. El carbono es un elemento muy abundante en la corteza terrestre, y se encuentra en diversas formas y estructuras, conocidas como alótropos [80]. Los alótropos son arreglos estructurales diferentes del mismo elemento que poseen propiedades físicas y químicas únicas. Los alótropos más comunes del carbono se encuentran en la Figura 1.4. Donde se puede observar la clasificación según su dimensión (0D, 1D, 2D) e hibridación (sp_2 , sp_3). En 0D se encuentran los C_{60} , CDs, puntos cuánticos de grafeno (GQD), y ND; en 1D, los CNTs que se clasifican en nanotubos de carbono de pared simple (SWCNTs) y de pared múltiple (MWCNTs, por su nombre en inglés Multi-Walled Carbon Nanotubes). En 2D se tiene al grafeno y sus derivados como son el GO, óxido de grafeno reducido (r-GO), y al nitruro de carbono grafítico (g-CN) que es una estructura rica en nitrógeno. Dentro de las estructuras con hibridación sp_2 están los C_{60} , CNTs, grafeno con sus derivados y g-CN; con hibridación sp_3 se tiene a los ND; y con sp_2 y sp_3 mezclados junto con defectos y heteroátomos se observa a los CDs y GQD [81].

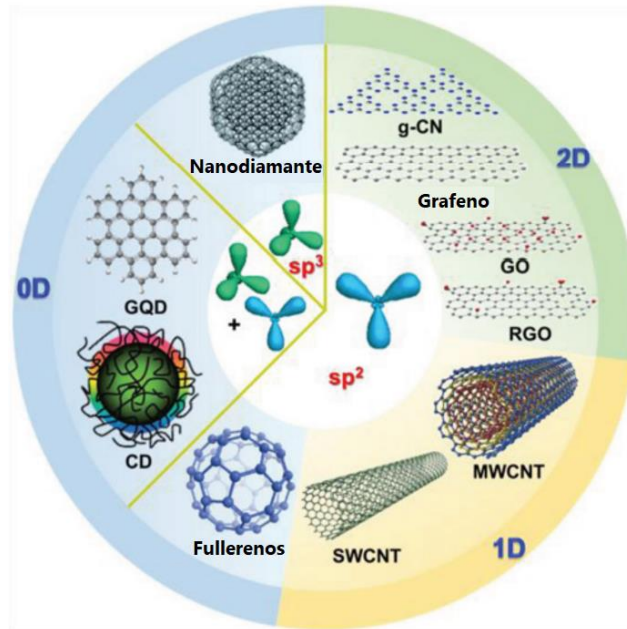


Figura 1.4. Alótropos del carbono según su dimensión.
(Fuente: modificado de [81])

Debido a las propiedades fisicoquímicas innatas y biocompatibilidad de los nanomateriales a base carbono, son excelentes candidatos para el diagnóstico y tratamiento de cáncer (teranóstico) [73], [82], aplicaciones antimicrobianas basadas en el efecto PDT/PTT [81], [83], transporte de PS, transporte de moléculas de reconocimiento, marcadores de cáncer entre otros [84], [85]. Sun et al., 2019, combinaron el fotosensibilizante Clorin e_6 (Ce_6) y puntos cuánticos de carbono (CQD) y una fuente de luz de 671 nm y $0,50 W \cdot cm^{-2}$ para eliminación tumoral. Pudieron comprobar que la terapia PDT o PTT por sí solas no logra reducir significativamente el tamaño de los tumores, pero al utilizar la PTT y PDT en sinergia se evidencia una reducción tumoral del 30 % del volumen original. De acuerdo con este estudio, un protocolo de tratamiento único (PDT o PTT) es menos eficaz que el diseñado con la terapia sinérgica PTT/PDT [70].

Algunos estudios demuestran que los ND funcionalizados con un adecuado PS son capaces de destruir células de cáncer de mama y células de carcinoma nasofaríngeo humano (KB) al emplear la técnica PTT/PDT. De esta manera, Cui et al., 2021, muestra que el compuesto HPNDIC formado de ácido hialurónico multicomponente (HA), curcumina (Cur), sulfato de protamina (PtS), el PS IR780 y ND, es efectivo en su estudio de diagnóstico y tratamiento de células mamarias cancerígenas al ser irradiadas con una fuente de luz de 808 nm y $1.0 W \cdot cm^{-2}$ por 6 min [86], así también Ryu et al., 2018 sintetizó el nanocompósito $Ce_6/ND/PCM$, que es un nanocompósito formado de nanopartículas de cambio fase (PCM) que contiene Ce_6 y ND. Este nanocompósito es capaz de destruir en

gran medida células KB (línea celular de carcinoma nasofaríngeo humano) tras la exposición con láser de He-Ne de 670 nm a $2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ [87].

Yang et al., 2019, informaron sobre la eficacia antitumoral basada en la estrategia PTT/PDT de Nanocuernos de carbono cargados con Ce_6 , Gd^{3+} y recubiertos con polímeros ($\text{Gd-Ce}_6\text{@SWNHs}$) en células cancerígenas de mama al aplicar láser de 808 nm y $1.5 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$. Tras 7 min de irradiación con el nanocompuesto $\text{Gd-Ce}_6\text{@SWNHs}$ se evidenció la muerte total de células cancerígenas [88].

Varios estudios han demostrado que el grafeno y sus derivados tales como GO, el óxido de Nanografeno (nGO) y CNT poseen propiedades antitumorales bajo acción PTT/PDT. Kalluru et al., 2016, obtuvo una reducción del 98 % del tamaño inicial del tumor de melanoma murino al ser expuesto al nanocompuesto GO-PEG-folato e irradiarlo con luz NIR 980 nm a $36 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ bajo la acción bimodal PTT/PDT. Se observó que el efecto bimodal es más eficaz en relación a PDT en donde se obtuvo una reducción del 89.9 % del tamaño del tumor [89]. En el estudio de Dos Santos et al., 2018, el nGO al combinarlo con azul de metileno (MB), forma nGO-MB, el cual es eficaz en el tratamiento de carcinoma mamario murino promoviendo la ablación tumoral sin rebrote ni metástasis en animales testeados, aplicando luz de 660 nm para PDT y 808 nm para PTT [90]. Así mismo, al sintetizar el nanocompuesto $\text{Ce}_6\text{-MnO}_2\text{/CNT}$, el cual está formado por CNT recubiertos con hojuelas de MnO_2 con Ce_6 y aplicar la estrategia bimodal PTT/PDT, Yin et al., 2018, demuestran una inhibición en el crecimiento tumoral tras dos irradiaciones de 660 nm para PDT y 808 nm para PTT. Adicionalmente este compuesto fue usado para obtener diagnóstico por fluorescencia [91].

La nanotecnología para el control de enfermedades infecciosas incluye varias estrategias. Una de ellas es la fotoinactivación microbiana basada en el uso de nanomateriales de carbono funcionalizados con MNPs, polímeros, fármacos, moléculas orgánicas, entre otros [12], [92]–[94]. Las estructuras de carbono como: grafeno, CNTs, CDs, al interactuar con una longitud de onda específica, poseen la capacidad de generar ROS y elevar la temperatura local al interactuar con luz. Durante la generación de calor y de ROS, estos nanomateriales son capaces de dañar la integridad de la membrana o causar daño físico a la pared bacteriana [95], inhibiendo la replicación del ADN y la producción de trifosfato de adenosina (ATP) en las células [96]. Por lo tanto, son excelentes candidatos para el tratamiento antimicrobiano basado en PTT y PDT.

En este sentido, Romero et al., 2020, mostraron la capacidad del GO y nGO como agente antimicrobiano para eliminar las bacterias *E. coli* y *S. aureus* mediante la acción bimodal de PDT/PTT utilizando una luz de 630 nm a $5 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$. Se obtuvo una eliminación

completa de *E. coli* a dosis de 43–47 J·cm⁻² y concentraciones de 1.13–1.5 mg·mL⁻¹ GO y 535.5–743.8 mg·mL⁻¹ nGO. La eliminación completa de *S. aureus* se logró con una dosis de 43–47 J·cm⁻² a concentraciones altas de 300–750 µg·mL⁻¹ GO y 446.3–595 µg·mL⁻¹ nGO [97]. Mei et al., 2021, sintetizaron el nanocompuesto ZnPc-TEGMME@GO, que tiene un espesor entre 1.47 y 2.61 nm, utilizando concentraciones ≥25 µg·mL⁻¹ del nanocompuesto e irradiación con luz dual de 450 nm y 680 nm durante 10 min. El nanocompuesto aumenta su temperatura a 100 °C y promueve rápidamente la generación de ¹O₂, causando cortes en las membranas de las células bacterianas y, en consecuencia, la muerte de bacterias gram-positivas y gram-negativas [19]. Yang et al., 2018, obtuvieron el nanoagente no quimioterapéutico Fe₃O₄-CNT-PNIPAM con un diámetro de alrededor de 200 a 400 nm, que a una concentración de 0.1 mg · mL⁻¹, y bajo irradiación láser de 808 nm, 3 W · cm⁻², durante 5 min es capaz de matar *S. aureus* y *E. coli* por PTT [98]. Yan et al., 2021, estudiaron las propiedades antimicrobianas de CDs de curcumina, como se observa en la Figura 1.5, en la parte (a) presentan como los CDs/Cur fueron obtenidos por el método hidrotermal, dando como resultado CDs de 3 nm con distribución uniforme. En la parte (b) se observa que la eliminación de *E. coli* y *S. aureus* se basa en la activación de los CDs por PTT/PDT usando un láser dual de 405 + 808 nm por 30 min [75].

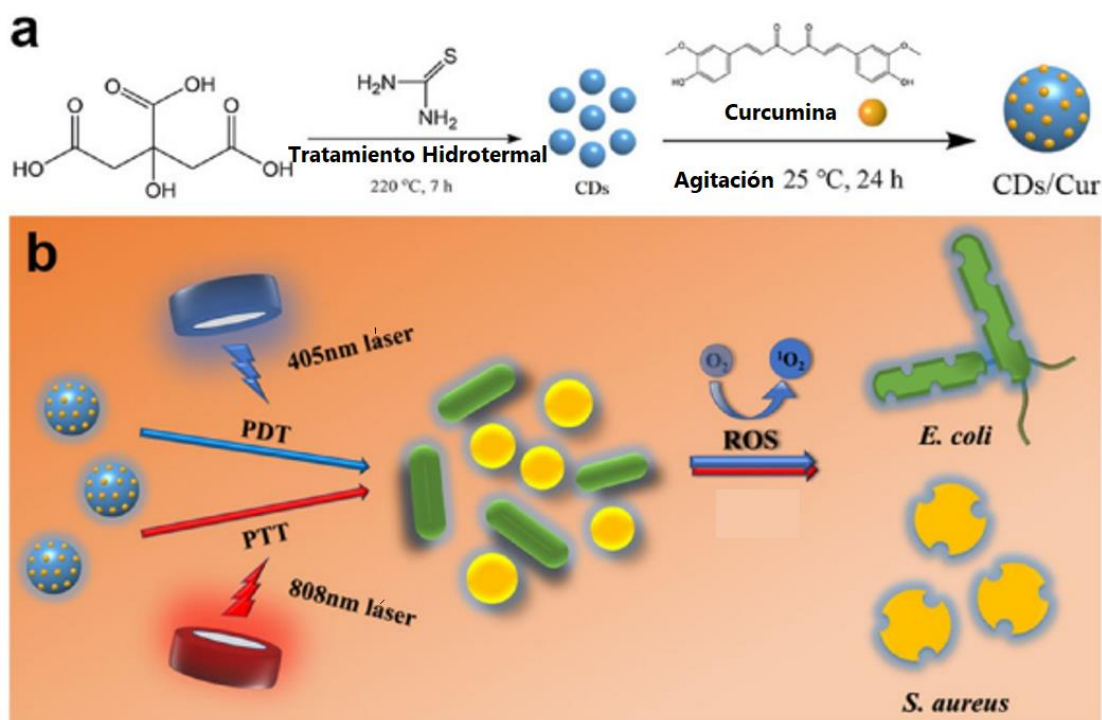


Figura 1.5. (a) Proceso de síntesis de CDs/Cur; (b) Efecto antimicrobiano de CDs/Cur basados en PTT/PDT. (Fuente: [75])

Zhou et al., 2022, obtuvo nanopartículas mesoporosas de carbono CIL@ICG/PFH@O₂ de 100 nm de diámetro que tienen cargados verde de indocianina (ICG) y PFH. Estas nanopartículas actúan bajo PTT/PDT a 808 nm, 1 W · cm⁻² por 5 min para la eliminación de *S. aureus* resistente a la meticilina y *E. coli* resistente a la kanamicina [99].

1.3. Nanopartículas magnéticas de hierro y aplicaciones basadas en la técnica bimodal PDT/PPT

En los últimos años, ha surgido un gran interés en la síntesis de Fe-MNPs, debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas [21], [100]. Estas nanopartículas pueden ser empleadas en la aplicación de la estrategia PPT/PDT [101], transporte de fármacos, como agentes teranósticos, entre otros [102]. Las Fe-MNPs, como la magnetita, maghemita y la hematita, obtenidas a partir de óxidos de hierro, se utilizan ampliamente en biomedicina ya que son biocompatibles y no tienen efectos citotóxicos en concentraciones inferiores a 100 µg · mL⁻¹. Las Fe-MNPs en concentraciones superiores a los 100 µg · mL⁻¹ causan efectos citotóxicos que surgen de la interacción entre las MNPs y los fosfolípidos de la membrana celular resultando en una falla de la membrana [103], [104]. Las Fe-MNPs pueden ser funcionalizadas con otras estructuras como CNTs [105], GO [106], polímeros y dendrímeros para mejorar sus aplicaciones biológicas [107], [108].

Algunos autores han investigado la capacidad de las Fe-MNPs como materiales prometedores para la estrategia teranóstica, gracias a su excelente capacidad de conversión fototérmica, generación de ¹O₂ y actuar como agente de contraste en MRI (imagen por resonancia magnética) [107]. Así, Yang et al., 2018, sintetizó nanopartículas superparamagnéticas obtenidas a partir de óxidos de hierro MA/SPIOs@Alkyl-PEI2k-PEG (MASAs), obtenidas a partir de agentes metalaromáticos (MA) y nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPIO). Las MASAs son utilizadas para en un modo dual para el tratamiento *in vivo* PTT/PDT guiado por imágenes de Resonancia magnética/Fotoacústica (MRI/PA) en ratones con tumores SCC-7 de 100 mm³. El mejor contraste de tumor en MRI y en PA se obtuvo 6 h después de inyección de MASAs. Para la obtención de imágenes PA se utilizó un láser de 800 nm a 5 mJ · cm⁻². Mientras la estrategia bimodal PTT/PDT se realizó con irradiación a 808 nm y 1 W · cm⁻² por 10 min y logró reducir el tamaño del tumor a 40 mm³[109].

Zhou et al., 2023, obtuvo las Fe₃O₄ @Au-MNPs, a partir de un método de crecimiento mediado por semillas modificadas de Au en Fe₃O₄-MNP, demuestra la efectividad de la estrategia bimodal PTT/PDT con focalización magnética en células de cáncer de cuello uterino humano (HeLa) utilizando luz láser de 808 nm [110]. Chen et al., 2021, mencionan

que la combinación trimodal de focalización magnética, y PTT/PDT es efectiva para el tratamiento de células cancerígenas usando MNPs de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g-C}_3\text{N}_4@\text{PPy-DOX}$ que están formadas por MNPs de óxido de hierro (Fe_3O_4 -NP), nitruro de carbono grafitico ($\text{g-C}_3\text{N}_4$) con una cubierta de polipirrol (PPy) cargado de hidrocloreuro de doxorubicina (DOX) [111]. Por último, en el trabajo de Zhou et al., 2022, se sintetizaron MNPs ICG@SANPs-cRGD multifuncionales obtenidas a partir de nanopartículas de ferrita, PS de verde de indocianina (ICG) y un tripéptido cíclico de arginina-glicina-ácido aspártico (cRGD). Estas MNPs las cuales actúan mediante la estrategia PTT/PDT promoviendo la ablación tumoral primaria e inhibiendo el crecimiento metastásico de cáncer de mama 4T1 [112].

1.4. Métodos de síntesis de nanopartículas magnéticas de hierro en presencia de nanomateriales a base de carbono

Existen algunos métodos de síntesis de Fe-MNPs tales como: síntesis por coprecipitación, descomposición térmica a elevadas temperaturas, síntesis solvotermal, reacciones sol-gel y método de polioles, microemulsión, sonólisis o método sonoquímico, síntesis asistida por microondas, biosíntesis, entre otros [21]. Para la obtención de Fe-MNPs en presencia de nanomateriales basados en carbono para aplicaciones biomédicas se han reportado los siguientes métodos: síntesis por coprecipitación, método solvotermal y la amidación mediada por EDC [1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida].

1.4.1. Síntesis por coprecipitación

La síntesis por coprecipitación es un método comúnmente utilizado en el campo de la ciencia de los materiales para preparar nanopartículas y otros materiales nanoestructurados. Este método implica formar una solución sobresaturada con dos o más sales precursoras en una relación de 1:2 [113], seguido de la adición de un agente precipitante como hidróxido de sodio o hidróxido de amonio. Esto hace que los iones metálicos de los precursores sufran hidrólisis y den paso a procesos de nucleación y crecimiento de nanopartículas. Esta técnica es muy utilizada para la síntesis de nanopartículas de óxidos metálicos, así como de otros materiales como aleaciones y cerámicas [114].

Durante el proceso de precipitación se puede añadir un agente estabilizador como son los CNTs, CQD y el grafeno. Por ejemplo, en el estudio de Pop et al., 2021, sintetizaron Fe-MNPs con CNTs como agente estabilizador [115]; mientras que en el estudio de Fu et al., 2016 y Bilalis et al., 2022, sintetizaron Fe-MNPs con GO como agente estabilizador [116], [117]. En ambos estudios se sintetizaron las Fe-MNPs en presencia de nanomateriales basados en carbono utilizando el método de coprecipitación. Las nanopartículas

resultantes evidencian buenas propiedades magnéticas y estabilidad, lo que las convierte en candidatas prometedoras para aplicaciones biomédicas y antibacterianas.

1.4.2. Método solvotermal

La síntesis solvotermal es un método versátil para la preparación de Fe-MNPs con tamaño, forma y propiedades magnéticas controlados. El método se ha utilizado ampliamente para la síntesis de varios tipos de MNPs, incluido el óxido de hierro, el cobalto, el níquel y sus aleaciones [105], [118], [119].

El proceso de síntesis solvotermal involucra el uso de condiciones de alta presión y temperatura en un medio solvente para promover la nucleación y el crecimiento de nanopartículas. En este proceso, los materiales precursores se disuelven en un solvente adecuado y la solución se calienta en un recipiente sellado bajo condiciones controladas de presión y temperatura [120], [121]. El proceso solvotérmico permite la formación de nanopartículas con tamaño y cristalinidad uniformes [119].

Las MNPs de óxidos de hierro, como la magnetita (Fe_3O_4) y la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), se sintetizan comúnmente mediante el método solvotermal debido a que se puede obtener nanopartículas con propiedades magnéticas únicas, como alta imanación, superparamagnetismo y anisotropía magnética, además de biocompatibilidad [119], [122]. Se han utilizado varios disolventes, como etilenglicol, agua y etanol, en la síntesis solvotermal de MNPs de óxido de hierro. Por ejemplo, Fotukian et al., 2020, sintetizó Fe_3O_4 -MNPs usando trietilenglicol como disolvente, reductor y estabilizador bajo condiciones solvotérmicas. Las nanopartículas resultantes exhibieron alta imanación, biocompatibilidad y alta eficiencia de calentamiento para la terapia de hipertermia magnética [119].

La presencia de materiales de carbono durante la síntesis solvotérmica de MNPs puede mejorar las propiedades magnéticas y la estabilidad de las nanopartículas resultantes. Por ejemplo, Xiao et al., 2012, sintetizó Fe_3O_4 -MNPs en presencia de MWCNT por método solvotermal para formar nanotubos de carbono magnéticos de pared múltiple (MMWCNT) los cuales presentan propiedades magnéticas y superficies de alta adsorción que los hace prometedores para utilizarse como sistema magnético de administración de fármacos dirigidos [105].

1.4.3. Amidación mediada por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC)

El 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) es un agente de acoplamiento comúnmente utilizado en la síntesis de nanopartículas debido a su capacidad para activar ácidos carboxílicos y formar enlaces amida-amina. La amidación mediada por EDC se ha

utilizado ampliamente en la síntesis de MNPs para diversas aplicaciones biomédicas, incluida la administración de fármacos, la resonancia magnética y la terapia de hipertermia [123], [124].

La síntesis por amidación mediada por EDC también se ha utilizado para la funcionalización de Fe-MNPs en presencia de materiales a base de carbono, como CNTs y el grafeno, lo que permite mejorar su capacidad de dispersión y estabilidad en diferentes medios. Yang et al., 2018, empleó este método de síntesis para obtener el nanocompósito Fe₃O₄-CNT-PNIPAM, empleando Fe₃O₄-MNPs amidadas (Fe₃O₄-NH₂), las cuales se añaden a una solución oxidada de CNTs, N-(3-dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida de clorhidrato (EDC, 0.6 g) y N-hidroxisuccinimida (NHS, 0.9 g). Luego se coloca la solución en baño ultrasónico por 24 h a temperatura ambiente. Para eliminar residuos se procede a realizar lavados por filtración y centrifugación. Con este método se obtienen Fe-MNPs de 100nm de diámetro ancladas a CNTs. Este nanocompuesto fue utilizado para la eliminación completa de *S. aureus* basado en PDT con NIR [98].

En el estudio de Lu et al., 2018, desarrollaron un nanotransportador magnético MGO (GO magnético) de orientación dual sensible al pH para la quimiofototerapia a base de Fe₃O₄-MNPs y GO. El cual, se conjugaba con ácido fólico y polietilenglicol (PEG) para actuar sobre las células cancerosas que sobreexpresan el receptor de folato y mejorar la biocompatibilidad. La amidación mediada por EDC se usó para conjugar la doxorubicina con MGO acoplando los grupos de ácido carboxílico de doxorubicina a los grupos amina en la superficie de MGO. El sistema resultante era estable en condiciones fisiológicas y exhibió una alta capacidad de carga de fármacos. Además, la superficie de MGO se funcionalizó con ácido fólico y PEG para mejorar la orientación y la biocompatibilidad [106].

En el presente proyecto de titulación se utiliza la técnica de coprecipitación para la síntesis de Fe-MNPs en MWCNTs y en GO.

1.5. Técnicas de caracterización para nanocompuestos magnéticos a base de carbono

La caracterización de los nanomateriales permite determinar la composición, la estructura y propiedades; incluidas las características físicas, químicas, eléctricas y magnéticas de los nanocompuestos basados en carbono [125]. Actualmente existen varios métodos para caracterizar estos nanomateriales, y cada una permite conocer las propiedades físicas, químicas y morfológicas de un nanomaterial. En el presente trabajo, para determinar la composición química y estructural, se ha empleado la espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopía Raman, difracción de rayos X (XRD) y

Rayos X de energía dispersiva (EDS); para el estudio de las propiedades ópticas se ha utilizado espectroscopia UV-VIS; las microscopías AFM, SEM y TEM se emplearon para obtener la morfología de los nanocompuestos. Las propiedades magnéticas se obtuvieron por magnetometría. En esta sección se describen los fundamentos de estas técnicas de caracterización que se emplearon en esta investigación.

1.5.1. Técnicas espectroscópicas

Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier

La espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) examina la existencia de grupos funcionales evaluando las frecuencias vibracionales de los enlaces químicos. La espectroscopia FT-IR cubre la región del infrarrojo medio (MIR) del espectro electromagnético, que se extiende desde aproximadamente 4000 a 400 cm^{-1} (números de onda). Esta región es particularmente útil para estudiar los modos de vibración de las moléculas, incluidos los modos de estiramiento y flexión de los enlaces químicos [126]. La espectroscopia FT-IR se basa en el hecho de que las frecuencias vibratorias de las moléculas pueden ser excitadas por la radiación infrarroja, lo que provoca cambios en el momento dipolar de la molécula. Al analizar el espectro resultante de absorción o transmisión de radiación infrarroja por parte de la muestra, se puede obtener información sobre la composición química y la estructura de la muestra. Cada estructura química posee una huella propia, estas huellas espectrales se obtiene de equipos llamados espectrómetros FT-IR [127].

El espectrómetro FT-IR se basa en el principio del interferómetro de Michelson, en la Figura 1.6 se muestra un esquema del funcionamiento de este espectrómetro. Se puede observar que un haz de luz infrarroja se dirige hacia un interferómetro, el cual posee un divisor de haz y divide a la luz en dos rayos, uno que se dirige hacia un espejo móvil y otro a un espejo fijo. De tal forma que los caminos ópticos de los rayos son diferentes. Posteriormente, el interferómetro recombina los haces produciendo un patrón de interferencia que se transmite hasta llegar al detector. El detector mide la diferencia de intensidades de los haces en función de su camino óptico formando un interferograma. El interferograma se somete a la transformada de Fourier para traducirla y presentarla en forma de un espectro que indica la absorción de luz de las moléculas de la muestra en función del número de onda [128].

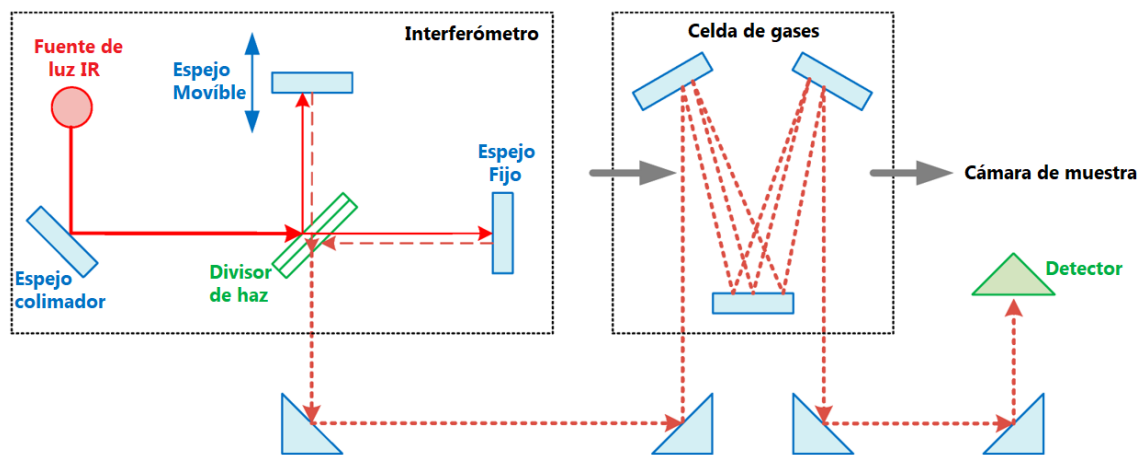


Figura 1.6. Principio de funcionamiento del Espectrómetro FTIR.
(Fuente: modificada de [128])

Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman es una técnica no destructiva de análisis vibratorio molecular, en la que se puede obtener información sobre la estructura química, la fase, polimorfismo, cristalinidad e interacciones moleculares del compuesto a analizar [129], [130].

La espectroscopia Raman se basa en el efecto Raman, que ocurre cuando una molécula es excitada por una fuente de luz monocromática y parte de la luz dispersada sufre un cambio de energía debido a las vibraciones moleculares. Este cambio de energía da como resultado un cambio en la frecuencia de la luz dispersada, que se puede utilizar para obtener información sobre la estructura molecular y las propiedades de la muestra [131].

El efecto Raman puede producir dos tipos de dispersión: Stokes y anti-Stokes. En la dispersión Raman-Stokes, la luz dispersada tiene una frecuencia más baja que la luz incidente, mientras que en la dispersión Raman-Anti-Stokes, la luz dispersada tiene una frecuencia más alta que la luz incidente. Los procesos de dispersión Stokes y anti-Stokes Raman se explican mediante el diagrama de nivel de energía de la molécula [129], [130].

Cuando una molécula absorbe un fotón de luz, se excita a un nivel de energía superior. Este nivel de energía puede entonces decaer emitiendo un fotón de luz, y la energía de este fotón emitido está relacionada con la diferencia de energía entre el estado excitado y el estado de menor energía. En la dispersión de Stokes Raman, la luz dispersada se produce cuando la molécula se excita a un nivel de energía de vibración más alto y luego decae a un nivel de energía de vibración más bajo al emitir un fotón de energía más baja. La diferencia de energía entre la luz incidente y la dispersada es igual a la energía de la transición vibratoria [130].

En la dispersión Raman anti-Stokes, la luz dispersada se produce cuando la molécula se encuentra inicialmente en un nivel de energía de vibración más bajo y se excita a un nivel de energía de vibración más alto al absorber un fotón de energía más alta. Luego, la molécula vuelve a decaer hasta el nivel de energía de vibración más bajo al emitir un fotón de energía más alta. La diferencia de energía entre la luz incidente y la dispersada es igual a la energía de la transición vibratoria en la dirección opuesta [130].

Ahora si el fotón dispersado posee una frecuencia igual que la del incidente se dice ser un choque elástico o dispersión Rayleigh, aquí el fotón y la molécula no sufren variaciones en su estado energético [130]. Estos fenómenos se observan en la Figura 1.7. La dispersión Stokes Raman es mucho más común que la dispersión anti-Stokes Raman, ya que la población de moléculas en el nivel de energía de vibración más bajo es mucho mayor que en el nivel de energía más alto. Sin embargo, la dispersión anti-Stokes Raman se puede mejorar aumentando la temperatura de la muestra, lo que aumenta la población de moléculas en el nivel de energía más alto [129], [132]

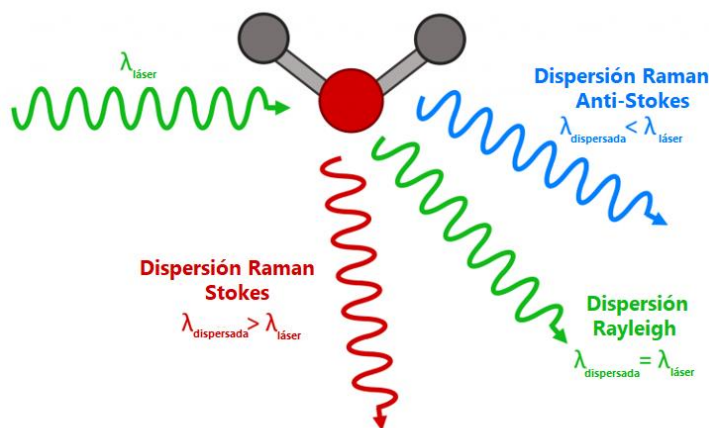


Figura 1.7. Dispersión Raman.
(Fuente: modificada de [132])

En el espectro Raman se podrá encontrar la intensidad óptica dispersada en función del número de onda al que se produce. Cada pico es resultado de una vibración de enlace molecular específico [129].

Espectroscopia UV-VIS

La espectroscopia UV-Vis es una técnica analítica ampliamente utilizada en química, bioquímica y ciencia de los materiales. Implica la medición de la absorción o transmisión de luz en las regiones ultravioleta cercano (UV) de 190 a 400 nm y visible (Vis) de 400 a 750 nm del espectro electromagnético. Esta técnica se usa comúnmente para determinar

la concentración, la pureza y las propiedades químicas de una amplia gama de compuestos orgánicos e inorgánicos [133], [134].

La espectroscopia UV-Vis consiste en que las moléculas absorben luz en longitudes de onda específicas, lo que está relacionado con el nivel de energía de los electrones dentro de la molécula. Cuando una molécula absorbe un fotón de luz, se excita a un estado de mayor energía y la cantidad de absorción es proporcional a la concentración de la molécula en la muestra [133], [135].

La espectroscopia UV-Vis es una técnica no destructiva y requiere una preparación mínima de la muestra. La muestra puede estar en forma de solución, sólido o gas, y el espectro de absorción o transmisión se puede registrar utilizando un espectrofotómetro UV-Vis. Este instrumento mide la cantidad de luz que pasa a través de la muestra y la compara con la cantidad de luz que pasa a través de una muestra de referencia, que no contiene el analito de interés [134].

La ley de Lambert-Beer que se presenta en la ecuación 1.1. es una ley fundamental de la espectroscopia que relaciona la absorbancia de una muestra con su concentración y la longitud del camino de la muestra. Esta ley indica que la absorción de radiación (A) a cierta longitud de onda es directamente proporcional a la concentración de la muestra (C) y la longitud del medio (l) a través de una constante de proporcionalidad denominada constante de absorptividad (ϵ), la cual es propia de cada sustancia a analizar. Esta ecuación permite determinar la concentración de una muestra a través de los espectros de absorción [133], [134].

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C \quad (1.1)$$

Al atravesar o reflejarse la luz en una muestra, la porción de luz absorbida se expresa como transmitancia (T) o absorbancia (A) y se determina por la diferencia entre la radiación incidente (I_0) y la radiación transmitida (I). La transmitancia se da en forma de porcentaje o estandarizada a 1 usando la ecuación 1.2, mientras la absorbancia en función de la transmitancia viene dada por la ecuación 1.3 [134].

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad o \quad T = \frac{I}{I_0} \quad (1.2)$$

$$A = -\log T \quad (1.3)$$

Los espectros de absorbancia son más utilizados para obtener la concentración de un analito, debido a la relación lineal que existe entre el paso óptico o longitud del medio y la concentración [133].

1.5.2. Microscopías electrónicas

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una poderosa técnica de imagen que utiliza un haz enfocado de electrones de alta energía para generar imágenes de alta resolución de la superficie de una muestra. Los SEM normalmente funcionan con un voltaje de aceleración de 5 a 30 kV, que es suficiente para generar electrones con energías en el rango de unos pocos cientos de electronvoltios a varios Kiloelectronvoltios. Si se utiliza un haz de electrones con una longitud de onda de 0.007 nm y un voltaje de 30 KV se puede lograr alcanzar resoluciones de 1 nm. Generalmente, un SEM puede alcanzar magnificaciones de hasta $2 \times 10^5 \times$ [136].

Los electrones de alta energía en el haz SEM interactúan con los átomos y moléculas en la muestra, produciendo una variedad de señales que pueden usarse para generar una imagen con información de la morfología superficial, la composición de las muestras, así como para analizar el tamaño y la distribución de las partículas. Estas señales incluyen electrones secundarios, electrones retrodispersados y rayos X característicos [136], [137].

Los electrones secundarios (SE, secondary electrons) son electrones de baja energía que son expulsados de la superficie de la muestra por los electrones incidentes. Estos electrones son muy sensibles a los cambios en la topografía de la superficie y se pueden utilizar para generar imágenes de alta resolución de la muestra. Los electrones retrodispersados (BE, Backscattered electrons), por otro lado, son electrones de alta energía que se dispersan de la muestra por los electrones incidentes. Estos electrones son sensibles a los cambios en el número atómico y la densidad de la muestra y se utilizan para obtener una imagen plana de las estructuras cuyo contraste depende del número atómico, las estructuras que tengan mayor número atómico se observan como estructuras más brillantes y las de menor número atómico se observan más oscuras [136], [138].

Adicionalmente, un SEM permite obtener imágenes por mapeamiento de rayos-X o EDS (Energy dispersive X-ray spectroscopy). EDS es una técnica utilizada para identificar la composición elemental de una muestra. Cuando un haz de electrones del SEM golpea la muestra, interactúa con los átomos del material, lo que hace que los átomos emitan rayos X característicos. Estos rayos X son recogidos por un detector EDS y analizados para determinar la composición elemental de la muestra. Una imagen por EDS presenta el análisis químico elemental de la muestra además de observar por colores las especies químicas presentes en la muestra [136], [139].

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) es una técnica de imagen utilizada en el campo de la ciencia de los materiales, la biología y la química para estudiar la microestructura y la ultraestructura de varios materiales a nivel de nanoescala. Un TEM funciona haciendo pasar un haz de electrones a través de una muestra delgada (espesor menor a 100 nm) y la interacción entre los electrones y la muestra genera una imagen de alta resolución de la estructura interna del material [140]. Además, si en la interacción haz de electrones-muestra se produce una difracción de electrones se puede obtener información sobre fases y defectos cristalinos presentes en la muestra. Un TEM puede alcanzar magnificaciones superiores a 10^6 X una magnitud más que un SEM [141].

La interacción de los electrones con la materia en la TEM es un proceso complejo que es crucial para generar imágenes de alta resolución de la estructura interna de los materiales. El haz de electrones de un TEM interactúa con la muestra de varias maneras, incluida la dispersión elástica, la dispersión inelástica, la difracción y la absorción. Estas interacciones pueden proporcionar información valiosa sobre la composición, estructura y propiedades de la muestra [142].

La dispersión elástica ocurre cuando los electrones del haz interactúan con los núcleos atómicos de la muestra. Los electrones dispersos cambian de dirección, pero mantienen su energía, lo que provoca un cambio de contraste en la imagen TEM. La dispersión inelástica ocurre cuando los electrones pierden energía en la muestra a través de varios procesos, como la excitación de fonones o la ionización. Estos electrones dispersos también pueden proporcionar información sobre las propiedades de la muestra, como su densidad y estructura electrónica [143].

La difracción es otra interacción importante que ocurre en TEM. Cuando los electrones del haz interactúan con la disposición periódica de los átomos en una muestra cristalina, pueden producir un patrón de difracción que brinda información sobre la estructura cristalina de la muestra, como los parámetros de la red y la orientación. Esto se usa comúnmente en la ciencia de los materiales para identificar y analizar la estructura cristalina de los materiales [143]. La absorción es la interacción final que ocurre en TEM. Algunos de los electrones del haz son absorbidos por la muestra y la imagen resultante puede proporcionar información sobre la composición de la muestra, como la distribución de las especies atómicas y el espesor [144].

1.5.3. Difracción de rayos X

La difracción de rayos X (DRX) es una técnica analítica que permite caracterizar materiales cristalinos y obtener información sobre su estructura atómica y molecular. Se basa en la interacción de rayos X característicos con la estructura cristalina de una muestra en estado sólido [145]. En la Figura 1.8 se puede observar la fuente de rayos X, en donde al calentar un filamento de Tungsteno o Wolframio, se liberan electrones, los cuales son emitidos en forma termo-iónica a grandes velocidades hacia el ánodo, provocando que los electrones del ánodo sean arrancados y al momento de intentar regresar a su posición inicial emitan fotones en forma de rayos X característicos [146].

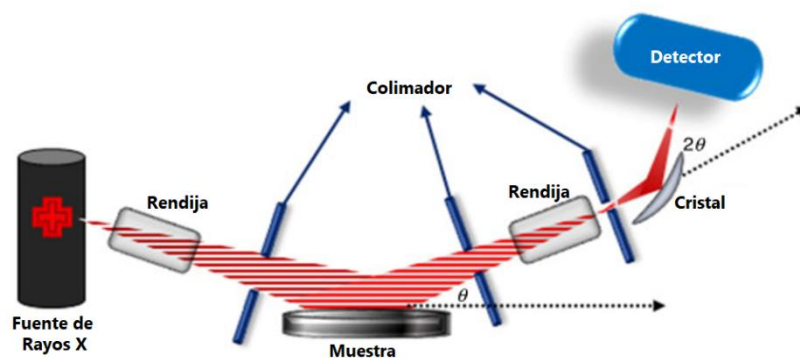


Figura 1.8 Esquema de funcionamiento en DRX.
(Fuente: modificado de [147])

Los rayos X característicos son emitidos en varias direcciones, la mayoría son atenuados por las paredes de plomo del tubo y solo una pequeña parte son emitidos a través de una ventana muy pequeña para posteriormente incidir con la muestra (sample). Dependiendo de la naturaleza de la muestra, que puede ser cristalina o amorfa, se presenta el fenómeno de difracción en ángulos claramente definidos, típicos de cada estructura cristalina. Para poder medir este fenómeno de difracción se filtra con un colimador el haz de rayos X de tal manera que solo se utilice una longitud de onda que corresponde a la radiación característica con mayor intensidad. El haz es enfocado mediante rendijas ópticas, para encontrar los ángulos correctos que pertenecen a una estructura cristalina, se puede mover la fuente y el detector a lo largo de un goniómetro [147].

La técnica DRX se basa en la ley de Bragg, que describe cómo los átomos de una red cristalina difractan los rayos X. La ley de Bragg establece que cuando los rayos X de una longitud de onda particular inciden sobre un cristal en un ángulo específico, los rayos X difractados interferirán constructivamente entre sí, si la diferencia de camino entre ellos es

igual a un múltiplo entero de la longitud de onda de los rayos X. Matemáticamente, la ley de Bragg se expresa como (ecuación 1.4):

$$d = \frac{n\lambda}{2 \cdot \text{seno}(\theta)} \quad (1.4)$$

donde n es un número entero, λ es la longitud de onda de los rayos X que se difractaron constructivamente, d es la distancia entre los planos del cristal que se están difractando, θ es el ángulo entre los rayos X incidentes y el plano del cristal [148].

La ley de Bragg es la base para la interpretación del patrón de difracción obtenido a partir de un material cristalino. Cuando un haz de rayos X incide sobre un cristal, los átomos en la red cristalina dispersan los rayos X en diferentes direcciones. Los rayos X difractados forman un patrón característico de puntos brillantes, llamados picos de difracción, en la pantalla de un detector. La posición de estos picos de difracción depende del espacio interatómico (d) y la orientación de los planos cristalinos con respecto a los rayos X incidentes (θ). Midiendo la posición y la intensidad de estos picos, es posible determinar la estructura cristalina del material [148].

1.5.4. Microscopía de fuerza atómica

La microscopía de fuerza atómica (AFM) generalmente se utiliza para medir la morfología de superficies a micro y nanoescala. Además, permite determinar propiedades como potencial de superficie, fricción, fuerza magnética y medir fuerzas intermoleculares, a través de distintos modos de funcionamiento. Dentro de los modos de funcionamiento del AFM tenemos: contacto, intermitente o tapping, no contacto, imagen de fase, de fuerza, de potencial de superficie, lift, tunelamiento, litografía, entre otros [149], [150].

En la Figura 1.9 se observa el funcionamiento de un AFM. Para obtener la topografía de una muestra, la punta del cantiléver que posee un diámetro de 20 a 60 nm escanea la superficie de la muestra. La fuerza entre la punta del cantiléver y las moléculas de la muestra producen una deflexión del cantiléver, la cual se mantiene en equilibrio gracias a las fuerzas de Van der Waals, las fuerzas capilares, las fuerzas adhesivas y las fuerzas de doble capa. La deflexión se encuentra en función de la distancia entre la punta y la muestra; y es medida por un detector, a medida que la punta recorre la muestra se va generando una micrografía de la superficie [151].

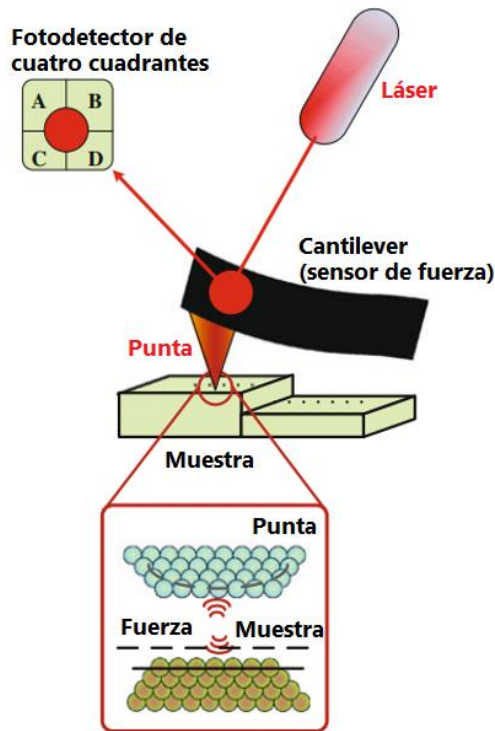


Figura 1.9. Esquema de funcionamiento de un AFM.
(Fuente: modificado de [152])

1.5.5. Magnetometría de muestra vibrante

Las técnicas de magnetometría son utilizadas ampliamente para determinar el comportamiento magnético de un material a través de un equipo llamado magnetómetro. Con esta técnica es posible determinar el momento magnético de las MNPs, como también su respuesta conjunta ante la presencia de campos magnéticos [153].

Se puede definir un magnetómetro como un instrumento que permite medir la magnitud y dirección de un campo magnético. La técnica más utilizada para caracterizar nanocompuestos magnéticos es la magnetometría de muestra vibrante (VSM, por su nombre en inglés Vibrating-Sample Magnetometer). Un VSM posee la capacidad de medir las propiedades magnéticas de materiales blandos o duros en diversas formas, como sólidos, polvos, monocristales, películas delgadas o líquidos [154], [155]. Los VSM pueden llevar a cabo mediciones de campos magnéticos bajos a altos, utilizando electroimanes, matrices de imanes permanentes giratorios de Halbach o imanes superconductores de alto campo. También pueden ser utilizados para mediciones de temperaturas muy bajas o muy altas, utilizando criostatos u hornos integrados, respectivamente. Su amplio rango dinámico que va desde 10^{-8} emu (10^{-11} Am²) hasta más de 10^3 emu (1 Am²), le permite medir materiales débilmente magnéticos (películas ultrafinas, estructuras a nanoescala, etc.) como fuertemente magnéticos (imanes permanentes) [153], [155].

El principio de la técnica VSM se presenta en la Figura 1.10, en donde el magnetómetro de muestra vibrante hace vibrar la muestra sinusoidalmente a una frecuencia y amplitud constantes. La muestra vibra en presencia de un campo magnético uniforme \vec{H} que se encuentra perpendicular a la muestra, \vec{H} es generado por un sistema de bobinas que varía casi estáticamente para realizar los ciclos de histéresis. Para cada valor de campo externo aplicado \vec{H} , se mide la fuerza electromotriz inducida por la muestra \vec{H}_a en una bobina detectora. Esta fuerza es proporcional a la magnetización de la muestra \vec{M} , lo que permite su medición. En la Figura 1.10 el campo magnético se genera con un electroimán resistivo convencional, pero en los sistemas Quantum Design, se utiliza una bobina superconductora para generar el campo magnético [156]. Cabe recalcar que el término magnetización es sinónimo de imantación e imanación, por lo cual en la literatura se puede encontrar con cualquiera de los nombres mencionados.

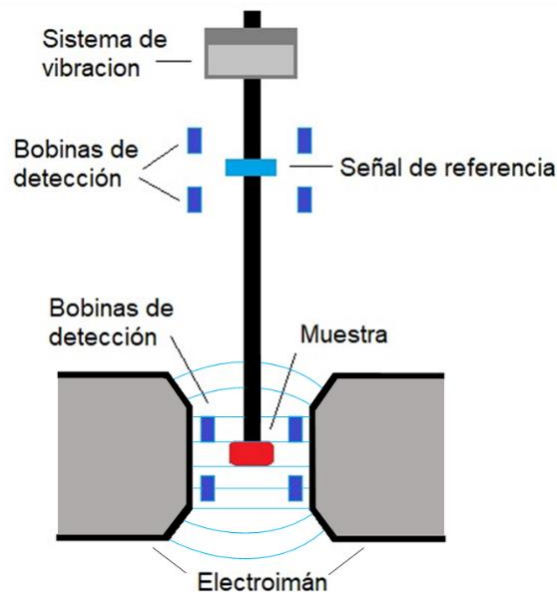


Figura 1.10. Esquema de un magnetómetro de muestra vibrante
(Fuente: [156])

El voltaje V_{BD} producido por el cambio de flujo magnético en las bobinas detectores del VSM sigue la ley de Faraday y está directamente relacionado con el momento magnético de la muestra. El sistema de calefacción y enfriamiento del VSM permite medir \vec{M} a diferentes temperaturas y campos magnéticos \vec{H} . Cuando el campo magnético varía mientras se mantiene la temperatura constante, se generan curvas \vec{M} vs. \vec{H} que son útiles para entender el comportamiento magnético de distintos materiales. Por otro lado, al variar la temperatura mientras se mantiene el campo magnético constante, se pueden obtener las curvas conocidas como ZFC/FC [153].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

En esta sección se describen los materiales y métodos empleados en la obtención de los nanocompuestos magnéticos empleados en el presente estudio. El primer apartado presenta los materiales utilizados (sección 2.1) tales como precursores, sustancias químicas y equipos de caracterización. Mientras que en el segundo apartado se encuentran los métodos (sección 2.2) empleados para la obtención de los nanocompuestos magnéticos (sección 2.2.1 hasta 2.2.4) y sus estudios: magnético (2.2.5), fotodinámico (sección 2.2.6), fototérmico (sección 2.2.7), antimicrobianos (sección 2.2.8) y morfológicos (sección 2.2.9).

2.1. Materiales

2.1.1. Síntesis y funcionalización de los nanocompuestos MNPs-GO-ZnMintPc y MNPs-MWCNTs-ZnMintPc

Para la síntesis y funcionalización de los nanocompuestos MNPs-GO-ZnMintPc y MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, los MWCNTs y GO fueron proporcionados por el Laboratorio Van de Graff, Departamento de Física PUC-RIO, Río de Janeiro-Brasil. El PS Mentol-Ftalocianina de Zinc fue proporcionada por la Universidad Federal de São Carlos-Brasil. Adicionalmente se utilizaron los siguientes reactivos: $\text{Fe}(\text{SO}_4)$, $\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (MERCK); NH_4OH , 14.8 N y N,N dimetilformamida (Fisher Scientific, Nueva Jersey-EE.UU.); $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Baker's Analyzed, New Jersey-EE.UU); HNO_3 (Fermont, Monterrey-México); solución salina (Fisiol UB pH = 7 de Lamosan, Quito-Ecuador) y Tween80 (La casa del Químico, Quito, EC).

2.1.2. Síntesis del hidrogel VCL/PEGDA

Para la síntesis del hidrogel VCL/PEGDA, se utilizaron los siguientes reactivos: N-vinilcaprolactama (VCL, 98 %) y poli(etilenglicol) diacrilato (PEGDA, $\text{Mn } 250 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) de Sigma Aldrich, Darmstadt-Alemania, el iniciador persulfato de amonio (APS, > 99 %) de FMC Corporation, Estados Unidos, el emulsionante dodecil sulfato de sodio (SDS, STEOL[®]CS-230) de la compañía Stepan, EE.UU. y un tampón de carbonato de hidrógeno y sodio (CHNaO_3 , $\geq 99.7 \%$) de Sigma Aldrich.

2.1.3. Caracterizaciones de los nanocompuestos

Las caracterizaciones de MNPs-MWCNTs y MNPs-GO se llevaron a cabo mediante análisis de espectroscopía FT-IR en un espectrómetro JASCO FT/IR-4100 (resolución de 0.7 cm^{-1}) en un rango de número de onda de $7800 \text{ a } 350 \text{ cm}^{-1}$. Y análisis de espectroscopía

Raman, en un espectrómetro Raman HORIBA LabRAM HR Evolution, donde las muestras fueron excitadas a 2.33 eV (532 nm).

La estabilidad en el tiempo del PS en los nanocompuestos magnéticos se caracterizó mediante el análisis de espectroscopia UV-VIS en un rango de longitud de onda de 280 a 780 nm. Se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS modelo Evolution 220 de Thermo Fisher Scientific (resolución superior a 1.8 Å).

El análisis XRD se realizó en un difractómetro EMPYREAN de marca PANalytical. Este equipo opera en una configuración θ - 2θ (geometría de Bragg-Brentano) y está equipado con un tubo de rayos X de cobre (radiación $K\alpha$ $\lambda = 1.54056$ Å) a 45 kV y 40 mA.

2.1.4. Estudios fototérmico, fotodinámico y magnético

Los estudios fototérmicos y fotodinámico se llevaron a cabo con equipos caseros utilizando una lámpara de luz roja LED a 635 nm, $65.5 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$. Para el estudio fotodinámico se empleó un sustrato que se oxida por la presencia de $^1\text{O}_2$, para evaluar la eficiencia de la producción de $^1\text{O}_2$ en los nanocompuestos magnéticos. Esto con el objetivo de determinar el efecto fotodinámico de los nanocompuestos a través de la fotooxidación del sustrato 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), un compuesto fluorescente que posee una reactividad altamente específica frente al $^1\text{O}_2$. Durante la reacción entre el DPBF y $^1\text{O}_2$, se forma un endoperóxido que se descompone y forma 1,2-dibenzoilbenceno, lo cual genera una disminución en la intensidad de la fluorescencia de DPBF, lo cual se aprovecha ampliamente para detectar y cuantificar el $^1\text{O}_2$ [157]. Este agente tiene un rango de absorción entre 410-420 nm, emitiendo fluorescencia azul. Por lo cual, en un espectrofotómetro UV-VIS se podrá evidenciar una reducción en la absorbancia de DPBF en longitudes de onda entre 410 a 420 nm [97]. Se caracterizó la fotooxidación del DPBF en un espectrofotómetro UV-VIS Specord 210 Plus (resolución de 2.3-2.5 nm).

Para el estudio de las propiedades magnéticas se realizaron mediciones de magnetización (M). Estas se llevaron a cabo utilizando un magnetómetro Quantum Design Versalab (VSM-Vibrating Sample Magnetometer), en un rango de temperatura entre -210 y +60 °C con campos magnéticos aplicados (μ_0H) de hasta 3 T.

2.1.5. Estudios antimicrobianos

El estudio antimicrobiano se llevó a cabo con crioviales de los microorganismos: *S. aureus* ATCC: 25923, *E. coli* ATCC: 25922 y *C. albicans* ATCC: 10231. Se utilizó el medio de cultivo Mueller-Hinton (Difco™), una incubadora a 37 °C, un espectrofotómetro (Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate 8000 UV-Vis) y microtubos de 1.5 mL.

2.1.6. Estudios morfológicos

Se utilizó un SEM Tescan, Mira 3, equipado con un emisor de campo Schottky, con detector Bruker X-Flash 6-30, con una resolución de 123 eV a Mn K α para EDS. Un AFM Bruker Dimension Icon y un TEM FEI, Tecnai G2 Spirit Twin equipado con una cámara Eagle 4k HR a 80 kV con rejilla TEM (formvar/carbono, malla 300).

2.2. Métodos

2.2.1. Purificación de los MWCNTs

La purificación de los MWCNTs se realizó por medio de ataque ácido, para lo cual primero se dispersó en 10 mL de agua destilada, 5.3 mg de MWCNT y el surfactante Tween 80 al 5 %. La solución se colocó en agitación a 200 rpm durante 24 h. Segundo, se prepara una solución con 4 mL de HNO₃ y 12 mL de H₂SO₄ (relación 1:3). Tercero, se vierte cuidadosamente la solución de MWCNTs dispersos en la solución ácida (HNO₃ + H₂SO₄) con agitación magnética (200 rpm). Finalmente, se neutraliza el pH de la solución de MWCNTs realizando lavados con filtración micropore de 0.22 μ m.

2.2.2. Síntesis de los nanocompuestos magnéticos MNPs-MWCNTs y MNPs-GO

La síntesis de los nanocompuestos magnéticos MNPs-MWCNTs y MNPs-GO se realizó la obtención de Fe-MNPs en presencia de MWCNTs y GO por el método de coprecipitación. Para lo cual, en 18 mL de agua destilada, se dispersaron: 5.3 mg de MWCNTs purificados, 225 mg de FeSO₄, 450 mg de (Fe₂(SO₄)₃) y Tween 80 al 5 %. La muestra se colocó en un agitador magnético durante 3 h, luego se agregó cuidadosamente a una solución de 150 mL de NH₄OH. La mezcla se expuso a agitación magnética en una atmósfera inerte durante 1 h a 200 rpm. A continuación, se llevaron a cabo varias purificaciones magnéticas del nanocompuesto MNPs-MWCNTs, hasta neutralizar el pH. Finalmente, se colocó la solución en una estufa a 40 °C hasta obtener la muestra en estado sólido.

Se empleo el mismo proceso para sintetizar el nanocompuesto magnético MNPs-GO, utilizando 5.3 mg de GO en lugar de MWCNTs. Como muestra de control para las mediciones magnéticas, se prepararon Fe-MNPs utilizando el mismo método de coprecipitación descrito, pero sin la presencia de GO o MWCNTs.

2.2.3. Síntesis del hidrogel VCL/PEGDA

La síntesis de hidrogel se realizó mediante polimerización en emulsión, utilizando un matraz de fondo plano equipado con un condensador de reflujo. En el matraz se coloca 235 mL de agua desionizada y se dispersa: 2 g de VCL (monómero), 0.08 g de PEGDA

(reticulante), 0.08 g de SDS-STEOL CS-230 (emulsionante) y 0.08 g de NaHCO₃ (tampón). La mezcla se colocó a 350 rpm y una temperatura de 70 °C, manteniendo una corriente de nitrógeno durante una hora. Luego se agregó a la solución el iniciador APS (0.03 g de APS disuelto en 15 mL de agua destilada) y la reacción se mantuvo a 70 °C durante 7 h. Pasado este tiempo, se dejó enfriar la mezcla bajo agitación a 200 rpm y 25 °C para evitar la agregación durante 12 h. Finalmente, el hidrogel se dializó contra el agua DDI para eliminar impurezas y reactivos sin reaccionar [32].

2.2.4. Funcionalización de MNPs-MWCNTs; MNPs-GO con ZnMintPc en presencia de VCL/PEGDA

Para la funcionalización de los nanocompuestos: MNPs-MWCNTs; MNPs-GO con ZnMintPc en presencia del hidrogel VCL/PEGDA, primero se dispersó en 10 mL de agua destilada, 2 mg de MNPs-MWCNTs con Tween 80 al 5 % con agitación magnética durante 24 h a 200 rpm, seguido de un baño ultrasónico durante 30 min. Segundo, a la solución de MNPs-MWCNTs se añadió un volumen de 10 mL de VCL/PEGDA, y se colocó en agitación magnéticamente durante 4 h a 200 rpm, obteniéndose el nanocompósito VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs.

Tercero, para la adsorción del PS ZnMintPc en VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs, se dispersó 0.67 mL de ZnMintPc (0.25 mM) en 20 mL de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs y se le expuso a un baño ultrasónico durante 4 h, 250 rpm, 23 °C, dando como resultado el nanocompósito VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. La solución se cubrió con papel aluminio para evitar la fotodegradación de ZnMintPc.

Para el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc se llevó a cabo el mismo proceso, pero en lugar de utilizar MNPs-MWCNTs, se empleó MNPs-GO.

2.2.5. Propiedades magnéticas

Para determinar si la dispersión de los nanocompuestos en hidrogel genera cambios en sus propiedades magnéticas, se obtuvo las curvas de magnetización versus campo magnético (\vec{M} vs \vec{H}), las cuales se realizaron en un magnetómetro Quantum Design Versalab (VSM-Vibrating Sample Magnetometer) con campos magnéticos aplicados (μ_0H) entre -3 a 3 T, sensibilidad $\sim 1 \times 10^{-6}$ emu. Para lo cual se utilizaron muestras en estado sólido (polvo) de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO y para la comparación, Fe-MNPs. Para demostrar el comportamiento magnético y campo coercitivo de las muestras se seleccionó las temperaturas de -210 °C y +60 °C.

2.2.6. Estudio fotodinámico

Para este estudio se realizó el experimento de extinción del sustrato oxidable 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), para lo cual se dispersó 5 mg de DPBF en 1 mL de N, N-Dimetilformamida (DMF). Posteriormente una alícuota de la solución de DPBF será distribuida en las soluciones de los nanocompósito magnéticos de la Tabla 2.1. Estos nanocompósitos se eligieron debido a que los materiales basados en carbono y los PS exhiben un efecto fotodinámico al interactuar con una longitud de onda específica [52], [72].

Tabla 2.1. Nanocompósitos para estudio fotodinámico

Nanocompósito (0,1 mg·mL⁻¹)
(A) VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc
(B) VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc
(C) VCL/PEGDA-MNPs-GO
(D) VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs

Para este experimento, se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS SPECORD 210 Plus en un rango de 300 a 800 nm. Se preparó una solución de referencia con agua desionizada y Tween 80 al 10 %. Luego, en 3 mL de esta solución, se agregaron 100 μ L del nanocompósito (A) de la Tabla 2.1. El mismo proceso se repitió con los nanocompuestos (B), (C) y (D) de la Tabla 2.1. Después, se colocaron 20 μ L de la solución de DPBF (18.5 mM) en cada uno de ellos, y cada muestra se irradia con una luz roja de 630 nm, 65,5 $\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ durante diferentes intervalos de tiempo, llevando un control de la absorbancia utilizando un espectrofotómetro UV-VIS SPECORD 210 Plus cada 1-3 min hasta que la muestra analizada no presente una variación significativa en el pico de 418 nm. De esta forma, el tiempo que se irradia los compuestos (A) y (B) de la Tabla 2.1. fue 12 min y de (C) y (D) 5 min.

2.2.7. Estudios fototérmicos

Los estudios fototérmicos se realizaron en agua desionizada, y en los nanomateriales y nanocompósitos que se muestran en la Tabla 2.2, con el objetivo de evaluar el efecto fototérmico de cada componente que forma parte de los nanocompósitos magnéticos basados en GO y MWCNTs. Para el estudio fototérmico se coloca 1 mL del nanocompuesto a analizar en una cubeta de 1mL. La muestra se somete a irradiación con una luz roja de 630 nm, 65,5 $\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ durante diferentes tiempos llevando un control de la temperatura cada 5 a 10 min hasta que esta no exista variación de temperatura.

Tabla 2.2. Nanocompuestos y nanomateriales para estudio fototérmico

Nanomaterial/Nanocompuesto
VCL/PEGDA
MNPs
GO
MWCNTs
VCL/PEGDA-MNPs-GO
VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs

2.2.8. Estudios antimicrobianos

Para el estudio antimicrobiano se utilizó crioviales con los microorganismos: *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans* como sujetos de prueba. Los crioviales se descongelaron a temperatura ambiente y el contenido se inoculó en el medio Mueller-Hinton (Difco™). El medio de cultivo se incubó durante toda la noche a 37 °C. Después de este período, la absorbancia de cada medio se determinó mediante espectrofotometría (Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate 8000 UV-Vis) y se diluyó en Mueller-Hinton para alcanzar la concentración establecida para los bioensayos en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC mL⁻¹): 10⁷ UFC·mL⁻¹ para *E. coli*, 10⁶ UFC·mL⁻¹ para *S. aureus*, y 10⁵ UFC·mL⁻¹ para *C. albicans*.

Una vez alcanzada la concentración indicada según la escala McFarland, se realizó el siguiente ensayo con cada microorganismo. Primero, se dispensó alícuotas de 1mL de microorganismo en 10 microtubos (2 microtubos por cada nanocompuesto a utilizar posteriormente: VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc (C1), VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (C2), MNPs-GO (C3) y MNPs-MWCNTs (C4), y 2 para control). Un microtubo de cada tipo se designó para ser irradiado y el otro no se irradió.

Segundo, los microtubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min, luego el sobrenadante se descartó dejando solo el pellet microbiano, al cual se agregó 1 mL de PBS para lavar las células y eliminar los restos del medio de cultivo y este fue resuspendido y recentrifugado en las mismas condiciones. Tercero, se descartó el PBS de 10 microtubos quedando solo el pellet bacteriano y se dispensó 1 mL del nanocompuesto en cada microtubo. En los 2 microtubos de control, las células fueron resuspendidas nuevamente con PBS. Cada tubo fue agitado para disolver el pellet nuevamente y se incubó a 37 °C en la oscuridad durante 45 min.

Al final del período de incubación, el contenido de un microtubo de cada nanocompuesto y uno de control se sometieron a irradiación utilizando luz roja de 630 nm, $65,5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ (muestra+luz). La mitad de microtubos restantes no fueron irradiados (muestra+oscuridad). Posteriormente se realizó las diluciones seriadas de cada microtubo en PBS, para lo cual se inoculó una alícuota de 4 μL de cada dilución en una placa de Petri de 8 partes con agar Mueller-Hinton (Difco™). Cada inóculo fue rayado para el aislamiento de colonias. Las placas de Petri se incubaron durante 24 h a 37 °C, y después de este período se contó el número de colonias por dilución.

2.2.9. Estudios morfológicos

Los estudios SEM y EDS evaluaron la morfología y la composición elemental semicuantitativa de los nanocompuestos MWCNTs, GO, MNPs, MNPs-MWCNTs, MNPs-GO, y de los nanocompuestos de la Tabla 2.1. Para ello, se fijó una alícuota de la muestra a un portamuestras de aluminio utilizando una doble capa de cinta de carbón y se lo llevó al SEM Tescan, Mira 3. El EDS se realizó en la cámara SEM utilizando el detector Bruker. Se utilizó AFM en modo Tapping para determinar la forma y el grosor de GO.

Para TEM, las muestras de cada nanocompuesto se dispersaron en un baño ultrasónico BRANSON 1510 durante 30 min. A continuación, se colocaron aproximadamente 5 μL de la muestra en una rejilla TEM (formvar/carbono, malla 300), y el disolvente se eliminó con papel de filtro. Las muestras se observaron en un TEM FEI, Tecnai G2 Spirit Twin equipado con una cámara Eagle 4k HR a 80 kV.

La microscopía electrónica de transmisión de barrido (STEM) se realizó para los microorganismos: *S. Aureus* y *E. coli*; y para los microorganismos + los nanocompuestos magnéticos: *S. aureus* + VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, *S. aureus* + VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, *E. coli* + VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, *E. coli* + VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. Para lo cual, se dispersó 5 μL de la muestra en una rejilla TEM (formvar/carbono, malla 300), y el disolvente se eliminó con papel de filtro. La tinción se realizó con Ácido Fosfotúngstico al 1 % durante 1 s para muestras con *S. aureus* y 1 min para muestras con *E. coli*. Finalmente, se retiró el disolvente y se observó la muestra en un SEM Tescan, Mira 3 en modo de transmisión.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados

3.1.1. Composición y caracterización estructural de MNPs-MWCNTs y MNPs-GO

Se realizó el análisis de espectroscopia FT-IR en los nanocompuestos magnéticos MNPs-MWCNTs y MNPs-GO para estudiar la diferencia en los grupos funcionales relacionados con el oxígeno (Figura 3.1.). La Figura 3.1a muestra los espectros FT-IR de MNPs-MWCNTs, el cual presenta las bandas características de los MWCNTs y de la presencia de MNPs. Las bandas alrededor de 3362 y 1340 cm^{-1} corresponden a la vibración del estiramiento y flexión, respectivamente del enlace O-H, lo cual revela la presencia de grupos hidroxilo en los MWCNTs. Las bandas alrededor de 2897 y 2830 cm^{-1} se deben al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo C-H, mientras la banda a 876 cm^{-1} se debe a la flexión del grupo C-H. Las bandas que aparecen en 2346, 2309 y 1060 cm^{-1} se deben principalmente al estiramiento asociado con las cadenas de carbono. La banda de estiramiento C=O ubicada a 1728 cm^{-1} , sugiere que las Fe-MNPs están ancladas a los grupos carboxilo de los MWCNTs a través de enlaces de hidrógeno [158]. Las bandas a 1641 y 1567 cm^{-1} corresponden al estiramiento aromático del C=C. Finalmente, las bandas características de las Fe-MNPs aparecen a 687 y 617 cm^{-1} , lo que indica la vibración de estiramiento de Fe-O característica de Fe-MNPs, y lo cual concuerda con lo mencionado por Abrinaei, Kimiagar y Zolghadr, 2019 [159].

La Figura 3.1b presenta los espectros FT-IR del nanovehículo MNPs-GO donde se identifican bandas características de GO y de MNPs. Las bandas alrededor de 3276 y 1345 cm^{-1} corresponden a la vibración del estiramiento y flexión, respectivamente del enlace O-H, lo cual revela la presencia de grupos hidroxilo en el GO. Las bandas alrededor de 2897 y 2830 cm^{-1} se deben al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo C-H, mientras la banda a 885 cm^{-1} se debe a la flexión del grupo C-H. Las bandas que aparecen en 2349, 2312 y 1096 cm^{-1} se deben principalmente al estiramiento asociado con las cadenas de carbono. La banda de estiramiento C=O ubicada a 1728 cm^{-1} , sugiere que las Fe-MNPs están ancladas a los grupos carboxilo del GO. Las bandas a 1641 y 1567 cm^{-1} corresponden al estiramiento aromático del C=C, lo que concuerda con el trabajo de Al-Ruqeishi et al., 2020 [160]. Las bandas características de las Fe-MNPs aparecen a 682 y 612 cm^{-1} que indican la vibración de estiramiento de Fe-O [159].

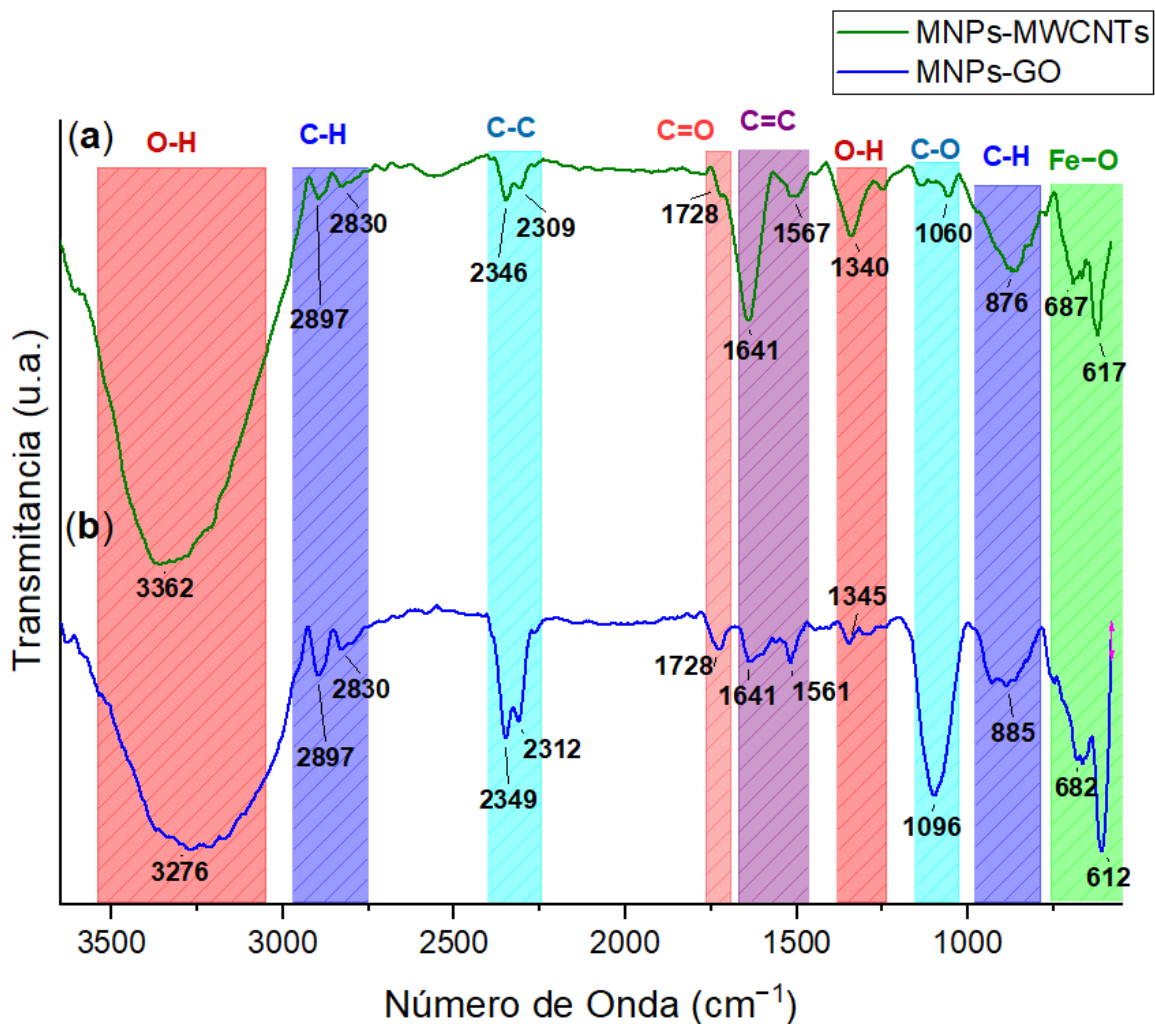


Figura 3.1. Espectros FT-IR: (a) MNPs-MWCNTs; (b) MNPs-GO.

En la Figura 3.2 se presentan los estudios de espectroscopía Raman realizados de los siguientes nanocompuestos: MWCNTs no purificados (Figura 3.2a), MWCNTs purificados (Figura 3.2b) y MNPs-MWCNTs (Figura 3.2c). Estos espectros muestran bandas características de los MWCNTs: la banda D o banda de defectos y las bandas de primer y segundo orden G y 2D, respectivamente. La banda D se localiza en 1337 cm^{-1} e indica la presencia de defectos en el grafito, resultantes de la presencia de múltiples láminas de carbono que no están alineadas directamente hoja a hoja, lo que induce una pérdida de simetría traslacional en la red bidimensional. Debido al mismo efecto, se produce un fonón secundario que da lugar a la presencia de la banda G a 1566 cm^{-1} . La banda fundamental G es una banda de elongación tangencial atribuida a la vibración en el plano del enlace C-C, es típica de los materiales derivados del carbono y es consistente con los informes de la literatura [161]–[164].

La Figura 3.2d muestra los espectros Raman de Fe-MNPs con sus bandas características: los modos A_{1g} a 226, 502 cm^{-1} , modos E_g a 248, 291, 300, 407 y 615 cm^{-1} , y la banda característica de dispersión de dos magnones a 1320 cm^{-1} , que concuerdan con los resultados presentados por Soler y Qu, 2012 [165]. Algunas de estas bandas se pueden observar en los espectros que se muestran en la Figura 3.2c, f.

Los espectros Raman de los MWCNTs no purificados (Figura 3.2a) y MWCNTs purificados (Figura 3.2b) muestran la relación $\frac{I_D}{I_G}$, donde los MWCNTs purificados poseen un valor mayor ($\frac{I_D}{I_G} = 0.56$) que los MWCNTs no purificados ($\frac{I_D}{I_G} = 0.45$). El aumento en la relación $\frac{I_D}{I_G}$ se debe a un incremento en los defectos de la estructura. Esto puede ser debido a que el tratamiento con ácidos hace que algunos enlaces se rompan y formen grupos funcionales, generando defectos en la estructura de los MWCNTs. Adicionalmente se puede evidencia en la Figura 3.2c, correspondiente al espectro de MNPs-MWCNTs, un aumento en la relación $\frac{I_D}{I_G} = 0.64$, que se debe a los efectos de transferencia de carga entre MNPs y MWCNTs; como resultado de la funcionalización esto evidencia una estructura de MWCNTs con más defectos. Además, se observan bandas adicionales que corresponden a las MNPs.

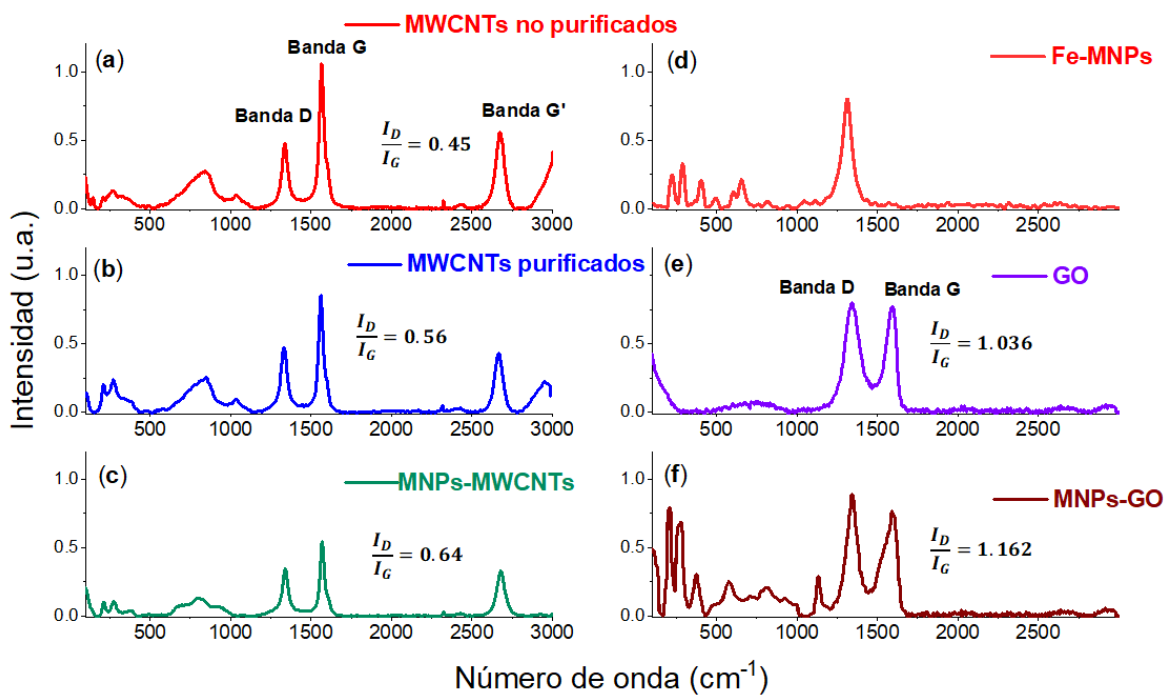


Figura 3.2. Espectros Raman: (a) MWCNTs no purificados, (b) MWCNTs purificados, (c) MNPs-MWCNTs; (d) Fe-MNPs; (e). GO; (f) MNPs-GO; Eláser = 2.33 eV, $\lambda = 532$ nm.

La Figura 3.2e muestra las bandas características del GO, una banda D intensa a 1340 cm^{-1} , una banda de vibración de fase G a 1589 cm^{-1} , y la banda D+D' situada alrededor de 2900 cm^{-1} , que se activa por defectos y aparece con una combinación de fonones con diferentes momentos lineales alrededor de los puntos K y Γ en la zona de Brillouin, lo que concuerda con lo mencionado por Cançado et al., 2011, y Muhammad Hafiz et al., 2014 [166], [167]. La relación de las bandas $\frac{I_D}{I_G} = 1.036$, resulta del grado de desorden del GO, esto debido a la presencia de grupos funcionales de ácido carboxílico en sus extremos.

La Figura 3.2f muestra los espectros del nanocompuesto MNPs-GO donde se observa un desplazamiento de banda D, esto se explica debido por la naturaleza de las Fe-MNPs, ya que cuando se combinan con nanoestructuras de carbono afectan la amplificación espectral de los picos de fonón, lo que concuerda con la información presentada por Ramirez et al., 2017 y Satheesh et al., 2018 [168], [169]

3.1.2. Propiedades magnéticas

El estudio de las propiedades magnéticas fue realizado en tres muestras: VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO y Fe-MNPs, con el objetivo de determinar si la dispersión en el hidrogel genera algún cambio en la magnetización de los nanocompuestos magnéticos. Todas las muestras estudiadas mostraron el comportamiento ferromagnético (FM) típico de las Fe-MNPs, con una coercitividad muy pequeña de menos de 2 mT a temperatura ambiente (menos de 5 mT a $T^\circ = -210\text{ }^\circ\text{C}$). Esta pequeña coercitividad indica que las Fe-MNPs no estaban directamente unidas a las estructuras de carbono, ya que cuando existe un anclaje directo se observan grandes coercitividades de cientos de mT. Esto se esperaba debido a los enlaces de hidrógeno presentes entre las MNPs y las estructuras de carbono mencionadas en los resultados de la espectroscopia FT-IR de la sección 3.1.1. son débiles y, por lo tanto, generan una reducción del acoplamiento magnético Fe-C. La Figura 3.3a muestra algunas curvas representativas de M vs. H medidas a dos temperaturas diferentes $-210\text{ }^\circ\text{C}$ (círculos) y $+20\text{ }^\circ\text{C}$ (triángulos), para las tres muestras [170], [171]. A partir de estas curvas se obtiene la magnetización de saturación (M_s) en función de la temperatura utilizando la ley habitual de aproximación a la saturación (LAS) [172]–[174] dada por la siguiente ecuación:

$$M(H) = M_s \left(1 - \frac{a}{H} - \frac{b}{H^2} \right) + \chi H \quad (3.1)$$

En la ecuación 3.1, a y b son constantes, y el último término χH explica las contribuciones no ferromagnéticas, como la capa desordenada de las nanopartículas. Este último es válido solo en campos altos, cerca de la saturación; por lo tanto, se usa para ajustar las curvas

$M(H)$ para campos aplicados entre 1 y 3 T, como se muestra en las líneas continuas de la Figura 3.3a para $T^\circ = -210$ °C. A partir de estos ajustes se obtiene M_S a varias temperaturas entre -210 °C y +60 °C (ver Figura 3.3b). En el caso de las muestras VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs y VCL-PEGDA-MNPs-GO, el valor de magnetización pareció sustancialmente reducido ya que la mayor parte de la masa (>98%) corresponde al hidrogel. Por lo tanto, para comparar directamente el momento magnético medido con el del hierro puro, el valor de magnetización de saturación se corrigió mediante la fracción de masa de nanopartículas, $x = 1.43$ % para la muestra VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs y $x = 1.37$ % para la muestra VCL-PEGDA-MNPs-GO.

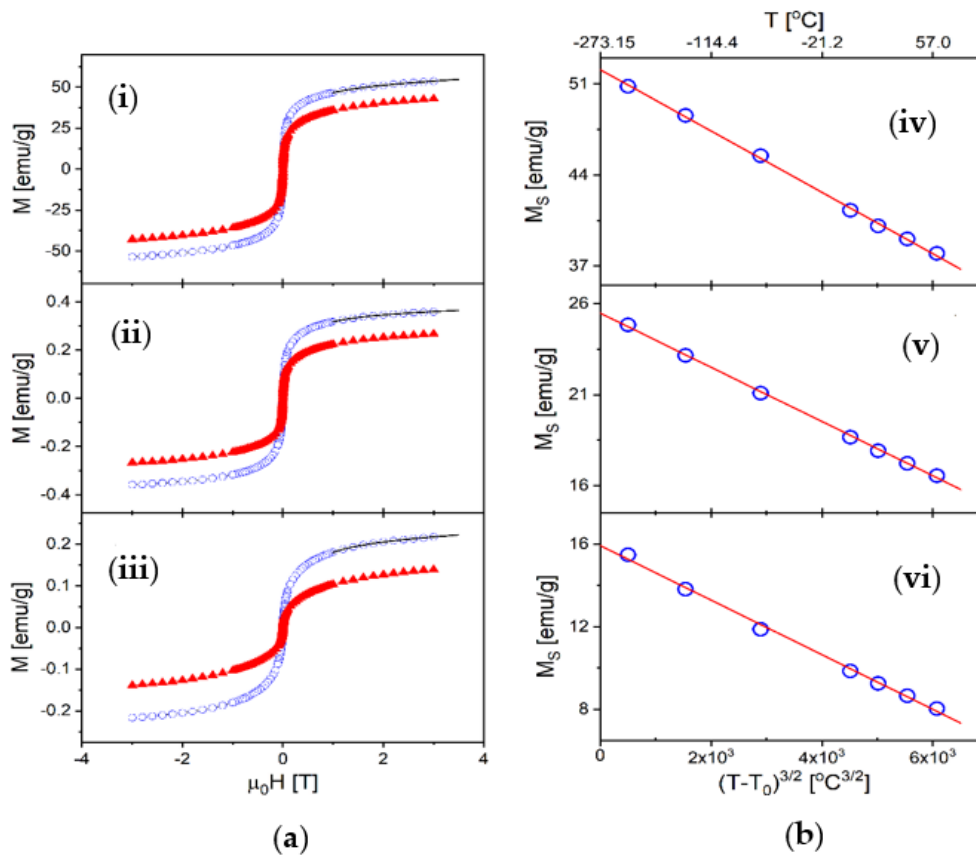


Figura 3.3. Propiedades magnéticas: (a) Magnetización vs. campo magnético aplicado: (i) las nanopartículas independientes MNPs, (ii) VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs, y (iii) VCL-PEGDA-MNPs-GO. (b) Magnetización de saturación en función de la temperatura: (iv) las nanopartículas independientes, (v) VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs y (vi) VCL-PEGDA-MNPs-GO.

La magnetización de saturación en función de la temperatura se presenta en la Figura 3.3b, donde también se observa que, para las tres muestras, M_S sigue de cerca la conocida ley de Bloch [175]–[177] para las nanopartículas FM:

$$M_S(T) = M_0 \times \left[1 - B (T - T_0)^{\frac{3}{2}} \right] \quad (3.2)$$

Donde M_0 es la magnetización de saturación a los cero grados Kelvin absolutos ($T_0^\circ = -273.15 \text{ }^\circ\text{C}$), y B es la llamada constante de onda de espín. Los resultados para estos parámetros magnéticos se presentan en la Tabla 3.1. Los valores obtenidos para B son muy similares a los medidos en otros sistemas de Fe-MNPs ($B \sim 10^{-5} - 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-3/2}$) [176], [177], lo que implica la existencia de excitaciones de campo magnético inducidas térmicamente comparables dentro del volumen FM. Por otro lado, los resultados muestran que la magnetización de saturación es, en todos los casos, mucho menor que la del hierro puro, $M_{Fe} = 222 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$. Sin embargo, en el caso de las Fe-MNPs, la M_S permanece más grande que para las Fe-MNPs funcionalizadas y sumergidas dentro del hidrogel, lo que indica que la cubierta no FM (desordenada) aumenta en presencia del gel. Además, la diferencia entre las muestras se vuelve aún mayor a temperatura ambiente, donde la magnetización de saturación disminuye debido a los efectos térmicos (Tabla 3.1). A partir de este análisis, el volumen efectivo FM (el tamaño del núcleo FM de las nanopartículas) se puede estimar comparando M_0 con M_{Fe} , de modo que la fracción del volumen de nanopartículas que queda FM, se puede estimar como:

$$f = \frac{M_0}{M_{Fe}}, \quad (3.3)$$

Tabla 3.1. Parámetros magnéticos para las tres muestras estudiadas: magnetización de saturación M_0 a $T_0 = -273.15 \text{ }^\circ\text{C}$, magnetización de saturación M_S a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, una fracción del volumen de las nanopartículas que permanecen ferromagnéticas (f), y constante de onda de espín (B).

Muestra	M_0 (emu·g ⁻¹)	M_S @ 20 °C (emu·g ⁻¹)	f (%)	B (°C ^{-3/2})
MNPs	52.1	40.1	23.5	4.5×10^{-5}
VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs	25.5	17.9	11.5	5.8×10^{-5}
VCL-PEGDA-MNPs-GO	15.9	9.3	7.2	8.3×10^{-5}

La fracción de volumen FM muy pequeña para el caso de las muestras VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs y VCL-PEGDA-MNPs-GO probablemente indica que la presencia del hidrogel induce una fuerte oxidación de la superficie de las nanopartículas o alguna interdifusión que genera una capa muerta magnética y reduce el momento magnético. Además, el mayor valor de la constante de onda de espín en estas dos muestras es consistente con una influencia más significativa de los efectos de superficie [177], que producen una disminución más rápida de la magnetización de saturación cuando aumenta la temperatura.

3.1.3. Propiedades ópticas de los nanocompuestos magnéticos

Se obtuvieron espectros de absorbanza UV-VIS para determinar si existe agregación de los nanocompuestos y el porcentaje de liberación de PS de los nanocompuestos a lo largo del tiempo. En la Figura 3.4 (a, b y d) y Figura 3.5b, se presenta el ZnMintPc-DMF y los nanocompuestos VCL/PEGDA-ZnMintPc, VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, respectivamente. Para todos estos compuestos se observa la presencia de la banda B o Soret a 354 nm, una banda a 616 nm y la banda Q a 684 nm, características de los espectros de absorción de ZnMintPc [178]. Adicionalmente, se puede observar en las figuras mencionadas al inicio del párrafo que, al aumentar la concentración de ZnMintPc, la absorción de las 3 bandas características del PS (354 ,616 y 684 nm) aumentan proporcionalmente. Lo cual, permite concluir que se cumple la ley de Beer-Lambert y por lo tanto, no se presenta agregación del PS. Esto indica que el DMF [178] y el hidrogel VCL-PEGDA dispersan adecuadamente el PS.

En la Figura 3.4c, 3.4d y Figura 3.5 se presentan los espectros UV-VIS de nanocompuestos basados en MWCNTs (VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs y VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc) y en GO (VCL-PEGDA-MNPs-GO y VCL-PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc) respectivamente, en donde debido a características del equipo no es posible observar la banda característica de los MWCNTS a 265 nm [179], ni las bandas características del GO a 232 nm correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de enlaces C-C aromáticos y la banda a ~ 300 nm atribuido a las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ de enlaces C = O, tal como se menciona en el estudio de Bera et al., 2017 [180]. Pero se identifica una banda alrededor de 315 nm característico de la Hematita anclada a una estructura basada en carbono, esta última banda ha sufrido un desplazamiento hipsocrómico debido a la funcionalización tanto con MWCNTs como con GO en presencia de un disolvente orgánico (hidróxido de amonio utilizado para síntesis de MNPs), como se describe en la literatura [181], [182].

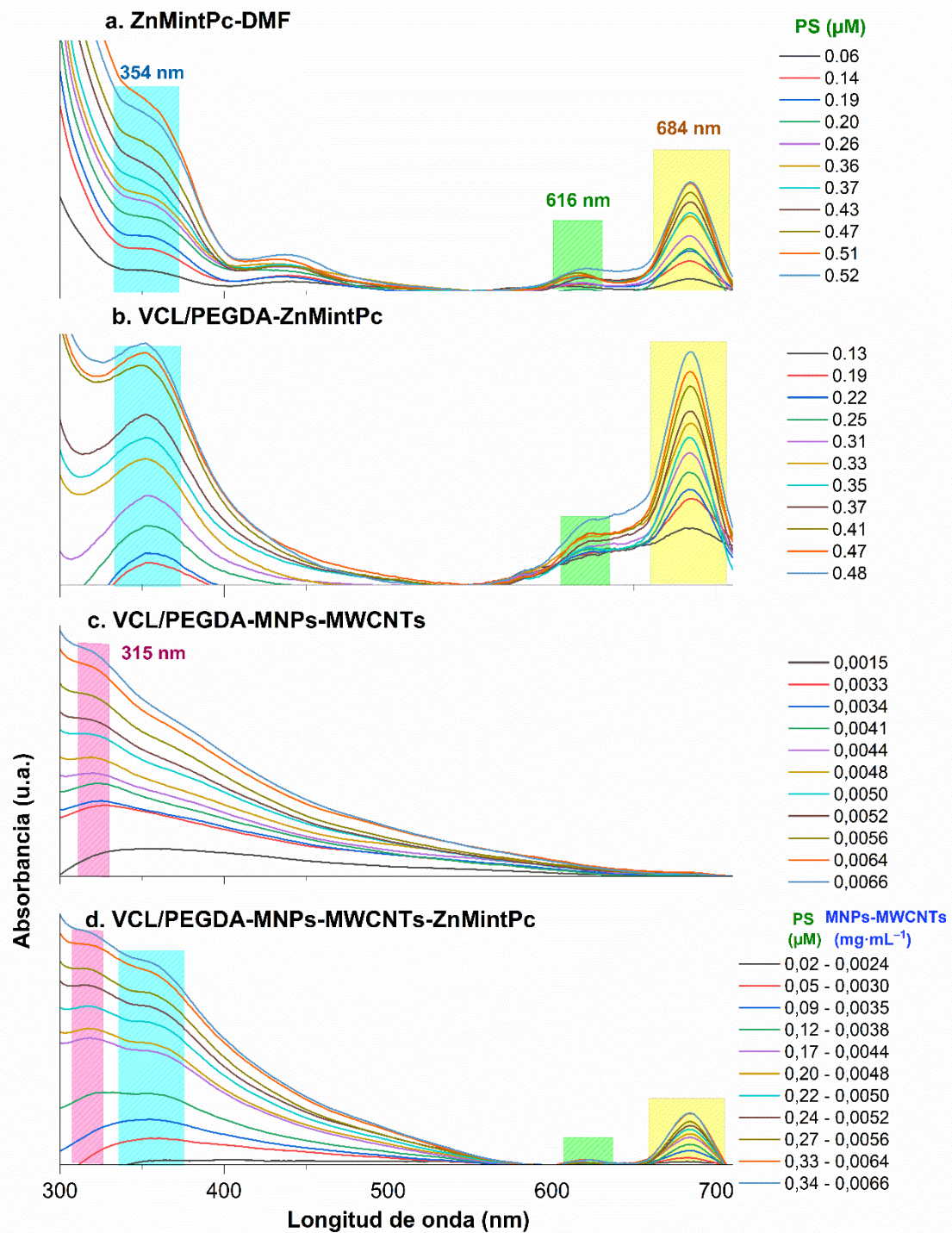


Figura 3.4. Propiedades ópticas: (a) espectros UV-VIS de DMF(3mL) con diferentes concentraciones de ZnMintPc, (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA(3mL) con diferentes concentraciones de ZnMintPc, (c). Espectros UV-VIS de VCL/PEGDA (3mL) con MNPs-MWCNTs a diferentes concentraciones. d). VCL/PEGDA con MNPs-MWCNTs y ZnMintPc a diferentes concentraciones.

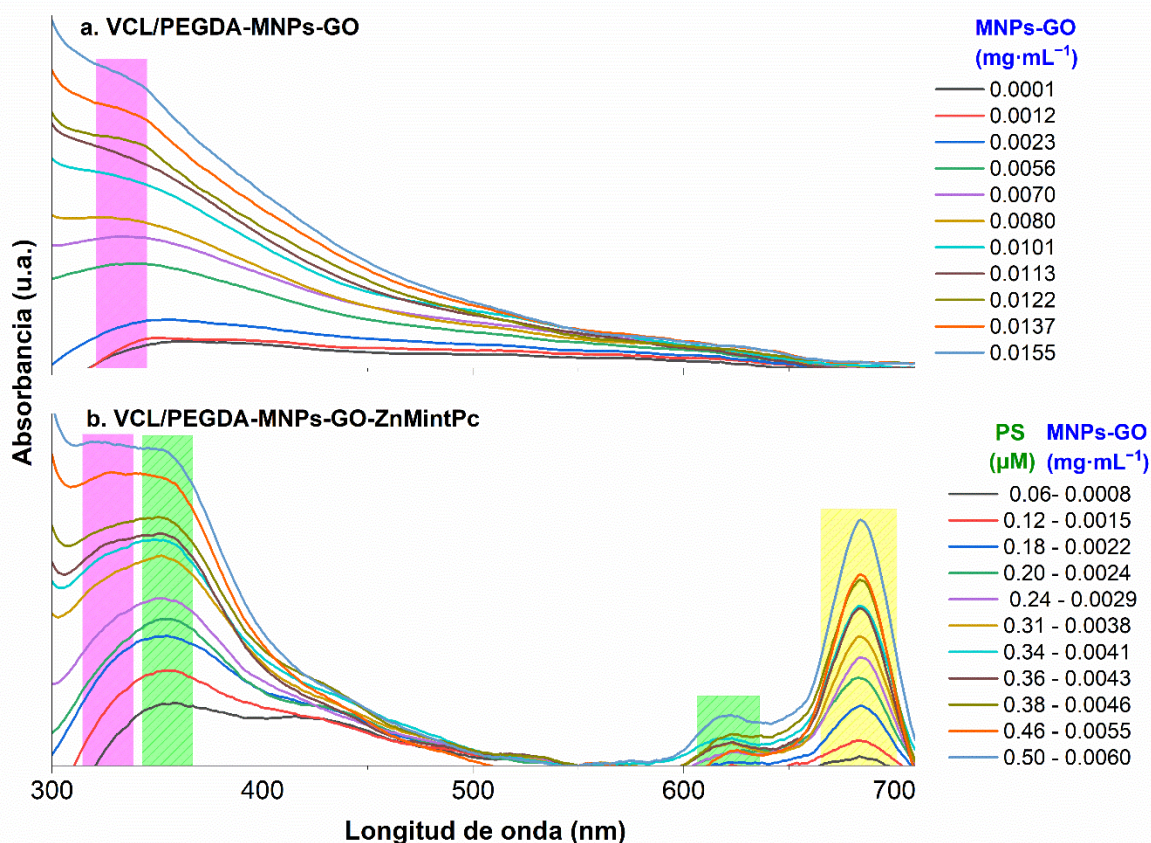


Figura 3.5. Propiedades ópticas de los nanocompuestos magnéticos: (a) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA (3mL) con diferentes concentraciones de MNPs-GO, (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA (3mL) con MNPs-GO-ZnMintPc a diferentes concentraciones.

La curva de calibración mostrada en la Figura 3.6 se obtuvo a partir de la banda Q a 684 nm del nanocompósito VCL-PEGDA-MNPs-GO, esta banda es representativa del ZnMintPc y se encuentra descrita en el primer párrafo de esta sección. La banda Q se encuentra en una región de los espectros de interés para tratamientos basados en la estrategia PDT. Se puede observar que cuanto mayor es la concentración de ZnMintPc en los nanocompuestos (VCL-PEGDA-ZnMintPc, VCL-PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, y VCL-PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc), mayor es la intensidad de la banda de 684 nm; pero cuando se compara con el ZnMintPc disperso en DMF, este última muestra la mayor intensidad en relación con todos los nanocompuestos. Esto indica que el hidrogel VCL-PEGDA dispersa adecuadamente el ZnMintPc PS hidrófobo en una solución acuosa, como se indica en la literatura [183]–[185]. Adicionalmente, se puede observar que la banda de absorción de 684 nm de ZnMintPc (0,52 μM) disminuye a medida que aumenta el número de componentes funcionalizados, estos valores se pueden visualizar en la Tabla 3.2. El porcentaje de disminución de absorbancia del ZnMintPc en los nanocompuestos: VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc es del 38,2%, y para el VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc es del 35,54%.

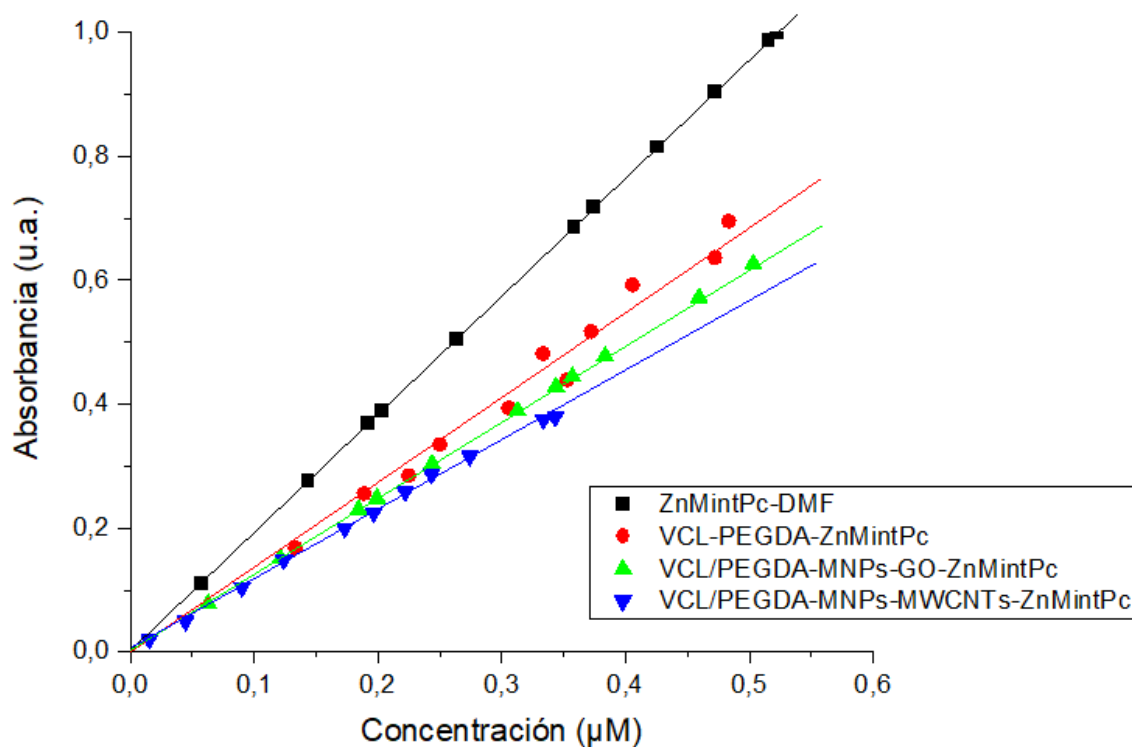


Figura 3.6. a) Curva de calibración de compuestos con ZnMintPc (0.52 µM) a partir de: PS en DMF, VCL/PEGDA, VCL/PEGDA-MNPs-GO y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs; b) Absorbancia de ZnMintPc-DMF y nanocompuestos.

Tabla 3.2. Porcentaje de Absorbancia de ZnMintPc en cada Nanocompuesto

Compuesto	Absorbancia
ZnMintPc-DMF	100 %
VCL/PEGDA-ZnMintPc	71.47 %
VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc	64.46 %
VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc	61.73 %

El estudio de estabilidad en el tiempo de los nanocompuestos: VCL/PEGDA-ZnMintPc, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, permite evaluar el tiempo en el los nanocompuestos descritos en la Figura 3.7 permanecen dispersos en solución acuosa, lo cual es indispensable para bioaplicaciones ya que brinda una mejor estabilidad, biocompatibilidad y la bioactividad a los nanocompuestos [28], [186]. Este estudio se realizó a una, dos, tres y 24 h como se presenta en la Figura 3.7. Adicionalmente se puede observar en la Figura 3.7 que a medida que transcurre el tiempo, la absorbancia de la banda B (354 nm) aumenta, mientras que la banda Q (684 nm) disminuye debido a la fotooxidación del PS sin presentar agregación en 24 h.

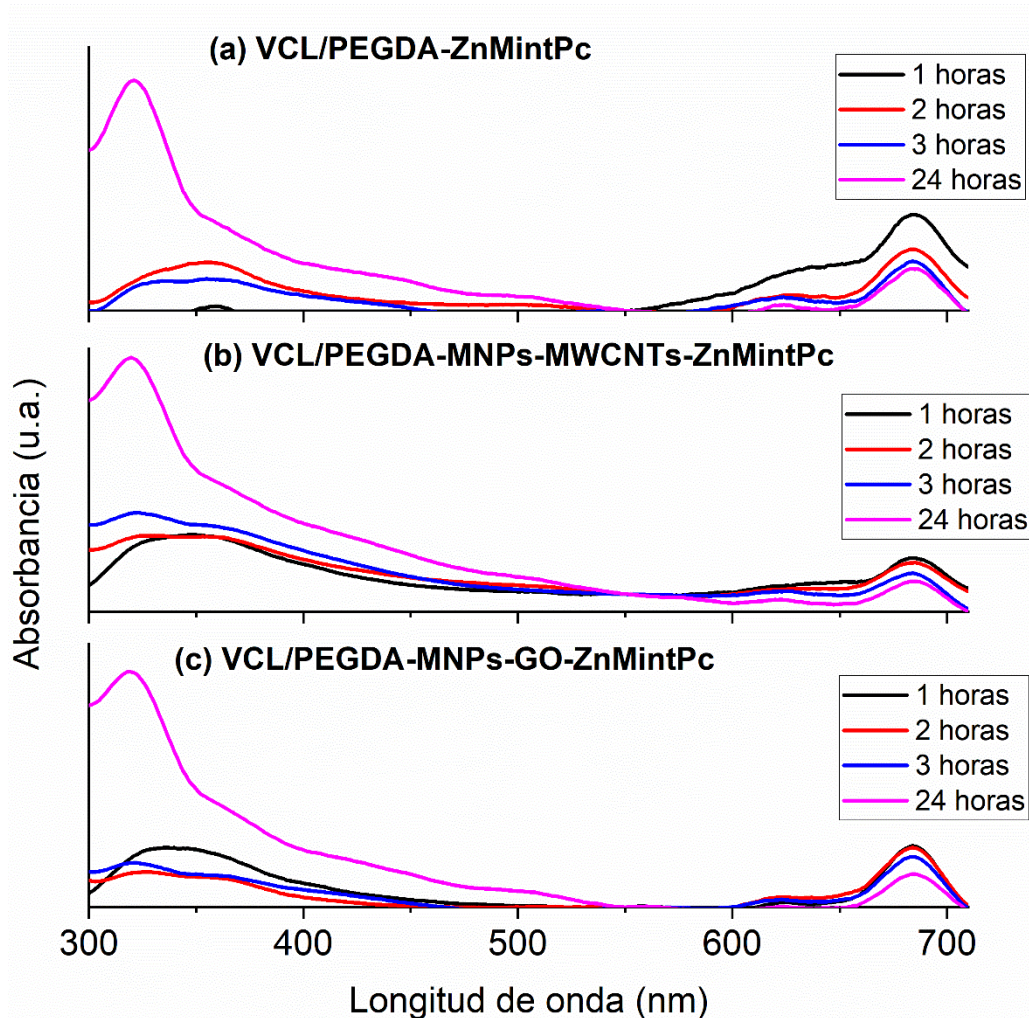


Figura 3.7. Curvas de estabilidad en el tiempo para (a) VCL-PEGDA-ZnMintPc; b) VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y c) VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc; ZnMintPc = 0.27 μ M.

Las curvas que muestran la estabilidad de los nanocompuestos magnéticos vs. el tiempo se muestran en la Figura 3.8 e indican que la intensidad de PS decae exponencialmente. Se evaluaron los nanocompuestos durante 24 h, y se obtuvo que los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc disminuyen la tasa de fotooxidación del PS. La Tabla 3.3 muestra el porcentaje de disminución de absorbancia del PS a lo largo del tiempo que está relacionado con el porcentaje de liberación de PS. Después de 24 h, los nanocompuestos basados en GO y MWCNTs solo permitieron una liberación de PS del 45.67 % y 43.33 % respectivamente, mientras que en el compuesto VCL-PEGDA-ZnMintPc, el 56.24 % del PS fue liberado, por lo cual el proceso de fotooxidación de PS en los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc puede considerarse muy exitoso.

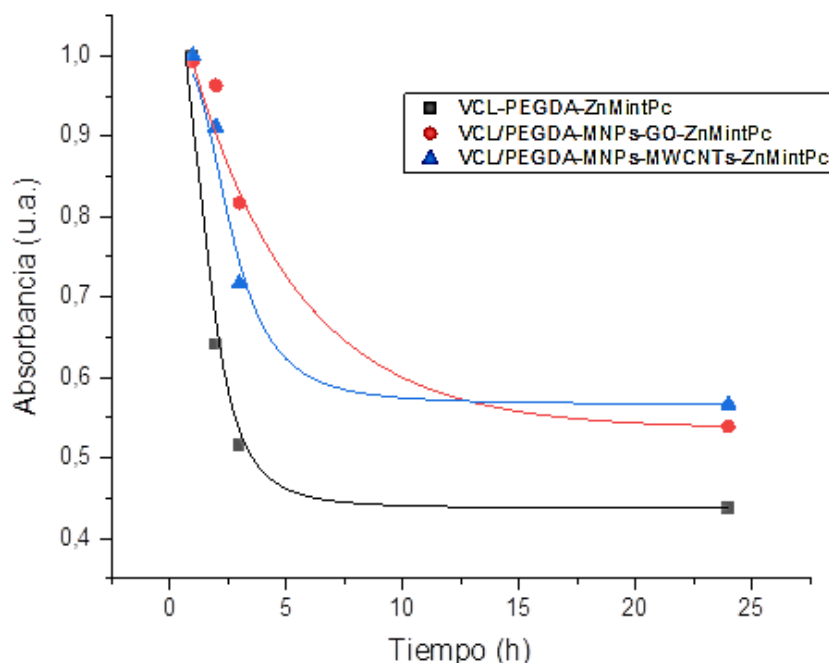


Figura 3.8. Curvas de decaimiento de: VCL/PEGDA-ZnMintPc, VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc. ZnMintPc = 0.27 μM .

Tabla 3.3. Decaimiento del ZnMintPc en los nanocompuestos a lo largo de 24 h.

Hora (h)	VCL-PEGDA-ZnMintPc		VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc		VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc	
	Absorbancia	PS liberado	Absorbancia	PS liberado	Absorbancia	PS liberado
0	100 %	0 %	100 %	0 %	100%	0 %
1	64.13 %	35.87 %	97.02 %	2.98 %	91.17%	8.83%
2	51.55 %	48.55 %	82.30 %	17.7 %	71.68%	28.32%
24	43.76 %	56.24 %	54.33 %	45.67 %	56.67%	43.33%

3.1.4. Análisis fotodinámicos de los nanocompuestos magnéticos

Para evaluar la eficiencia de la producción de $^1\text{O}_2$ en los nanocompuestos: VCL/PEGDA-MNPs-GO, VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, utilizando luz de 630 nm y una intensidad de 65,5 $\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$, se realizó el ensayo de fotooxidación del sustrato oxidable DPBF en presencia de cada nanocompuesto. En la Figura 3.9 y Figura 3.10, se presenta los espectros UV-VIS de cada nanocompuesto, en donde se puede observar una disminución de la absorbancia a 418nm, que corresponde a la banda de DPBF, esta disminución de la absorbancia sucede a medida que aumenta el tiempo de irradiación del DPBF+Nanocompuesto. Para los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs (Figura 3.9a) y VCL/PEGDA-MNPs-GO (Figura 3.9b), se observa en las figuras una ligera disminución de la absorbancia en la banda a 418 nm en un tiempo de irradiación de 29 y 35 min, respectivamente. Mientras

que para nanocompuestos con que poseen PS (VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, Figura 3.10a y VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, Figura 3.10b). En la Figura 3.10 se observa una rápida disminución de absorbancia en la banda ubicada a 418 nm, llegando hasta una absorbancia de ~ 0 , lo que quiere decir que el DPBF fue fotooxidado por completo en las soluciones de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc tras ~ 9 y 11 min de irradiación, respectivamente.

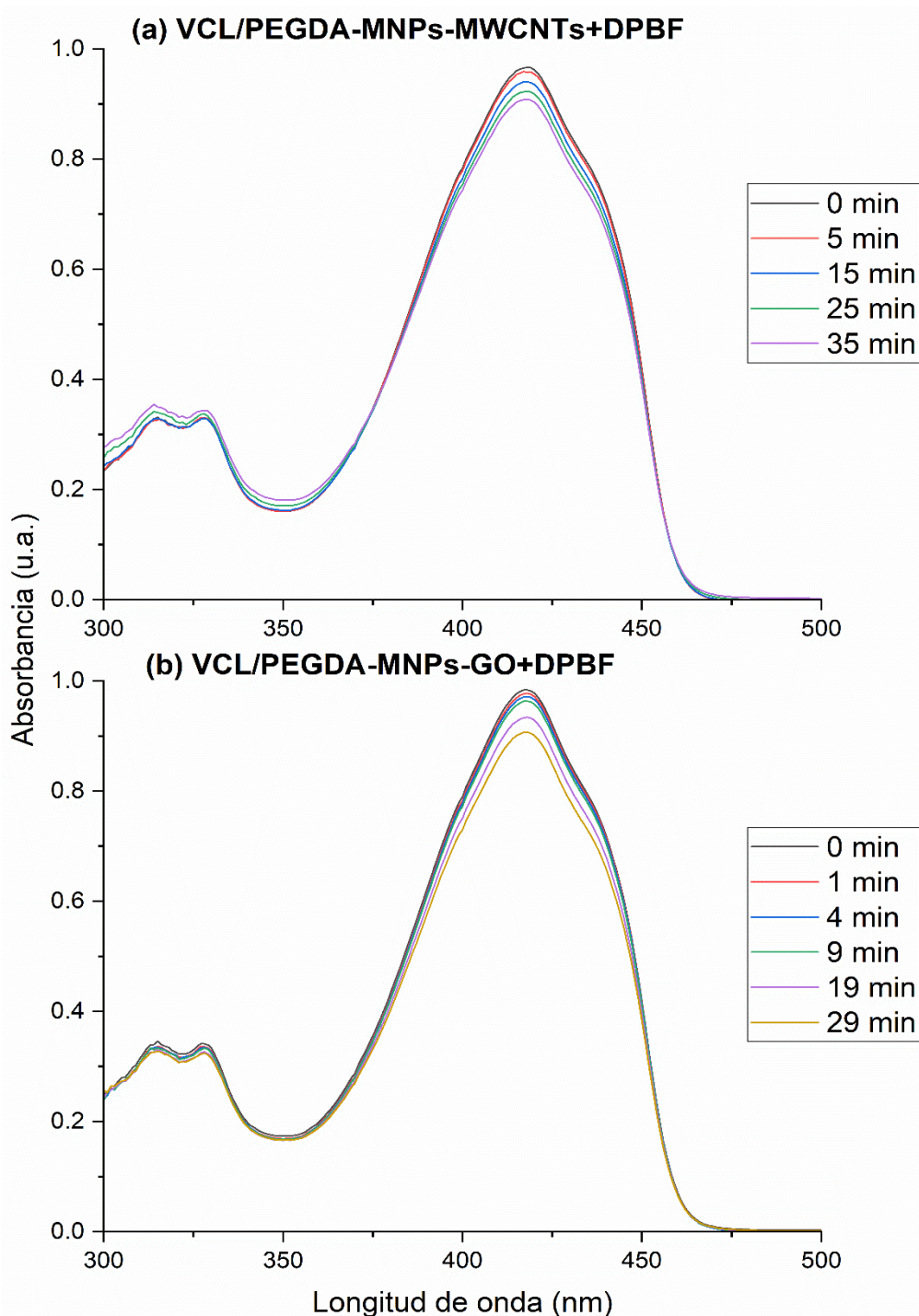


Figura 3.9. Análisis fotodinámicos de: (a) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs+DPBF y (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-GO+DPBF.

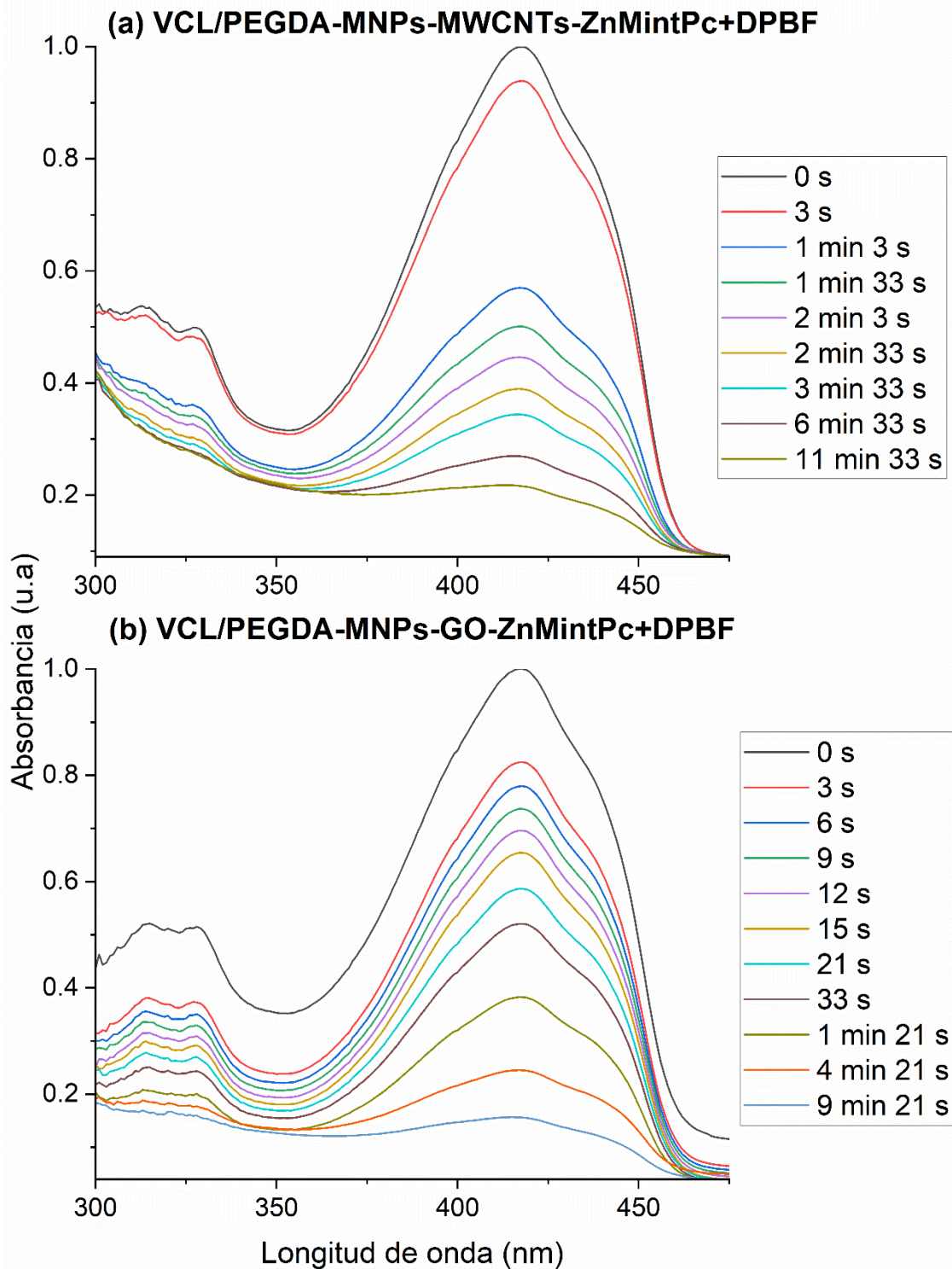


Figura 3.10. Análisis fotodinámicos de: (a) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y (b) espectros UV-VIS de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc.

Para cada nanocompuesto, se construyeron curvas de absorbancia vs. tiempo de irradiación. Basándonos en la banda de absorbancia del DPBF ubicada a 418 nm, se realizó un ajuste de decaimiento exponencial para obtener el tiempo de fotooxidación presentado en la Figura 3.11a y b.

La Figura 3.11a muestra que los nanocompuestos sin PS (VCL/PEGDA-MNPs-GO y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs) tienen largos tiempos de fotooxidación de DPBF. El tiempo de fotooxidación de DPBF al usar el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-GO fue menor que en el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs, lo que indica que GO tiene una mejor capacidad para generar $^1\text{O}_2$ para la fotooxidación de DPBF, lo que se corrobora en el trabajo de Romero et al., 2020 [97]. Para nanocompuestos con PS como: VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, el ajuste de curva que se puede observar en la Figura 3.11b muestra la fotooxidación de DPBF en dos tiempos. El primero indica una fotooxidación de DPBF rápida durante los primeros 60 s de fotoirradiación, y el segundo indica una fotooxidación de DPBF lenta durante los 60 a 700 s de fotoirradiación. Además, en la Figura 3.11b y en la Tabla 3.4 se puede observar que el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (curva púrpura) posee tiempos de fotooxidación más largos en comparación con el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, es decir produce una fotooxidación lenta de DPBF.

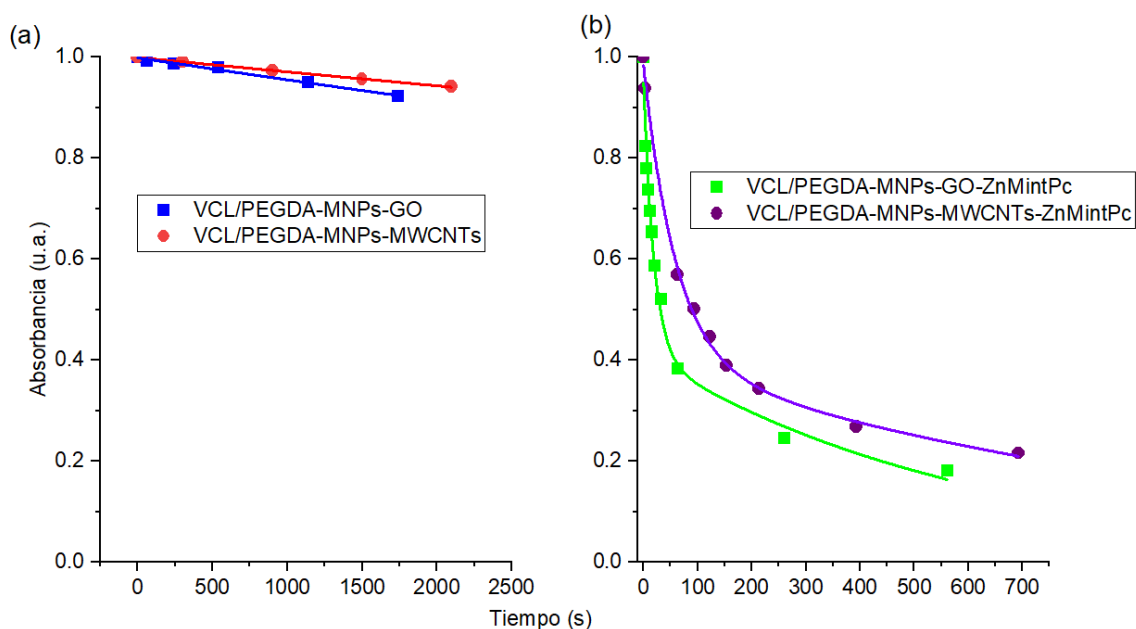


Figura 3.11. Curvas de fotooxidación de DPBF en: (a) VCL/PEGDA-MNPs-GO y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs; b) VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. DPBF = 18.5 mM, GO= 3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MWCNTs = 3.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MNPs = 93.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y ZnMintPc = 8.1 μM .

Tabla 3.4. Tiempos de fotooxidación de DPBF en cada nanocompuesto.

VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs	VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc
34700 \pm 700 s = 578 \pm 11.66 min	1140 \pm 260 s = 19 \pm 4.3 min
VCL/PEGDA-MNPs-GO	VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc
22300 \pm 900 s = 371.6 \pm 15 min	630 \pm 190 s = 10.5 \pm 3.6 min

La presencia de PS en los nanocompuestos genera una rápida fotooxidación de DPBF. Por lo tanto, los resultados indican que la fotooxidación de DPBF se debió principalmente a los efectos PDT mediados por nanocompuestos que poseen PS como son: VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, donde el nanocompuesto basado en GO exhibe una generación de $^1\text{O}_2$ más significativa que el basado en MWCNTs.

3.1.5. Estudios fototérmicos

Las curvas de estudio fototérmico, Figura 3.12, muestran que las soluciones de MNPs, GO y MWCNTs (azul, violeta y azul claro, respectivamente) actúan como materiales fototérmicos cuando se irradian con luz roja alrededor de 100 min. Estos nanomateriales pueden alcanzar temperaturas entre 50,8 y 54,8 °C, lo que los hace adecuados para su uso en PTT, debido a su capacidad de convertir la luz roja e infrarroja cercana (NIR) en calor, y de transportar fármacos, tal como se menciona en la literatura [187], [188]. En las curvas del estudio fototérmico de la Figura 3.12, también se puede observar que los nanocompuestos VCL/PEGDA, VCL/PEGDA-MNPs-GO, y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs irradiados con luz roja por alrededor de 100 min muestran una ligera disminución de la temperatura en comparación con la curva térmica del agua desionizada (referencia), y alrededor de los 80 min de irradiación, las curvas de los nanocompuestos dispersos en hidrogel alcanzan temperaturas cercanas al agua desionizada.

Las curvas de los nanocompuestos MNPs, GO y MWCNTs elevaron su temperatura alrededor de 10 °C más, en relación con la muestra de control (agua desionizada) y los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO y VCL/PEGDA-MNPs-MWNTs. Se puede concluir que el hidrogel VCL/PEGDA puede absorber una gran cantidad de energía sin aumentar su temperatura. Esto se esperaría porque sus componentes principales, VCL y PEGDA, tienen buenas capacidades caloríficas [189], [190], por lo tanto, el hidrogel heredaría esta propiedad. Esta característica explica el por qué los nanocompuestos dispersos en hidrogel mantienen una temperatura similar a la temperatura de la muestra control (agua desionizada) en un tiempo de irradiación de más de 100 min con luz roja, es decir, no existe efecto fototérmico en los nanocompósitos magnéticos dispersos en hidrogel. Alrededor de 30 a 45 min, todos los nanocompuestos alcanzan una temperatura umbral que no cambia cuando se irradian durante más tiempo.

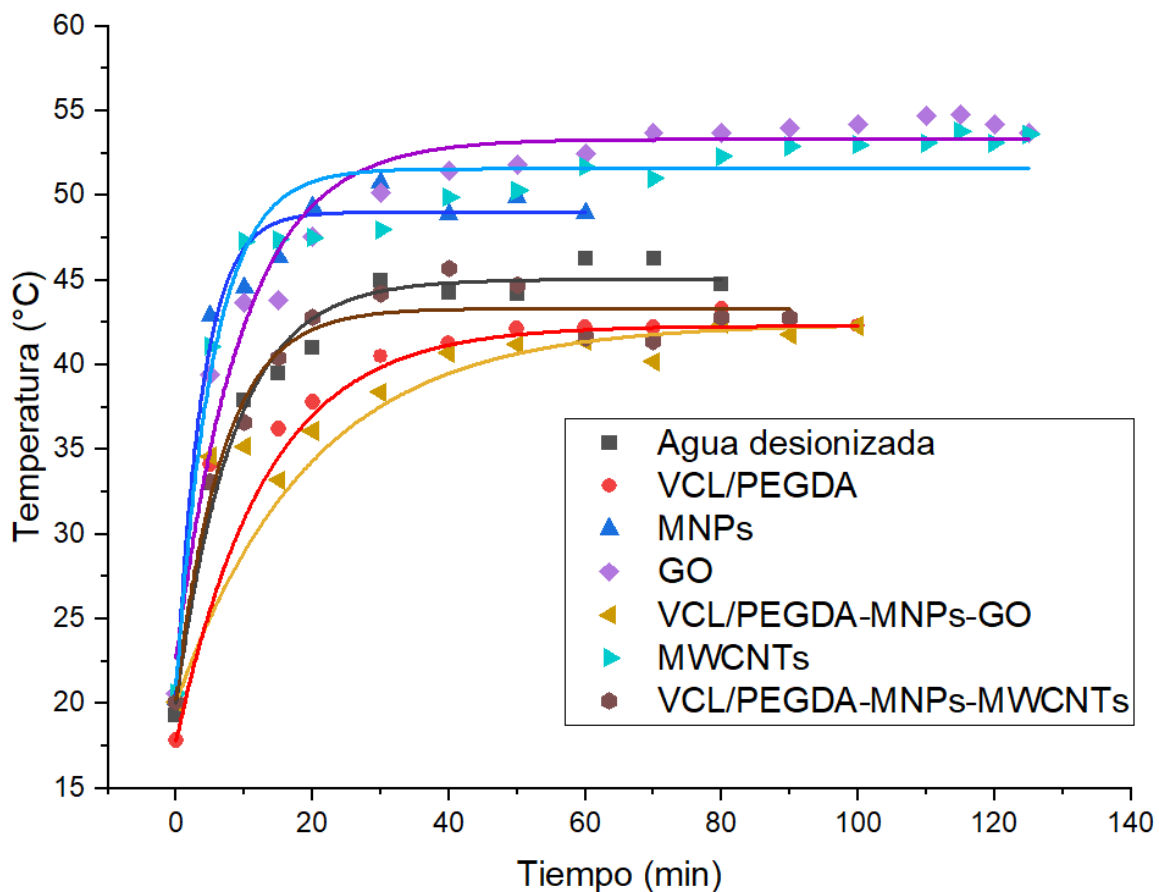


Figura 3.12. Estudios térmicos: agua desionizada (línea negra de control), VCL/PEGDA (línea roja), MNPs (línea azul), GO (línea violeta), MWCNTs (línea azul claro), VCL/PEGDA-MNPs-GO (línea amarilla) y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs (línea marrón). GO = $3.47 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MWCNTs = $3.47 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MNPs = $93.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

3.1.6. Estudios morfológicos de nanocompuestos magnéticos

Los nanocompuestos funcionalizados VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc fueron caracterizados por las técnicas SEM, TEM, EDS y XRD. Los resultados de estas caracterizaciones, para los nanocompuestos basados en GO se presentan en: la Figura I. 1, Figura I. 4, Figura I. 6, Figura I. 8 (figuras del Anexo I), Figura 3.13b, 3.13e y 3.13f; para los nanocompuestos basados en MWCNTs los resultados se presentan en: la Figura I. 2, Figura I. 5, Figura I. 7 y Figura I. 9 (figuras del Anexo I), Figura 3.13a y 3.13d; y para las MNPs los resultados se presentan en: la Figura I. 3 (anexo I) y 8c.

Las imágenes SEM y TEM en la Figura 3.13 muestran la morfología de (a) MWCNTs, que tienen la forma de fibras y en TEM su estructura interna y paredes, (b) la estructura de grandes láminas de GO. La figura Figura I. 1d presenta el perfil de altura del GO e indica que el grosor del GO es de aproximadamente 2,8 nm, lo cual según el estudio de Sun et al., 2010, indica que la hoja es de cuatro capas. Se representan varios tamaños de hoja de

GO, pero el más común es de aproximadamente 2 μm . En la Figura 3.13c, se puede observar las MNPs con una forma esférica y un tamaño promedio de ~ 72 nm. La Figura 3.13d, 3.13e muestra la morfología del recubrimiento de hidrogel en MNPs-GO-ZnMintPc y MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, y debido a la presencia del recubrimiento se hace difícil diferenciar las estructuras cubiertas por el hidrogel.

En la Figura 3.13f, se presenta el patrón XRD para la muestra de MNPs-GO, donde los picos de difracción de Fe-MNPs que decoran al GO se observan a $2\theta = 30.27^\circ$, 35.6° , 43.3° , 53.7° , 57.1° y 63.0° , indicando que las Fe-MNPs conservan su estructura cristalina original después de la funcionalización, coincidiendo con los resultados de Amiri, Baghayeri y Sedighi 2018; Cao et al., 2016 [191], [192].

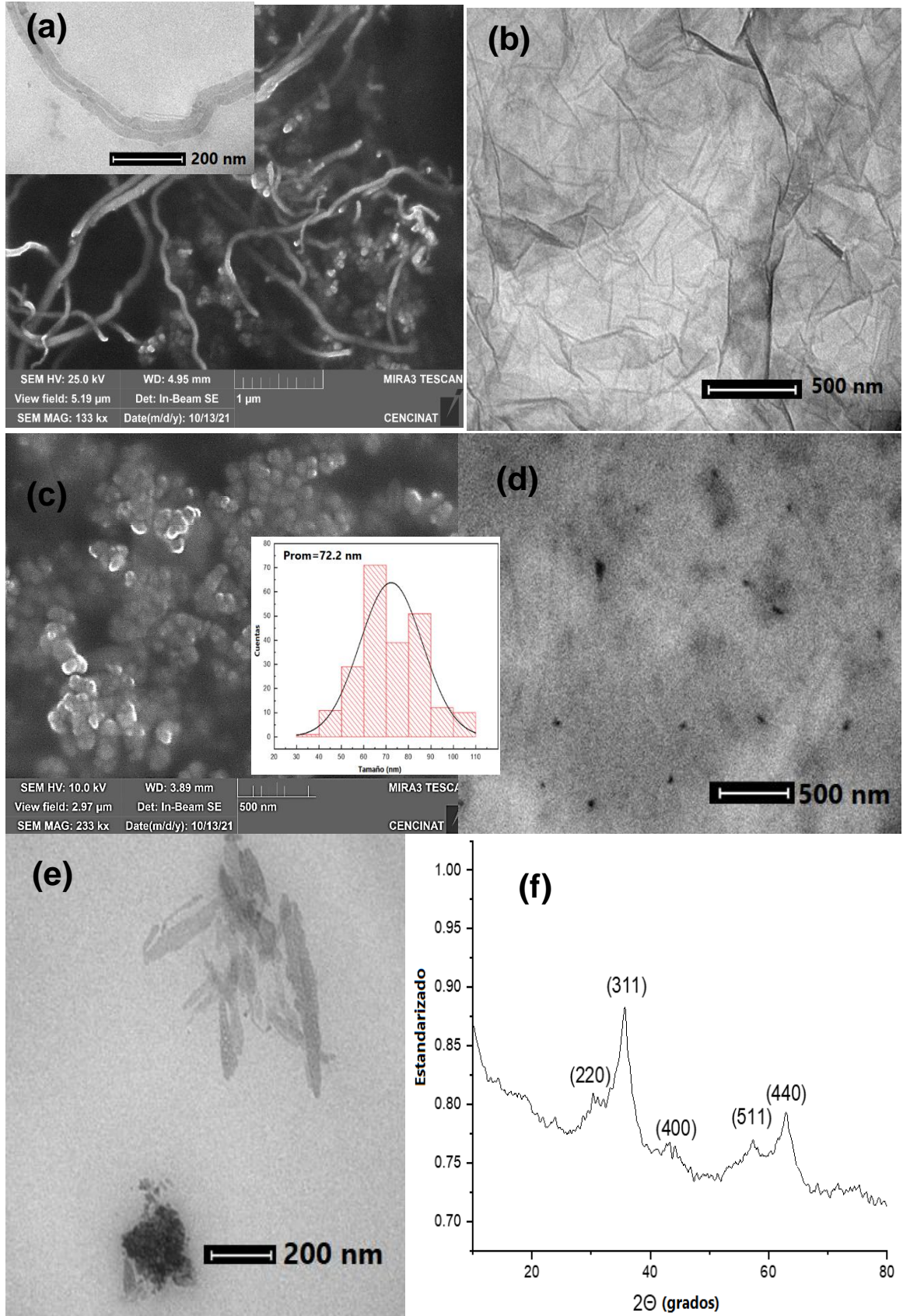


Figura 3.13. a) Imágenes SEM y TEM de MWCNTs purificados; b) TEM de GO; c) SEM de las MNPs. d) TEM de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. e) TEM de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc; f) Análisis XRD de MNPs-GO.

3.1.7. Estudios morfológicos de bacterias en nanocompuestos magnéticos

Para comprender la interacción de los nanocompuestos magnéticos con microorganismos, se obtuvieron imágenes STEM de bacterias *S. aureus* y *E. coli* en presencia de nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (Figura 3.14: b, c, e, f). En la imagen STEM de *S. aureus* y *E. coli* puras (Figura 3.14: a y d), su estructura y morfología no están alteradas, y la membrana las cubre sin rupturas. Al interactuar con los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, no se observaron cambios en la morfología de las bacterias (imágenes tomadas 24 h después de la preparación de las soluciones bacterianas con los nanocompuestos). Fue posible observar cómo el nanocompuesto puede cubrir completamente el microorganismo, permitiendo que los nanocompuestos dispersos en el hidrogel se fotoexciten con la fuente de luz roja y causen la eliminación microbiana [193]–[195].

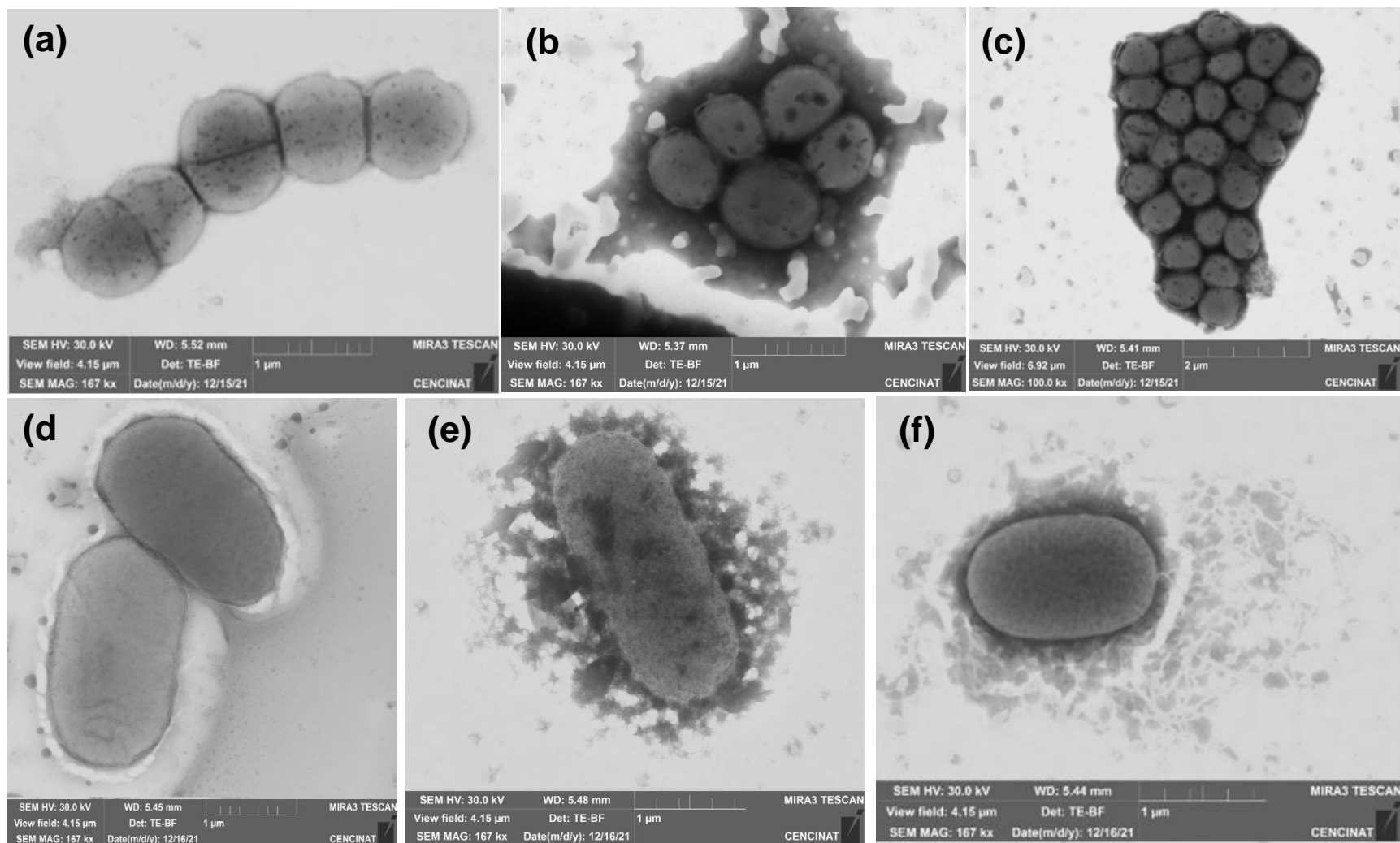


Figura 3.14. STEM de (a) *S. aureus*; b) *S. aureus* + C1; c) *S. aureus* + C2; d) *E. coli*; e) *E. coli* + C1; f) *E. coli* + C2. C1= VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc, C2= VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.

3.1.8. Efecto antimicrobiano de los nanocompósitos magnéticos

Se evaluó el efecto antimicrobiano de los nanocompósitos magnéticos: VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc (C1) y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (C2) basados en la estrategia PDT, y los nanocompósitos magnéticos: MNPs-GO (C3) y MNPs-MWCNTs (C4) basados en la estrategia bimodal PTT/PDT. Estos nanocompósitos se irradiaron con luz roja de 630 nm a 65 mW cm⁻² en presencia de los microorganismos *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*.

Los resultados obtenidos para cada colonia se muestran en la Figura 3.15. Los histogramas presentan la evaluación LOG (CFU mL⁻¹) estandarizada a 1. Se utilizó una concentración de 10⁷ CFU·mL⁻¹ para *S. aureus*, 10⁶ CFU·mL⁻¹ para *E. coli* y 10⁵ CFU·mL⁻¹ para *C. albicans*. El resultado cuantitativo de los recuentos de colonias de *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans* después de ser irradiados con un LED rojo (630 nm, 65 mW cm⁻²) indica que para las colonias de *S. aureus* y *E. coli* (Figura 3.15a, b), las muestras C3, C4 en luz y oscuridad, no fueron diferentes del grupo control. En contraste, el recuento en las muestras C1+ luz y C2+ luz fue significativamente menor que en el grupo control (**p ≤ 0,001). El recuento de colonias de *C. albicans* en las muestras + oscuridad no fue diferente del grupo control, pero el recuento en las muestras C1 + luz, C2 + luz, C3 + luz y C4 + luz fue significativamente menor que el grupo control (**p ≤ 0.001). Esto significa que después de la irradiación, el nanocompuesto C1 eliminó toda la población de las colonias *E. coli*, *C. albicans* y algo de *S. aureus*. El nanocompuesto C2 eliminó completamente las colonias de *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*. Los nanocompuestos C3 y C4 eliminaron todas las colonias de *C. albicans*.

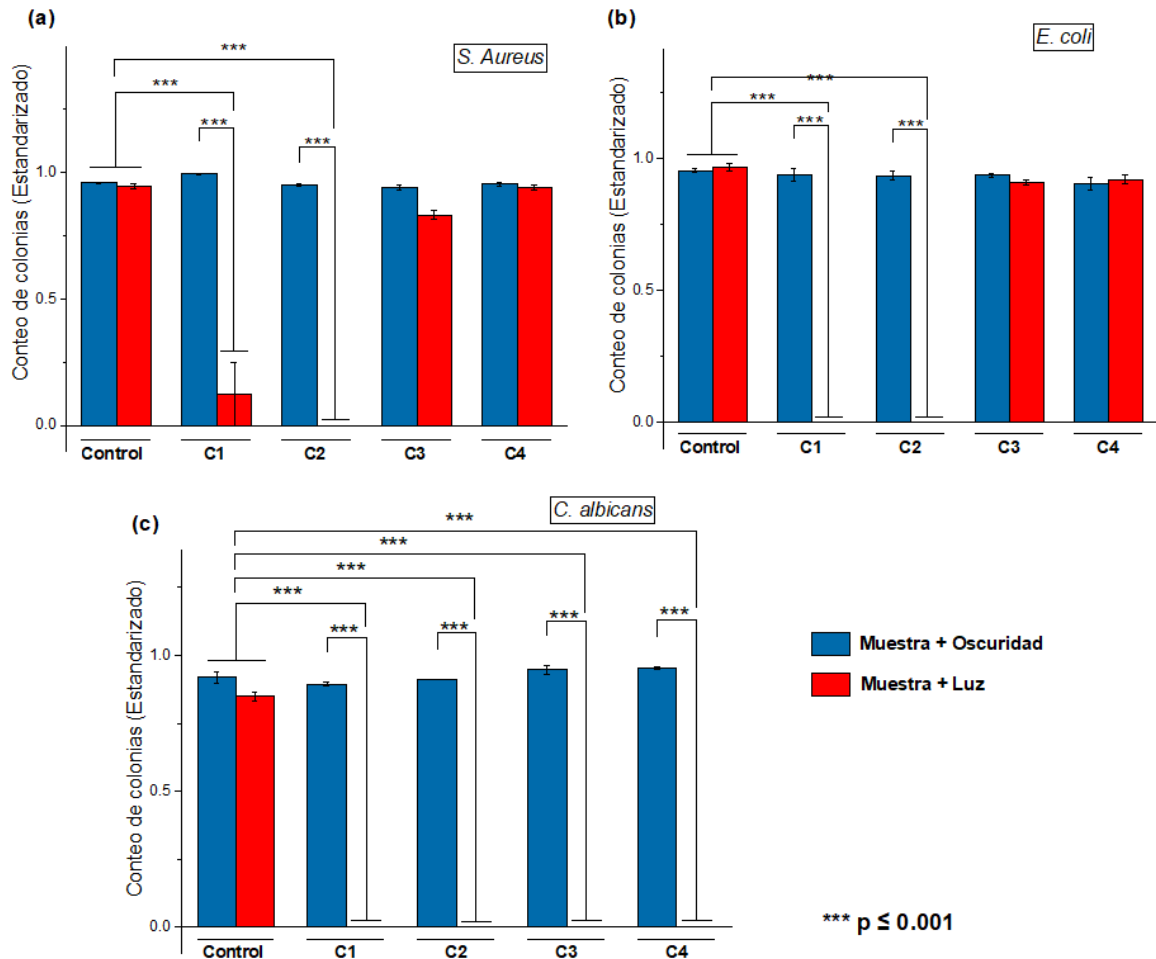


Figura 3.15. Efecto antimicrobiano basado en PDT/PTT. Resultado estandarizado de LOG(UFC/mL) por: (a) *S. aureus*; b) *E. coli* y c) *C. albicans* basados en nanocompuestos C1, C2, C3 y C4. La concentración de MNPs en C1, C2, C3 y C4 fue de 93,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de ZnMintPc en C1 y C2 fue de 8,1 μM . La concentración de GO en C1 y C3 fue de 3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de MWCNTs en C2 y C4 fue de 3,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. El tiempo de irradiación de los nanocompuestos C1 y C2 fue de 30 min y para C3 y C4 fue de 40 min. Diferencias significativas en las medias según la prueba de Tukey (***) $p \leq 0,001$.

Los resultados muestran que la luz por sí sola no puede eliminar microorganismos (control + luz), como se observa en la Figura 3.16b, con *C. albicans*, ya que, para eliminar el microorganismo, fue necesario irradiarlo en presencia de un nanocompuesto (C1 + luz o C2 + luz) y esto se puede observar en la Figura 3.16d y e.

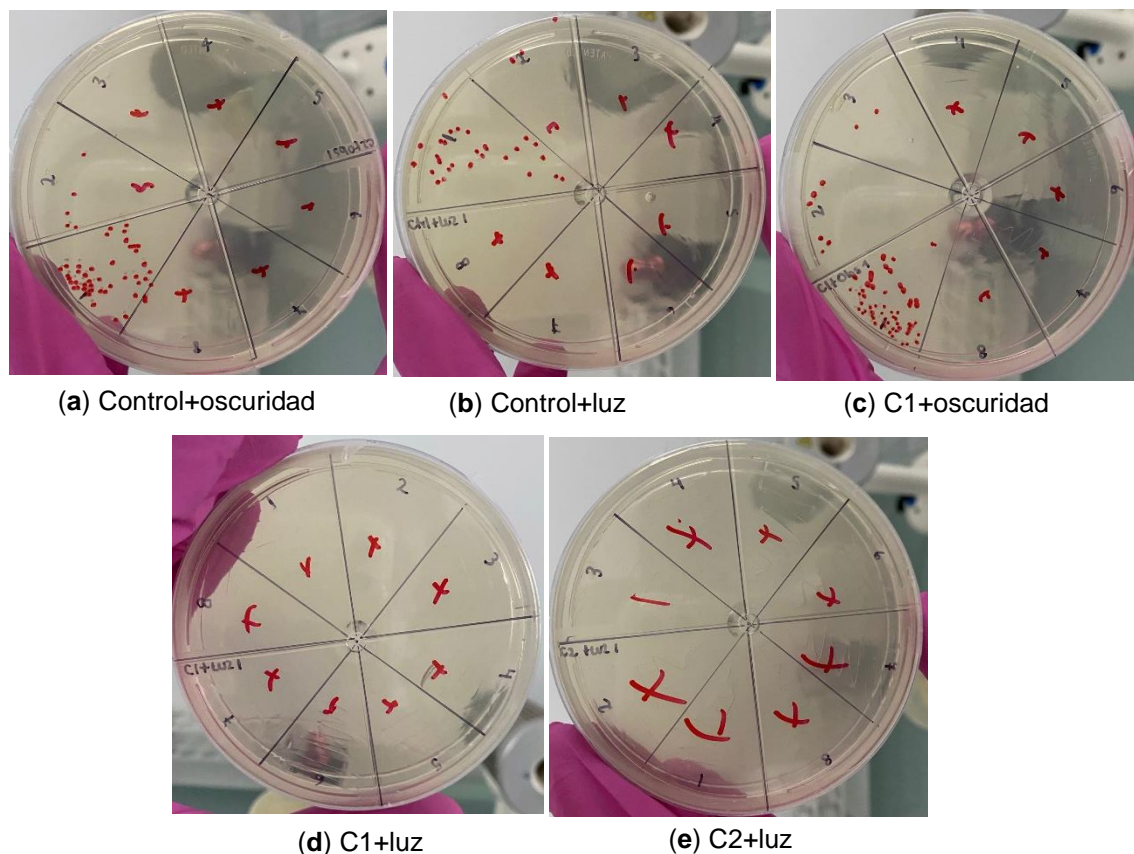


Figura 3.16. Efecto antimicrobiano de nanocompuestos C1 y C2 en *C. albicans* *in vitro*. C1: GO-MNPs-VGLPEGDA- ZnMintPc, C2: MWCNT-MNPs-VGLPEGDA- ZnMintPc, C3: GO-MNPs-VGLPEGDA, C4: MWCNT-MNPs-VGLPEGDA. La concentración de MNPs en C1, C2, C3 y C4 fue de $93,3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de ZnMintPc en C1 y C2 fue de $8,1 \mu\text{M}$. La concentración de GO en C1 y C3 fue de $3,47 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentración de MWCNTs en C2 y C4 fue de $3,47 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

3.2. Discusión

Según los resultados obtenidos, los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc tienen un carácter ferromagnético, típico de los nanocompuestos que poseen Fe-MNPs. Además, presentan una magnetización de baja saturación, porque están cubiertos por una capa de hidrogel diamagnético, lo cual concuerda con los estudios realizados por Donadel et al., 2008, Mahdavi et al., 2013, y Qu et al., 2010 [100], [196], [197]. Las Fe-MNPs son utilizadas en diversas bioaplicaciones, por lo cual las Fe-MNPs sintetizadas en este estudio y funcionalizadas demostraron que, la modificación superficial provoca una reducción de la magnetización de saturación, con valores entre 67 a $22 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$. Según la literatura, a medida que las Fe-MNPs se incrustan en una matriz polimérica no magnética los valores de magnetización disminuyen, pero no cambian la naturaleza magnética de las Fe-MNPs [100], [197].

En el estudio de las propiedades físicas y magnéticas de estos nanocompuestos, se demostró que tienen la capacidad de evitar la extinción temprana de la fluorescencia del PS ZnMintPc. Por lo cual, se puede decir que los nanocompuestos sintetizados mejoran el efecto fotodinámico. Lo cual, es consistente con la información brindada en los trabajos de Huang et al., 2011 y Xiao et al., 2021 [198], [199]. Adicionalmente, se demostró que el hidrogel VCL/PEGDA es capaz de mantener dispersos a los nanocompuestos magnéticos que poseen el PS hidrofóbico ZnMintPc en el transcurso de 24 h. Esto se debe a que el hidrogel posee un núcleo hidrofóbico capaz de crear interacciones con compuestos hidrofóbicos y una superficie hidrofílica que le permite ser soluble en agua como lo mencionan Romero et al., 2021, además demuestra la capacidad del hidrogel para utilizarse como un sistema de entrega de fármaco, siendo capaz de liberar un 68% de fármaco a lo largo de 24 h y una temperatura de 38 °C [32].

Los estudios antimicrobianos demostraron en el resultado cuantitativo de recuentos de colonias de los tres tipos de microorganismos, que todos los nanocompuestos son capaces de eliminar algunos de los microorganismos utilizados en este estudio tras la irradiación con luz roja de 635 nm y 65.5 mW · cm⁻². Lo cual es consistente con los estudios de nanomateriales antimicrobianos basados en PDT y PTT presentados por Huo et al., 2021; Liu et al., 2021 y Ren et al., 2020 [76], [195], [200]. Además, se demostró que el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc (C2), es el mejor debido a su capacidad para eliminar los tres tipos de microorganismos.

Como se observa en la Figura 3.15c, las muestras sin hidrogel C3+ luz y C4+ luz solo tuvieron una respuesta completa con *C. albicans*, y se podría considerar que el efecto bimodal fototérmico/fototérmico permitió la eliminación microbiana. Lo cual concuerda con el estudio de Dos Santos et al., 2019 [201]. Esta conclusión se basa en los resultados mostrados en la Figura 3.11 del efecto fotodinámico y de la Figura 3.12 del efecto fototérmico de los MWCNTs, MNPs y GO, donde se observa que su temperatura aumentaba a medida que aumentaba el tiempo de irradiación. La levadura *C. albicans* posee una termoresistencia limitada en comparación a otros microorganismos, ya que su exposición a altas temperaturas por encima de los 48 °C puede causarle daños irreversibles a los componentes celulares, llevándolos a la muerte. La capacidad limitada para resistir al calor se debe a la composición de su pared celular. La pared celular de *C. albicans* contiene beta-glucanos y quitina, que son polisacáridos susceptibles al calor. La exposición a altas temperaturas provoca que estos polisacáridos se descompongan generando daños en la pared celular y pérdida de la integridad celular [202], [203]. Además,

C. albicans carece de proteínas de choque térmico que ayudan a otros microorganismos como la *S. aureus* y *E. coli* a sobrevivir a altas temperaturas [202], [204].

Dentro de los factores que contribuyen a la capacidad de *S. aureus* y *E. coli* para resistir a altas temperaturas se encuentra la composición de la membrana celular bacteriana. La membrana celular de *S. aureus* y *E. coli* contiene un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados, lo que les brinda mayor fluidez y flexibilidad permitiendo que la membrana mantenga su estructura y función a altas temperaturas [205], [206]. Otro factor, son las proteínas de choque térmico que pueden inducirse en respuesta a altas temperaturas. Las proteínas de choque térmico pueden ayudar a las bacterias a reparar las proteínas dañadas y otros componentes celulares causados por el estrés por calor, además de ayudar a las bacterias a mantener su actividad metabólica y sus índices de división celular en altas temperaturas. Sin embargo, temperaturas superiores a 60 °C, causan la muerte de las bacterias *S. aureus* y *E. coli* [207], [208].

Para las muestras con hidrogel y fotosensibilizante (C1 + luz y C2 + luz), se puede deducir que la eliminación de los microorganismos *S. aureus* (Figura 3.15a), *E. coli* (Figura 3.15b) y *C. albicans* (Figura 3.15c) se produjo por el efecto fotodinámico, como lo respalda la investigación de Mei et al., 2021 y los datos reportados por Xu, Yao y Xu, 2019 [19], [64]. Esto se sustenta también por los resultados de la Tabla 3.4 que demuestran que los nanocompuestos que contienen ZnMintPc son capaces de generar una cantidad significativa de $^1\text{O}_2$ por efecto fotodinámico [64].

El mecanismo de internalización de estos nanocompuestos se produce a través del contacto directo entre el microorganismo-nanocompuesto, el efecto PTT/PDT para los nanocompuestos C3 y C4, y efecto PDT para C1 y C2 como se ve en la Figura 3.14. Varios autores han discutido el mecanismo de muerte celular programada debido al efecto PDT y PTT/PDT, y como lo mencionan Buzzá et al., 2021, Patil et al., 2021, entre otros en sus artículos científicos, el PS, GO y MWCNTs poseen la capacidad de ubicarse en varios orgánulos. La acción por efecto PDT del C1, C2, C3 y C4 promueve la generación de ROS seguida de daño físico a la membrana y estrés oxidativo [31], [209], [210]. Adicionalmente para C3 y C4 el efecto PTT de las estructuras de carbono y las MNPs activan el flujo de radicales libres dentro de la célula, y el estado oxidativo media el daño celular en las células a través de la vía apoptótica [211], [212]. El estrés oxidativo provocado por PTT y PDT conduce a cambios en el metabolismo del calcio y los lípidos, generando citoquinas y mediadores de la respuesta al estrés que conducen a la inducción de la apoptosis por la vía mitocondrial y la oxidación de proteínas específicas [31], [67], [209], [210], [213]. Se puede concluir que el mecanismo indicado es la causa de la muerte de los microorganismos

S. aureus, *E. coli* y *C. albicans* en el presente estudio. Adicionalmente, la vía de excreción de estos nanocompuestos en sistemas vivos ha sido investigada por autores como Dias et al., 2021 y Liu et al., 2008, quienes indican que estos nanocompuestos basados en materiales de carbono y MNPs pueden excretarse a través de las vías biliares y urinarias [214], [215].

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

En el presente estudio se sintetizó los nanocompuestos magnéticos: MNPs-GO, MNPs-MWCNTs, VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc para eliminar tres tipos de colonias microbianas: *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans* mediante la estrategia PTT/PDT los dos primeros y PDT los dos últimos.

Se caracterizó a los nanocompuestos magnéticos por espectroscopías: FT-IR, Raman y UV-VIS; microscopías: SEM y TEM; y otras técnicas como: EDS, VSM y XRD; que nos permitieron determinar las características físicas y químicas de los nanocompuestos. De esta manera, se pudo evidenciar la funcionalización del ZnMintPc en los nanocompuestos MNPs-GO y MNPs-MWCNTs en presencia del hidrogel VCL-PEGDA. Además, se determinó la presencia de Fe-MNPs ancladas a las estructuras de GO y MWCNTs, lo cual, brinda propiedades magnéticas a los nanocompuestos. Y a pesar de que los valores de magnetización obtenidos de los nanocompósitos dispersos en hidrogel son pequeños, estos se encuentran dentro del rango favorable empleado para aplicaciones biomédicas, que suele ser entre 8-100 emu·g⁻¹. Por lo tanto, los nanocompuestos obtenidos en este trabajo son aptos para aplicaciones biomédicas que empleen campos magnéticos externos.

Las caracterizaciones ópticas (espectros de absorbancia), magnéticas y morfológicas, mostraron que los nanocompuestos: MNPs-GO-ZnMintPc y MNPs-MWCNTs-ZnMintPc, están dispersos en el hidrogel VCL/PEGDA. La dispersión de los nanocompuestos es crucial en PDT/PTT para asegurar una distribución uniforme de los nanocompuestos dentro del tejido o célula objetivo, lo cual afecta directamente a la eficiencia y eficacia de la terapia. La dispersión uniforme permite la máxima absorción de luz y procesos eficientes de transferencia de energía. Además, permite una máxima interacción entre los elementos de los nanocompósitos como: el PS, MNPs-GO, MNPs-MWCNTs con el objetivo, mejorando así, el resultado terapéutico y minimizando el daño a los tejidos sanos circundantes. Adicionalmente, las propiedades ópticas de los nanocompuestos obtenidos demuestran que gracias su amplio espectro de absorción de luz, es posible prevenir la rápida fotodegradación del ZnMintPc, lo cual es esencial en la técnica PDT. En resumen, las características mencionadas son fundamentales para lograr una distribución uniforme, maximizar su interacción con el objetivo, optimizar las propiedades ópticas, garantizar la estabilidad y lograr la reproducibilidad de su aplicación basada en PDT.

Por medio del análisis fotodinámico entre los dos nanocompuestos con aplicabilidad en PDT: VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y que fueron irradiados con luz roja de baja dosis. Se determinó, que el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc posee mayor eficiencia fotodinámica que el nanocompuesto basado en MWCNTs, esto debido a que producía una fotooxidación más rápida del DPBF. La rápida fotooxidación del DPBF producida por el nanocompuesto que contiene GO y ZnMintPc, fue debido a la capacidad del GO para transportar una cantidad más significativa de ZnMintPc y MNPs gracias a su gran área específica. Además, el GO contribuyó al PS en la formación de 1O_2 , característica importante para PDT y dado que los nanocompuestos están dispersos en un hidrogel, los hace adecuados para sistemas de liberación controlada de PS, con aplicaciones prometedoras para PDT.

Finalmente, se demostró que los nanocompuestos: MNPs-GO y MNPs-MWCNTs son capaces de eliminar por completo colonias de *C. albicans* mediante la estrategia bimodal PTT/PDT. El nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc fue capaz de eliminar colonias de *E. coli* y *C. albicans* y el nanocompuesto VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc eliminó los tres tipos de microorganismos, por lo tanto, este último puede considerarse como agente antimicrobiano de amplio espectro en PDT.

La síntesis de los nanocompuestos fue realizada incluyó la síntesis por coprecipitación en presencia de GO y MWCNTs y la funcionalización con ZnMintPc en presencia del hidrogel VCL/PEGDA, por lo cual una desventaja del método de síntesis empleado sería su producción a gran escala, lo cual, en un futuro podría ser solventado haciendo uso de las nuevas técnicas de química verde, que a lo mejor podrían permitir la síntesis de este nanocompuesto haciendo uso de reactivos naturales.

4.2. Recomendaciones

Realizar un estudio de entrega de fármaco de los nanocompuestos VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc bajo las condiciones utilizadas (luz roja de 635 nm y $65.5 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$).

Realizar un estudio con un hidrogel lipofílico que sea capaz de dispersar los nanocompuestos magnéticos y permitan la generación del efecto dual fototérmico/fotodinámico, ya que el hidrogel utilizado no permitió aprovechar el efecto PTT de los nanocompuestos magnéticos basados en GO y MWCNTs. Como por ejemplo el hidrogel de polivinilpirrolidona (BCPP) que se empleó en el estudio de Borjihan et al., 2023 para la liberación de yodo como tratamiento antibacteriano sobre *E. coli* resistente a la

ampicilina (AREC) y *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) basado en la estrategia bimodal PDT/PTT [216].

Asegurarse de estar trabajando en un ambiente estéril y utilizando una técnica aséptica adecuada ya que los nanocompuestos van a ser empleados en bioaplicaciones, por lo cual se recomienda tener especial cuidado en la limpieza del área de trabajo, lavado y esterilización del material. Cuando se trabaje con microorganismos, emplear una campana de flujo laminar, en caso de topar con la punta de la micropipeta lugares fuera del cultivo de microorganismos, descartarla y tomar una nueva. Utilizar una incubadora destinada solo a cultivos bacterianos, asegurarse que no exista contaminación y que todas las cajas Petri de los cultivos estén adecuadamente cerradas y ubicadas, en caso de que una caja petri haya sido contaminada, esterilizar la incubadora y descartar los ensayos contaminados.

Viendo la capacidad antimicrobiana que poseen estos nanocompuestos sería importante realizar una investigación aplicando en microorganismos multirresistentes.

Realizar un estudio proteómico para poder tener un mejor conocimiento acerca de las proteínas de membrana que estuvieron directamente involucradas en la actividad antimicrobiana de cada nanocompuesto magnético.

Estudiar la viabilidad de determinar las propiedades antimicrobianas de los nanocompuestos magnéticos obtenidos, bajo condiciones experimentales *in vivo* mediante el uso de modelos animales.

Referencias bibliográficas

- [1] W. H. Organization, *Managing Epidemics: Key Facts About Major Deadly Diseases*, vol. 1. 2018. Consultado: el 30 de diciembre de 2021. [En línea]. Disponible en: https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=aGNnDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA2&dq=World+Health+Organization+has+declared+microbial+diseases+as+one+of+the+main+threats+for+humanity&ots=YOWKMWsvkd&sig=GJ7sr_45M-ivTjqX71S4Ut44cdl
- [2] J. M. V. Makabenta, A. Nabawy, C. H. Li, S. Schmidt-Malan, R. Patel, y V. M. Rotello, “Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections”, *Nature Reviews Microbiology* 2020 19:1, vol. 19, núm. 1, pp. 23–36, ago. 2020, doi: 10.1038/s41579-020-0420-1.
- [3] P. Dadgostar, “Antimicrobial resistance: implications and costs”, *Infect Drug Resist*, vol. 12, pp. 3903–3910, 2019, doi: 10.2147/IDR.S234610.
- [4] World Health Organization, “Antimicrobial resistance”, el 17 de noviembre de 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (consultado el 6 de abril de 2023).
- [5] World Health Organization, “Antimicrobial resistance”, 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (consultado el 18 de diciembre de 2021).
- [6] A. Ali, M. Ovais, X. Cui, Y. K. Rui, y C. Chen, “Safety Assessment of Nanomaterials for Antimicrobial Applications”, *Chem Res Toxicol*, vol. 33, núm. 5, pp. 1082–1109, may 2020, doi: 10.1021/ACS.CHEMRESTOX.9B00519.
- [7] Y. Zhao, Z. Zhang, Z. Pan, y Y. Liu, “Advanced bioactive nanomaterials for biomedical applications”, *Exploration*, vol. 1, núm. 3, p. 20210089, dic. 2021, doi: 10.1002/EXP.20210089.
- [8] H. Zhu, P. Cheng, P. Chen, y K. Pu, “Recent progress in the development of near-infrared organic photothermal and photodynamic nanotherapeutics”, *Biomater Sci*, vol. 6, núm. 4, pp. 746–765, mar. 2018, doi: 10.1039/C7BM01210A.
- [9] Y. Wang *et al.*, “Smart, Photothermally Activated, Antibacterial Surfaces with Thermally Triggered Bacteria-Releasing Properties”, *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 12, núm. 19, pp. 21283–21291, may 2020, doi: 10.1021/ACSAMI.9B17581.
- [10] B. R. C. De Menezes, K. F. Rodrigues, B. C. D. S. Fonseca, R. G. Ribas, T. L. D. A. Montanheiro, y G. P. Thim, “Recent advances in the use of carbon nanotubes as smart biomaterials”, *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 7, núm. 9. Royal Society of Chemistry, pp. 1343–1360, 2019. doi: 10.1039/c8tb02419g.

- [11] C. Yu Wang, P. Makvandi, E. N. Zare, F. R. Tay, y L. Na Niu, "Advances in Antimicrobial Organic and Inorganic Nanocompounds in Biomedicine", *Adv Ther (Weinh)*, vol. 3, núm. 8, p. 2000024, ago. 2020, doi: 10.1002/ADTP.202000024.
- [12] A. Al-Jumaili, S. Alancherry, K. Bazaka, y M. V. Jacob, "Review on the Antimicrobial Properties of Carbon Nanostructures", *Materials 2017, Vol. 10, Page 1066*, vol. 10, núm. 9, p. 1066, sep. 2017, doi: 10.3390/MA10091066.
- [13] M. Klausen, M. Ucuncu, y M. Bradley, "Design of Photosensitizing Agents for Targeted Antimicrobial Photodynamic Therapy", *Molecules 2020, Vol. 25, Page 5239*, vol. 25, núm. 22, p. 5239, nov. 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25225239.
- [14] A. VT *et al.*, "Antimicrobial photodynamic activity of rose bengal conjugated multi walled carbon nanotubes against planktonic cells and biofilm of Escherichia coli", *Photodiagnosis Photodyn Ther*, vol. 24, pp. 300–310, dic. 2018, doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.10.013.
- [15] F. Lin, Q. Y. Duan, y F. G. Wu, "Conjugated Polymer-Based Photothermal Therapy for Killing Microorganisms", *ACS Appl Polym Mater*, vol. 2, núm. 10, pp. 4331–4344, oct. 2020, doi: 10.1021/ACSAPM.0C00718/ASSET/IMAGES/MEDIUM/APOC00718_0007.GIF.
- [16] T. Xu *et al.*, "Photothermal and selective microbial inactivation behaviors of gluconamide-coated IR780 nanoparticles", *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 222, p. 113126, feb. 2023, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2023.113126.
- [17] Y. Zou, Y. Zhang, Q. Yu, y H. Chen, "Photothermal bactericidal surfaces: killing bacteria using light instead of biocides", *Biomater Sci*, vol. 9, núm. 1, pp. 10–22, ene. 2021, doi: 10.1039/D0BM00617C.
- [18] X. Luo *et al.*, "Rose bengal-modified gold nanorods for PTT/PDT antibacterial synergistic therapy", *Photodiagnosis Photodyn Ther*, vol. 39, p. 102988, sep. 2022, doi: 10.1016/J.PDPDT.2022.102988.
- [19] L. Mei *et al.*, "PEGylated Phthalocyanine-Functionalized Graphene Oxide with Ultrahigh-Efficient Photothermal Performance for Triple-Mode Antibacterial Therapy", *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 7, núm. 6, pp. 2638–2648, jun. 2021, doi: 10.1021/ACSBBIOMATERIALS.1C00178/SUPPL_FILE/AB1C00178_SI_001.PDF.
- [20] Y. Y. Chen, Y. Gao, Y. Y. Chen, L. Liu, A. Mo, y Q. Peng, "Nanomaterials-based photothermal therapy and its potentials in antibacterial treatment", *Journal of Controlled Release*, vol. 328, pp. 251–262, dic. 2020, doi: 10.1016/J.JCONREL.2020.08.055.
- [21] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, y W.-S. Kim, "Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications", *Sci Technol Adv Mater*, vol. 16, núm. 2, p. 023501, abr. 2015, doi: 10.1088/1468-6996/16/2/023501.

- [22] L. de A. S. de Toledo, H. C. Rosseto, y M. L. Bruschi, "Iron oxide magnetic nanoparticles as antimicrobials for therapeutics", <https://doi.org/10.1080/10837450.2017.1337793>, vol. 23, núm. 4, pp. 316–323, abr. 2017, doi: 10.1080/10837450.2017.1337793.
- [23] C. C. Berry y A. S. G. Curtis, "Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine", *J Phys D Appl Phys*, vol. 36, núm. 13, pp. R198–R206, jul. 2003, doi: 10.1088/0022-3727/36/13/203.
- [24] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, y J. Dobson, "Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine", *J Phys D Appl Phys*, vol. 36, núm. 13, pp. R167–R181, jul. 2003, doi: 10.1088/0022-3727/36/13/201.
- [25] M. Colombo *et al.*, "Biological applications of magnetic nanoparticles", *Chem Soc Rev*, vol. 41, núm. 11, p. 4306, 2012, doi: 10.1039/c2cs15337h.
- [26] L. Cheng, C. Wang, L. Feng, K. Yang, y Z. Liu, "Functional Nanomaterials for Phototherapies of Cancer", *Chem Rev*, vol. 114, núm. 21, pp. 10869–10939, nov. 2014, doi: 10.1021/cr400532z.
- [27] A. Kausar, "Nanocarbon in Polymeric Nanocomposite Hydrogel—Design and Multi-Functional Tendencies", *Polymer-Plastics Technology and Materials*, vol. 59, núm. 14. Taylor and Francis Inc., pp. 1505–1521, el 21 de septiembre de 2020. doi: 10.1080/25740881.2020.1757106.
- [28] J. Yi, G. Choe, J. Park, y J. Y. Lee, "Graphene oxide-incorporated hydrogels for biomedical applications", *Polymer Journal 2020 52:8*, vol. 52, núm. 8, pp. 823–837, may 2020, doi: 10.1038/s41428-020-0350-9.
- [29] N. L. Teradal y R. Jelinek, "Carbon Nanomaterials in Biological Studies and Biomedicine", *Adv Healthc Mater*, vol. 6, núm. 17, p. 1700574, sep. 2017, doi: 10.1002/ADHM.201700574.
- [30] D. Maiti, X. Tong, X. Mou, y K. Yang, "Carbon-Based Nanomaterials for Biomedical Applications: A Recent Study", *Front Pharmacol*, vol. 9, p. 1401, mar. 2019, doi: 10.3389/FPHAR.2018.01401/BIBTEX.
- [31] T. v. Patil, D. K. Patel, S. D. Dutta, K. Ganguly, A. Randhawa, y K. T. Lim, "Carbon Nanotubes-Based Hydrogels for Bacterial Eradication and Wound-Healing Applications", *Applied Sciences 2021, Vol. 11, Page 9550*, vol. 11, núm. 20, p. 9550, oct. 2021, doi: 10.3390/APP11209550.
- [32] J. F. Romero, A. Diaz-Barrios, y G. Gonzalez, "Biocompatible thermo-responsive N-vinylcaprolactam based hydrogels for controlled drug delivery systems", *Revista Bionatura*, vol. 6, núm. 2, pp. 1712–1719, 2021, doi: 10.21931/RB/2021.06.02.8.
- [33] J. Yang *et al.*, "Sequential PDT and PTT Using Dual-Modal Single-Walled Carbon Nanohorns Synergistically Promote Systemic Immune Responses against Tumor

- Metastasis and Relapse”, *Advanced Science*, vol. 7, núm. 16, p. 2001088, ago. 2020, doi: 10.1002/ADVS.202001088.
- [34] B. W. Henderson, *Photodynamic Therapy: Basic Principles and Clinical Applications*. CRC Press, 2020. [En línea]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=xfvvDwAAQBAJ>
- [35] J. Chen *et al.*, “Nanomaterials as photothermal therapeutic agents”, *Progress in Materials Science*, vol. 99. Pergamon, pp. 1–26, el 1 de enero de 2019. doi: 10.1016/j.pmatsci.2018.07.005.
- [36] R. R. Allison y K. Moghissi, “Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms”, *Clin Endosc*, vol. 46, núm. 1, pp. 24–29, ene. 2013, doi: 10.5946/ce.2013.46.1.24.
- [37] M. Lan, S. Zhao, W. Liu, C. S. Lee, W. Zhang, y P. Wang, “Photosensitizers for Photodynamic Therapy”, *Adv Healthc Mater*, vol. 8, núm. 13, p. 1900132, jul. 2019, doi: 10.1002/ADHM.201900132.
- [38] R. R. Allison y C. H. Sibata, “Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review”, *Photodiagnosis Photodyn Ther*, vol. 7, núm. 2, pp. 61–75, jun. 2010, doi: 10.1016/J.PDPDT.2010.02.001.
- [39] J. Zhang, C. Jiang, J. P. Figueiró Longo, R. B. Azevedo, H. Zhang, y L. A. Muehlmann, “An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy”, *Acta Pharm Sin B*, vol. 8, núm. 2, pp. 137–146, mar. 2018, doi: 10.1016/J.APSB.2017.09.003.
- [40] A. B. Ormond y H. S. Freeman, “Dye Sensitizers for Photodynamic Therapy”, *Materials 2013, Vol. 6, Pages 817-840*, vol. 6, núm. 3, pp. 817–840, mar. 2013, doi: 10.3390/MA6030817.
- [41] J. H. Correia, J. A. Rodrigues, S. Pimenta, T. Dong, y Z. Yang, “Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions”, *Pharmaceutics 2021, Vol. 13, Page 1332*, vol. 13, núm. 9, p. 1332, ago. 2021, doi: 10.3390/PHARMACEUTICS13091332.
- [42] T. Wharton, H. Gali, y M. Hamblin, “Photosensitizers for Targeted Photodynamic Therapy”, vol. 8, pp. 1–23, 2009.
- [43] J. Kou, D. Dou, y L. Yang, “Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications”, *Oncotarget*, vol. 8, núm. 46, p. 81591, oct. 2017, doi: 10.18632/ONCOTARGET.20189.
- [44] H. Kataoka *et al.*, “New photodynamic therapy with next-generation photosensitizers”, *researchmap.jp*, vol. 5, núm. 8, p. 183, 2017, doi: 10.21037/atm.2017.03.59.

- [45] E. B. Priestley y A. Haug, "Phosphorescence spectrum of pure crystalline naphthalene", *J Chem Phys*, vol. 49, núm. 2, pp. 622–629, 1968, doi: 10.1063/1.1670118.
- [46] X.-H. Hu *et al.*, "Modeling of a Type II Photofrin-mediated Photodynamic Therapy Process in a Heterogeneous Tissue Phantom", *Photochem Photobiol*, vol. 81, núm. 6, p. 1460, 2005, doi: 10.1562/2005-05-04-RA-513.
- [47] X. Wang, D. Luo, y J. P. Basilion, "Photodynamic Therapy: Targeting Cancer Biomarkers for the Treatment of Cancers", *Cancers 2021, Vol. 13, Page 2992*, vol. 13, núm. 12, p. 2992, jun. 2021, doi: 10.3390/CANCERS13122992.
- [48] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, y R. K. Jain, "Photodynamic therapy for cancer", *Nat Rev Cancer*, vol. 3, núm. 5, pp. 380–387, may 2003, doi: 10.1038/NRC1071.
- [49] B. C. Wilson y R. A. Weersink, "The Yin and Yang of PDT and PTT", *Photochem Photobiol*, vol. 96, núm. 2, pp. 219–231, mar. 2020, doi: 10.1111/PHP.13184.
- [50] J. M. Dąbrowski, "Reactive Oxygen Species in Photodynamic Therapy: Mechanisms of Their Generation and Potentiation", en *Advances in Inorganic Chemistry*, Academic Press Inc., 2017, pp. 343–394. doi: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002.
- [51] B. Henderson y T. Dougherty, "How does photodynamic therapy work?", *Photochemistry and*, 1992.
- [52] S. Kwiatkowski *et al.*, "Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations", *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 106. Elsevier Masson SAS, pp. 1098–1107, el 1 de octubre de 2018. doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.
- [53] J. Chen *et al.*, "Advances in nanomaterials for photodynamic therapy applications: Status and challenges", *Biomaterials*, vol. 237. Elsevier Ltd, p. 119827, el 1 de abril de 2020. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.119827.
- [54] S. M. Banerjee, A. J. MacRobert, C. A. Mosse, B. Periera, S. G. Bown, y M. R. S. Keshtgar, "Photodynamic therapy: Inception to application in breast cancer", *Breast*, vol. 31. Churchill Livingstone, pp. 105–113, el 1 de febrero de 2017. doi: 10.1016/j.breast.2016.09.016.
- [55] D. Wu *et al.*, "Oxidation-sensitive polymeric nanocarrier-mediated cascade PDT chemotherapy for synergistic cancer therapy and potentiated checkpoint blockade immunotherapy", *Chemical Engineering Journal*, vol. 404, ene. 2020, doi: 10.1016/j.cej.2020.126481.
- [56] R. Railkar y P. K. Agarwal, "Photodynamic Therapy in the Treatment of Bladder Cancer: Past Challenges and Current Innovations", *European Urology Focus*, vol. 4, núm. 4. Elsevier B.V., pp. 509–511, el 1 de julio de 2018. doi: 10.1016/j.euf.2018.08.005.

- [57] R. Alzeibak, T. A. Mishchenko, N. Y. Shilyagina, I. V. Balalaeva, M. V. Vedunova, y D. V. Krysko, "Targeting immunogenic cancer cell death by photodynamic therapy: past, present and future", *J Immunother Cancer*, vol. 9, núm. 1, p. e001926, ene. 2021, doi: 10.1136/JITC-2020-001926.
- [58] M. Liu *et al.*, "An efficient antimicrobial depot for infectious site-targeted chemophothermal therapy", *J Nanobiotechnology*, vol. 16, núm. 1, pp. 1–20, mar. 2018, doi: 10.1186/S12951-018-0348-Z/FIGURES/6.
- [59] J. Li *et al.*, "Zinc-doped Prussian blue enhances photothermal clearance of *Staphylococcus aureus* and promotes tissue repair in infected wounds", *Nat Commun*, vol. 10, núm. 1, dic. 2019, doi: 10.1038/S41467-019-12429-6.
- [60] H. S. Han y K. Y. Choi, "Advances in Nanomaterial-Mediated Photothermal Cancer Therapies: Toward Clinical Applications", *Biomedicines 2021, Vol. 9, Page 305*, vol. 9, núm. 3, p. 305, mar. 2021, doi: 10.3390/BIOMEDICINES9030305.
- [61] D. Zhi, T. Yang, J. O'Hagan, S. Zhang, y R. F. Donnelly, "Photothermal therapy.", *J Control Release*, vol. 325, pp. 52–71, sep. 2020, doi: 10.1016/j.jconrel.2020.06.032.
- [62] J. Zhou *et al.*, "NIR photothermal therapy using polyaniline nanoparticles", *Biomaterials*, vol. 34, núm. 37, pp. 9584–9592, dic. 2013, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2013.08.075.
- [63] Y. Shi *et al.*, "Recent progress and development on polymeric nanomaterials for photothermal therapy: a brief overview", *J Mater Chem B*, vol. 5, núm. 2, pp. 194–206, ene. 2017, doi: 10.1039/C6TB02249A.
- [64] J. W. Xu, K. Yao, y Z. K. Xu, "Nanomaterials with a photothermal effect for antibacterial activities: an overview", *Nanoscale*, vol. 11, núm. 18, pp. 8680–8691, may 2019, doi: 10.1039/C9NR01833F.
- [65] Y. Chen, Y. Gao, Y. Chen, L. Liu, A. Mo, y Q. Peng, "Nanomaterials-based photothermal therapy and its potentials in antibacterial treatment", *Journal of Controlled Release*, vol. 328. Elsevier, pp. 251–262, el 10 de diciembre de 2020. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.08.055.
- [66] L. D. Dias, H. H. Buzzá, M. D. Stringasci, y V. S. Bagnato, "Recent Advances in Combined Photothermal and Photodynamic Therapies against Cancer Using Carbon Nanomaterial Platforms for In Vivo Studies", vol. 1, núm. 3, oct. 2021.
- [67] I. Marangon, C. Ménard-Moyon, A. K. A. Silva, A. Bianco, N. Luciani, y F. Gazeau, "Synergic mechanisms of photothermal and photodynamic therapies mediated by photosensitizer/carbon nanotube complexes", *Carbon N Y*, vol. 97, pp. 110–123, feb. 2016, doi: 10.1016/J.CARBON.2015.08.023.

- [68] Z. Sun y H. Chang, "Graphene and Graphene-like Two-Dimensional Materials in Photodetection: Mechanisms and Methodology", *ACS Nano*, vol. 8, núm. 5, pp. 4133–4156, may 2014, doi: 10.1021/nn500508c.
- [69] J. Ge *et al.*, "Carbon Dots with Intrinsic Theranostic Properties for Bioimaging, Red-Light-Triggered Photodynamic/Photothermal Simultaneous Therapy In Vitro and In Vivo", *Adv Healthc Mater*, vol. 5, núm. 6, pp. 665–675, mar. 2016, doi: 10.1002/ADHM.201500720.
- [70] S. Sun *et al.*, "Ce6-Modified Carbon Dots for Multimodal-Imaging-Guided and Single-NIR-Laser-Triggered Photothermal/Photodynamic Synergistic Cancer Therapy by Reduced Irradiation Power", *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 11, núm. 6, pp. 5791–5803, feb. 2019, doi: 10.1021/ACSAMI.8B19042/SUPPL_FILE/AM8B19042_SI_001.PDF.
- [71] L. Wang *et al.*, "PEGylated reduced-graphene oxide hybridized with Fe₃O₄ nanoparticles for cancer photothermal-immunotherapy", *J Mater Chem B*, vol. 7, núm. 46, pp. 7406–7414, 2019, doi: 10.1039/C9TB00630C.
- [72] D. Lu, R. Tao, y Z. Wang, "Carbon-based materials for photodynamic therapy: A mini-review", *Front Chem Sci Eng*, vol. 13, núm. 2, pp. 310–323, jun. 2019, doi: 10.1007/s11705-018-1750-7.
- [73] J. Y. Kim, W. Il Choi, M. Kim, y G. Tae, "Tumor-targeting nanogel that can function independently for both photodynamic and photothermal therapy and its synergy from the procedure of PDT followed by PTT", *Journal of Controlled Release*, vol. 171, núm. 2, pp. 113–121, oct. 2013, doi: 10.1016/J.JCONREL.2013.07.006.
- [74] S. Stankovich *et al.*, "Graphene-based composite materials", *Nature*, vol. 442, núm. 7100, pp. 282–286, jul. 2006, doi: 10.1038/nature04969.
- [75] H. Yan, B. Zhang, Y. Zhang, R. Su, P. Li, y W. Su, "Fluorescent Carbon Dot-Curcumin Nanocomposites for Remarkable Antibacterial Activity with Synergistic Photodynamic and Photothermal Abilities", *ACS Appl Bio Mater*, vol. 4, núm. 9, pp. 6703–6718, sep. 2021, doi: 10.1021/ACSABM.1C00377/ASSET/IMAGES/MEDIUM/MT1C00377_0014.GIF.
- [76] J. Huo *et al.*, "Emerging photothermal-derived multimodal synergistic therapy in combating bacterial infections", *Chem Soc Rev*, vol. 50, núm. 15, pp. 8762–8789, ago. 2021, doi: 10.1039/D1CS00074H.
- [77] D. Zhi, T. Yang, J. O'Hagan, S. Zhang, y R. F. Donnelly, "Photothermal therapy", *Journal of Controlled Release*, vol. 325, pp. 52–71, sep. 2020, doi: 10.1016/J.JCONREL.2020.06.032.
- [78] V. Georgakilas, J. A. Perman, J. Tucek, y R. Zboril, "Broad Family of Carbon Nanoallotropes: Classification, Chemistry, and Applications of Fullerenes, Carbon Dots, Nanotubes, Graphene, Nanodiamonds, and Combined Superstructures", *Chem Rev*, vol. 115, núm. 11, pp. 4744–4822, jun. 2015, doi: 10.1021/cr500304f.

- [79] L. Rapoport, N. Fleischer, y R. Tenne, "Applications of WS₂(MoS₂) inorganic nanotubes and fullerene-like nanoparticles for solid lubrication and for structural nanocomposites", *J Mater Chem*, vol. 15, núm. 18, p. 1782, 2005, doi: 10.1039/b417488g.
- [80] P. S. Karthik, A. L. Himaja, y S. P. Singh, "Carbon-allotropes: synthesis methods, applications and future perspectives", *Carbon letters*, vol. 15, núm. 4, pp. 219–237, oct. 2014, doi: 10.5714/CL.2014.15.4.219.
- [81] Q. Xin *et al.*, "Antibacterial Carbon-Based Nanomaterials", *Advanced Materials*, vol. 31, núm. 45, p. 1804838, nov. 2019, doi: 10.1002/ADMA.201804838.
- [82] G. Gao, Q. Guo, y J. Zhi, "Nanodiamond-Based Theranostic Platform for Drug Delivery and Bioimaging", *Small*, vol. 15, núm. 48, p. 1902238, nov. 2019, doi: 10.1002/SMLL.201902238.
- [83] L. Elias, R. Taengua, B. Frígols, Á. Serrano-Aroca, y B. Salesa, "Carbon Nanomaterials and LED Irradiation as Antibacterial Strategies against Gram-Positive Multidrug-Resistant Pathogens", *International Journal of Molecular Sciences 2019, Vol. 20, Page 3603*, vol. 20, núm. 14, p. 3603, jul. 2019, doi: 10.3390/IJMS20143603.
- [84] Q. Xin *et al.*, "Antibacterial carbon-based nanomaterials", *Wiley Online Library*, vol. 31, núm. 45, nov. 2018, doi: 10.1002/adma.201804838.
- [85] G. Pastorin, *Carbon nanotubes: From bench chemistry to promising biomedical applications*. 2011. doi: 10.4032/9789814241663.
- [86] X. Cui *et al.*, "Multicomponent-assembled nanodiamond hybrids for targeted and imaging guided triple-negative breast cancer therapy via a ternary collaborative strategy", *Biomater Sci*, vol. 9, núm. 10, pp. 3838–3850, may 2021, doi: 10.1039/D1BM00283J.
- [87] T. K. Ryu, S. W. Baek, R. H. Kang, K. Y. Jeong, D. R. Jun, y S. W. Choi, "Photodynamic and photothermal tumor therapy using phase-change material nanoparticles containing chlorin e6 and nanodiamonds", *Journal of Controlled Release*, vol. 270, pp. 237–245, ene. 2018, doi: 10.1016/J.JCONREL.2017.12.008.
- [88] J. Yang *et al.*, "Sequential PDT and PTT Using Dual-Modal Single-Walled Carbon Nanohorns Synergistically Promote Systemic Immune Responses against Tumor Metastasis and Relapse", *Advanced Science*, vol. 7, núm. 16, p. 2001088, ago. 2020, doi: 10.1002/ADVS.202001088.
- [89] P. Kalluru, R. Vankayala, C. S. Chiang, y K. C. Hwang, "Nano-graphene oxide-mediated In vivo fluorescence imaging and bimodal photodynamic and photothermal destruction of tumors", *Biomaterials*, vol. 95, pp. 1–10, jul. 2016, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2016.04.006.

- [90] M. S. C. dos Santos *et al.*, “Nanographene oxide-methylene blue as phototherapies platform for breast tumor ablation and metastasis prevention in a syngeneic orthotopic murine model”, *J Nanobiotechnology*, vol. 16, núm. 1, pp. 1–17, ene. 2018, doi: 10.1186/S12951-018-0333-6/FIGURES/8.
- [91] Z. Yin *et al.*, “Tumor Microenvironment Responsive Oxygen-Self-Generating Nanoplatfom for Dual-Imaging Guided Photodynamic and Photothermal Therapy”, *ChemistrySelect*, vol. 3, núm. 16, pp. 4366–4373, abr. 2018, doi: 10.1002/SLCT.201800498.
- [92] X. Zou, L. Zhang, Z. Wang, y Y. Luo, “Mechanisms of the Antimicrobial Activities of Graphene Materials”, *J Am Chem Soc*, vol. 138, núm. 7, pp. 2064–2077, mar. 2016, doi: 10.1021/jacs.5b11411.
- [93] H. E. Karahan *et al.*, “Graphene Materials in Antimicrobial Nanomedicine: Current Status and Future Perspectives”, *Adv Healthc Mater*, vol. 7, núm. 13, p. 1701406, jul. 2018, doi: 10.1002/ADHM.201701406.
- [94] R. K. Matharu *et al.*, “Microstructure and antibacterial efficacy of graphene oxide nanocomposite fibres”, *J Colloid Interface Sci*, vol. 571, pp. 239–252, jul. 2020, doi: 10.1016/J.JCIS.2020.03.037.
- [95] O. Akhavan y E. Ghaderi, “Toxicity of Graphene and Graphene Oxide Nanowalls Against Bacteria”, *ACS Nano*, vol. 4, núm. 10, pp. 5731–5736, oct. 2010, doi: 10.1021/NN101390X.
- [96] C. Gunawan, W. Y. Teoh, C. P. Marquis, y R. Amal, “Cytotoxic origin of copper(II) oxide nanoparticles: Comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts”, *ACS Nano*, vol. 5, núm. 9, pp. 7214–7225, sep. 2011, doi: 10.1021/NN2020248/SUPPL_FILE/NN2020248_SI_001.PDF.
- [97] M. P. Romero *et al.*, “Graphene Oxide Mediated Broad-Spectrum Antibacterial Based on Bimodal Action of Photodynamic and Photothermal Effects”, *Front Microbiol*, vol. 10, ene. 2020, doi: 10.3389/fmicb.2019.02995.
- [98] Y. Yang *et al.*, “Nonchemotherapeutic and Robust Dual-Responsive Nanoagents with On-Demand Bacterial Trapping, Ablation, and Release for Efficient Wound Disinfection”, *Adv Funct Mater*, vol. 28, núm. 21, p. 1705708, may 2018, doi: 10.1002/adfm.201705708.
- [99] J. Zhou, W. Wang, Q. Zhang, Z. Zhang, J. Guo, y F. Yan, “Oxygen-supplied mesoporous carbon nanoparticles for enhanced photothermal/photodynamic synergetic therapy against antibiotic-resistant bacterial infections”, *Chem Sci*, vol. 13, núm. 23, pp. 6967–6981, jun. 2022, doi: 10.1039/D2SC01740G.
- [100] M. Mahdavi *et al.*, “Synthesis, Surface Modification and Characterisation of Biocompatible Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications”, *Molecules 2013, Vol. 18*,

- Pages 7533-7548, vol. 18, núm. 7, pp. 7533–7548, jun. 2013, doi: 10.3390/MOLECULES18077533.
- [101] J. Estelrich y M. A. Busquets, “Iron Oxide Nanoparticles in Photothermal Therapy”, *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 1567, vol. 23, núm. 7, p. 1567, jun. 2018, doi: 10.3390/MOLECULES23071567.
- [102] C. Tapeinos, “Magnetic Nanoparticles and Their Bioapplications”, en *Smart Nanoparticles for Biomedicine*, Elsevier, 2018, pp. 131–142. doi: 10.1016/B978-0-12-814156-4.00009-4.
- [103] A. Miri, M. Khatami, y M. Sarani, “Biosynthesis, Magnetic and Cytotoxic Studies of Hematite Nanoparticles”, *J Inorg Organomet Polym Mater*, vol. 30, núm. 3, pp. 767–774, mar. 2020, doi: 10.1007/s10904-019-01245-6.
- [104] K. Rajendran, S. Sen, G. Suja, S. L. Senthil, y T. V. Kumar, “Evaluation of cytotoxicity of hematite nanoparticles in bacteria and human cell lines”, *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 157, pp. 101–109, sep. 2017, doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.05.052.
- [105] D. Xiao *et al.*, “Magnetic carbon nanotubes: Synthesis by a simple solvothermal process and application in magnetic targeted drug delivery system”, *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 14, núm. 7, pp. 1–12, jul. 2012, doi: 10.1007/S11051-012-0984-4/METRICS.
- [106] Y.-J. Lu *et al.*, “Magnetic Graphene Oxide for Dual Targeted Delivery of Doxorubicin and Photothermal Therapy”, *Nanomaterials*, vol. 8, núm. 4, p. 193, mar. 2018, doi: 10.3390/nano8040193.
- [107] Z. M. Avval *et al.*, “Introduction of magnetic and supermagnetic nanoparticles in new approach of targeting drug delivery and cancer therapy application”, *Drug Metabolism Reviews*, vol. 52, núm. 1. Taylor and Francis Ltd, pp. 157–184, el 2 de enero de 2020. doi: 10.1080/03602532.2019.1697282.
- [108] M. Ramasamy, P. S. Kumar, y V. K. Varadan, “Magnetic nanotubes for drug delivery”, en *Nanosensors, Biosensors, Info-Tech Sensors and 3D Systems 2017*, SPIE, abr. 2017, p. 1016715. doi: 10.1117/12.2264367.
- [109] C. Yang *et al.*, “Metalla-aromatic loaded magnetic nanoparticles for MRI/photoacoustic imaging-guided cancer phototherapy”, *J Mater Chem B*, vol. 6, núm. 17, pp. 2528–2535, may 2018, doi: 10.1039/C7TB02145C.
- [110] T. Zhou *et al.*, “A multifunctional nanoplatform based on Fe₃O₄@Au NCs with magnetic targeting ability for single NIR light-triggered PTT/PDT synergistic therapy of cancer”, *J Alloys Compd*, vol. 944, p. 169206, may 2023, doi: 10.1016/J.JALLCOM.2023.169206.
- [111] H. L. Cheng, H. L. Guo, A. J. Xie, Y. H. Shen, y M. Z. Zhu, “4-in-1 Fe₃O₄/g-C₃N₄@PPy-DOX nanocomposites: Magnetic targeting guided trimode combinatorial

- chemotherapy/PDT/PTT for cancer”, *J Inorg Biochem*, vol. 215, p. 111329, feb. 2021, doi: 10.1016/J.JINORGBIO.2020.111329.
- [112] C. Kong *et al.*, “Multifunctional Nanoparticles-Mediated PTT/PDT Synergistic Immune Activation and Antitumor Activity Combined with Anti-PD-L1 Immunotherapy for Breast Cancer Treatment”, *Int J Nanomedicine*, vol. 17, pp. 5391–5411, 2022, doi: 10.2147/IJN.S373282.
- [113] M. Hasanzadeh *et al.*, “Graphene quantum dots decorated with magnetic nanoparticles: Synthesis, electrodeposition, characterization and application as an electrochemical sensor towards determination of some amino acids at physiological pH”, *Materials Science and Engineering: C*, vol. 68, pp. 814–830, nov. 2016, doi: 10.1016/J.MSEC.2016.07.026.
- [114] A. Srivastava y A. Katiyar, “Zinc oxide nanostructures”, *Ceramic Science and Engineering: Basics to Recent Advancements*, pp. 235–262, ene. 2022, doi: 10.1016/B978-0-323-89956-7.00012-7.
- [115] D. Pop *et al.*, “Development and Characterization of Fe₃O₄@Carbon Nanoparticles and Their Biological Screening Related to Oral Administration”, *mdpi.com*, 2021, doi: 10.3390/ma14133556.
- [116] R. Fu y M. Zhu, “Synthesis and characterization of structure of Fe₃O₄@ graphene oxide nanocomposites”, *Advanced Composites Letters*, vol. 25, núm. 6, pp. 143–146, nov. 2016, doi: 10.1177/096369351602500604.
- [117] P. Bilalis, E. Karagouni, y D. K. Toubanaki, “Peroxidase-like activity of Fe₃O₄ nanoparticles and Fe₃O₄-graphene oxide nanohybrids: Effect of the amino- and carboxyl-surface modifications on H₂O₂ sensing”, *Appl Organomet Chem*, vol. 36, núm. 9, sep. 2022, doi: 10.1002/AOC.6803.
- [118] S. Li, T. Zhang, R. Tang, H. Qiu, C. Wang, y Z. Zhou, “Solvothermal synthesis and characterization of monodisperse superparamagnetic iron oxide nanoparticles”, *J Magn Magn Mater*, vol. 379, pp. 226–231, abr. 2015, doi: 10.1016/j.jmmm.2014.12.054.
- [119] S. M. Fotukian, A. Barati, M. Soleymani, y A. M. Alizadeh, “Solvothermal synthesis of CuFe₂O₄ and Fe₃O₄ nanoparticles with high heating efficiency for magnetic hyperthermia application”, *J Alloys Compd*, vol. 816, p. 152548, mar. 2020, doi: 10.1016/j.jallcom.2019.152548.
- [120] H. Wu *et al.*, “Solvothermal synthesis of cobalt ferrite nanoparticles loaded on multiwalled carbon nanotubes for magnetic resonance imaging and drug delivery”, *Acta Biomater*, vol. 7, núm. 9, pp. 3496–3504, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2011.05.031.

- [121] D. Xiao, P. Dramou, H. He, L. Pham-Huy, y H. Li, "Magnetic carbon nanotubes: synthesis by a simple solvothermal process and application in magnetic targeted drug delivery system", *Journal of Nanoparticle*, 2012.
- [122] R. Mahajan, S. Suriyanarayanan, I. A. Nicholls, y A. Fernández, "Improved Solvothermal Synthesis of γ -Fe₂O₃ Magnetic Nanoparticles for SiO₂ Coating", *mdpi.com*, vol. 11, p. 1889, 2021, doi: 10.3390/nano11081889.
- [123] Q. Husain, "Magnetic nanoparticles as a tool for the immobilization/stabilization of hydrolases and their applications: An overview.", *Biointerface Res Appl Chem*, vol. 6, pp. 1585–1606, 2016, doi: 10.2016/Published.
- [124] Y.-J. Lu, K.-C. Wei, C.-C. M. Ma, S.-Y. Yang, y J.-P. Chen, "Dual targeted delivery of doxorubicin to cancer cells using folate-conjugated magnetic multi-walled carbon nanotubes", *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 89, pp. 1–9, 2012, doi: 10.1016/j.colsurfb.2011.08.001.
- [125] G. Herlem, F. Picaud, C. Girardet, y O. Micheau, *Carbon Nanotubes: Synthesis, Characterization, and Applications in Drug-Delivery Systems*. Elsevier Inc., 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-814033-8.00016-3.
- [126] G. Barraza-Garza, L. A. de la Rosa, A. Martínez-Martínez, H. Castillo-Michel, M. Cotte, y E. Alvarez-Parrilla, "La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos", *Rev Latinoam Quim*, vol. 41, núm. 3, pp. 125–148, 2013.
- [127] M. Krysa, M. Szymańska-Chargot, y A. Zdunek, "FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids – A review", *Food Chem*, vol. 393, p. 133430, nov. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133430.
- [128] B. Giechaskiel y M. Clairotte, "Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy for Measurements of Vehicle Exhaust Emissions: A Review", *Applied Sciences 2021, Vol. 11, Page 7416*, vol. 11, núm. 16, p. 7416, ago. 2021, doi: 10.3390/APP11167416.
- [129] S. P. Mulvaney y C. D. Keating, "Raman spectroscopy", *Anal Chem*, vol. 72, núm. 12, jun. 2000, doi: 10.1021/A10000155.
- [130] D. Long, "Raman spectroscopy", *New York*, 1977, Consultado: el 22 de julio de 2016. [En línea]. Disponible en:
https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=DzUXBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA149&dq=aman+spectroscopy&ots=oXkHxf5_7T&sig=rPYEsyQ1nyhd76t-99zQTtXrPys
- [131] D. J. (Derek J.) Gardiner, P. R. (Pierre R.) Graves, y H. J. (Heather J.) Bowley, *Practical Raman spectroscopy*. Springer-Verlag, 1989.

- [132] E. Smith y G. Dent, "Modern raman spectroscopy: A practical approach", *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, pp. 1–241, ene. 2019, doi: 10.1002/0470011831.
- [133] M. Picollo, M. Aceto, y T. Vitorino, "UV-Vis spectroscopy", *Physical Sciences Reviews*, vol. 4, núm. 4, abr. 2019, doi: 10.1515/PSR-2018-0008/MACHINEREADEABLECITATION/RIS.
- [134] H. Perkampus, "UV-VIS Spectroscopy and its Applications", 2013, Consultado: el 4 de marzo de 2023. [En línea]. Disponible en:
https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=6ejwCAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=uv-vis&ots=bPP-oyVXXP&sig=l4aOLKg7a0zEDs3Vt4Q_FXCfrj4
- [135] Z. Chen *et al.*, "UV-Vis Spectroscopy", pp. 49–62, 2013, doi: 10.1007/978-1-4614-8298-7_5.
- [136] K. S. Subramanian, *TEXTBOOK ON FUNDAMENTALS AND APPLICATIONS OF NANOTECHNOLOGY*. DAYA PUB HOUSE, 2018.
- [137] N. Saito, Y. Wu, K. Hayashi, H. Sugimura, y O. Takai, "Principle in imaging contrast in scanning electron microscopy for binary microstructures composed of organosilane self-assembled monolayers", *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 107, núm. 3, pp. 664–667, ene. 2003, doi: 10.1021/JP021362R.
- [138] S. Pennycook y P. Nellist, *Scanning transmission electron microscopy: imaging and analysis*. 2011. Consultado: el 22 de julio de 2016. [En línea]. Disponible en:
https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=N_98Hef0ZTYC&oi=fnd&pg=PR6&dq=stem+microscopy&ots=JNWgkuJ1Yo&sig=ucwv8lx-5w3bnPgB0vCRReLnrNo
- [139] C. Oatley, W. Nixon, y R. Pease, "Scanning electron microscopy", *Advances in Electronics and Electron*, 1966, Consultado: el 2 de agosto de 2016. [En línea]. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065253908610100>
- [140] V. N. Denisov *et al.*, "First-principles, UV Raman, X-ray diffraction and TEM study of the structure and lattice dynamics of the diamond–lonsdaleite system", *Diam Relat Mater*, vol. 20, núm. 7, pp. 951–953, jul. 2011, doi: 10.1016/j.diamond.2011.05.013.
- [141] W. Probst, G. Benner, J. Bihr, y E. Weimer, "An 'omega' energy filtering TEM - Principles and applications", *Advanced Materials*, vol. 5, núm. 4, pp. 297–300, 1993, doi: 10.1002/ADMA.19930050417.
- [142] D. B. Williams y C. B. Carter, "Transmission Electron Microscopy", 1996, doi: 10.1007/978-1-4757-2519-3.
- [143] M. Malac, S. Hettler, M. Hayashida, E. Kano, R. F. Egerton, y M. Beleggia, "Phase plates in the transmission electron microscope: operating principles and applications", *Microscopy*, vol. 70, núm. 1, pp. 75–115, feb. 2021, doi: 10.1093/jmicro/dfaa070.

- [144] J. Madsen y T. Susi, "The abTEM code: transmission electron microscopy from first principles", *Open Research Europe*, vol. 1, p. 24, may 2021, doi: 10.12688/openreseurope.13015.2.
- [145] E. Jeremy, "X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization", *Elsevier*, 2016, Consultado: el 4 de marzo de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081000403000043>
- [146] H. Khan, A. S. Yerramilli, A. D'Oliveira, T. L. Alford, D. C. Boffito, y G. S. Patience, "Experimental methods in chemical engineering: X-ray diffraction spectroscopy—XRD", *Canadian Journal of Chemical Engineering*, vol. 98, núm. 6, pp. 1255–1266, jun. 2020, doi: 10.1002/CJCE.23747.
- [147] M. Gumustas, C. T. Sengel-Turk, A. Gumustas, S. A. Ozkan, y B. Uslu, "Effect of Polymer-Based Nanoparticles on the Assay of Antimicrobial Drug Delivery Systems", *Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics*, pp. 67–108, ene. 2017, doi: 10.1016/B978-0-323-52725-5.00005-8.
- [148] L. R. B. Elton y D. F. Jackson, "X-Ray Diffraction and the Bragg Law", *Am J Phys*, vol. 34, núm. 11, pp. 1036–1038, nov. 1966, doi: 10.1119/1.1972439.
- [149] R. García, "Dynamic atomic force microscopy methods", *Surf Sci Rep*, vol. 47, núm. 6–8, pp. 197–301, sep. 2002, doi: 10.1016/S0167-5729(02)00077-8.
- [150] G. Meyer y N. M. Amer, "Novel optical approach to atomic force microscopy", *Appl Phys Lett*, vol. 53, núm. 12, pp. 1045–1047, 1988, doi: 10.1063/1.100061.
- [151] D. Rugar y P. Hansma, "Atomic force microscopy", *Phys Today*, vol. 10, pp. 23–30, 1990, Consultado: el 4 de marzo de 2023. [En línea]. Disponible en: [http://www.if.ufrj.br/~tclp/estadosolido/phystoday23\(90\).pdf](http://www.if.ufrj.br/~tclp/estadosolido/phystoday23(90).pdf)
- [152] S. K. Das, H. R. Pota, y I. R. Petersen, "Intelligent tracking control system for fast image scanning of atomic force microscopes", *Studies in Computational Intelligence*, vol. 581, pp. 351–391, 2015, doi: 10.1007/978-3-319-13132-0_14/COVER.
- [153] S. Foner, "Review of magnetometry", *IEEE Trans Magn*, vol. 17, núm. 6, pp. 3358–3363, nov. 1981, doi: 10.1109/TMAG.1981.1061748.
- [154] S. R. Hoon, "An inexpensive, sensitive vibrating sample magnetometer", *Eur J Phys*, vol. 4, núm. 2, pp. 61–67, abr. 1983, doi: 10.1088/0143-0807/4/2/001.
- [155] B. Kirupakar, B. Vishwanath, M. S. Anal, y Deenadayalan, "Vibrating sample magnetometer and its application in characterisation of magnetic property of the anti cancer drug magnetic microspheres", *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, vol. 4, núm. 5, pp. 227–233, 2016, Consultado: el 25 de abril de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.ijpda.com/index.php/journal/article/view/223>

- [156] Instituto Potosino de investigación científica y tecnología, “Sistema de Medición de Propiedades Físicas”, 2017. http://www.linan-ipicyt.mx/Sistema_de_medicion.html (consultado el 25 de abril de 2023).
- [157] X.-F. Zhang y X. Li, “The photostability and fluorescence properties of diphenylisobenzofuran”, *J Lumin*, vol. 131, núm. 11, pp. 2263–2266, nov. 2011, doi: 10.1016/j.jlumin.2011.05.048.
- [158] C. Cunha *et al.*, “Hybrid composites made of multiwalled carbon nanotubes functionalized with Fe₃O₄ nanoparticles for tissue engineering applications”, *Nanotechnology*, vol. 23, núm. 46, p. 465102, nov. 2012, doi: 10.1088/0957-4484/23/46/465102.
- [159] F. Abrinaei, S. Kimiagar, y S. Zolghadr, “Hydrothermal synthesis of hematite-GO nanocomposites at different GO contents and potential application in nonlinear optics”, *Opt Mater (Amst)*, vol. 96, p. 109285, oct. 2019, doi: 10.1016/j.optmat.2019.109285.
- [160] M. S. Al-Ruqeishi *et al.*, “Graphene Oxide Synthesis: Optimizing the Hummers and Marcano Methods”, *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, vol. 12, pp. 88–95, 2020, doi: 10.1166/nnl.2020.3074.
- [161] G. Santoro y C. Domingo, “Espectroscopía Raman de nanotubos de carbono”, 2007, Consultado: el 17 de julio de 2016. [En línea]. Disponible en: <http://digital.csic.es/handle/10261/4146>
- [162] M. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, y A. Jorio, “Raman spectroscopy of carbon nanotubes”, *Phys Rep*, 2005, Consultado: el 22 de julio de 2016. [En línea]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0370157304004570>
- [163] Z. Marković *et al.*, “Comparative study on modification of single wall carbon nanotubes by sodium dodecylbenzene sulfonate and melamine sulfonate superplasticiser”, *Appl Surf Sci*, vol. 255, núm. 12, pp. 6359–6366, abr. 2009, doi: 10.1016/j.apsusc.2009.02.016.
- [164] J. Z. L. Bokobza, “Raman spectroscopic characterization of multiwall carbon nanotubes and of composites”, *Express Polym Lett*, vol. 6, núm. 7, pp. 601–608, 2012, doi: 10.3144/expresspolymlett.2012.63.
- [165] M. A. G. Soler y F. Qu, “Raman spectroscopy of iron oxide nanoparticles”, *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, vol. 9783642206207, pp. 379–416, mar. 2012, doi: 10.1007/978-3-642-20620-7_14.
- [166] L. G. Cançado *et al.*, “Quantifying defects in graphene via Raman spectroscopy at different excitation energies”, *Nano Lett*, vol. 11, núm. 8, pp. 3190–3196, ago. 2011, doi: 10.1021/nl201432g.

- [167] S. Muhammad Hafiz *et al.*, “A practical carbon dioxide gas sensor using room-temperature hydrogen plasma reduced graphene oxide”, *Sens Actuators B Chem*, vol. 193, pp. 692–700, mar. 2014, doi: 10.1016/j.snb.2013.12.017.
- [168] S. Ramirez *et al.*, “Thermal and magnetic properties of nanostructured densified ferrimagnetic composites with graphene - graphite fillers”, *JMADE*, vol. 118, pp. 75–80, 2017, doi: 10.1016/j.matdes.2017.01.018.
- [169] M. Satheesh, A. R. Paloly, C. K. Krishna Sagar, K. G. Suresh, y M. J. Bushiri, “Improved Coercivity of Solvothermally Grown Hematite (α -Fe₂O₃) and Hematite/Graphene Oxide Nanocomposites (α -Fe₂O₃/GO) at Low Temperature”, *Physica Status Solidi (A) Applications and Materials Science*, vol. 215, núm. 2, p. 1700705, ene. 2018, doi: 10.1002/pssa.201700705.
- [170] E. P. Sajitha, V. Prasad, S. v. Subramanyam, A. K. Mishra, S. Sarkar, y C. Bansal, “Size-dependent magnetic properties of iron carbide nanoparticles embedded in a carbon matrix”, *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 19, núm. 4, p. 046214, ene. 2007, doi: 10.1088/0953-8984/19/4/046214.
- [171] K. Lipert, J. Kazmierczak, I. Pelech, U. Narkiewicz, A. Slawska-Waniewska, y H. K. Lachowicz, “Magnetic properties of cementite (Fe₃C) nanoparticle agglomerates in a carbon matrix”, *MATERIALS SCIENCE-WROCLAW-*, vol. 25, núm. 2, p. 399, 2007.
- [172] R. Grössinger, “Correlation between the inhomogeneity and the magnetic anisotropy in polycrystalline ferromagnetic materials”, *J Magn Magn Mater*, vol. 28, núm. 1–2, pp. 137–142, 1982, doi: 10.1016/0304-8853(82)90037-3.
- [173] H. Hauser, D. C. Jiles, Y. Melikhov, L. Li, y R. Grössinger, “An approach to modeling the dependence of magnetization on magnetic field in the high field regime”, *J Magn Magn Mater*, vol. 300, núm. 2, pp. 273–283, may 2006, doi: 10.1016/J.JMMM.2005.05.017.
- [174] X. Battle, M. García Del Muro, J. Tejada, H. Pfeiffer, P. Görnert, y E. Sinn, “Magnetic study of M-type doped barium ferrite nanocrystalline powders”, *J Appl Phys*, vol. 74, núm. 5, pp. 3333–3340, 1993, doi: 10.1063/1.354558.
- [175] R. H. Kodama, “Magnetic nanoparticles”, *J Magn Magn Mater*, vol. 200, núm. 1–3, pp. 359–372, 1999, doi: 10.1016/S0304-8853(99)00347-9.
- [176] D. Zhang, K. Klabunde, C. Sorensen, y G. Hadjipanayis, “Magnetization temperature dependence in iron nanoparticles”, *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys*, vol. 58, núm. 21, pp. 14167–14170, 1998, doi: 10.1103/PHYSREVB.58.14167.
- [177] G. Xiao y C. L. Chien, “Temperature dependence of spontaneous magnetization of ultrafine Fe particles in Fe-SiO₂ granular solids”, *J Appl Phys*, vol. 61, núm. 8, pp. 3308–3310, 1987, doi: 10.1063/1.338891.

- [178] M. P. Romero, N. R. S. Gobo, K. T. de Oliveira, Y. Yamamoto, O. A. Serra, y S. R. W. Louro, "Photophysical properties and photodynamic activity of a novel menthol–zinc phthalocyanine conjugate incorporated in micelles", *J Photochem Photobiol A Chem*, vol. 253, pp. 22–29, feb. 2013, doi: 10.1016/j.jphotochem.2012.12.009.
- [179] Y. H. Wang, X. Song, S. Shao, H. Zhong, y F. Lin, "An efficient, soluble, and recyclable multiwalled carbon nanotubes-supported TEMPO for oxidation of alcohols", *RSC Adv*, vol. 2, núm. 20, p. 7693, 2012, doi: 10.1039/c2ra21206d.
- [180] M. Bera, Chandravati, P. Gupta, y P. K. Maji, "Facile One-Pot Synthesis of Graphene Oxide by Sonication Assisted Mechanochemical Approach and Its Surface Chemistry", *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 18, núm. 2, pp. 902–912, sep. 2017, doi: 10.1166/JNN.2018.14306.
- [181] P. Chen, A. S. Marshall, S. H. Chi, X. Yin, J. W. Perry, y F. J. Clarke, "Luminescent Quadrupolar Borazine Oligomers: Synthesis, Photophysics, and Two-Photon Absorption Properties", *Chemistry - A European Journal*, vol. 21, núm. 50, pp. 18237–18247, dic. 2015, doi: 10.1002/chem.201502268.
- [182] H. Meier, J. Gerold, H. Kolshorn, y B. M. Hering, "Extension of Conjugation Leading to Bathochromic or Hypsochromic Effects in OPV Series", *Chemistry - A European Journal*, vol. 10, núm. 2, pp. 360–370, ene. 2004, doi: 10.1002/chem.200305447.
- [183] W. Wu, J. Shen, Z. Gai, K. Hong, P. Banerjee, y S. Zhou, "Multi-functional core-shell hybrid nanogels for pH-dependent magnetic manipulation, fluorescent pH-sensing, and drug delivery", *Biomaterials*, vol. 32, núm. 36, pp. 9876–9887, dic. 2011, doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.08.082.
- [184] W. Wu, J. Shen, P. Banerjee, y S. Zhou, "Core-shell hybrid nanogels for integration of optical temperature-sensing, targeted tumor cell imaging, and combined chemo-photothermal treatment", *Biomaterials*, vol. 31, núm. 29, pp. 7555–7566, oct. 2010, doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.06.030.
- [185] A. Sánchez-Iglesias *et al.*, "Synthesis of multifunctional composite microgels via in situ Ni growth on pNIPAM-coated Au nanoparticles", *ACS Nano*, vol. 3, núm. 10, pp. 3184–3190, oct. 2009, doi: 10.1021/nn9006169.
- [186] B. Begines *et al.*, "Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery: Recent Developments and Future Prospects", *Nanomaterials*, vol. 10, núm. 7, pp. 1–41, jul. 2020, doi: 10.3390/NANO10071403.
- [187] X. Dong, Z. Sun, X. Wang, y X. Leng, "An innovative MWCNTs/DOX/TC nanosystem for chemo-photothermal combination therapy of cancer", *Nanomedicine*, vol. 13, núm. 7, pp. 2271–2280, oct. 2017, doi: 10.1016/J.NANO.2017.07.002.

- [188] J. H. Lim, D. E. Kim, E.-J. Kim, C. D. Ahrberg, y B. G. Chung, “Functional Graphene Oxide-Based Nanosheets for Photothermal Therapy”, *Macromolecular Research* 2018 26:6, vol. 26, núm. 6, pp. 557–565, feb. 2018, doi: 10.1007/S13233-018-6067-3.
- [189] A. A. Tager, A. P. Safronov, S. v. Sharina, y I. Y. Galaev, “Thermodynamic study of poly(N-vinyl caprolactam) hydration at temperatures close to lower critical solution temperature”, *Colloid and Polymer Science* 1993 271:9, vol. 271, núm. 9, pp. 868–872, sep. 1993, doi: 10.1007/BF00652769.
- [190] Y. Kou *et al.*, “Thermal analysis and heat capacity study of polyethylene glycol (PEG) phase change materials for thermal energy storage applications”, *J Chem Thermodyn*, vol. 128, pp. 259–274, ene. 2019, doi: 10.1016/J.JCT.2018.08.031.
- [191] X. T. Cao, A. M. Showkat, I. Kang, Y. S. Gal, y K. T. Lim, “Beta-Cyclodextrin Multi-Conjugated Magnetic Graphene Oxide as a Nano-Adsorbent for Methylene Blue Removal”, *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 16, núm. 2, pp. 1521–1525, feb. 2016, doi: 10.1166/JNN.2016.11987.
- [192] A. Amiri, M. Baghayeri, y M. Sedighi, “Magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using a graphene oxide/Fe₃O₄@polystyrene nanocomposite”, *Microchimica Acta*, vol. 185, núm. 8, pp. 1–9, ago. 2018, doi: 10.1007/S00604-018-2928-X/TABLES/3.
- [193] S. Yougbaré *et al.*, “Nanomaterials for the Photothermal Killing of Bacteria”, *Nanomaterials* 2020, Vol. 10, Page 1123, vol. 10, núm. 6, p. 1123, jun. 2020, doi: 10.3390/NANO10061123.
- [194] G. Ma, J. Qi, Q. Cui, X. Bao, D. Gao, y C. Xing, “Graphene Oxide Composite for Selective Recognition, Capturing, Photothermal Killing of Bacteria over Mammalian Cells”, *Polymers* 2020, Vol. 12, Page 1116, vol. 12, núm. 5, p. 1116, may 2020, doi: 10.3390/POLYM12051116.
- [195] Z. Liu, X. Zhao, B. Yu, N. Zhao, C. Zhang, y F. J. Xu, “Rough Carbon-Iron Oxide Nanohybrids for Near-Infrared-II Light-Responsive Synergistic Antibacterial Therapy”, *ACS Nano*, vol. 15, núm. 4, pp. 7482–7490, abr. 2021, doi: 10.1021/ACSANO.1C00894/SUPPL_FILE/NN1C00894_SI_001.PDF.
- [196] K. Donadel, M. D. V. Felisberto, V. T. Fávere, M. Rigoni, N. J. Batistela, y M. C. M. Laranjeira, “Synthesis and characterization of the iron oxide magnetic particles coated with chitosan biopolymer”, *Materials Science and Engineering: C*, vol. 28, núm. 4, pp. 509–514, may 2008, doi: 10.1016/J.MSEC.2007.06.004.

- [197] J. Qu, G. Liu, Y. Wang, y R. Hong, "Preparation of Fe₃O₄-chitosan nanoparticles used for hyperthermia", *Advanced Powder Technology*, vol. 21, núm. 4, pp. 461–467, jul. 2010, doi: 10.1016/J.APT.2010.01.008.
- [198] P. Huang, J. Lin, D. Yang, C. Zhang, Z. Li, y D. Cui, "Photosensitizer-loaded dendrimer-modified multi-walled carbon nanotubes for photodynamic therapy.", *J Control Release*, pp. e33-4, nov. 2011, doi: 10.1016/j.jconrel.2011.08.105.
- [199] D. Xiao, H. Qi, Y. Teng, D. Pierre, P. T. Kutoka, y D. Liu, "Advances and Challenges of Fluorescent Nanomaterials for Synthesis and Biomedical Applications", *Nanoscale Res Lett*, vol. 16, núm. 1, pp. 1–23, nov. 2021, doi: 10.1186/S11671-021-03613-Z/FIGURES/8.
- [200] Y. Ren *et al.*, "Photoresponsive Materials for Antibacterial Applications", *Cell Rep Phys Sci*, vol. 1, núm. 11, p. 100245, nov. 2020, doi: 10.1016/J.XCRP.2020.100245.
- [201] K. F. dos Santos *et al.*, "Fractal analysis and mathematical models for the investigation of photothermal inactivation of *Candida albicans* using carbon nanotubes", *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 180, pp. 393–400, ago. 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.05.002.
- [202] N. van Uden, P. Abranches, y C. Cabeça-Silva, "Temperature functions of thermal death in yeasts and their relation to the maximum temperature for growth", *Arch Mikrobiol*, vol. 61, núm. 4, pp. 381–393, dic. 1968, doi: 10.1007/BF00409674/METRICS.
- [203] H. M. C. Put, J. De Jong, F. E. M. J. Sand, y A. M. Van Grinsven, "Heat Resistance Studies on Yeast spp. Causing Spoilage in Soft Drinks", *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 40, núm. 2, pp. 135–152, abr. 1976, doi: 10.1111/J.1365-2672.1976.TB04162.X.
- [204] G. Gao, Y. W. Jiang, H. R. Jia, y F. G. Wu, "Near-infrared light-controllable on-demand antibiotics release using thermo-sensitive hydrogel-based drug reservoir for combating bacterial infection", *Biomaterials*, vol. 188, pp. 83–95, ene. 2019, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2018.09.045.
- [205] T. Yamamori y T. Yura, "Genetic control of heat-shock protein synthesis and its bearing on growth and thermal resistance in *Escherichia coli* K-12.", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 79, núm. 3, pp. 860–864, feb. 1982, doi: 10.1073/PNAS.79.3.860.
- [206] G. C. Walker y L. G. Harmon, "Thermal Resistance of *Staphylococcus aureus* in Milk, Whey, and Phosphate Buffer", *Appl Microbiol*, vol. 14, núm. 4, pp. 584–590, jul. 1966, doi: 10.1128/AM.14.4.584-590.1966.
- [207] L. Zhang, L. Hou, S. Zhang, X. Kou, R. Li, y S. Wang, "Mechanism of *S. aureus* ATCC 25923 in response to heat stress under different water activity and heating rates", *Food Control*, vol. 108, p. 106837, feb. 2020, doi: 10.1016/J.FOODCONT.2019.106837.

- [208] J. Kaur, D. A. Ledward, R. W. A. Park, y R. L. Robson, "Factors affecting the heat resistance of *Escherichia coli* O157 : H7", *Lett Appl Microbiol*, vol. 26, núm. 4, pp. 325–330, abr. 1998, doi: 10.1046/J.1472-765X.1998.00339.X.
- [209] H. J. ; H. ; Buzzá *et al.*, "Carbon-Based Materials in Photodynamic and Photothermal Therapies Applied to Tumor Destruction", *International Journal of Molecular Sciences 2022*, Vol. 23, Page 22, vol. 23, núm. 1, p. 22, dic. 2021, doi: 10.3390/IJMS23010022.
- [210] P. Mroz, A. Yaroslavsky, G. B. Kharkwal, y M. R. Hamblin, "Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer", *Cancers 2011*, Vol. 3, Pages 2516-2539, vol. 3, núm. 2, pp. 2516–2539, jun. 2011, doi: 10.3390/CANCERS3022516.
- [211] T. Mocan *et al.*, "Photothermal Treatment of Human Pancreatic Cancer Using PEGylated Multi-Walled Carbon Nanotubes Induces Apoptosis by Triggering Mitochondrial Membrane Depolarization Mechanism", *J Cancer*, vol. 5, núm. 8, p. 679, 2014, doi: 10.7150/JCA.9481.
- [212] M. Pérez-Hernández *et al.*, "Dissecting the molecular mechanism of apoptosis during photothermal therapy using gold nanoprisms", *ACS Nano*, vol. 9, núm. 1, pp. 52–61, ene. 2015, doi: 10.1021/NN505468V/SUPPL_FILE/NN505468V_SI_001.PDF.
- [213] P. Naserzadeh *et al.*, "Single-walled carbon nanotube, multi-walled carbon nanotube and Fe₂O₃ nanoparticles induced mitochondria mediated apoptosis in melanoma cells", <https://doi.org/10.1080/15569527.2017.1363227>, vol. 37, núm. 2, pp. 157–166, abr. 2017, doi: 10.1080/15569527.2017.1363227.
- [214] L. D. Dias, H. H. Buzzá, M. D. Stringasci, y V. S. Bagnato, "Recent Advances in Combined Photothermal and Photodynamic Therapies against Cancer Using Carbon Nanomaterial Platforms for In Vivo Studies", *Photochem 2021*, Vol. 1, Pages 434-447, vol. 1, núm. 3, pp. 434–447, oct. 2021, doi: 10.3390/PHOTOCHEM1030026.
- [215] Z. Liu, C. Davis, W. Cai, L. He, X. Chen, y H. Dai, "Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy", *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 105, núm. 5, pp. 1410–1415, feb. 2008, doi: 10.1073/PNAS.0707654105.
- [216] Q. Borjihan *et al.*, "Active iodine regulated in cow dung biochar-based hydrogel combined with PDT/PTT for MRSA infected wound therapy", *Mater Des*, vol. 231, p. 112051, jul. 2023, doi: 10.1016/J.MATDES.2023.112051.

ANEXOS

Anexo I: Figuras de estudios morfológicos de cada nanocompósito magnético.

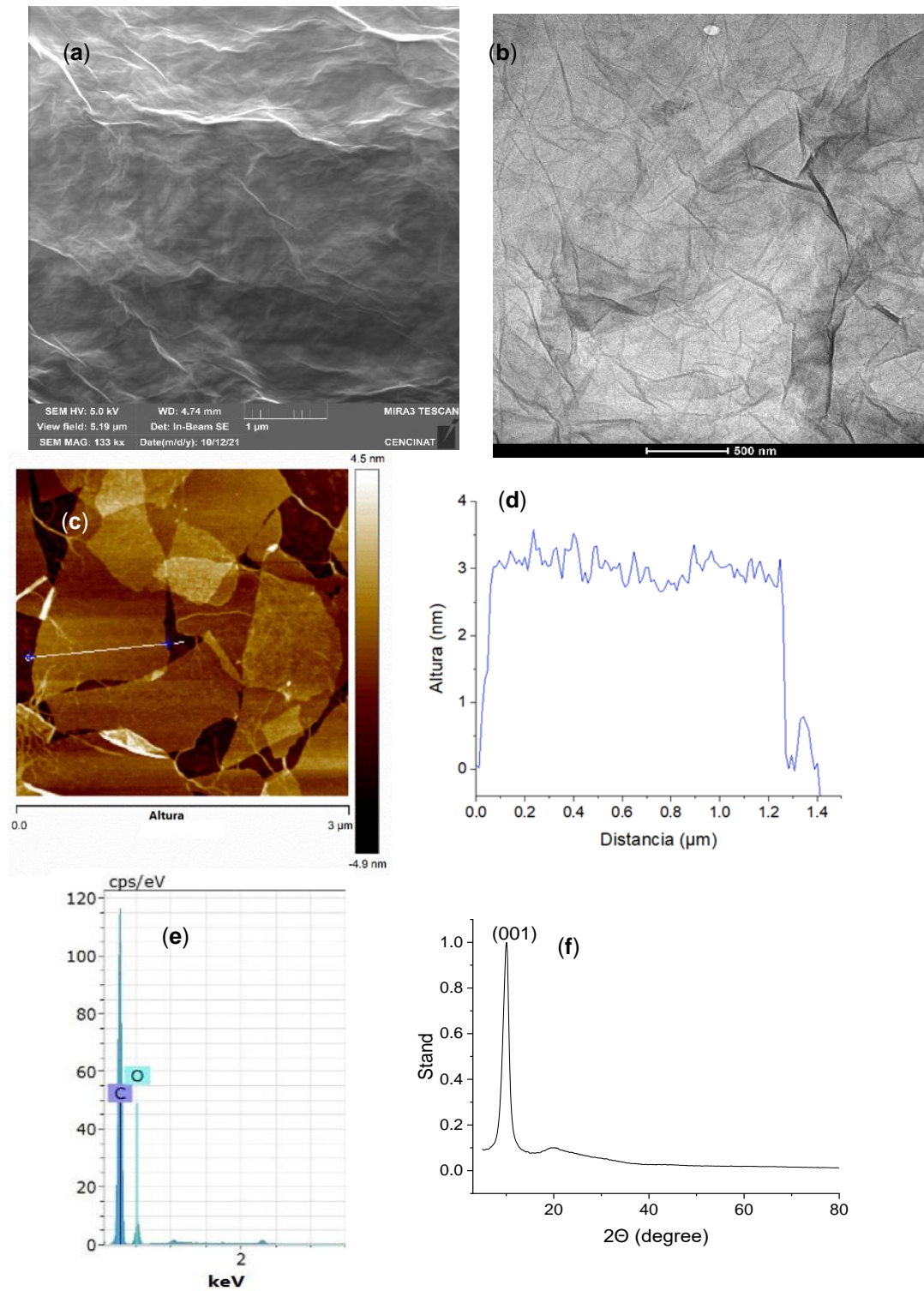
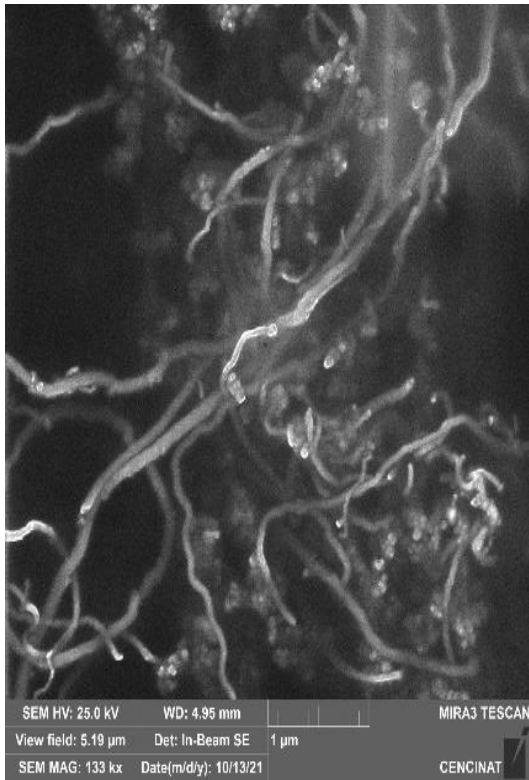
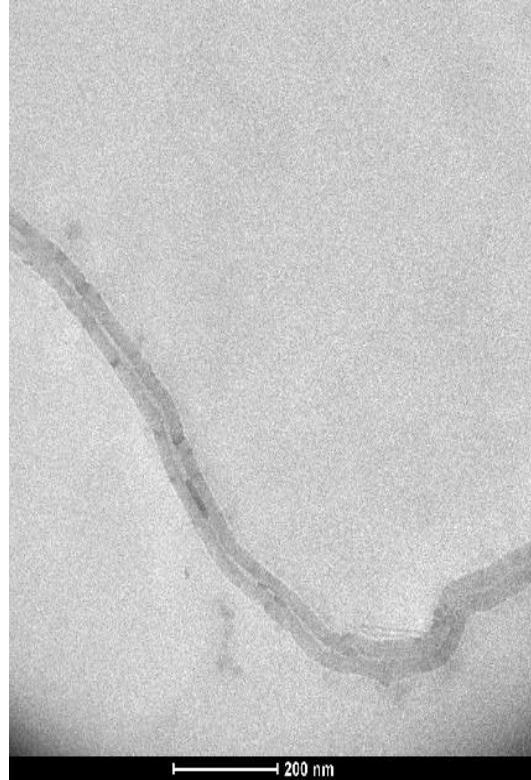


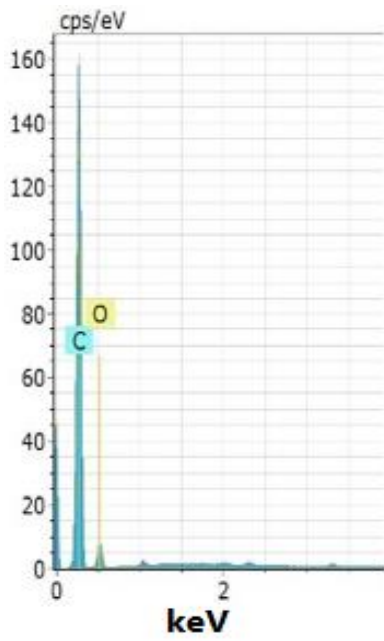
Figura I. 1. (a) Análisis SEM, (b) análisis TEM, (c) imagen de microscopía de fuerza atómica (AFM) (d) perfil de altura a lo largo de la línea del panel de GO (e) Análisis EDS y (f) XRD de GO.



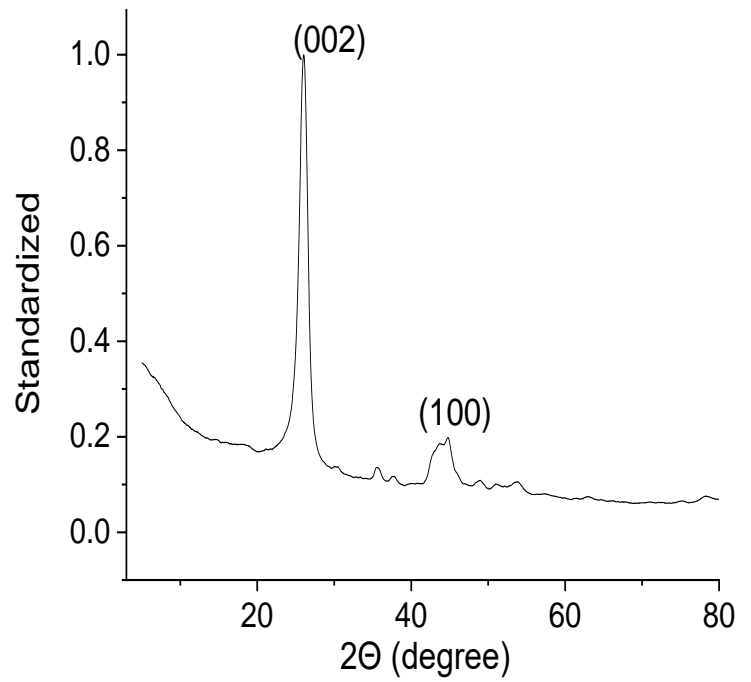
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura I. 2. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de MWCNTs.

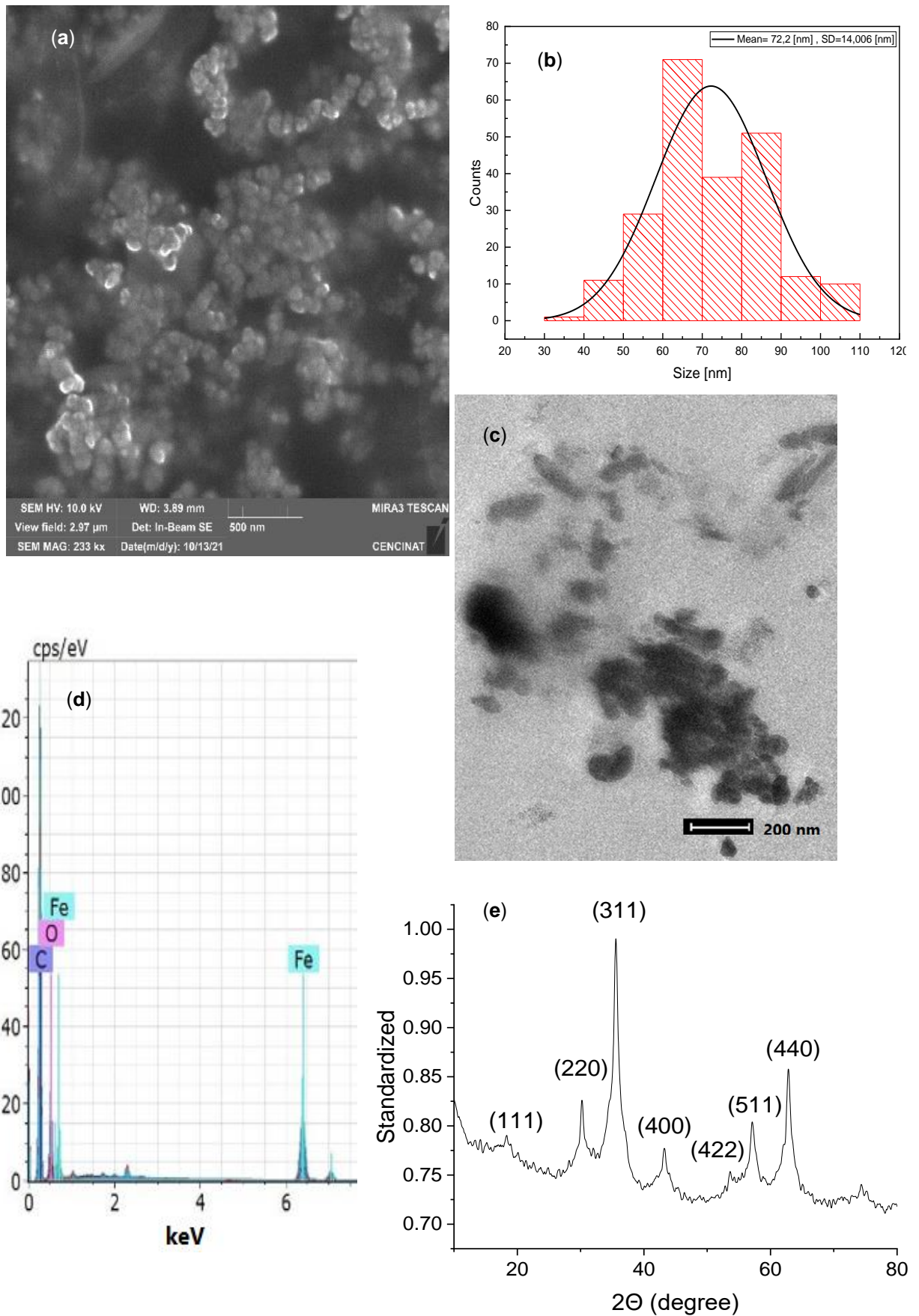
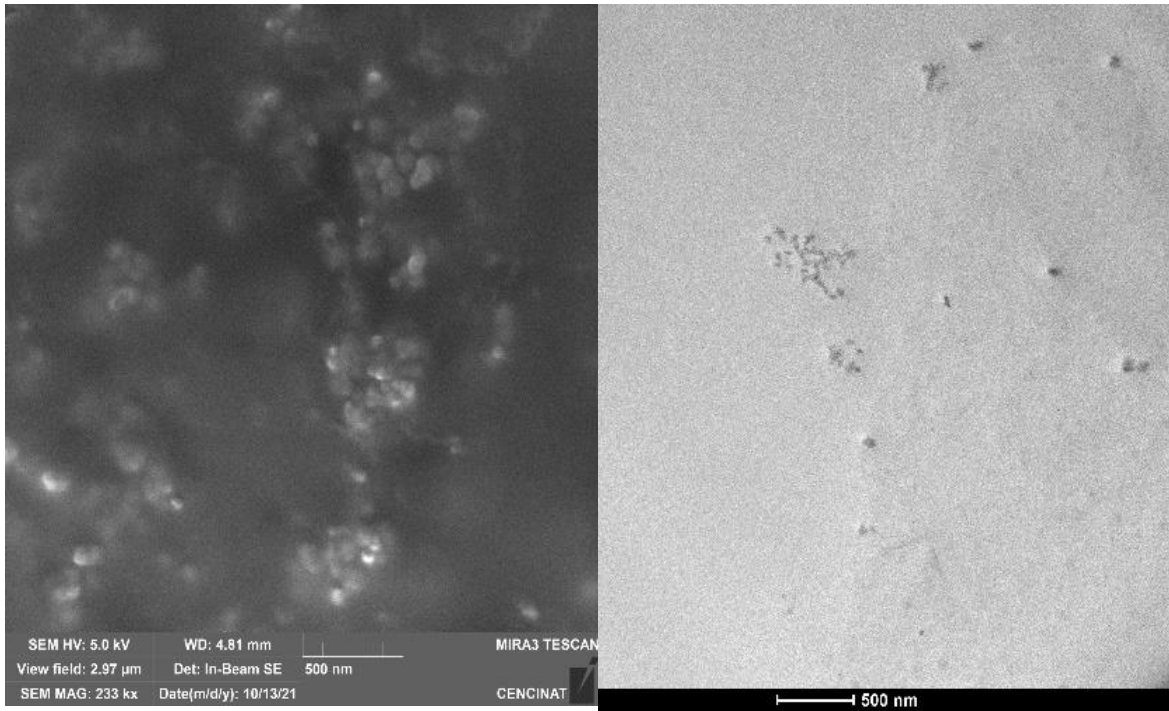
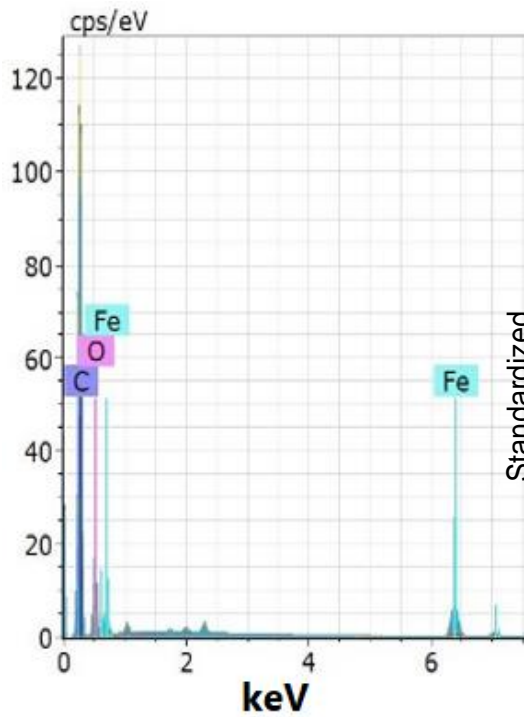


Figura I. 3. a) SEM, b) Distribución de tamaño, c) TEM, d) EDS y e) Análisis XRD de Fe-MNPs.

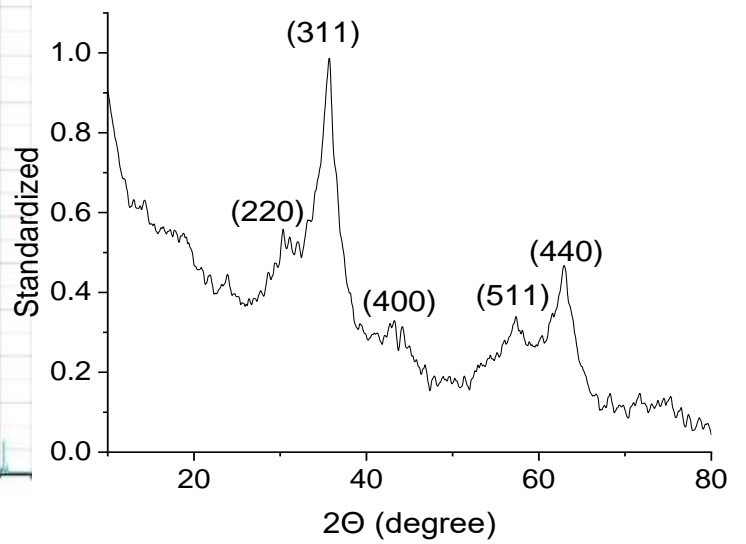


(a)

(b)

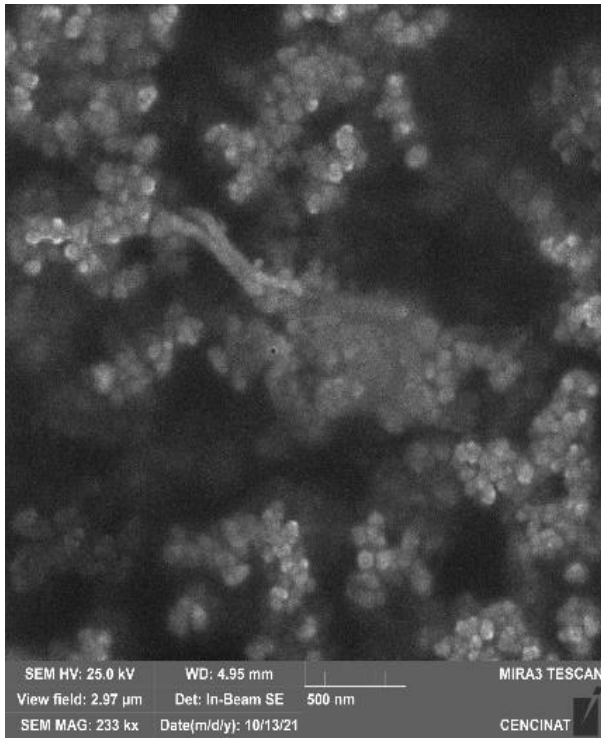


(c)



(d)

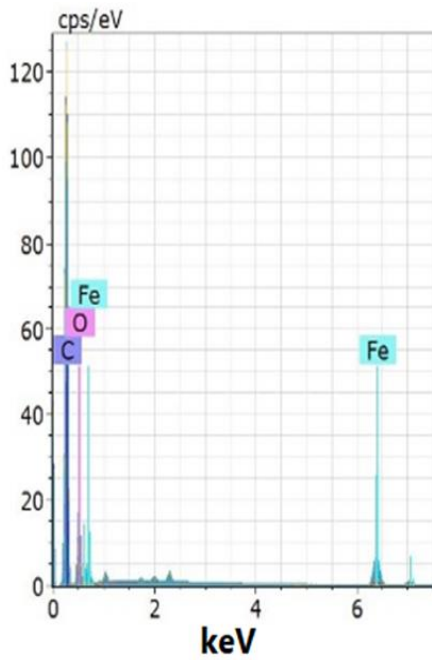
Figura I. 4. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de MNPs-GO.



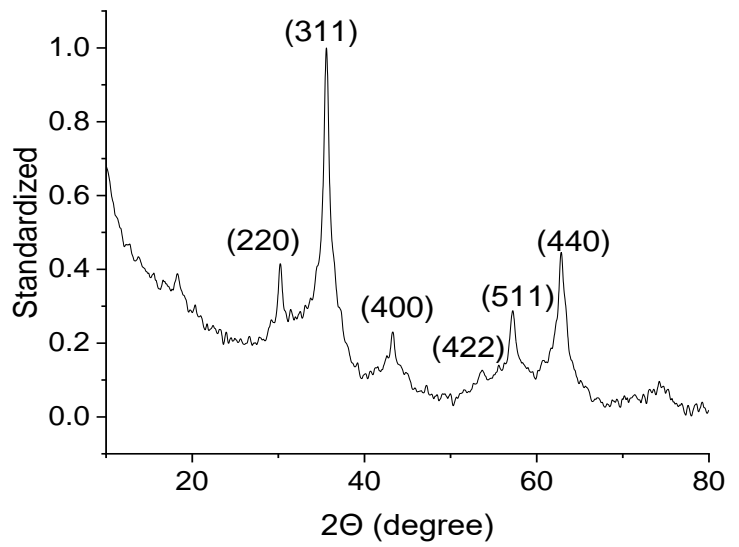
(a)



(b)

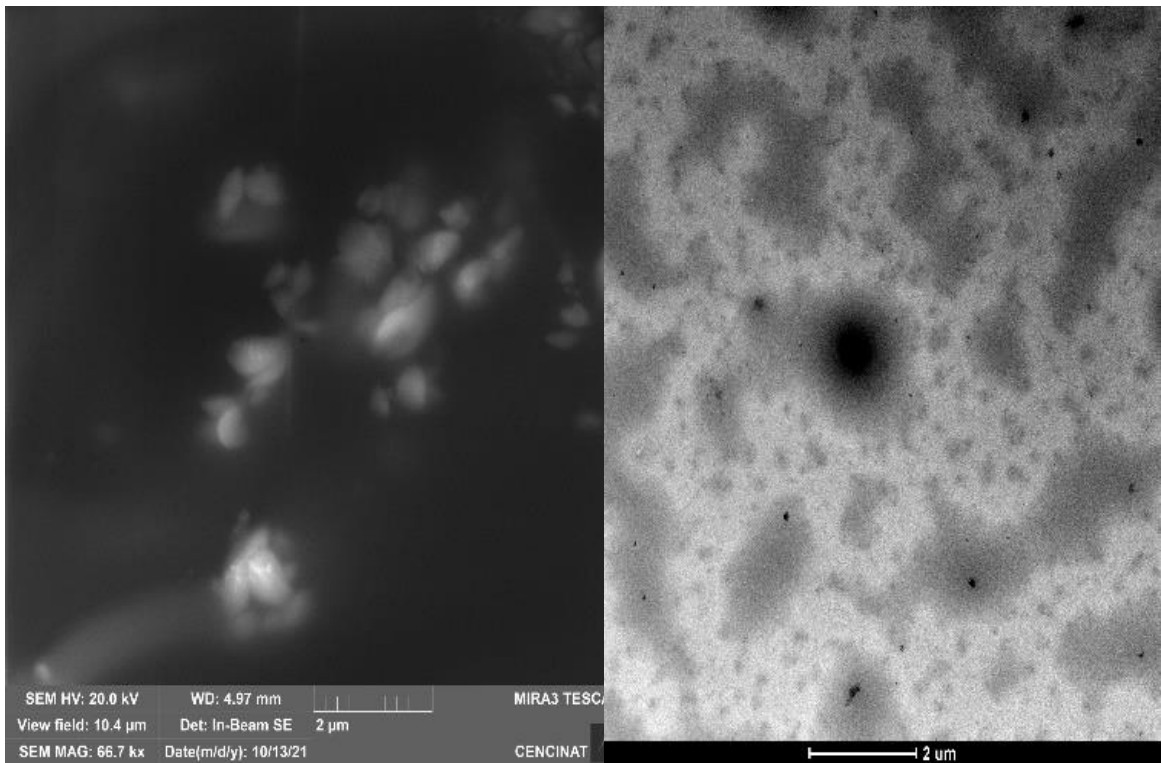


(c)



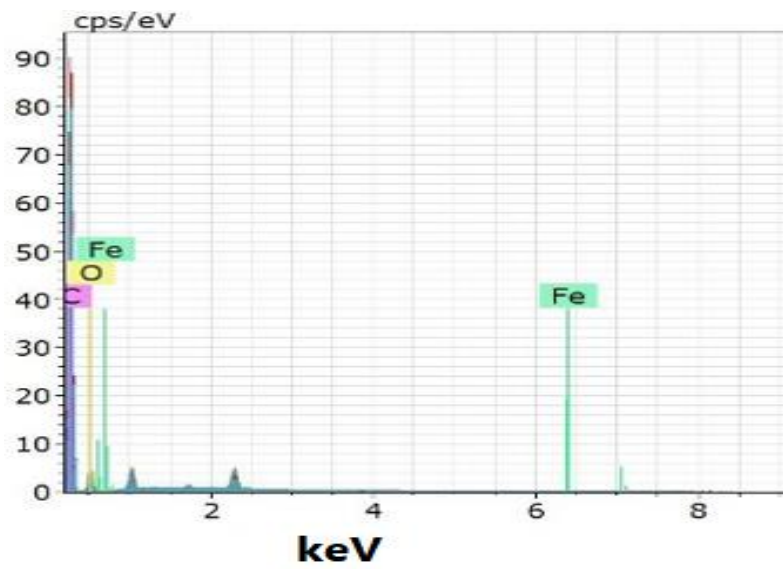
(d)

Figura I. 5. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de MNPs-MWCNTs.



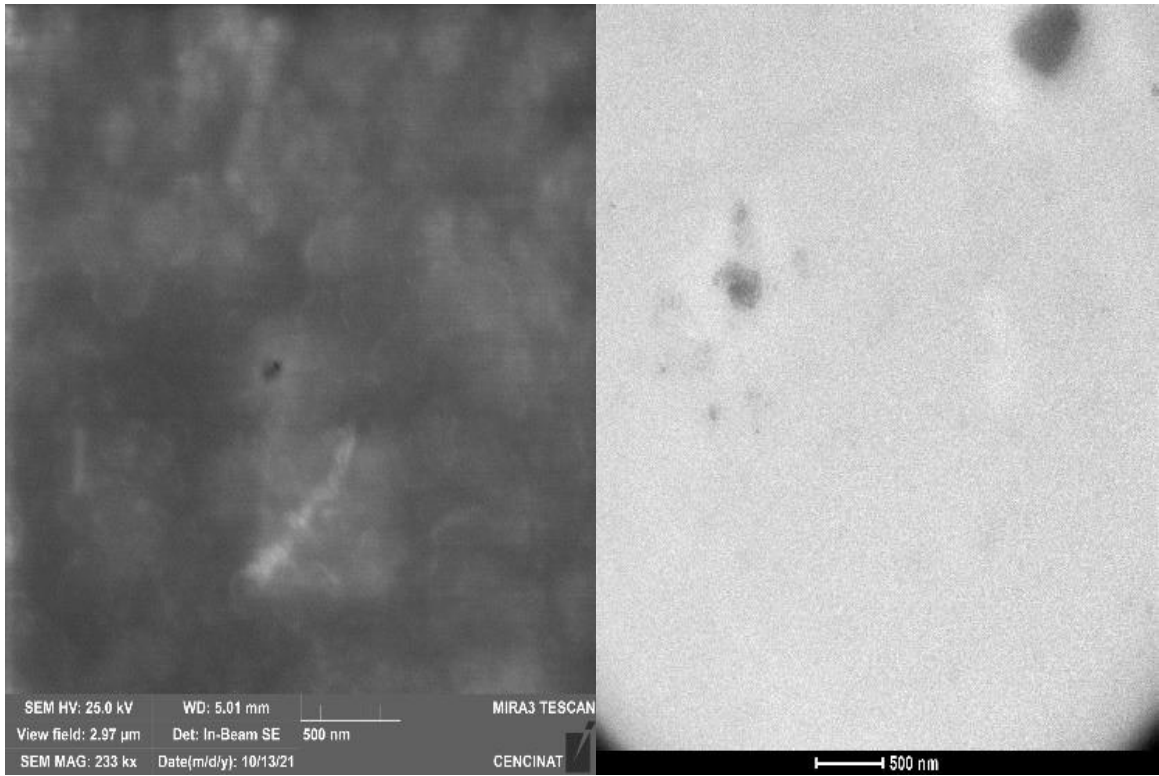
(a)

(b)



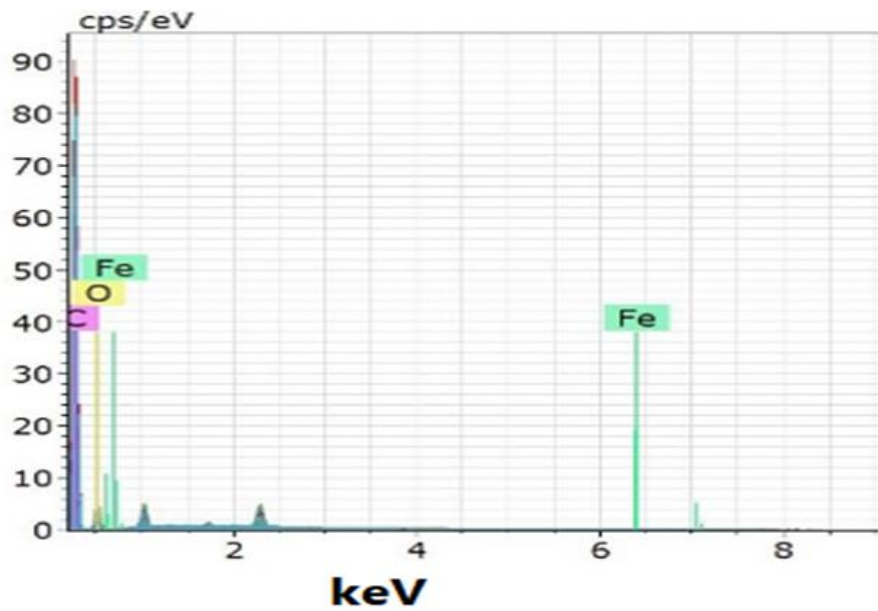
(c)

Figura I. 6. (a) SEM, (b) TEM, (c) Análisis EDS de VCL/PEGDA-MNPs-GO.



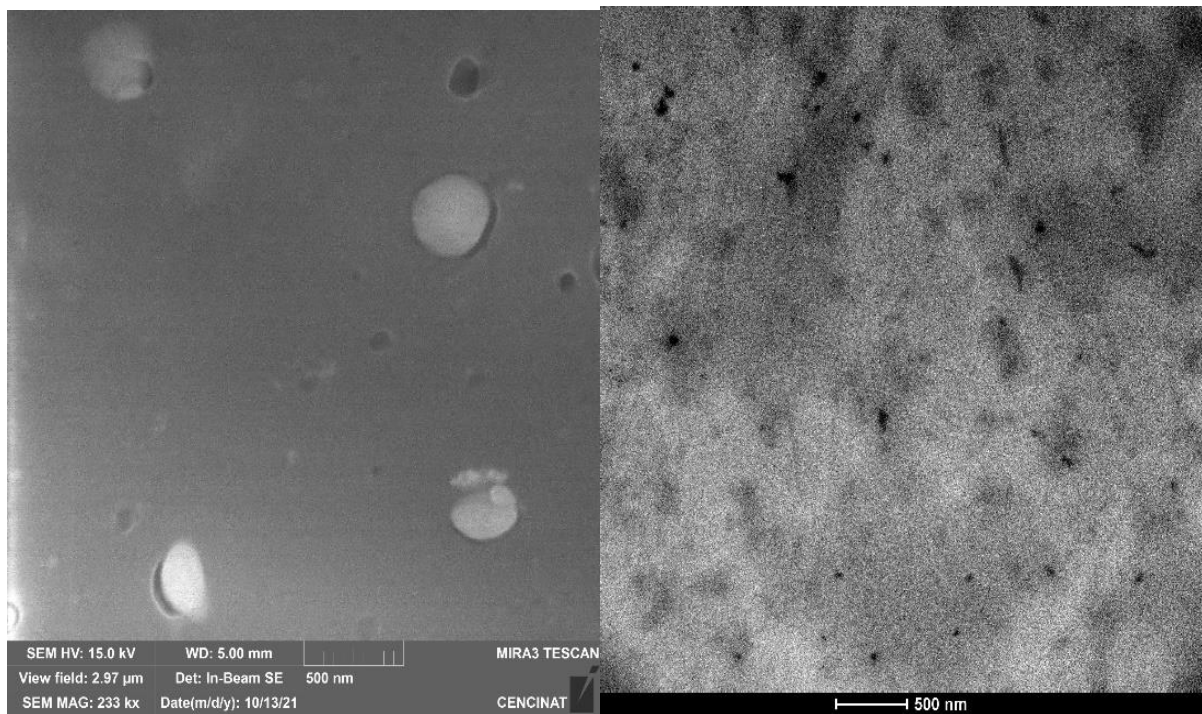
(a)

(b)



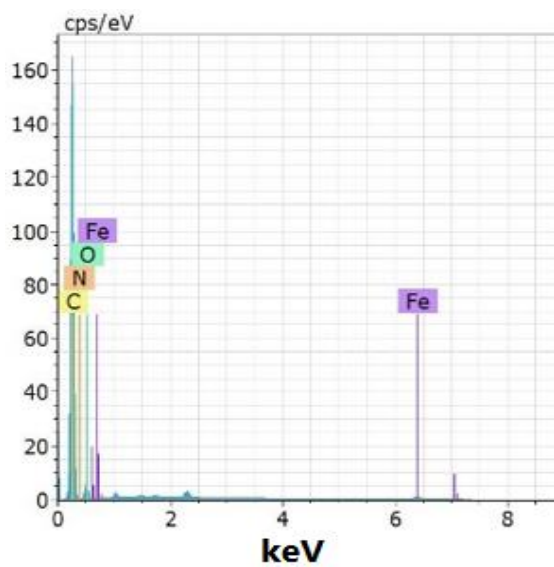
(c)

Figura I. 7. (a) SEM, (b) TEM, (c) Análisis EDS de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs.

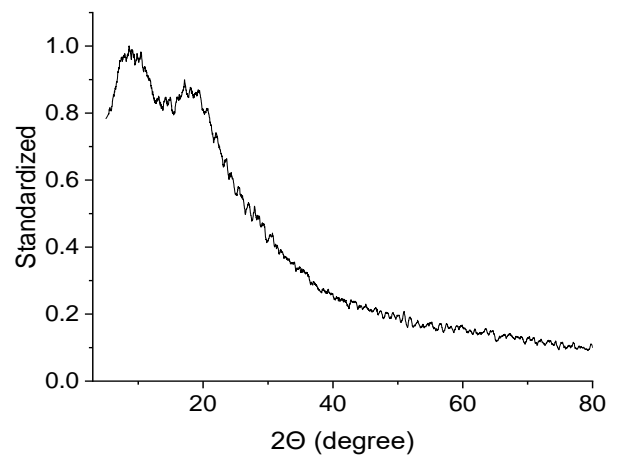


(a)

(b)

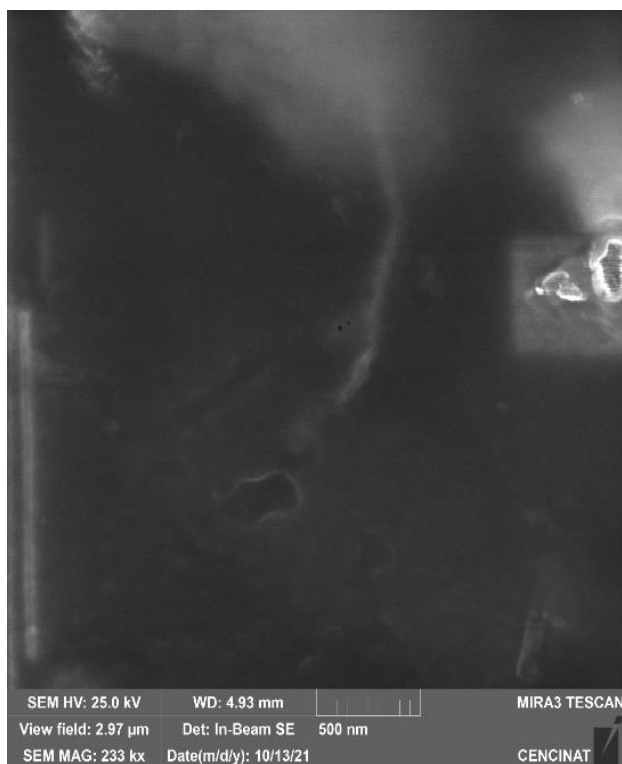


(c)

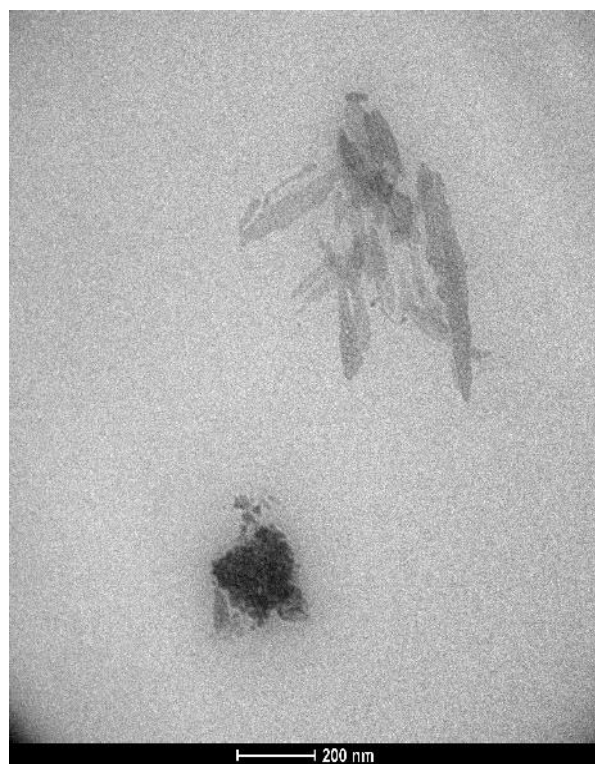


(d)

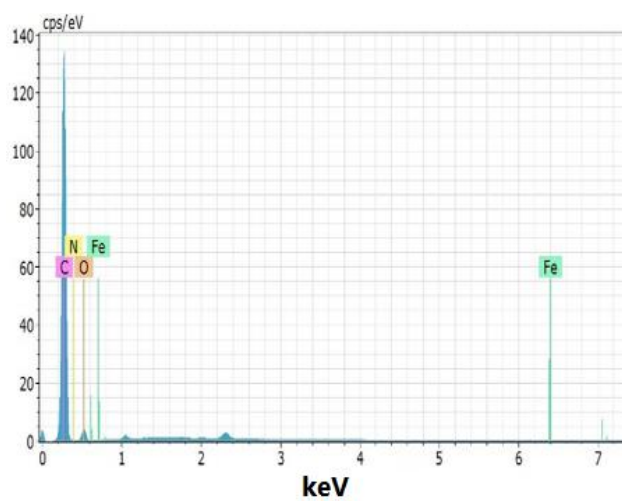
Figura I. 8. (a) SEM, (b) TEM, (c) EDS y (d) Análisis XRD de VCL/PEGDA-MNPs-GO-ZnMintPc.



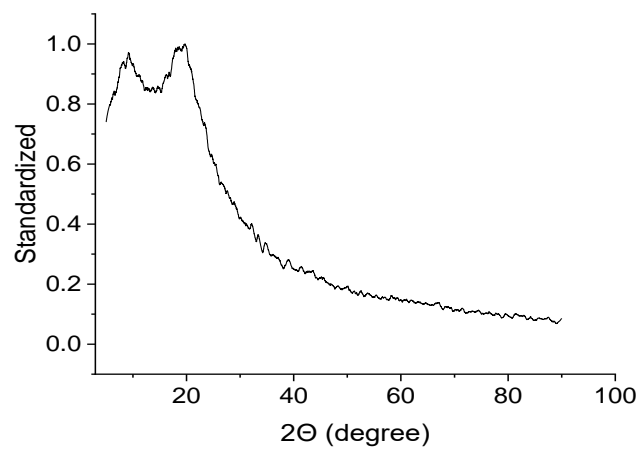
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura I. 9. a) SEM, b) TEM, c) EDS y d) Análisis XRD de VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc.