

Development of $\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$ (M = Co and Ga) nanomaterials for biomedical applications

Memory to qualify for the Degree of DOCTOR

Aplikazio biomedikoetan erabiltzeko $\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$ (M = Co eta Ga) nanomaterialen garapena

Doktore-gradua lortzeko memoria

Itziar Galarreta Rodriguez

2022

*Toda noche, por larga y sombría que parezca,
tiene su amanecer.*

William Shakespeare

AGRADECIMIENTOS

Y quien me diría a mí que unas mandarinas en la clase de Química de primero me podrían haber traído hasta aquí. No sé si ella se acordará, pero yo me acuerdo perfectamente de la bronca que me echó por comer en clase. Lo mejor de todo fue que terminamos compartiéndolas. Hace ya 11 años de aquello, pero jamás lo olvidaré.

Es imposible reflejar en pocas palabras mi agradecimiento a todos aquellos que han aportado su granito de arena para que este trabajo fuera posible. Me gustaría empezar dando las gracias a mis directoras de tesis, la Dra. Maite Insausti y la Dra. Idoia Ruiz de Larramendi por su paciencia, dedicación y apoyo en este largo proceso. Gracias por guiarme y ayudarme a poner los pies en la tierra, he aprendido muchísimo de vosotras, y no solo en lo académico, también en lo personal.

Junto a ellas quiero agradecer a todo el Departamento de Química Inorgánica la ayuda recibida, pero especialmente me gustaría darle las gracias a la Dra. Izaskun Gil de Muro y al Prof. Luis Lezama por su dedicación en las medidas experimentales de TEM y EPR sin las cuales esta tesis no podría haber salido adelante. Siguiendo con técnicas experimentales no puedo olvidarme del Dr. Iñaki Orue, señor que todo lo sabe y todo lo ve en el mundo del magnetismo. Aunque nuestros comienzos fueron duros, puesto que hablábamos lenguajes totalmente diferentes (no olvidemos que venía de estudiar árboles y plantitas), tuviste la paciencia y maestría de enseñarme todo lo que hasta ahora he aprendido en el “magnetomundo” con la mayor paciencia y sencillez posible. Mila esker por todo. Gracias también a todos los demás miembros de SGIker (Javier, Aitor, Juan Carlos, Belén...) que han colaborado en la realización de las medidas presentadas en esta tesis. También me gustaría agradecer a la Prof. Carmen Sanmartín, a la Dra. Ester Moreno, al Dr. Mikel Etxebeste y al Dr. Daniel Plano su colaboración con los fármacos derivados del selenio y toda la ayuda recibida en la realización de los ensayos de citotoxicidad de los nanosistemas funcionalizados con fármacos. Agradecer también a la Dra. Isabel García (CIC biomaGUNE) su colaboración en las medidas de MRI de las ferritas de galio.

Agradecerles a Oihane, Xabi e Imanol su paciencia conmigo cuando todavía no sabía ni utilizar una pipeta, teneros cerca fue lo mejor que me pudo pasar. Mila esker bihotz-bihotzez erakutsi zenidaten guztiagatik. También ha ido por toda su ayuda estos últimos años, ¡menos mal que apareciste! Agradecer esos ratitos de labo a Jon, Nekane, Mikel, Uxue, Ainhoa, Markel, Xabi... He de añadir que, los nuevos Watson y Crick, Pin y Pon, Bonnie and Clyde... también conocidos como Daniela y Ander me vais a dejar a la altura del barro, seguid así. También agradecer a la Dra. Irati Rodrigo por su ayuda con las medidas de hipertermia y a la Dra Lourdes Markano por su colaboración con las medidas de XANES. Y no puedo olvidarme de Borja y Jorge, gracias por vuestra ayuda y por esos cafés que tanta falta nos hacían.

Así mismo, me gustaría agradecer al Prof. Wolfgang Parak y la Dra. Neus Feliu su acogida, ayuda y apoyo durante mi estancia en el Center for Hybrid Nanostructures de Hamburgo. Together with them I cannot forget Saad Yahia, my guide during the intense three months that we were trying to make the impossible possible, and in the end, we succeeded! Thank you for your patience, I know that my impatience was sometimes excessive, and you knew how to cheer me up when I saw everything black. Tampoco puedo olvidarme de Haiko, el que me acogió desde el principio sorprendiéndome con su fluidez hablando castellano, gracias por todas esas conversaciones entre experimentos. Pero, sobre todo, quiero darles las gracias a mis chicos: Raúl, Carlos y Alberto. Desde el mismo momento en el que llegué hicisteis que me sintiera como en casa cuando estaba a casi dos mil kilómetros del pueblo libre al otro lado del muro, sin vosotros nada hubiera sido igual.

No puedo terminar sin darles gracias a todas y todos mis amigos, que me habéis aguantado durante esta época tan intensa de mi vida. Especialmente a Laura, la que siempre está ahí para todo, en cualquier momento y sin preguntas, al pie del cañón, aunque todo nuestro universo se esté derrumbando. Muchísimas gracias por estar siempre ahí. ¡Lasai Ur que ahora voy contigo! Urtsule, oh Urtsule... Apareció como un torbellino, se suponía que a hacer el TFG, me ganaba en impaciencia y nervios y su intensidad me abrumaba, éramos blanco y negro... Pero supimos complementarnos y terminó siendo uno mis principales pilares en Bilbo. No hay palabras que expresen todo lo agradecida que estoy de que aparecieras en uno de los peores momentos de mi vida. Y como alguien que yo sé dijo una vez: *Contigo cualquier batalla es como un campo de rosas*. Oli, mila esker por todos esos momenticos, deberían de haber sido más, pero los crearemos. Y no puedo olvidarme de Dorle, el ángel de la guarda que siempre aparece cuando menos lo espero, pero más lo necesito, a la que tanto admiro, te debo un par de birras todavía.... También un huequito para Mónica y Marco y las eternas conversaciones en la cocina y las correcciones de idazlanaz a las tantas de la mañana. No me puedo dejar a mis chicas de Iruña... Especialmente a Garazi, por esos ratos en Orozko que me hacían volver al mundo real... El día que os dije que empezaba este viaje flipasteis, pero al final parece que se va acabando. Mila esker por amenizarme el camino. Y, por último, pero no menos importantes, al "escuadrón del lento": Laura, Eneko, Lucía y Alberto... Esta última recta final no podría haber sido en mejor compañía. Laura, pillá el alcohol, creo que podemos ir borrando lo de Dñas...

Finalmente, dar las gracias a mis padres. Creo que os he dicho más de una vez que la cabezonería es mía, pero el esfuerzo y sacrificio me lo habéis transmitido vosotros. Gracias por enseñarme tanto... y aguantarme. También a la familia, la que no ha dejado de dar ánimos tanto en los buenos como en los malos momentos. Pero sobre todo gracias a ti. Apareciste de la nada cuando menos me lo esperaba y revolucionaste todo mi mundo. Cambiaste las lágrimas por sonrisas y convertiste los problemas en retos haciendo que saliera el sol en los días más oscuros. Muchísimas gracias, Dani, gracias por enseñarme que cada minuto en esta vida cuenta.

LABURPENA

Minbizia bezalako gaixotasunak tratatzeko eta detektatzeko egungo terapien espezifikotasun baxuak, neurri handi batean, gaixotasun hauek sendatzeko oztopo nagusiak dira. Ondorioz, gaur egun horrelako gaixotasunak tratatzeko erabiltzen diren farmakoen dosiak behar baino askoz handiagoak dira, bigarren mailako ondorio akutuak eragin diezaiokeena pazienteei.

Gaur egun erabiltzen diren terapiak hobetzeko eta tratamendu horien albo-ondorioak gutxitzeko, nanopartikula magnetikoak alternatiba on gisa agertu dira. Lehenik eta behin, nanopartikula magnetikoak berariaz funtzionalizatu daitezke farmakoekin gaixotasun eta pertsona bakoitzak dituen beharrak asetuz. Modu honetan, eraikitako nanosistema tratamendu eremura eraman eta normalean erabiltzen diren neurritz gorako farmako dosiek eragin dezaketen albo-ondorioak murriztu daitezke. Horrekin batera, nanopartikula mota honek dituen propietate magnetikoei esker, eremu magnetiko alterno baten eraginpean beroa sortzeko gaitasuna dute. Honek, hipertermia magnetikoan erabiltzeko aukera eskaintzen du. Horrela, minbizi-zelulek zelula osasuntsuek baino termosentsibilitate handiagoa dutenez, tumore-eremuetan nanopartikulak kokatuz minbizi-zelulen heriotza espezifiko eragin daiteke. Era berean, erresonantzia magnetikoko irudien kontrastea hobetu dezakete, giza gorputzaren hidrogeno-nukleoekin duten interakzioari esker.

Hein honetan, aipatu berri diren biomedikuntzaren hiru eremu horietan nanopartikulak erabili ahal izateko, propietate egokienak dituzten materialak lortu behar dira. Horren ondorioz, tesi hau Co^{+2} eta Ga^{+3} katioiekin dopatutako ferritetan ($\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$) oinarritutako materialen sintesian eta karakterizazioan oinarritzen da, bai eta Fe_3O_4 nanopartikuletan ere. Alde batetik, kobaltoak nanopartikula magnetikoen espinela egituraren sartzekoan, nanopartikulen anisotropia magnetikoaren balioak nabarmen handitzen ditu, nanosistemen propietateak hobetu ditzakeena hipertermia magnetikoan aplikatzeko. Bestalde, bilaketa bibliografiko sakon baten ondoren, galioarekin aberastutako ferriten propietateetan sakontzea erabaki da. Galio-ferriten informazio eskasiaren eta galioan oinarritutako materialen izaera erdieroalearen ondorioz, $\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ laginen sintesia burutu da, irudiaren erresonantzia magnetikoko

kontraste-agente gisa aplika daitezkeenak. Azkenik, farmakoen garraioan eta hipertermia magnetikoan erabiltzeko propietate optimoak dituzten burdina(III) oxidoen nanopartikulak aurkitzeko helburuarekin, hainbat tamainatako Fe_3O_4 nanopartikulak sintetizatu dira.

Aipatu berri diren nanopartikula guztiak deskonposizio-termikoa deritzon sintesi-metodoa jarraituz sintetizatu dira, aitzindari organometalikoak irakite puntu altuko disolbatzaile organikoetan disolbatzean oinarritzen dena. Sintesi-metodo honetan, berebiziko garrantzia du hazkunde- eta nukleazio-faseak ondo bereizteak tamaina monosakabanatuak eta kristalinitate altuko nanopartikulen laginak lortzeko. Aipatu beharra dago, sintesi-metodo honen bidez lortutako laginak hidrofobikoak direnez, aplikazio biomedikoetan erabiltzeko beharrezkoa den izaera biobateragarria izan dezaten lan handia egin dela. Modu honetan, nanopartikulen funtzionalizazioan PMA eta PMAO polimero biobateragarriak erabili dira. Honekin batera, Nafarroako Unibertsitatearekin lankidetzan, farmako-garraiatzaileak diren nanosistemak garatu dira. Horretarako Fe_3O_4 nanopartikulak, leishmaniasiarekin eta koloneko minbiziaren aurkako aktiboak diren seleniodun farmakoez modifikatutako PMA polimeroarekin funtzionalizatu dira. Era berean, hipertermia magnetikoan aplikazio potentzialak dituzten nanosistemak ere garatu dira. Horretarako, gaur egun terapia enbolizatzaileetan erabiltzen diren mikrosferen azalera ligando positiboekin funtzionalizatutako nanopartikulak itsatsi dira.

Modu honetan, sintetizatutako laginen propietateak ezagutu ahal izateko, karakterizazio teknika desberdinak erabili dira. Alde batetik, nanopartikulen egitura kristalinoa identifikatzeko X izpien difrakzioa erabili da. Sortutako nanopartikulen tamaina eta morfologia transmisiozko mikroskopia elektronikoaren bidez aztertu da. Honekin batera, material magnetikoak direnez, karakterizazio magnetikoan lan sakona egin da. Karakterizazio magnetikoa, batez ere, lagin bibratzaileko magnetometroa, SQUID magnetometroa eta erresonantzia magnetiko elektronikoa erabiliz garatu da. Era berean, ioi metaliko desberdinekin dopatutako materialak sintetizatu direnez, induktiboki plasma akoplatua duten masen espektrometria ere erabili da lortutako materialen konposizioa ezagutzeko eta espero diren emaitza teorikoekin alderatzeko. Honekin batera, Ga^{+3} ioiekin sintetizatutako laginen kasuan, ioi metalikoek egituraren

duten posizioan sakontzeko, X izpien espektroskopia eta X izpien xurgapen bereizmen handiko teknikak erabili dira, lortutako nanomaterialen propietate magnetikoen azalpenean asko lagundu duena. Era berean, $\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ nanopartikulak irudiaren erresonantzia magnetikoan erabiltzeko helburuarekin garatu zirenez, lortutako laginetako batzuk erresonantzia magnetiko nuklearren bidez aztertu dira. Honekin batera, biobateragarriak eta ingurune urtsuan sakabanagarriak diren nanosistemak aurretik formulatutako terapietan aplikatu daitezkeen jakiteko, zitotoxikotasun-saiakuntzak burutu dira. Azkenik, nanopartikulez apaindutako mikrosferak gorputz barnean barreigarriak diren ikusteko in vivo experimentuak egin dira.

Laburbilduz, tesi honetan aplikazio biomedikoetara bideratutako hiru sistema nanoegituratu garatu dira. Propietate estrukturalak zein magnetikoek bideragarri egiten dituzte aplikazio horietarako, ez baitute toxikotasun handirik erakutsi egindako saiakuntzetan.

ABSTRACT

The low specificity of the various current therapies for the treatment and detection of diseases such as cancer are, to a large extent, the main obstacle to their reversal. Consequently, the doses currently used for the treatment of these types of diseases are much higher than necessary, which causes acute side effects in patients.

With the aim of improving these techniques and reducing the side effects of these treatments, magnetic nanoparticles have appeared as a good alternative in this field. First, magnetic nanoparticles can be specifically functionalized with drugs to be transported to the desired release zone, reducing side effects from excess drug. Along with this, thanks to their magnetic properties they have the ability to generate heat by magnetic hyperthermia when exposed to an alternating magnetic field. In this way, since cancer cells have a higher thermosensitivity than healthy cells, specific cell death can be caused in tumor areas. Likewise, they can also improve the contrast of Magnetic Resonance images thanks to their interaction with the hydrogen nuclei of the human body.

With the aim of being able to achieve materials with the optimal properties for their application in these three areas of biomedicine, this thesis focuses on the synthesis and characterization of materials based on ferrites ($M_xFe_{3-x}O_4$) doped with Co^{+2} cations. and Ga^{+3} , as well as in the Fe_3O_4 nanoparticles themselves. The main reason for the development of Co and Ga doped ferrites is based on the improvement of their magnetic properties. On the one hand, cobalt significantly increases the magnetic anisotropy values of nanoparticles, which can improve the properties of nanosystems to be applied in magnetic hyperthermia. On the other hand, after a thorough bibliographic search, it was decided to delve into the properties of ferrites doped with Ga. The paucity of information and the semiconductor nature of gallium-based materials resulted in the synthesis of various samples of $M_xFe_{3-x}O_4$ with potential applications as contrast agents in magnetic resonance imaging. Finally, with the aim of finding iron oxide nanoparticles with optimal properties to be used in drug transport and magnetic hyperthermia, nanoparticles of different sizes of Fe_3O_4 have been synthesized. All these nanoparticles have been synthesized following the thermal decomposition synthesis method, which is based on the dissolution of organometallic precursors in high-boiling solvents and

subsequent thermal treatment. In the latter, the separation of the growth and nucleation phases is of vital importance to obtain samples of monodisperse nanoparticles with high crystallinity. Given that the samples obtained by thermal decomposition are hydrophobic in nature, extensive work has been carried out on the biocompatibility of the samples by coating them with biocompatible polymers such as PMA and PMAO. In this way, through collaboration with the University of Navarra, functionalized Fe₃O₄ nanosystems have been developed with PMA polymer conjugated to drugs with selenium active against leishmaniasis and colon cancer. Likewise, nanosystems with potential applications in magnetic hyperthermia have also been developed by adhering functionalized nanoparticles with positive ligands to the surface of microspheres currently used in embolizing therapies.

In order to know the properties of the synthesized samples, the nanoparticles have been characterized by X-ray Diffraction to know their crystalline structure and Transmission Electron Microscopy to know their size and morphology. Since they are magnetic materials, in-depth work has been carried out on magnetic characterization, which has been developed mainly using Vibrating Sample Magnetometer, SQUID magnetometer and Electronic Magnetic Resonance. At the same time, since materials doped with different metal ions have been synthesized, Mass Spectrometry with Inductively Coupled Plasma has also been used to know the composition of the materials obtained and compare it with the expected theoretical results. In the case of samples synthesized with Ga⁺³ ions, X-ray spectroscopy and the high-resolution technique were used X-ray absorption near edge structure (XANES) with the aim of delving into the position of metal ions in the structure, which greatly helped to explain the magnetic properties of the materials obtained. Likewise, since the Ga_xFe_{3-x}O₄ nanoparticles were developed with the aim of being used in Magnetic Resonance Imaging, some of the samples obtained have been by Nuclear Magnetic Resonance. Likewise, the samples transferred to an aqueous and biocompatible medium have been subjected to cytotoxicity tests to know their potential application in the therapies formulated above.

In this thesis, three nanostructured systems have been developed for biomedical applications. Their properties, both structural and magnetic, make them viable for such applications, since they have not shown high toxicity in the tests carried out.

AURKIBIDEA

0.	Sarrera	1
0.1	Nanopartikula magnetikoak.....	2
0.2	Ferriten propietate magnetikoak.....	3
0.3	Nanopartikula magnetikoen zenbait aplikazio medikuntzan	7
0.4	Ferriten egitura kristalinoa	10
0.5	Nanopartikulak prestatzeko metodoak	11
0.6	Nanopartikulen funtzionalizazioa	15
	BIBLIOGRAFIA	21
	Lanaren helburua	27
1.	Kapitulua: $\text{Fe}_{3-x}\text{Co}_x\text{O}_4$ nanopartikulak.....	29
1.1	Sarrera	29
1.2	$\text{Fe}_{3-x}\text{Co}_x\text{O}_4$ ($0,01 < x < 0,15$) nanopartikulen sintesia.....	32
1.3	Egituraren karakterizazioa eta karakterizazio kimikoa.....	35
1.4	Karakterizazio morfologikoa.....	42
1.5	Karakterizazio magnetikoa.....	46
1.6	Erresonantzia magnetiko elektronikoa	56
	Ondorioak	59
	Bibliografia	62
2.	Kapitulua: $\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ nanopartikulak.....	67
2.1	Sarrera.....	67
2.1	$\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ ($0,14 < x < 1,35$) nanopartikulen sintesia.....	73
2.2	Nanopartikulen funtzionalizazioa PMAO polimeroarekin.....	76
2.3	$\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ ($0,13 < x < 1,35$) nanopartikulen analisiak eta egituraren karakterizazioa	76
2.5	Karakterizazio morfologikoa.....	92
2.8	Karakterizazio magnetikoa.....	95
2.15	Erresonantzia Magnetiko Elektronikoa (EME)	101
2.8	Aplikazio biomedikoak	103
2.8.1.1	$\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ @PMAO konposizioen zیتotoxicitatea	103
2.8.1.2	$\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$ @PMAO laginen lasaikortasuna.....	107
	Ondorioak	111

Bibliografia	115
Chapter 3: Fe ₃ O ₄ nanoparticles.....	121
3.1 Introduction	121
3.2 Iron(III) oxide nanoparticle synthesis.	125
3.2.1 Seed-grow synthesis route.	127
3.2.2 Metalorganic precursor thermal decomposition.	128
3.3 Nanoparticle surface functionalization.....	130
3.3.1 Positively charged nanoparticle coating using CTAB.....	130
3.3.2 EM71 and EM102 drug functionalization of NPs.	132
3.3.3 Functionalization of Embozene TANDEM™ microspheres with positively charged magnetic nanoparticles.....	139
3.4 Nanosystem Characterization	140
3.4.1 Iron(III) oxide nanoparticles	140
3.4.2 Embozene TANDEM™ microspheres functionalized with positively charged magnetic nanoparticles.	156
3.4.3 EM71 and EM102 drug functionalized nanosystems.....	161
3.5 In vitro experiments of EM102 factionalized nanosystems.....	176
3.7 In vivo experiments with nanoparticle functionalized microspheres.	180
Conclusions.....	185
Conclusions.....	197
Ondorioak.....	201
A. ERASKINA.....	205
TEKNIKA ESPERIMENTALAK	205
A.1 Emisio atomikoko espektrometroa, induktiboki akoplatutako plasmaduna (ICP-AES).....	206
A.2 Analisi Termograbimetrikoa (TGA).....	207
A.3 X-izpien difrakzioa.....	209
A.4 Transmisio – mikroskopia elektronikoa	210
A. 5 Magnetometria.....	213
A.5.1 Lagin Dardarkariko Magnetometroa (Vibrating Sample Magnetometer, VSM).....	214
3.3.1.1 A.5.2 Interferentzia kuantikoko gailu supereroale (SQUID, Superconducting Quantum Interference Device) motako magnetometroa.....	215
3.3.1.2 A.6 Erresonantzia Magnetiko Elektronikoa (EMR).....	220

3.3.1.3 A.9 Argi-Dinamikoaren Barreiaketa (Dynamic Light Scatering, DLS)...	228
BIBLIOGRAFIA	232
B.ERASKINA	234
B. ERA.....	234
B1.Banaketa Gaussiarra eta banaketa logaritmiko normala (log-normal): nanopartikulen bataz-besteko tamainaren doiketa	234
B2.Anisotropia eraginkorraren konstantearen, K_{eff} , kalkulua ZFC/FC kurbetatik abiatuta: batez besteko blokeo-tenperaturaren zehaztapena.....	235
B.3 Anisotropia konstantearen zehaztapena. ZFC/FC kurben doikuntza.	237

0. Sarrera

“*There is plenty of room at the bottom*” izan zen Richard Feynmanek 1959. urtean, Pasadenan, Ameriketako Estatu batuetako Fisika Elkarteko (*American Physical Society*) batzarrean eskainitako hitzaldiaren titulua. Horretan Feynmanek eskala atomikoan materialak sortzeko eta manipulatzeko ideien inguruan hitz egin zuen eta, konturatu gabe, gaur egun *Nanozientzia* bezala ezagutzen dugunaren oinarriak finkatu zituen^[1]. Nahiz eta garai hartan entzuleen artean algarak baino ez ziren sortu, gaur egun nanozientzia eta nanoteknologia arreta nabarmena jasotzen duten diziplinak dira. *Nanozientzia* material nanometrikoak (nanomaterialak) ikertzen dituen zientzia da eta *nanomaterialak* 1 nm-tik 100 nm-ra bitarteko neurri-tartean kanpoko dimentsio bat edo gehiago dituen sistemak dira^[2].

Nanoteknologiaren inguruko definizio asko sortu dira, baina batek ere ez du bere osotasunean zientzia hau azaltzen. Hortaz, hurbilketa bat egitearren, nanoteknologiak nanoegitura eta nanomaterialen diseinu, fabrikatze eta aplikazioa jorratzen dituela esan daiteke. Baina, eskala horretan kokatzen diren material zein egiturak aztertzeaz gain, materialen propietate fisikoak eta dimentsioak uztartzen ditu. Gaur egun, biologo, kimikari, fisikari eta ingeniari asko izan dira material hauen aplikazioan interesa aurkeztu dutenak hurrengo industria-iraultzaren pizgarriak izan daitezkeelako^[3]. Interes berezi honen eragile nagusiak material hauen ezohiko propietateak dira^[4-6], hurrengo ezaugarrien ondorioz:

I. Partikulen dimentsioa fenomeno batzuren luzera kritikoaren antzekoa edo txikiagoa da; adibidez, De Broglie-ren elektroien uhin-luzera, elektroien batezbesteko bide askea, domeinu magnetikoaren tamaina, asetasun-magnetizazioa...

II. Nanomaterialek duten tamaina txikiak gainazal/bolumen erlazio handipena eragiten du eta propietate desberdinekin erlacionatutako parametroak baldintzatuko ditu: egitura kristalinoa, erreaktibotasuna...

Lehenengo gertaerak material nanoegituratuen propietate elektriko, optiko eta magnetikoak azaltzen ditu; bigarrenak nanokristalek izan ditzaketen morfologia desberdinak eta ekintza katalitikoak dituen aldaketak^{[7],[8],[9]}. Nanopartikulak (NP) euren

morfologia, tamaina eta propietate kimikoen arabera, hainbat multzotan banatu daitezke. Adibidez, ezaugarri fisiko eta kimikoen arabera hurrengo taldeetan banatu daitezke: nanopartikula polimerikoak, nanopartikula lipidikoak, karbonoz osatutako nanopartikulak, nanopartikula zeramikoak, nanopartikula erdieroaleak eta nanopartikula metalikoak^[10]. Lan honetan landu diren nanopartikulak burdinazko oxidoak izan dira, nanopartikula magnetikoak, hain zuzen. Hortaz, hemendik aurrera nanopartikula mota hauen deskribapena jorratuko da.

0.1 Nanopartikula magnetikoak

Azken urte hauetan, nanopartikula magnetikoek arreta handia erakarri dute eremu magnetiko bat erabiliz erraz manipulatu daitezkeelako, eta ondorioz, hainbat aplikaziotan erabiltzeko aukera eskaintzen dutelako. Bere tamaina nanometrikoa dela eta, propietate intrintsekoak eta paregabeak dituzte, superparamagnetismoa kasu. Hori gutxi balitz, konposizioaren arabera, biobateragarritasun handia eta toxikotasun txikia ere aurkezten dute. Ildo horretan, arlo askotan ikerketa bide berriak zabaldu dira material hauek eskaintzen dituzten propietateak profitatzeko asmoz, hala nola: tinta magnetikoetan^[11], ingurumen erremediazioan^[12] edo biomedikuntzan^[13].

Nanopartikula horiek, oro har, trantsizio-metal magnetikoez (burdina, nikela edo kobaltoa) eta lur arraroez (samarioa, lantanoa, niobioa...) osatuta daude, eta metal, aleazio metaliko, oxido, nitruro edo boruro modura aurki daitezke. Bere egitura, funtsean, kristalinoa da, zati amorfo batzuk ere izan ditzaketen arren, eta, kasu gehienetan, nanopartikula amorfoek ere magnetismoa aurkeztu dezakete^[14].

Nanopartikula magnetikoak aztertzeko funtsezko motibazioa, material hauek nanoeskalara murrizterakoan jasaten dituzten propietate magnetikoen aldaketan datza. Bereziki, sistemaren propietate fisikoak arautzen dituen luzera kritikoa (domeinuaren hormaren zabalera, adibidez) nanopartikulen tamainarekin alderatu daitekeenean. Ikuspuntu horretatik, tamainaren murrizketari egotzitako hiru efektu nagusi dira nanopartikula magnetikoen propietate berrien erantzuleak^[15]. Efektu hauek tamaina mugatua, gainazal-efektua (azalera-bolumen erlazio handia) eta partikulen arteko elkarrekintzak dira. Ziurrenik, domeinu magnetiko bakarreko partikulak eta hauen portaera superparamagnetikoa (SPM) nanopartikula magnetikoei egotzitako efektu ezagunenak dira, izan ere, partikula hauen tamaina finituaren ondorio zuzenak dira^[16,17].

Ardatz hau ekarpen anisotropiko desberdinen emaitza da, hau da, partikulen forma, tentsio, egitura kristalino eta abarren ondorio zuzena da, oro har, izaera uniaxialeko anisotropia eraginkorra eragiten duena. Beraz, nanopartikula bakoitzak duen anisotropia-energia, $E = KV\sin^2\theta$ da, non K anisotropia konstantea den eta θ -a μ momentu magnetikoaren eta ardatz errazaren arteko angelua den. Nanopartikula jakin baten kasuan, $E_{max} - E_{min} = KV$ energia-langa da, berriz, $\theta = 0$ eta 180 gradutan agertzen diren magnetizazio errazeko egoerak edo minimoak bereizten dituen energia da. Hauek, nanopartikularen magnetizazioak ardatz errazarekin paraleloki edo modu antiparaleloan lerrokatuta dauden energiei dagozkie (1. irudia).

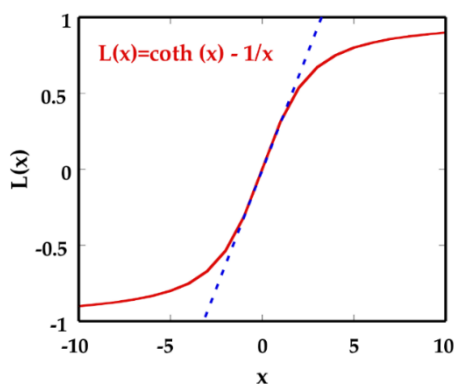
Louis Néélek 1949an aipatu zuen bezala, domeinu bakarreko nanopartikulak behar bezain txikiak baziren, energia-langa, KV , hain txikia izango litzateke, ezen energia termikoaren fluktuazioek gainditu ahal izango bailukete^[23]. Horren ondorioz, nanopartikula baten magnetizazioa ardatz errazetik ardatz zailera pasa zitekeen aplikatutako eremu magnetiko baten eraginpean ez dagoenean.

Nanopartikulen sistema nahiko diluituta badago eta, beraz, nanopartikulen artean interakzio nabarmenik ez badago, paramagnetismoaren teoria klasikoa aplikatu daiteke. Orduan, nanopartikula multzoaren magnetizazio kurba, M , eremu magnetikoarekiko, H , Langevinen funtzioaren bidez (1. ekuazioa) adieraz daiteke (2. irudia):

$$L(x) = \coth(x) - \frac{1}{x} \quad (1)$$

$$x = \frac{\mu H}{k_B T} \quad (2)$$

non k_B Boltzmanen konstantea den. x terminoak, momentu magnetikoak eremuarekiko lerrokatzeko joera duen energia magnetikoa eta desordenatzeko joera duen energia termikoaren arteko lehia deskribatzen du.



2. irudia. Para- edo superparamagnetismo klasikoa deskribatzen duen Langevinen funtzioa. Zuzen urdina $x < 1$ eremu baxuetan edo tenperatura altuetan egin daitekeen hurbilketa da.

Funtzio hau eremu baxuetan gutxi gorabehera $\mu H/3k_B T$ da, baina asetasun-magnetizaziotik hurbil dauden eremu altuetan $1 - k_B T/\mu H$ da^[24]. Horrela, berdina diren nanopartikula multzo baten asetasun-magnetizazioa 3. ekuazioaren bidez kalkulatu ahal izango da:

$$M = n \mu L(x) \quad (3)$$

Honetan n bolumen-unitateko nanopartikula kopurua da, μ nanopartikula bakoitzaren momentu magnetikoa, eta $L(x)$ Langevinen funtzioa.

Nanopartikulen momentu magnetiko altuaren ondorioz, x -ren balioa nahiko nabarmena izatera iritsi daiteke, baita aplikatutako eremuaren balio murrizten ere (eta giro-tenperaturari), sistema paramagnetiko arruntetan gertatu ohi denaren kontrakoa.

1959an, Bean eta Livingstonek portaera honi superparamagnetismo (SPM) izena jarri zioten^[16]. Beraz, nanopartikula diluituen sistema hau egoera superparamagnetikoan dagoela esaten da hurrengo baldintza hauek betetzen direnean: alde batetik, tenperatura desberdinetan neurtutako magnetizazio-kurbak, $M(H)$, gainjarri egiten dira $M(H)/T$ modura adierazten direnean, eta, bestetik, ez denean inolako histeresirik agertzen. Beraz, eremu hertzatsailearen eta erremamentziaren balioak zero baliotik gertu egongo dira.

Modu honetan, histeresia agertuko da eta superparamagnetismoa desagertuko da tamaina jakin bateko nanopartikulak tenperatura jakin batetaraino hozten direnean edo tenperatura jakin batetan partikulen tamaina diametro jakin batetik gora handitzen denean. Tenperatura eta tamainaren balio kritiko hauek zehazteko, nanopartikulak oreka termikora nola hurbiltzen diren aztertu behar da.

Demagun nanopartikula uniaxialen multzo bat eremu magnetiko jakin bat aplikatuz hasierako magnetizazio-egoera batera eramaten dela, M_i , eta orduan ($t = 0$ unean) eremu hori kentzen dela. Eremua kendu bezain laster, sistema horren nanopartikula batzuen magnetizazioa alderantzikatzen hasiko da nanosistemaren magnetizazioa txikituz. t denboran gertatu den berehalako txikitze hori, une horretan dagoen magnetizazioarekiko eta Boltzmanen faktorearekiko ($e^{KV/k_B T}$) proportzionala izango da:

$$-\frac{dM}{dt} = f_0 M e^{KV/k_B T} = \frac{M}{\tau} \quad (4)$$

Proporzionaltasun konstantea f_0 ($10^9 - 10^{12} \text{ s}^{-1}$) sistemaren nanopartikula bakoitzeko magnetizazio errazeko bi egoeren artean salto egiteko maiztasun faktorea da eta τ lasaikuntza-denbora da^[25]. Magnetizazioak denborarekiko duen menpekotasuna aurreko ekuazioa integratuz lortzen da:

$$M = M_i e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (5)$$

non M_i hasierako magnetizazioa den. Aurreko 5. ekuazioak Arrhenius motako legea jarraitzen du, non τ lasaikuntza-denbora, M -ren hasierako balioa $1/e$ aldiz txikitzeko behar den denbora den. 4. ekuaziora itzuliz, τ -a hurrengo adierazpenean lortzen dela ikus daiteke:

$$\tau = \tau_0 e^{KV/k_B T} \quad (6)$$

non $\tau_0 = 1/f_0$ den. Lasaikuntza-denbora horri Néel lasaikuntza-denbora deritzo.

Lasaikuntza-denbora neurketa-denbora (τ_m) baino handiagoa denean, erabiltzen ari den neurketa-denboraren eskalan nanopartikulen une magnetikoak izoztuta daudela dirudi (esperimentuaren denbora-leiho). Orduan, sistema blokeatuta dagoela esaten da, portaera ferromagnetikoa sortuz, non $M(H)$ -ren kurbak histeresi zikloa aurkeztuko lukeen. Lasaikuntza-denbora neurketa-denbora (τ_m) baino txikiagoa denean, nanoparikularen momentu magnetikoak aske biratzen du, egoera superparamagnetikoa sortuz.

Portaera magnetiko honen ezaugarri nagusia blokeo-tenperatura (T_B) da, trantsizio-tenperatura, non $\tau_m = \tau$. Beraz, 6. ekuazioan τ -a τ_m -agatik ordezkatzeko bada, honako hau lortzen da:

$$T_B = \frac{KV}{k_B \ln(\tau_m/\tau_0)} \quad (7)$$

Tamaina finkoko partikulen kasuan, $\tau_m = 100 \text{ s}$ -ko denbora eta $\tau_0 = 10^{-9} \text{ s}$ -koa direla suposatuz, blokeo-tenperaturarako adierazpen ezaguna lortzen da (8. ekuazioa):

$$T_B = \frac{KV}{25 k_B} \quad (8)$$

Beraz, T_B esperimentuaren detekzio-denboraren mende dago, magnitude-orden askotan alda daitekeena: $\tau_0 = 10^{-8} \text{ s}$ -koa Mössbauer espektroskopiaren kasuan edo 10^{-10} s -koa erresonantzia magnetiko elektronikoan (EME). Horregatik, sistema osatzen duten nanopartikulak blokeatutako egoera batetik egoera superparamagnetiko batera pasatzen direnean esperimentuaren detekzio-denboraren mende dauden tenperatura

desberdinetan behatuko dira. Hortaz, sistema osatzen duten nanopartikulen tamaina berdina izango ez balitz blokeo-tenperaturen sakabanaketa emango litzateke.

Propietate hauek ikusita, esan daiteke, nanopartikulak beroa sortzeko erabili daitezkeela, aplikatutako maiztasuna histeresia lortzeko lasaikuntza-denbora bezain handia baldin bada. Izan ere, nanopartikula magnetikoek duten xurgapen-tasa espezifikoa (ingelesez *specific absorption rate*, SAR) ere oso garrantzitsua da. Parametro honek, nanopartikulek frekuentzia eta intentsitate espezifiko eremu elektromagnetiko baten energia maximoa xurgatzeko gaitasuna adierazten du (9. ekuazioa).

$$SAR = \frac{\text{Absorbatutako energia (W)}}{\text{Nanopartikula masa (g)}} \quad (9)$$

Xurgatutako energia bero moduan askatuko da, hortaz, nanopartikula talde batek eremu elektromagnetikotik xurgatutako energia bero eraldatzeko duen gaitasunari SAR-ra deritzo. Modu honetan, neurketa normalizatzeko erabilitako nanopartikulen masa erabiltzen da. Beroa sortzeko ahalmen hori, gaur egun terapia desberdinetan aplikagarria izan daiteke, hala nola, minbizia tratatzeko hipertermia magnetikoaren bidez.

0.3 Nanopartikula magnetikoen zenbait aplikazio medikuntzan

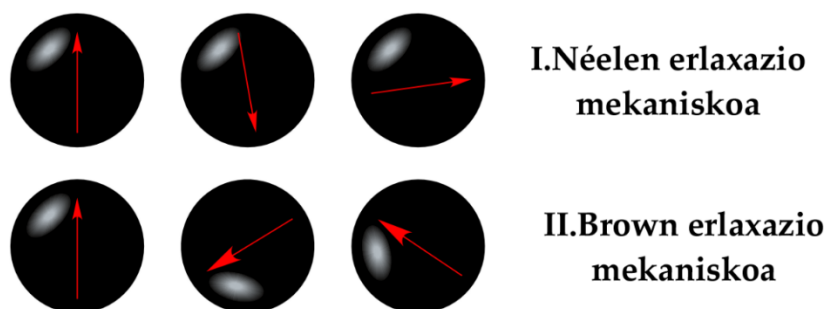
Nanopartikula magnetikoek hipertermia eragiten dutenez, minbiziaren kontrako terapietan aplikagarriak izan daitezke beste tratamenduekin batera gaixotasuna kontrolatzeko. Nanopartikula hauek gorputzeko atal batetan kokatuz eta eremu magnetiko alternoa aplikatuz zonalde zehatz honen beroketa eragiten da. Hipertermia, medikuntzan, gorputzeko edozein atal temperatura estandarretik (37°C giza gorputzean) gorako egoeran egoteari egiten dio erreferentzia. Onkologian zehazki, eremu tumoralean beroa eraginez tratatzean datza. Temperatura igoera honek, minbizi zelulez kaltetutako eremuetako ehunen eraldaketa eragingo du, minbizi zelulen heriotza zelularra sortuz^[26].

Nanopartikula magnetiko monodomeinuak dispertsio urtsu batetan daudenean egoera superparamagnetikoan ordenatzen dira bakoitzaren momentu magnetikoa edonora ausaz bideratuta dagoelarik. Horrela, eremu magnetikorik eragin ezean, dispertsioak ez du magnetizaziorik aurkeztuko. Baina, laginari eremu magnetiko alternoa aplikatzen zaionean, nanopartikulek euren momentu magnetikoak

eremuarekiko biratzera bultzatzen dituen energia xurgatuko dute, eremuarekin lerrotatzeko anisotropiak sortutako hesi energetikoa (energia-langa) gainditzearen alde egingo duena. Energia hau, nanopartikularen momentuak erlaxatzen direnean bero modura askatuko da, nanopartikulen orientazioen oreka lortuz^[27]. Momentu horien lasaikuntzaa bi modutan gerta daiteke (3. irudia):

I. Néelen lasaikuntza mekanismoaren bidez: denbora jakin baten ondoren, τ_N , energia fonoi eran kristal sarean sakabanatzen da. Oro har, denbora hau partikularen anisotropia magnetikoaren, aplikatutako eremuaren eta temperaturaren menpekoa da. Azkenik, energia horrek ukipen bidezko bero transferentziaren bidez nanopartikularen inguruan dagoen fluidoan amaitzen du.

II. Browniar lasaikuntzaa mekanismoa: mekanismo fisikoak zuzenean frikzioaren bidez sortutako energia fluidora bideratzen du bero eran.



3. irudia. Néel eta Brown lasaikuntza mekanismoak irudikatzen dituen eskema.

Bi mekanismoak etengabeko lehian daude; hala ere, partikulak fisikoki biratzeko aukerarik ez dutenean, sistema soilik Néelen mekanismoaren bidez erlaxatu daiteke (3. irudia). Mekanismo bat edo bestea aukeratzea, neurri handi batetan, partikula baten tamaina hidrodinamikoaren araberakoa da^[28]. Partikula txikietan, mekanismo nagusia, partikula barruko bektore magnetikoaren errotazioa da, Néelen lasaikuntzaa nagusituz. Partikula handietarako, aldiz, Brownen lasaikuntzaa likido garraiatzailearen barruan dagoen partikularen errotazioaren bidez azalduko da.

Honekin batera, nanopartikula magnetikoak erresonantzia magnetiko bidezko irudigintzan (RMI, ingelesez, *Magnetic Resonance Imaging*) ere erabilgarriak izan daitezke. RMI-ren oinarritzko printzipioa erresonantzia magnetiko nuklear bidezko hidrogeno atomoen magnetizazio nuklearraren lerrotatzea eragiteko eremu magnetiko baten aplikazioan oinarritzen da. Modu honetan, erresonantzia magnetiko nuklearrean

erabiltzen diren pulstu elektromagnetiko sekuentzialen maiztasuna aldatuz, protoi-dentsitate desberdinak dituzten ehunen irudiak lor daitezke. Hala eta guztiz ere, ondoko eskualdeen arteko seinaleen ezberdintasunak areagotu ditzaketen sistemak erabiltzea beharrezkoa da sentikortasuna handitzeko. Substantzia horiei “kontraste-agente” deritze, eta uraren lasaikuntza-denborak laburtzea dute eginkizun^[29]. Hauen artean nanopartikula magnetikoak daude^[30]. Erresonantzia magnetikoko irudigintzan kontraste agente bezala erabiltzen diren material guztiek luzetarako (T_1) edo zeharkako (T_2) lasaikuntza-denbora laburtzen dituzte, hortaz aldatutako denboraren arabera T_1 edo T_2 agente bezala izendatzen dira. Denbora hauek laburtzeko gaitasuna r_1 eta r_2 lasaikuntza-abiaduren bidez adierazten da, lasaikuntza-denbora mota bakoitzaren alderantzizko balioari dagokiona, hau da: $r_1=1/T_1$ eta $r_2=1/T_2$.

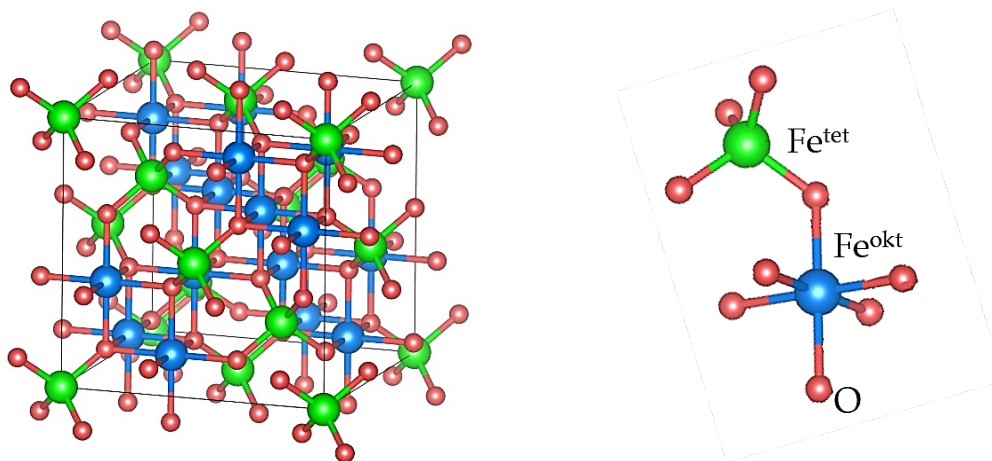
RMI-an kontraste agente desberdinak erabiltzen dira, baina orokorrean gadolinio(III) kelatoak (T_1) eta burdina(III) oxidozko nanopartikulak (T_2) dira gehien erabiltzen direnak^[31,32]. Dena den, gaur egungo erronka eremu honetan nanopartikula magnetikoek kontrastean eragiten duten (T_1 zein T_2) aldaketak lortzean datza. Izan ere, ehun bizien berezko ezaugarriak direla eta, T_1 eta T_2 lasaikuntza efektuen laburpena eragiten dute.

Hein honetan, gaur egun erabiltzen diren hainbat materialek sor ditzaketen kutsatze zein toxikotasuna alde batera uzteko asmoarekin, anitzak dira biobateragarritasun altuagoa eta erresoluzio hobea eskaintzen duten materialak. Honekin batera, ikusi da nanosistemaren nukleoaz aparte, nanosistemaren gainazalak eta osaerak ere paper garrantzitsua jokatzen duela RMI-aren bidez irudia lortzerako orduan. Modu honetan, C. Tao eta lankideek^[33] burdina(III) oxidozko nanopartikulen gainazala makromolekula naturalez eta artifizialez estaldu ondoren, makromolekula artifizialekin kontraste handiagoa lortzen zela behatu zuten. Azken urte hauetan, bai T_1 bai T_2 kontraste agente bezala erabil daitezkeen konposatuen propietateek ikertzaileen arreta deitu dute^[34,35]. Izan ere, agente bimodal deritzen materialek erresonantzia magnetikoaren sentikortasuna hobetzen dute eta lesioaren kokapena zehatzago egokitzea ahalbidetzen dute^[36].

0.4 Ferriten egitura kristalinoa

Aipatutako aplikazioetan biobateragarritasun handiena aurkezten duen materiala burdina(II) eta burdina(III) oxido mistoa da (Fe_3O_4), magnetita hain zuzen^[37]. Material honek suszeptibilitate magnetiko eta asetasun-magnetizazio altuak erakutsi ditu toxizitate esanguratsurik giza gorputzean azaleratzen ez duen bitartean. Gainera, material honen egitura oinarri izanda, era askotako materialak sortu daitezke Fe atomoen ordeaz beste atomo batzuk (Cu, Co, Ni, Zn...) kokatuz. Horrela, anisotropia, asetasun-magnetizazio, lasaikuntza... desberdinak dituzten materialen sorrera burutuko da. FDA erakundeak (*Food and Drug Administration*) magnetita (Fe_3O_4) eta maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) gizakietan erabiltzeko material magnetiko gisa onartu zituenetik, ikerketa-lan berezia egin da nanomaterial mota hori lortzeko, terapia medikoetan edo diagnosi molekularrean erabiltzeko asmoz.

Ferritek alderantzizko espinela egitura dute ($Fd-3m$), 56 ioiez osatutako unitate gelaxka duena eta $(\text{Fe}^{3+})_A(\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+})_B\text{O}_4$ formularekin adierazten da (4. irudia)^[38]. Oxigeno atomoek aurpegietan kokatutako egitura trinkoa eratzen dute burdina atomoak kokaleku tetraedriko eta oktaedrikoetan aurkitzen direlarik. Alde batetik, hutsune tetraedrikoen zortzirenean M^{3+} katioien kopuru erdia dago, besteak hutsik geratuz. Bestalde, leku oktaedrikoen erdia M^{3+} katioien beste erdiak eta M^{2+} katioiek betetzen dute, 4. irudian aurkezten den gelaxka unitatea eratuz^[39].



4. irudia. Magnetitaren egitura kristalinoa.

Burdina(II) eta burdina(III) ioien banaketaren ondorioz, egoera masiboan material honek bere Curie tenperaturaren azpitik (858 K) portaera ferrimagnetikoa du. Hori dela eta, materialaren asetasun-magnetizazioaren balioa tenperatura baxuetan (5 K inguru)

98 $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$ -koa da^[40]. Nanopartikula magnetikoen kasuan, gainazal/bolumen proportzioak material hauen propietate magnetikoen aldaketa eragiten du. Hau da, tamaina zehatz batetik behera nanopartikula magnetikoak izaera ferro/ferrimagnetikoa aurkeztetik portaera superparamagnetikoa izatera aldatzen dira inguruneko temperaturan. Modu honetan, energia termikoaren ondorioz nanopartikula bakoitzaren momentu magnetikoak fluktuazioak pairatuko ditu momentu magnetiko orokorra zero izanik^[41].

0.5 Nanopartikulak prestatzeko metodoak

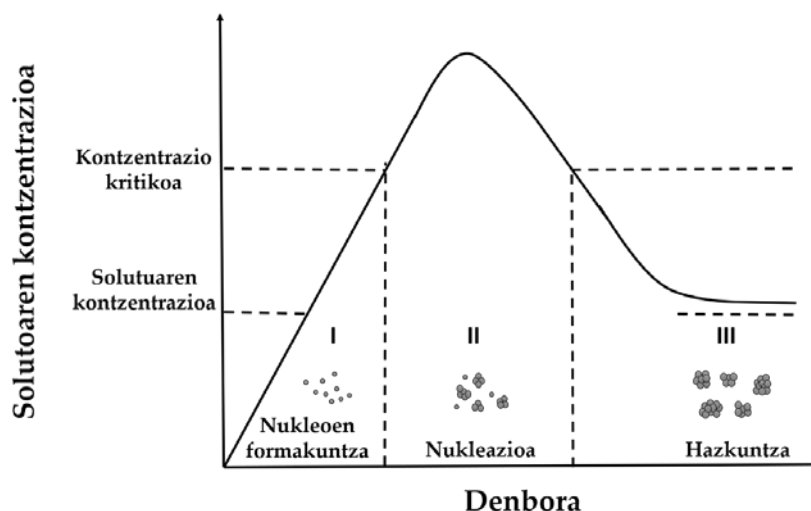
Kontuan izanik tamaina, morfologia eta konposizioaren arabera nanomaterialen propietateak aldatzen direla, gaur egun nanomaterialak sintetizatzeko erabiltzen diren sintesi metodo anitz daude. Hori kontuan izanda, asko izan dira propietate zehatzeko nanopartikulen sintesi prozesuen optimizazioan lan egin dutenak^[42]. Nanomaterialen sintesia burutzeko bi bide desberdin jarraitu daitezke: *top-down* (goitik behera) edo *bottom-up* (behetik gora).

Alde batetik, *top-down* hitz berak esaten duen bezala, nanometro gutxiko materialak lortzeko tamaina handiko konposatuak erabiltzen dituen prozedura mota da. Bestalde, *bottom-up* prozedura atomo edo molekulak erabiliz nanometrikoak diren konposatuak sortzean datza^[43]. Aipatu beharra dago *bottom-up* prozeduren bidez lortutako nanopartikulek tamaina homogeenagoa aurkeztu dutela. Modu honetan posiblea izan da morfologia (esferak, oktaedroak, kuboak, izarrak...), tamaina eta konposizio desberdineko nanopartikulak lortzea^[44].

Ferriten kasuan ($\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$) sintesi-prozesu ohikoenak deskonposizio termikoa eta ko-prezzipitazioa dira^[45]. Aitzindari metal-organikoen deskonposizio termikoan modu errazean neurri kontrolatuko nanopartikulak sintetizatu daitezke irakite-puntu altuko disolbatzaile organikoak erabiliz^[46]. Sintesi mota honen bidez lortutako partikulak hidrofoboak dira, haien gainazala hidrokarburo-molekulez estalita baitago, ondorioz, ingurune urtsuetan murgildu ezinak dira. Baina, biomedikuntzan aplikatzeko nanopartikulak uretan zein ingurune fisiologikoan barreiagarriak izan behar dira. Horretarako nanopartikulen gainazala eraldatzea ezinbestekoa da.

Nanopartikulen prestakuntzan erreakzioaren kontrol termodinamikoa eta zinetikoa erabiltzen da nanopartikulen tamaina kontrolatzeko. LaMerrek garatu zuen teoriaren

arabera, disoluzioan dauden nukleoek kontzentrazioak puntu kritikoa gainditzen duenean berehalako nukleazioa lortzen da^[47] (5. irudia).



5. irudia. Nanopartikulen nukleazioa eta hazkuntza La Merren ereduaren arabera.

Behin nukleazioa gertatu delarik, nukleoek hazkuntza gertatuko da, denak batera eta aldi berean haziz. Horrela, tamaina-sakabanaketa txikia duten nanopartikulak lortzen dira. Aipatutako deskonposaketa metodoan berehalako nukleazio prozesua lortzeko bi prozedura jarraitu daitezke: alde batetik, injekzioa-beroa (*hot-injection*) eta bestetik, beroketa (*heating-up*). Injekzioa-beroa burutzeko prozesuari dagokionez, nanopartikulak lortzeko erabiltzen den aitzindari organometalikoa, alde aurretik berotutako erreakzio inguruan zuzenean, azkar eta aldi batez sartzean datza. Bestalde, beroketa bidezko sintesian, aitzindari organometalikoa duen disoluzioa giro tenperaturan prestatu eta gero berotuz burutzen da nukleazioa^[48].

Bibliografian aipatzen diren aitzindari organometalikoek artean azetilazetonatoak^[49], oleatoak^[50] eta karboniloak^[51] daude; eta estekatzailen artean, azido karboxilikoak^[52], alkoholak^[53], tiolak^[54], fosfinak^[55] eta aminak^[56], besteak beste.

Estekatzailak, normalean, kate luzeko agente aktiboak dira eta nanopartikulen artean bereizgailu fisiko gisa jarduten dute. Disolbatzaileetan egitura anfilikoa dute: hau da, talde liofobikoa (disolbatzaileari uko egiten diona) eta bestea liofilikoa (disolbatzailearekiko erakargarria).

Nanokristaletan estekatzailen adsortzioak azaleko energia askea murrizten du, eta ondorioz, partikulen errektibotasuna ere bai. Modu honetan, nanopartikulak kanpo eraginarekiko, hala nola, oxidazioarekiko, babes handiagoa dauka.

Estekatzaile/aitzindari metaliko erlazioak nanopartikulen tamainen banaketa kontrolatzeko erabil daitezke, baina erlazio horrek nukleazioa kontrolatzeko eta partikulen hazkundera mugatzeko erabiltzen duen mekanismoa termino kualitatiboetan baino ez da ulertzen. Aldi berean, estekatzaile-molekulen elkarrekintza esterikoek hesi fisiko bat sortzen dute, gainazalen arteko ukipen zuzena saihesten duena. Gainera, molekula estekatzaileek nanopartikularen gainazaleko karga ere alda dezakete, eta horrela, agregazioaren aurrean duten egonkortasuna hobetu daiteke.

Aitzindari metalikoaren kontzentrazioaren doikuntza nanopartikulen tamaina kontrolatzeko erabili daiteke^[57] eta bi modutan lor daiteke: disolbatzailearen edo aitzindari metalikoaren kantitatea aldatuz. Alde batetik, disolbatzailearen kantitatea aldatuz kontzentrazioa doitzea erraza da, disolbatzaileak diluzio efektua baino ez duelako eragiten. Bestetik aitzindari metalikoaren kontzentrazioa aldatzean, tentsioaktiboaren eta aitzindariaren arteko erlazioa ere aldatu egiten da. Hainbat ikerketek frogatu dute aitzindariaren kontzentrazioa handitzeak partikularen tamaina txikitzea edo handipena ekar dezakeela^[58].

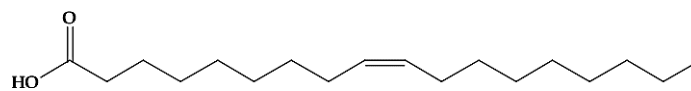
H.S. Dehsari eta lagunek burdina(III) oxidozko nanopartikulen sintesian aitzindari metalikoaren kontzentrazioak nanopartikulen tamaina-banaketa finalean eta propietate magnetikoetan duen efektua aztertu zuten^[58,59]. Izan ere, disolbatzaile kantitatea 12 mL-tik 28 mL-ra handitzerakoan nanopartikulen tamaina $24,1 \pm 5,7$ nm-tik $9,1 \pm 0,71$ nm-ra txikitzen zela ikusi zuten^[60]. Aldi berean, aitzindari metalikoaren kontzentrazioa 0,6 mmol-tik 6 mmol-ra igo zutenean nanopartikulak $6 \pm 0,9$ nm-tik $13 \pm 1,1$ nm-ra handitu zirela azaldu zuten^[61]. Kasu honetan, nahiz eta hazkuntza-ingurunean nanopartikulen handipena lagunduko duten ioi metaliko gehiago egon, nanopartikulen egonkortasuna bermatuko duten estekatzaileen kontzentrazioaren txikitzea gertatzen da aldi berean.

Harira, estekatzaileen kontzentrazioaren eragina ere aztertu da. B. Qi eta lagunek hiru estekatzailearen kontzentrazio ezberdinek burdina oxidozko nanopartikulen sintesian duten eragina aztertu zuten^[62]. Kasu guztietan ondorio berdina izan zuten: estekatzaile/aitzindari metaliko ratioa igo ahala, nanopartikulen tamaina txikitzen da. Hala ere, N. R. Jana eta lagunek estekatzaile kontzentrazioa igo ahala nanopartikulen tamaina handiagoa lortzen zela ikusi zuten^[63]. Kasu honetan erabilitako estekatzailearen

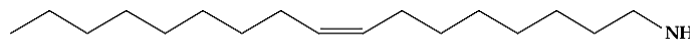
kate alifatikoa luzea zenez (azido oleikoa kasu), nanopartikulen sintesi hasieran lortutako nukleoaren tamaina txikiagoa zela ondorioztatu zuten. Aldi berean, erreakzio egoera berdinean kate motzeko estekatzaileak erabiliz nukleo-tamaina aldatzen zela behatu zuten, nukleoaren tamaina handiagoa lortuz estekatzaile motzagoa erabiliz^[64,65].

Antzeko ondorioak somatzen dira sintesian disolbatzaile mota desberdinak erabiltzen badira, disolbatzaile bakoitzak irakite-tenperatura desberdina izanik. Honela, tenperatura baxua duten disolbatzaileak erabiliz nanopartikulen hazkundera txikiagoa da. Tenperatura altuagotan egindako sintesietan ordea, tamaina handiagoko nanopartikulak lortu dira. Honekin batera, sintesia burutzeko erabilitako disolbatzaileak irakite-tenperaturaren egondako birfluxu-denbora, lortutako fasearen purutasunarekin erlazionatuta ere dagoela baieztatu zen^[66,67]. Hortaz, disolbatzailearen eta aitzindari metaliko motaren arabera lortutako nanopartikulak desberdinak izango dira^[68]. Modu honetan, ikusi da gehien erabiltzen diren disolbatzaileak eter bentzilikoa eta oktadezenoa direla^[69,70].

Lan honetan aurkeztuko diren ferriten sintesia burutzeko ($\text{Fe}_{3-x}\text{Co}_x\text{O}_4$, $\text{Fe}_{3-x}\text{Ga}_x\text{O}_4$, Fe_3O_4) aipatu diren burdina(III) azetilazetonatoa, kobalto(II) azetilazetonatoa, galio(III) azetilazetonatoa eta burdina(III) oleatoa erabili dira. Sintesia burutzeko erabiltzen den aitzindari metaliko motaren arabera, deskonposizio tenperaturak egokitu dira, nanopartikulen nukleazio homogeneoa bideratuko dutenak. Honekin batera eter bentzilikoa erabili da disolbatzaile gisa, nanopartikulen hazkuntza burutzeko irakite-puntu altua (298 °C) duena. Burdina(III) oleatoaren sintesiaren kasuan, eter bentzilikoarekin batera oktadezenoa erabili da lortutako fasea egonkortzeko. Estekatzaile modura azido oleikoa eta oleilamina erabili dira, lortu diren nanopartikulen homogeneitate eta dispersioa kontrolatzen dutenak^[71]. Gainera, agente erreduzitzaile modura 1,2-hexadekanodiola erabili da, estekatzaileekin batera tamainaren homogeneitatea ere bermatzen duena^[72]. Hurrengo irudian aipatu berri diren estekatzaileen egiturak irudikatzen dira.



Azido oleikoa



Oleilamina

6. **irudia.** Prestatutako nanopartikulen sintesian erabilitako estekatzailen egitura molekularra.

Aipatu diren aitzindari metalikoen eta estekatzailen kontzentrazioaz aparte, lortutako nanopartikulen homogeneitatea altua izan dadin eta kristalinitate ona izan dezaten beste parametro batzuk ere kontutan izan behar dira. Hala nola, berotze abiadura, aitzindari metalikoen deskonposizio tenperatura, irakite-tenperatura eta birfluxu- denbora^[73].

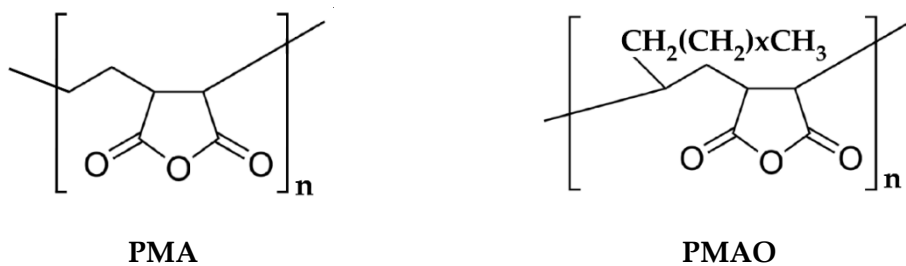
0.6 Nanopartikulen funtzionalizazioa

Lehenago aipatu den bezala, deskonposaketa termikoaren bidezko sintesietan lortzen diren nanopartikulak hidrofoboak dira. Kontuan izanik sistema horiek tratamendu biologikoetan erabiltzeko diseinatu nahi direla, beharrezkoa da hidrosolugarri eta biobateragarri bihurtzea^[74]. Prozesu horri esker, ingurune zelularretan eta ehun simulatuetan duten toxikotasuna aztertu ahal izango da, baita erresonantzia magnetikoko *'in vitro'* saiakuntzetan nanopartikulak kontraste-agente gisa erabili ere.

Nanopartikulen aplikazio biomediko arrakastatsuak ingurune biologikoetan duten egonkortasunaren araberakoak dira. Izan ere, nanopartikulak gorputz barnean aglomeratu eta immunitate sistemagatik bakanduak izan daitezke, nanopartikuletan oinarritutako terapien eragozpen nagusiak direnak. Hori dela eta, tratamendu biologikoetan erabiliko diren nanopartikulen gainazala lantzea ezinbestekoa da. Harira, gainazala aldatzeko funtsezko hainbat faktore identifikatu dira, hala nola: nanopartikularen gainazalean lotura organikoak trukatzeko dinamika eta tenperaturaren araberako solbatazioa^[75,76].

Aipatu berri den nanopartikulen funtzionalizazioa erreakzio kimiko edo prozesu fisiko ezberdinen bidez lor daiteke, hala nola: molekula bifuntzionalen arteko estekatzailen trukaketa^[77], nanopartikulak estaltzen dituen azido oleikoaren lotura bikoitzaren aldaketa^[78], bigarren geruza polimerikoaren adizioa^[79] edo liposomen bidez^[80].

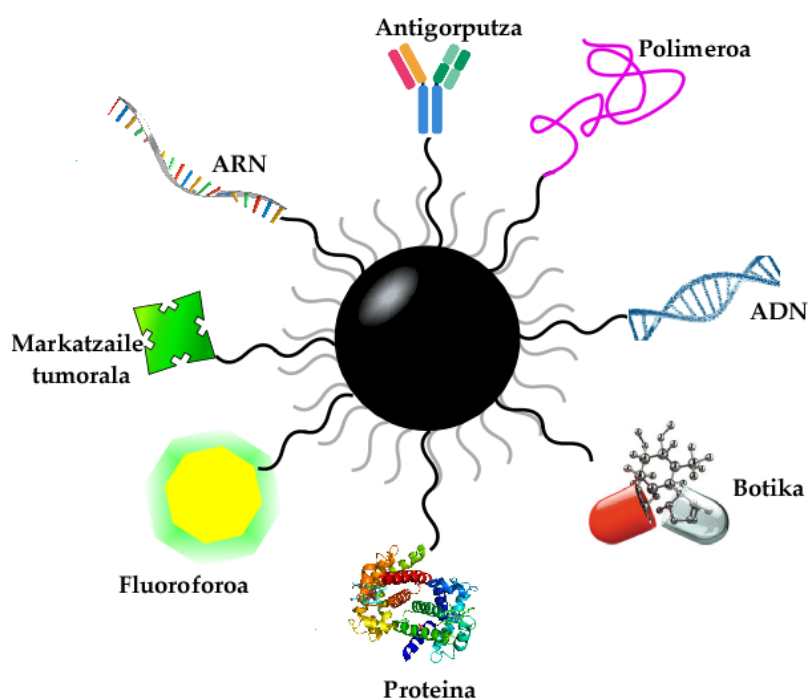
Lan honetan jarraitu den estrategia orokorra molekula anfiliko baten erabileran oinarritu da. Molekula honen zati hidrofobikoa nanopartikulen azaleko molekula anfilikoaren kate hidrofobikoekin lotzen da puntuz puntuko loturen bidez, nanopartikulen gainazalean geratuz. Horrela, talde hidrofilikoa kanpora zuzentzen da, nanopartikularen izaera aldatuz. Prozedura hau burutzeko erabiltzen diren gainazaleko talde funtzionalak, orokorrean, talde karboxilikoak (-COOH), aminak (-NH₂) edo tiolak (-SH) izaten dira. Lan honetan poli(anhidrido maleiko-alt-1-oktadezenoa) (PMAO) eta poli(anhidrido maleikoa) (PMA) polimeroak erabili dira nanopartikulen gainazalaren funtzionalizazioa burutzeko. Bai PMAO zein PMA polimeroak (7. irudia) anhidrido maleikoz osatutako polimeroak dira. Eraztun horiek amino taldeekin modu espontaneoan erreazionatzen dute, amida lortura eta azido karboxilikoak sortuz. Modu honetan, nanopartikularen gainazalak bi molekula desberdinekin gaininguratzeko aukera eskaintzen du nanopartikulen aplikazioak anitzak izan daitezken.



7. irudia. PMA eta PMAO polimeroen molekula egitura.

Nanopartikulak gorputzaren eremuetan ipintzeko, aktiboki edo pasiboki, kokatzea zein mantentzea ahalbidetzen duten hainbat metodo daude. Alde batetik, kokapen aktiboaren ikuspegiaren barruan, organoetan, ehunetan zein zeluletan gainadierazitako errezeptore espezifikoekin bat egiten duten peptido, antigorputz, karbohidrato edo azido nukleikoz funtzionalizatutako estekatzailak erabili daitezke. Bestalde, nanosistemek dituzten propietate fisiko-kimikoak (tamaina, morfologia, gainazaleko banaketa, ...) direla eta, pasiboki interes-eremuan metatu daitezke^[81]. Sortutako nanosistema hauek gorputzean aurkitzen ez diren elementuak direnez, gorputzean barneratzean hainbat organuluengatik zein immunitate babes sistemagatik baztertuak izan daitezke. Hori gerta ez dadin, funtzionalizazio polimero molekula amaierako kateetan, lehenago aipatu diren PMAO polimeroaren azido karboxilikoak kasu, tratamendu eremuan kokaturiko zelulekin bat egiten duten errezeptoreak kokatzen dira^[82,83]. Horrela, erabiliko diren tratamendu zein aplikazio bakoitzerako gainazal

espezifikoa ezartzea posiblea da (8. Irudia). Modu honetan, beste metodo batzuen bidez, kirurgia kasu, eskuraezinak diren gorputzeko zeinbait ataletaraino iristeko nanosistema espezifikoak sor daitezke. Gainera, nanopartikula hauek terapia-eremura errazago iristeko, eremu magnetikoak ere erabili daitezke^[84,85]. Hala ere, nanopartikulak tumoreetara bektorizatze arrakasta nagusia atxikipen-efektuan eta hobetutako iragazkortasun efektuan oinarritzen da (ingelesez *EPR, Enhanced permeability and retention effect*). Efektu hori tumore-ehunek jasaten duten baskularizazio gaitasun handipenaren ondorioz sortutako objektu handiagoak xurgatzeko gaitasunean oinarritzen da.



8. irudia. Biomolekula desberdinez funtzionalizatutako nanopartikularen eskema.

Tratamendu espezifiko hauek burutu ahal izateko, nanopartikulen gainazaleko kimika ulertzea oso garrantzitsua da nanopartikula egonkor eta funtzionalak lortzeko. Biomolekulak nanopartikula koloidal ezorganikoetara akoplatzea nahiko zaila da. Izan ere, biomolekula eta nanopartikula gainazal estekatzaileen arteko erreakzioaren zinetikan eragina duten parametro kimiko desberdinak ez ezik, azken produktuaren (biomolekula-nanopartikula) sendotasuna ere kontuan hartu behar direlako. Hori dela eta, hainbat estrategia proposatu izan dira nanopartikula koloidalak biomolekulekin lotzeko^[86].

Alde batetik, adsortzio fisikoaren bidez biomolekulak zuzenean nanopartikulen gainazalean kokatu daitezke. Adsortzio bidezko mugiezintasuna erraza bada ere, ez da beti aukerarik onena. Adibidez, G. V. Presnova eta lagunek estreptabidina proteina urrezko nanopartikulen gainazalean bi metodo desberdinen bidez lotu zuten: elkarrekintza elektrostatikoen bidez (pH 7an prestatua) eta lotura kobalenteen bidez^[87]. Analisiaren emaitzek erakutsi zuten oligonukleotido hibridoa modu eraginkorrean detektatzeko, lotura kobalente bidez lotutako estreptabidinazko konjugatuak baino ez zirela erabilgarri.

Bestalde, estekatzaille edo konektore polimeriko baten bidezko biokonjugazioa asko erabiltzen da. Teknika honek duen abantailetakoa bat biomolekulek nanopartikulen gainazalarekin zuzeneko kontaktua ez dutela da. Modu honetan, biomolekulak ingurunearekiko elkarrekintza handiagoa du, eraginkorragoak izanik. Horren adibide, biokonjugazio selektiboagoa egiten duen estekatzaille bifuntzionalak dira. Gehien erabiltzen den lotura kobalentedun estekatzaillea 1-etil-3-(3dimetilaminopropil)karbodiimida (EDC) da, bai eta haren deribatuak. Molekula honek, amina primarioak dituzten biomolekulak nanopartikulen karboxiloekin amida loturaren bidez batzen ditu. Honen adibide, D. Bartczak eta A.G. Kanarasek, gainazalean talde karboxiloak dituzten eta uretan sakabanagarriak diren urrezko nanopartikuletan peptidoak atxikitu zituzten^[88].

Hau gutxi balitz, nanoplataforma hauetan erabilitako biomolekulen eraginkortasuna, kokapena eta ibilbidea kontrolatzeko markatzaile fluoreszente eta isotopikoak erabiltzen dira. Aukeratutako minbizi-zeluletan barneratutako botiken zein injekzio bidez askatutako botiken sakabanaketa kontrolatzeko erabiltzen den estrategia nagusia koloratzaile fluoreszenteekin edo puntu kuantikoekin etiketatzea da^[89]. Hala ere, metodo horiek zenbait arazo izan ditzakete, hala nola, koloratzaile fluoreszenteen sentikortasun txikia^[90] edo puntu kuantikoen toxikotasun potentziala^[91]. Beraz, ezinbestekoa da zainetan injekzio bidez inokulatutako farmakoak gorputzean zehar duten sakabanaketa monitorizatzeko denbora errealean autolumineszenteak diren sistema biobateragarriak garatzea.

Nanopartikulek erabilpen desberdinak konbinatzeko gaitasuna eskaintzen dute^[92]. Hau da, farmakoen garraiorako erabili den nanosistemak hipertermia aplikatzeko ere

balioko luke edo hipertermia bidez botika askapena burutu. Teorikoki, metodo berri hauek aplikatzeko errazak diruditen arren, garapen prozesua zaila eta mantsoa izaten ari da. Izan ere, nanopartikula magnetikoek hipertermian eragindako efektua nabaria izateko, nanopartikulen ezaugarriak, hala nola, tamaina, morfologia, egoera koloidala edo anisotropia magnetikoa kontrolatu behar dira [63,93].

Horrela, memoria honetan jasotzen den lanaren ardatz nagusia $\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$ ($\text{M} = \text{Co}, \text{Ga}, \text{Fe}$) nanopartikula magnetikoen ekoizpenean eta ondorengo karakterizazioan oinarritzen da. Modu honetan, azterlanaren abiapuntua aipatu berri diren ferriten sintesi kimikoan eragiten duten parametro nagusien azterketa eta ondorengo optimizazioa izan da, hau da: sintesi denbora, aitzindari metal-organiko desberdinen kontzentrazioa, birfluxu-tenperatura... Horretarako, sintetizatutako nanopartikula guztien karakterizazio kimikoa, egiturazkoa, espektroskopikoa eta morfologikoa xehatua burutu da. Honekin batera, konposizio, tamaina eta morfologia desberdineko nanopartikulen azterketa magnetiko sakona egin da, magnetizazio-neurketen eta erresonantzia magnetiko elektronikoaren espektroskopiaren bidez. Hori guztia hipertermia magnetikoko terapietan, erresonantzia magnetikoko irudigintzan eta farmakoen askapenean oinarritutako aplikazio biomedikoetara bideratutako materialak lortzeko helburuarekin burutu da.

Lehenago aipatu den bezala, sintetizatutako nanopartikulek izaera hidrofoboa dute eta ezinbestekoa da nanopartikulen estaldura lantzea aipatu berri diren hipertermia magnetikoan eta erresonantzia magnetikoko irudigintza terapietan erabiltzeko. Hortaz, nanopartikulak ingurune fisiologikoetan egonkorak izan daitezten, bi polimero desberdin frogatu dira: poli(anhidrido maleiko-alt-1-oktadezenoa) (PMAO) eta poli(anhidrido maleikoa) (PMA). Honekin batera, hexadeciltrimetilamonio bromuroa (CTAB) konposatua erabili da burdina(III) oxidozko nanopartikulen gainazala hidrofilikoa izateaz a parte, karga positiboa ere izan dezaten. Modu honetan gainazaleko karga negatiboa duten eta enbolizazioan erabiltzen diren Embozene™ mikrosferen gainazala estaltzeko erabili dira hipertermia magnetiko arteria-enbolizazio agente hipertermiko berriak sortzeko.

Honekin batera, botika askapenerako nanosistemak eraikitzeke, Nafarroako Unibertsitateko Kimika Organiko eta Farmazeutiko departamentuan sintetizatutako

leishmania eta minbizia tratatzeko farmakoak PMA polimeroarekin konjugatu dira botika-polimero kopolimeroa osatuz. Gainera, nanopartikulen egonkortasuna ingurune fisiologikoetan bermatzearren, 5000 kDa-eko pisu molekularra duen polietilenglikol (PEG) molekulak aurretik sintetizatutako botika-polimero kopolimeroari gehitu zaizkio.

Amaitzeko, sortutako nanosistema biobateragarriekin saiakuntza zitotoxikoak (*in vitro* zein *in vivo*) egin dira terapia medikoetan aplikatu daitezkeen ebaluatzeko.

BIBLIOGRAFIA

1. There's Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics. 26–35 (2018).
2. Jamez Potocnik. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (Text with EEA relevance) (2011/696/EU). *Of. J. Eur. Union* **L 275/38**, (2011).
3. Roco, M. C. Government nanotechnology funding: An international outlook. *JOM* **54**, 22–23 (2002).
4. Gleiter, H. Nanostructured Materials. *Adv. Mater.* **4**, 474–481 (1992).
5. Henglein, A. Small-Particle Research: Physicochemical Properties of Extremely Small Colloidal Metal and Semiconductor Particles. *Chem. Rev.* **89**, 1861–1873 (1989).
6. Weller, H. Colloidal Semiconductor Q-Particles: Chemistry in the Transition Region Between Solid State and Molecules. *Angewandte Chemie International Edition in English* vol. 32 41–53 (1993).
7. Stark, J. V. et al. Klabunde, K. J. Nanoscale metal oxide particles/clusters as chemical reagents. Adsorption of hydrogen halides, nitric oxide, and sulfur trioxide on magnesium oxide nanocrystals and compared with microcrystals. *Chem. Mater.* **8**, 1913–1918 (1996).
8. Sun, Y. & Xia, Y. Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science* (80-.). **298**, 2176–2179 (2002).
9. Koper, O. et al. Klabunde, K. J. Destructive Adsorption of Chlorinated Hydrocarbons on Ultrafine (Nanoscale) Particles of Calcium Oxide. 3. Chloroform, Trichloroethene, and Tetrachloroethene. *Chem. Mater.* **9**, 2481–2485 (1997).
10. Khan, I., Saeed, K. et al. Khan, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry* vol. 12 908–931 (2019).
11. Vaseem, M., Ghaffar, F. A., Farooqui, M. F. et al. Shamim, A. Iron Oxide Nanoparticle-Based Magnetic Ink Development for Fully Printed Tunable Radio-Frequency Devices. *Adv. Mater. Technol.* **3**, 1700242 (2018).
12. Mirshahghassemi, S., Ebner, A. D., Cai, B. et al. Lead, J. R. Application of high gradient magnetic separation for oil remediation using polymer-coated magnetic nanoparticles. *Sep. Purif. Technol.* **179**, 328–334 (2017).
13. Cardoso, V. F. et al. Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Advanced Healthcare Materials* vol. 7 (2018).
14. Kudr, J. et al. Magnetic nanoparticles: From design and synthesis to real world applications. *Nanomaterials* vol. 7 243 (2017).
15. Issa, B., Obaidat, I. M., Albiss, B. A. et al. Haik, Y. Magnetic nanoparticles: Surface effects and properties related to biomedicine applications. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 14 21266–21305 (2013).
16. Bean, C. P. et al. Livingston, J. D. Superparamagnetism. *J. Appl. Phys.* **30**, S120–S129 (1959).
17. Knobel, M. et al. Superparamagnetism and other magnetic features in granular materials: A review on ideal and real systems. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* vol. 8 2836–2857 (2008).
18. Arsalani, S. et al. Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles coated by natural rubber latex as MRI contrast agent. *J. Magn. Mater.* **475**, 458–464 (2019).
19. Revia, R. A. et al. Zhang, M. Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: Recent advances. *Materials Today* vol. 19 157–168 (2016).
20. Castellanos-Rubio, I. et al. Highly Reproducible Hyperthermia Response in Water, Agar, and Cellular Environment by Discretely PEGylated Magnetite Nanoparticles. *Cite This ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**, 27917–27929 (2020).
21. Sander, D. et al. The 2017 Magnetism Roadmap. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **50**, 363001 (2017).
22. Döschner, H., Schmaltz, T., Neef, C. & -, al. The 2020 magnetism roadmap. *J. Phys. D Appl. Phys. ROADMAP • OPEN ACCESS* **53**, 453001 (2020).

23. Louis Néel. Influence des fluctuations thermiques sur l'aimantation de grains ferromagnétiques très fins. *Comptes Rendus Hebd. Des Seances L Acad. Des Sci.* **8**, 664–666 (1949).
24. Th E, O. F., Edmund Stoner, B. G. eta Harrison, B. The internal energy of ferromagnetics. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. A, Math. Phys. Sci.* **235**, 165–193 (1936).
25. Brown, W. F. Thermal fluctuations of a single-domain particle. *Phys. Rev.* **130**, 1677–1686 (1963).
26. Marszałł, M. P. Application of magnetic nanoparticles in pharmaceutical sciences. *Pharmaceutical Research* vol. 28 480–483 (2011).
27. Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K. eta Dobson, J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics* vol. 36 167–181 (2003).
28. Labhasetwar, V. eta Leslie-Pelecky, D. L. *Biomedical Applications of Nanotechnology*. (John Wiley & Sons, Ltd, 2007).
29. Caravan, P. Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents. *Chem. Soc. Rev.* **35**, 512–523 (2006).
30. Gupta, A. K. eta Gupta, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials* vol. 26 3995–4021 (2005).
31. Boros, E., Gale, E. M. eta Caravan, P. MR imaging probes: Design and applications. *Dalton Transactions* vol. 44 4804–4818 (2015).
32. Kostevšek, N. A review on the optimal design of magnetic nanoparticle-based T₂ mri contrast agents. *Magnetochemistry* **6**, 1–12 (2020).
33. Tao, C. *et al.* T₁-weight magnetic resonance imaging performances of iron oxide nanoparticles modified with a natural protein macromolecule and an artificial macromolecule. *Nanomaterials* **9**, 170 (2019).
34. Kostevšek, N. A review on the optimal design of magnetic nanoparticle-based T₂ mri contrast agents. *Magnetochemistry* **6**, 1–12 (2020).
35. Kostevšek, N. A Review on the Optimal Design of Magnetic Nanoparticle-Based T₂ MRI Contrast Agents. *Magnetochemistry* 2020, **6**, 11 (2020).
36. Zhou, Z. *et al.* A synergistically enhanced T₁-T₂ dual-modal contrast agent. *Adv. Mater.* **24**, 6223–6228 (2012).
37. Pinna, N. *et al.* Magnetite Nanocrystals: Nonaqueous Synthesis, Characterization, and Solubility †. (2005) doi:10.1021/cm050060.
38. Hill, R. J., Craig, J. R. eta Gibbs, G. V. Systematics of the spinel structure type. *Phys. Chem. Miner.* **4**, 317–339 (1979).
39. Cullity, B. *Introduction to Magnetic Materials*. (Addison-Wesley, 1972).
40. Hilger, I. eta Kaiser, W. A. Iron oxide-based nanostructures for MRI and magnetic hyperthermia. *Nanomedicine* vol. 7 1443–1459 (2012).
41. Karaagac, O., Yildiz, B. B. eta Köçkar, H. The influence of synthesis parameters on one-step synthesized superparamagnetic cobalt ferrite nanoparticles with high saturation magnetization. *J. Magn. Magn. Mater.* **473**, 262–267 (2019).
42. Samrot, A. V., Sahithya, C. S., Selvarani A, J., Purayil, S. K. eta Ponnaiah, P. A review on synthesis, characterization and potential biological applications of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Curr. Res. Green Sustain. Chem.* **4**, 100042 (2021).
43. Wang, Y. eta Xia, Y. Bottom-up and top-down approaches to the synthesis of monodispersed spherical colloids of low melting-point metals. *Nano Lett.* **4**, 2047–2050 (2004).
44. Vajtai, R. Science and engineering of nanomaterials. *Springer Handb. Nanomater.* 1–36 (2013).
45. Tatarchuk, T., Bououdina, M., Judith Vijaya, J. eta John Kennedy, L. Spinel ferrite nanoparticles: Synthesis, crystal structure, properties, and perspective applications. in *Springer Proceedings in Physics* vol. 195 305–325 (Springer Science and Business Media, LLC, 2017).

46. Unni, M. *et al.* Thermal Decomposition Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles with Diminished Magnetic Dead Layer by Controlled Addition of Oxygen. *ACS Nano* **11**, 2284–2303 (2017).
47. Lamer, V. K. *et al.* Dinegar, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4847–4854 (1950).
48. Hergt, R., Dutz, S., Müller, R. *et al.* Zeisberger, M. Magnetic particle hyperthermia: Nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *J. Phys. Condens. Matter* **18**, 2919–2934 (2006).
49. Zeynali, H., Akbari, H. *et al.* Arumugam, S. Size control synthesis and high coercivity L10-FePt nanoparticles produced by iron (III) acetylacetonate salt. *J. Ind. Eng. Chem.* **23**, 235–237 (2015).
50. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Outstanding heat loss via nano-octahedra above 20 nm in size: From wustite-rich nanoparticles to magnetite single-crystals. *Nanoscale* **11**, 16635–16649 (2019).
51. Lin, H. T., Nayak, P. K., Wang, S. C., Chang, S. Y. *et al.* Huang, J. L. Electron-energy loss spectroscopy and Raman studies of nanosized chromium carbide synthesized during carbothermal reduction process from precursor Cr(CO)₆. *J. Eur. Ceram. Soc.* **31**, 2481–2487 (2011).
52. Shete, P. B., Patil, R. M., Tiwale, B. M. *et al.* Pawar, S. H. Water dispersible oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles for biomedical applications. *J. Magn. Magn. Mater.* **377**, 406–410 (2015).
53. Mallakpour, S. *et al.* Sirous, F. Surface coating of α -Al₂O₃ nanoparticles with poly(vinyl alcohol) as biocompatible coupling agent for improving properties of bio-active poly(amide-imide) based nanocomposites having l-phenylalanine linkages. *Prog. Org. Coatings* **85**, 138–145 (2015).
54. Hakami, O., Zhang, Y. & Banks, C. J. Thiol-functionalised mesoporous silica-coated magnetite nanoparticles for high efficiency removal and recovery of Hg from water. *Water Res.* **46**, 3913–3922 (2012).
55. Khalafi-Nezhad, A. & Panahi, F. Phosphine-functionalized magnetic nanoparticles (PFMN) as a magnetic recyclable phosphorus ligand: Preparation of its palladium(II) complex for Heck reaction of chloroarenes. *J. Organomet. Chem.* **741–742**, 7–14 (2013).
56. Hozhabr Araghi, S. & Entezari, M. H. Amino-functionalized silica magnetite nanoparticles for the simultaneous removal of pollutants from aqueous solution. *Appl. Surf. Sci.* **333**, 68–77 (2015).
57. Hufschmid, R. *et al.* Synthesis of phase-pure and monodisperse iron oxide nanoparticles by thermal decomposition. *Nanoscale* **7**, 11142–11154 (2015).
58. Huang, J. H. *et al.* Investigation of the growth mechanism of iron oxide nanoparticles via a seed-mediated method and its cytotoxicity studies. *J. Phys. Chem. C* **112**, 15684–15690 (2008).
59. Dehsari, H. S. *et al.* Effect of precursor concentration on size evolution of iron oxide nanoparticles. *CrystEngComm* **19**, 6694–6702 (2017).
60. Dagtepe, P. & Chikan, V. Quantized Ostwald ripening of colloidal nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **114**, 16263–16269 (2010).
61. Sharifi Dehsari, H. *et al.* Effect of precursor concentration on size evolution of iron oxide nanoparticles. *CrystEngComm* **19**, 6694–6702 (2017).
62. Qi, B. *et al.* Influence of ligand-precursor molar ratio on the size evolution of modifiable iron oxide nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **117**, 5429–5435 (2013).
63. Jana, N. R., Chen, Y. *et al.* Peng, X. Size- and shape-controlled magnetic (Cr, Mn, Fe, Co, Ni) oxide nanocrystals via a simple and general approach. *Chem. Mater.* **16**, 3931–3935 (2004).
64. Mozaffari, S. *et al.* The role of nanoparticle size and ligand coverage in size focusing of colloidal metal nanoparticles. *Nanoscale Adv.* **1**, 4052–4066 (2019).
65. Klekotka, U., Satuła, D., Basa, A. *et al.* Kalska-Szostko, B. Importance of Surfactant Quantity and Quality on Growth Regime of Iron Oxide Nanoparticles. *Materials (Basel)*. **13**, (2020).
66. Nikam, A. V., Prasad, B. L. V. *et al.* Kulkarni, A. A. Wet chemical synthesis of metal oxide nanoparticles: A review. *CrystEngComm* **20**, 5091–5107 (2018).

67. Sun, S. *et al.* Monodisperse MFe_2O_4 ($M = Fe, Co, Mn$) Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 273–279 (2004).
68. Chen, R., Christiansen, M. G. & Anikeeva, P. Maximizing hysteretic losses in magnetic ferrite nanoparticles via model-driven synthesis and materials optimization. *ACS Nano* **7**, 8990–9000 (2013).
69. Salado, J., Insausti, M., Gil de Muro, I., Lezama, L. eta Rojo, T. Synthesis and magnetic properties of monodisperse Fe_3O_4 nanoparticles with controlled sizes. *J. Non. Cryst. Solids* **354**, 5207–5209 (2008).
70. Faraji, M., Yamini, Y. eta Rezaee, M. Magnetic nanoparticles: Synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications. *Journal of the Iranian Chemical Society* vol. 7 1–37 (2010).
71. Lu, L. T. *et al.* Synthesis of magnetic cobalt ferrite nanoparticles with controlled morphology, monodispersity and composition: The influence of solvent, surfactant, reductant and synthetic conditions. *Nanoscale* **7**, 19596–19610 (2015).
72. Puentes, V. F., Krishnan, K. M. eta Alivisatos, A. P. *Colloidal Nanocrystal Shape and Size Control: The Case of Cobalt*. *Science* vol. 291 <http://science.sciencemag.org/> (2001).
73. Carta, D. *et al.* A Structural and magnetic investigation of the inversion degree in ferrite nanocrystals mfe_2o_4 ($M = Mn, Co, Ni$). *J. Phys. Chem. C* **113**, 8606–8615 (2009).
74. Bloemen, M. *et al.* Improved functionalization of oleic acid-coated iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *J. Nanoparticle Res.* **14**, 1–10 (2012).
75. Yin, Y. eta Alivisatos, A. P. Colloidal nanocrystal synthesis and the organic-inorganic interface. *Nature* vol. 437 664–670 (2005).
76. aho, J. K. *et al.* Reversible self-assembly of metal chalcogenide/metal oxide nanostructures based on pearson hardness. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **49**, 7578–7582 (2010).
77. Taboada, E. *et al.* Relaxometric and magnetic characterization of ultrasmall iron oxide nanoparticles with high magnetization. Evaluation as potential T_1 magnetic resonance imaging contrast agents for molecular imaging. *Langmuir* **23**, 4583–4588 (2007).
78. Herranz, F., Morales, M. P., Roca, A. G., Vilar, R. eta Ruiz-Cabello, J. A new method for the aqueous functionalization of superparamagnetic Fe_2O_3 nanoparticles. *Contrast Media Mol. Imaging* **3**, 215–222 (2008).
79. Amstad, E., Kim, S. H. eta Weitz, D. A. Photo- and thermoresponsive polymersomes for triggered release. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **51**, 12499–12503 (2012).
80. Xie, Y. *et al.* Transport of nerve growth factor encapsulated into liposomes across the blood-brain barrier: In vitro and in vivo studies. *J. Control. Release* **105**, 106–119 (2005).
81. Matsumura, Y. & Maeda, H. A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumor-tropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs. *Cancer Res.* **46**, (1986).
82. Montalvo-Quiros, S. *et al.* Cancer cell targeting and therapeutic delivery of silver nanoparticles by mesoporous silica nanocarriers: Insights into the action mechanisms using quantitative proteomics. *Nanoscale* **11**, 4531–4545 (2019).
83. Arriortua, O. K. *et al.* Antitumor magnetic hyperthermia induced by RGD-functionalized Fe_3O_4 nanoparticles, in an experimental model of colorectal liver metastases. *Beilstein J. Nanotechnol.* **7**, 1532–1542 (2016).
84. Qiu, Y. *et al.* Magnetic forces enable controlled drug delivery by disrupting endothelial cell-cell junctions. *Nat. Commun.* **8**, 1–10 (2017).
85. Périgo, E. A. *et al.* Fundamentals and advances in magnetic hyperthermia. *Appl. Phys. Rev.* **2**, 041302 (2015).
86. Hermanson, G. T. *Bioconjugate Techniques: Third Edition*. *Bioconjugate Tech. Third Ed.* 1–1146 (2013).

-
87. Presnova, G. V. *et al.* Streptavidin conjugates with gold nanoparticles for visualization of single DNA interactions on the silicon surface. *Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem.* **8**, 164–167 (2014).
 88. Bartczak, D. *et al.* Kanaras, A. G. Preparation of peptide-functionalized gold nanoparticles using one pot EDC/Sulfo-NHS coupling. *Langmuir* **27**, 10119–10123 (2011).
 89. Escobedo, J. O., Rusin, O., Lim, S. *et al.* Strongin, R. M. NIR dyes for bioimaging applications. *Current Opinion in Chemical Biology* vol. 14 64–70 (2010).
 90. Bünau, G. v. J. B. Birks: Photophysics of Aromatic Molecules. Wiley-Interscience, London 1970. 704 Seiten. Preis: 210s. *Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie* **74**, 1294–1295 (1970).
 91. Oh, E. *et al.* Meta-analysis of cellular toxicity for cadmium-containing quantum dots. *Nat. Nanotechnol.* **11**, 479–486 (2016).
 92. Paris, J. L., Villaverde, G., Gómez-Graña, S. *et al.* Vallet-Regí, M. Nanoparticles for multimodal antivasular therapeutics: Dual drug release, photothermal and photodynamic therapy. *Acta Biomater.* **101**, 459–468 (2020).
 93. Carmen Bautista, M., Bomati-Miguel, O., Del Puerto Morales, M., Serna, C. J. *et al.* Veintemillas-Verdaguer, S. Surface characterisation of dextran-coated iron oxide nanoparticles prepared by laser pyrolysis and coprecipitation. in *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* vol. 293 20–27 (North-Holland, 2005).

Lanaren helburua

Egitura nanometrikoen tamainaren eta sistema biologikoen dimentsioen arteko bateragarritasunari esker, hainbat estrategia terapeutiko eta diagnostiko-estrategia garatu ahal izan dira kirurgia inbaditzaileari, erabilitako terapien hautakortasun ezari edo gaur egun erabiltzen diren tratamenduen luzapenari lotutako arrisku asko saihestu ahal izateko.

Horrelako sistemen diseinuak tamaina, morfologia, osaera, egitura, kristalinitatea eta gainazalaren kimikaren gaineko kontrol-maila handia ahalbidetzen du. Hori oso garrantzitsua da, hauen propietateak eta aplikazioak faktore horien mende baitaude. Biomedikuntzan izan dezaketen erabileragatik, propietate optikoak eta magnetikoak dituzten nanopartikulak dira gehien aztertu direnak. Nanopartikula magnetikoek eremu magnetikoen eraginpean aurkeztu dituzten propietateen ondorioz, interes handia piztu dute. Izan ere, eremu jakin batean nanopartikula magnetikoen kontzentrazioak erresonantzia nuklearraren irudietan kontrastea areagotzea ahalbidetzen du. Honekin batera, nanopartikulei eremu magnetiko alferno bat aplikatzeak energia transferentzia bat sortzen du, tumoreen tratamenduan hipertermia magnetikoaren bidez aplikatzea ahalbidetzen duena. Azken fenomeno honek, farmakoen garraio eta askapen espezifikoan lagundu dezake.

Aplikazio terapeutikoan edo diagnosian erabiltzen diren material magnetikoek biobateragarriak izan behar dutenez, ikerketa hau burdina oxidoetan zentratu da. Material horiekin batera, kobaltoarekin eta galioarekin dopatutako burdina oxidoak prestatu dira. Alde batetik, magnetitazko nanopartikuletan kobalto-dopajeak duen eragina aztertzeko, kobalto kantitate desberdinekin dopatutako nanopartikulen sintesi bide desberdinak burutu dira, haren eragina eta terapia medikoetan izan dezakeen aplikazioak aztertzeko. Bestalde, irudiaren erresonantzia magnetikoan irudia hobetzeko gai izango diren fluido magnetikoak lortzeko, galioarekin dopatutako burdina oxidozko nanopartikulak sintetizatu dira. Amaitzeko, hipertermia magnetikoaren bidez tumore-nekrosia eragin ahal duten nanosistemak prestatu dira. Modu honetan, magnetita-nanopartikulak prestatzeko sintesi-metodo bat optimizatu da, neurri kontrolatukoa eta tamaina banaketa txikiko nanopartikulak lortzea eskaini duena.

Gainera, nanopartikulak biobateragarriak eta ingurune fisiologikoan egonkorak izan behar direnez, nanopartikulen azaleko estalkia bide desberdinen bidez landu da. Alde batetik, nanopartikulak karga negatiboa duteen Embozene™ mikrosfereren gainazalean kokatzeko CTAB molekula erabili da. Honen bidez nanopartikulen gainazaleko karga positiboa bihurtu da eta indar elektrostatikoen bidez mikrosferen gainazalera itsatsi da. Bestalde, nanopartikulen poli (anhidrido maleico-altoktadezenoa) (PMAO) eta poli (anhidrido maleikoa) (PMA) polimeroekin gaineztatu dira. Gainera, ingurune fisiologikoetan egonkortasun handia lortzeko, PMA-ren kasuan 5 kDa-eko polietilenglikol (PEG) kateak erabili dira. Aipatu beharra dago, nanoasistemak tratamendu espezifikotan erabiltzeko helburuarekin, polimero hauei beste molekula batzuk (farmako ez komertzialak) gehitu zaizkiela, leismaniaren eta koloneko minbiziaren aurkako tratamenduetan erabiltzen diren farmakoak hain zuzen.

Sintetizatutako nanopartikulak teknika analitikoen, espektroskopikoen eta termogravimetrikoen bidez sakonki aztertu dira. Egiturazko karakterizazioa X izpien difrakzioaren eta transmisioko mikroskopia elektronikoaren bidez egin da. Gainera, hipertermia magnetikoaren optimizazioa portaera magnetikoarekin estuki lotuta dagoenez, nanopartikulen propietate magnetikoen azterketa sakona egin da. Horretarako nanopartikulengan eragindako eremuaren eta tenperaturaren arabera neurketa magnetikoak burutu dira. Honekin batera, galioarekin dopatutako nanopartikulen kasuan, X izpien espektroskopia fotoelektronikoa, X izpien xurgapena ertzaren egituratik gertu (ingelesez, X-Ray absorption near edge structure, XANES) eta lasaikuntza neurketak ere burutu dira material berri hauen propietateak sakonago ezagutzeko. Amaitzeko, galio nanopartikulekin eta farmako espezifikoein funtzionalizatutako nanopartikulei zیتotoxizitate-azterketak egin zaizkie. Egindako azterketa honi esker, aplikazio biomediko desberdinetan erabili daitezkeen sistemak ezagutu dira.

1. Kapitulua: $Fe_{3-x}Co_xO_4$ nanopartikulak.

1.1 Sarrera

Magnetitaz (Fe_3O_4) osatutako nanopartikulek dituzten propietate interesgarrien (asetasun-magnetizazio altuak, hondar-magnetismo altuak eta anisotropia-konstante moderatuak) aurkikuntzak, interes handia piztu du biomedikuntza arloan. Gainera, nanopartikula hauek biobateragarritasun altua, egonkortasun altua eta toxizitate baxua aurkezten dituzte giza gorputzean. Hori gutxi balitz, nanopartikula hauen propietateak egituran dituzten burdina(II) eta burdina(III) ioiak partzialki beste katioi (Zn^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} eta Ni^{2+}) batzuegatik ordezkatzuz aldatu daitezke^[1,2].

Aurrekoa kontuan izanda, kobaltozko ferritak aztertzea erabaki da. Kobaltoa hiru elementu ferromagnetiko naturaletako bat da (beste biak burdina eta nikela izanik) eta asetze-magnetizazioa eta Curie tenperatura (T_C , 1145 °C, 3d elektroen arteko elkartrukeetan ondorioz) altuak ditu. Ezaugarri hauek, material magnetikoen garapenean erabiltzen diren 3d trantsizioko metalen artean elementu garrantzitsuenetako bat izatea eragin dute, bereziki material magnetiko gogorretan^[3,4]. Ondorioz, oinarritzko materialetan, aleazioetan edo konposatuetan gogortze magnetiko handia lortzeko erabil daiteke. Kobaltoaren momentu magnetikoak atomo bakoitzeko $1,7-1,75 \mu_B$ -ko balioa du, burdinarena baino baxuagoa dena ($2,2 \mu_B$)^[5-7]. Honetaz gain, kobaltoak burdinak baino spin-orbita akoplamendu indartsuagoa dauka, partzialki okupatutako 3d orbitalen $l=2$ momentu anguluarraren ondorioz. Horrek, anisotropia magnetokristalino altua izatea eragiten du. Dena den, Yafet-Kittle ereduaren arabera, kobaltoak ferritetan parte hartzen duenean, materialaren propietateak kobaltoak espinela egituran betetzen dituen hutsuneei (tetraedrikoak edo oktaedrikoak) estuki lotuta egongo dira^[8].

Kobaltozko ferritek alderantzikatutako espinela partzialaren egitura aurkezten dute, non kobalto(II) ioiak leku tetraedrikoetan (A) eta oktaedrikoetan (B) kokatzen diren, $[Fe^{3+}Co^{2+y}]_A[Fe^{2+1-x-y}Co^{2+x}Fe^{3+}]_BO_4$. Nahiz eta kobalto(II) ioiak leku oktaedrikoetan kokatzeko joera duen, ioi honen sakabanaketa sistema prestatzeko erabiltzen diren baldintzen arabera alda daiteke^[9].

Modu honetan, sortzen diren momentu magnetikoa eta spin-orbita akoplamendu indartsuak, kobaltozko konposatuek material magnetikoen diseinuan aplikazio desberdinetan erabiltzeko garrantzi handia izatea eragin dute. Izan ere, hipertermia magnetikoan erabiltzen diren nanosistemetan kobaltoa gehitzerakoan, materialen tamaina eta morfologiaren arabera, duen anisotropia handitzen da eta, ondorioz, beroa sortzeko gaitasuna ere handitzen da^[10]. Gainera, eskala nanometrikoan erabilia, material magnetikoen propietateak hobetzeko ahalmen gehigarria sortzen du Co-ak^[3]. Modu honetan, etengabeko hazkunde azkarra duen industriaren kasuan (elektronika eta autogintza kasu) kobaltoa ezinbesteko elementu bilakatu da.

Azken urteetan, ikerlari askok biomedikuntzan erabilgarriak izan daitezkeen tamaina, morfologia eta estekiometria desberdinak dituzten Fe_2CoO_4 nanoegituren prestakuntzan interes handia aurkeztu dute. Izan ere, kobaltozko ferrita material magnetiko gogorra da, eremu koertzitibo handia (4,3 kOe) aurkezten du eta Curie temperatura altua (T_C , 520 °C) dauka. Gainera, materiala egonkorra da kimikoki, higadurarekiko erresistentea eta "erraz" sintetizatzen da^[11]. Propietate horien ondorioz, kobaltozko ferrita etorkizun handiko hautagaitzat kontuan hartu da hainbat aplikazioetarako, hots: hipertermia magnetikoan, botiken garraio eta askapenean edo erresonantzia magnetikoko irudigintzan^[12].

Dena den, nanopartikulen propietate magnetikoez erlazio zuzena dute erabilitako sintesi-metodoarekin; hots, lortu den materialaren morfologia, egitura eta konposizioaren eragile zuzena da. Beraz, esparru honen erronka nagusia ondo definitutako tamaina duten nanopartikulak lortzean datza, tamaina-banaketa baxua eta forma eta kristalinitate egokia dituztenak. Honekin batera, sintesi metodoa edozein izanda ere, helburu nagusia ezpurutasunik gabeko lagina, egituren akatsik ez duen materiala eta sintesi-prozedura errepikagarria lortzea da. Sarreran aipatu den bezala, gaur egun, nanopartikulak sintetizatzekeo gehien erabiltzen diren metodo kimikoak hauek dira: koprezipitazioa, sol-gela, mikroemultsioa, ingurune organikoan burutzen den deskonposizio termikoa, metodo hidrotermala eta poliol metodoa^[13].

Era berean, metodo hauek bi bloke handitan bereiztu daitezke: 100 °C-tik beherako temperaturan eta ingurune urtsuan egiten direnak (koprezipitazioa, sol-gela edo mikroemultsioak) eta aitzindariak ingurune organikoan eta temperatura altuetan

deskonposatzean oinarritzen direnak^[14]. Bi talde hauen desberdintasun nagusia sintesian zehar ematen diren nukleazio eta hazkunde-faseen ordena da. Alde batetik, ingurune urtsuetan egiten diren sintesietan, nukleazio eta hazkunde-faseak aldi berean ematen dira, tamaina-sakabanaketa altuagoko laginak lortuz^[15]. Dena den, uretan sintetizatutako nanopartikulek, aplikazio biomedikoetan erabiltzeko prozesamendu gehigarririk ez dute behar, laginen prestaketa-prozesua erraztuz. Bestalde, ingurune organikoan egiten den deskonposizioak, bi fase hauek (nukleazioa eta hazkundera) modu ordenatuan gertatzeko aukera eskaintzen du, sortuko diren nanomaterialen homogeneotasuna lagunduz^[16]. Baina, kasu honetan, lortutako nanopartikulak ingurune apolarrean sintetizatu direnez hidrofoboak dira. Hortaz, ingurune urtsuetan sakabanatzeko nanopartikulen gainazala lantzea ezinbestekoa izango da^[17].

Lan honetan, deskonposizio termiko deritzon sintesia erabiltzen da $Fe_{3-x}Co_xO_4$ nanokonposatuak prestatzeko. Metodo honetan, nanomaterialak lortzeko irakite-puntu altuko disolbatzaileetan burdina(III) azetilazetonatoaren, $Fe(acac)_3$, kobalto(II) azetilazetonatoaren, $Co(acac)_2$, edo oleato metalikoen deskonposizioa burutzen da. Horrela, sintesian erabiltzen diren erreakzio denbora, tenperatura, erreaktiboen kontzentrazioa eta disolbatzaile zein aitzindari metalikoa aldatuz, tamaina, morfologia eta konposizio desberdineko materialak lortzen dira^[18]. Lehenago aipatu den bezala, metodo honen bidez nanopartikula homogeneoak lortzen dira, baina uretan sakabanagarriak ez direnak. Hori dela eta, ezinbestekoa izango da uretara transferentzia egitea gerora organismo biologikoetan saiakuntzak egin ahal izateko.

Horren harira, kobaltoak ferritaren egituraren sartzekoan sortzen dituen propietate magnetiko desberdinen aldaketak ere ikerketa gai bilakatu dira. Modu honetan, E. Fantechi eta lagunek $0 < x < 1$ tartean kobaltoarekin aberastutako 5 nm-ko maghemita nanopartikulen ($Fe_{(8/3-2x/3)}Co_xO_4$) anisotropia magnetikoa kobalto kontzentrazioarekin bat handitzen ez dela ikusi dute. Hots, erdiko konposiziorako (x gutxienez 0,6) anisotropia maximoa lortzen dela azaldu dute. Hortaz, lortutako fase hauen asetze-magnetizazioaren balio altuak kobaltoak magnetita egituraren leku tetraedriko (A) eta oktaedrikoetan (B) kobaltoaren okupazioaren ondorio zuzena dira. Nanopartikula hauek hipertermia magnetikoan etorkizun oparoa izan dezaketela uste da. Izan ere, 105 kHz-ko frekuentzian eta $32 \text{ kA}\cdot\text{m}^{-1}$ -ko eremupean $915 \text{ W}\cdot\text{g}^{-1}$ -ko SAR (*Specific Absorption*

Rate) balioa aurkeztu dute, nanosistemaren egitura, koertzitibitate, asetze-magnetizazio eta morfologiaren ondorio zuzena dena^[19]. Dena den, kobaltoz dopatutako laginen konposizio errealak eta nanoegituren morfologiak duten asetasun-magnetizazioarekiko menpekotasuna ez da oso sakonki aztertu.

Hori dela eta, kobaltoarekin dopatutako ferriten sintesiari ekarpena egiten dioten parametro desberdinek, hala nola, kobaltoaren kontzentrazioa, nanopartikulen morfologia eta tamaina desberdinek nanopartikulen propietate magnetikoetan duten eragina aztertu nahi izan dira. Horretarako, deskonposizio termikoaren bidez $Fe(acac)_3$ eta $Co(acac)_2$ aitzindari metalikoak bentzil eterrean disolbatu dira, 1,2-hexadekanodiol, oleilamina eta azido oleikoarekin batera. Alde batetik, kobaltoaren sakabanaketak ferriten egituren eragiten dituen propietate magnetikoen aldaketak aztertzearen, birfluxu-denborak 30 eta 120 minutu tartean aldatu dira. Bestetik, kobaltoaren kontzentrazioaren aldaketak materialen konposizioan eta ondorioz, propietateetan duen eragina aztertzeke 60 minutuko birfluxu-denbora hautatu da. Lortutako laginak Co_x adierazpenarekin izendatu dira, non x lortu nahi den konposatuan duen kobaltoaren estekiometria teorikoa eta t erabilitako birfluxu-denbora diren. Lortutako laginen purutasuna eta egitura X izpien difrakzioaren bidez aztertu dira. Tamaina eta morfologia transmisiozko mikroskopia elektronikoaren bidez eta laginen materia organiko kopurua termograbitimetriaren bidez neurtu dira. Datu hauek erabili dira, lagin higikor magnetometrotik lortutako asetze-magnetizazioaren balioak lortu ahal izateko. Gainera, laginen azterketa magnetiko sakona burutu da interferentzia kuantikoko gailu supereroaleak (ingelesez, *superconducting quantum interference devices*, SQUID) eta erresonantzia magnetiko elektronikoa (ingelesez *electron magnetic resonance*, EMR) erabiliz.

1.2 $Fe_{3-x}Co_xO_4$ ($0,01 < x < 0,15$) nanopartikulen sintesia

Aurretik aipatu den moduan, kobaltoarekin aberastutako nanopartikulak sintetizatzeke asmoz, deskonposizio termikoaren metodoa erabili da, zein 200-300 °C tarteko tenperaturetan irakite-puntu altuko disolbatzaile organikoetan (eter bentzilikoa edo oktadezenoa) aitzindari organometalikoen (azetilazeteoak, karboniloak edo oleatoak) deskonposizioan oinarritzen den. Adibidez, D. Tomar eta P. Jeevanandamek tenperatura desberdinetan sintetizatutako Fe-Co glikolatoak erabiliz

morfologia eta tamaina desberdineko nanopartikulak lortzen dituzte^[20]. Aldi berean, B. Muzzi eta lagunek, burdina(III) eta kobalto(II) kloruroak, hexanoa, etanola eta ura erabili dituzte 75 °C-an 2:1, 1:1 eta 1:2 Fe:Co mol ratioak dituzten burdina(III) eta kobalto(II) oleato bimetalikoak sintetizatzeke^[21]. Lortutako oleatoak oleilaminarekin batera bentzil eterrean disolbatu dira 22-41 nm-ko $Fe_{3-x}Co_xO_4$ nanopartikulak sintetizatzeke. Azken honetan bezala, bibliografian askotan behatu da sintesi-prozesuan estekatzaileak gehitzen direla nanopartikulen morfologia eta tamaina zehatzak lortzeke^[22,23].

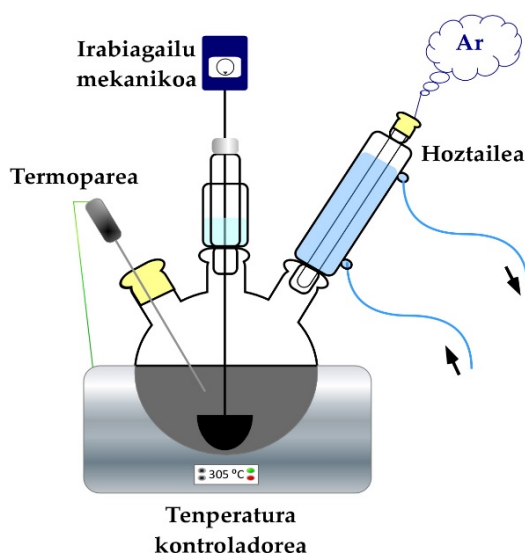
Adibidez, W. Baaziz eta lagunek, nanopartikulen sintesian alde batetik azido oleikoa eta bestetik oleilamina erabili dute, bien arteko eraginak aztertzeke^[24]. Honetan, azido oleikoak, estekatzaile bezala, konplexu metalikoaren egonkortzea eragiten duela ikusi dute. Honen ondorioz, nukleazioa ez da ugaria izan eta temperatura igotzerakoan nanopartikulen nukleazioa eta hazkundera aldi berean gertatzen dela ikusi dute, tamaina-sakabanaketa handiko nanopartikula lagina lortuz. Oleilaminarekin, ordea, tamaina-banaketa estuagoa duten nanopartikula txikiagoak lortu dituzte. Honekin batera, beste agente erreduzitzaileen aurrean, oleilaminak estekatzaile edo disolbatzaile modura joka dezakela azaldu da^[25].

Bestalde, P. Guardia eta lagunek, burdina(III) oxidozko nanokuboak sintetizatu dituzte, burdina(III) azetilazetonatoa, $Fe(acac)_3$, eta azido dekanikoa estekatzaile bezala erabiliz^[26]. Ikerlari horiek ere, nanopartikulen sintesian nukleazio eta hazkuntza fasea bereizten dituen berotze malda desberdinak erabili dituzte, morfologia eta tamaina desberdinak dituzten nanopartikulen sintesian oso garrantzitsua direnak^[27]. Izan ere, N. Bao eta lagunek argitaratu zuten lanaren arabera, baldintza berdinetan sintetizatutako nanopartikulek, berotze-malda 1°C min⁻¹-tik 5°C min⁻¹-ra aldatzean morfologia kubikoa izatetik izar forma izatera aldatzen dute^[28]. Horretan ere ikus daiteke, disoluzioan dauden errektiboen kontzentrazioek eta erreakzio-denborek, azkenean lortuko diren materialen tamaina eta morfologian eragin zuzena dutela. Izan ere, erreakzio-denbora gero eta altuagoa izanik nanopartikulen morfologia ere aldatzen da, itxura esferikotik kubikora igaroz, izar formako nanopartikulak lortu arte.

Hori guztia dela eta, atal honetan erreakzio-denborak eta kobaltoaren kontzentrazioek (%1 eta %5 masan) sintesi ingurunean duten eragina aztertzea erabaki da. Horretarako $Fe(acac)_3$ eta $Co(acac)_2$ -aren deskonposizio termikoa burutu da, irakite-

1.Kapitulua: $Fe_{3-x}Co_xO_4$ nanopartikulak

puntu altuko eter bentzilikoan ($(C_6H_5CH_2)_2O$, BE) eta azido oleikoa ($C_{18}H_{34}O_2$, OA), oleilamina ($C_{18}H_{37}N$, OLA) eta 1,2-hexadekanodiol ($C_{16}H_{34}O_2$, HDD) erabiliz, morfologia desberdineko kobaltoz dopatutako magnetitzako nanopartikulak lortzeko asmoz. Xehetasunez, $Fe_{2.85}Co_{0.15}O_4$ estekiometria duten nanopartikulen sintesia egiteko, 250 mL-ko bolumena duen 3 lepodun matrize batean, 1,9 mmol $Fe(C_5H_7O_2)_3$ (0,67 g), 0,1 mmol $Co(C_5H_7O_2)_2$ (0,026 g) eta 8 mmol 1,2-hexadekanodiol (2,29 g) 25 mL eter bentzilikoan disolbatu dira. Gero, 4 mmol azido oleiko (1,4 mL) eta 4 mmol oleilamina (1,89 mL) gehitu dira.



1.1. irudia. Deskonposizio termiko bidezko sintesia burutzeko erabiltzen den muntaiaren eskema.

Lehenago aipatu den bezala, ikertu nahi den parametroaren arabera (denbora edo kontzentrazioa) kobaltoaren edukia %1 eta %5 tartean (masan) aldatu da. Erreakzio nahasketa giro-tenperaturan mekanikoki astinduz eta argonezko atmosfera batetan 10 minutuz desgasifikatu da matrize barneko oxigenoa eta ura kentzeko. Gero, nahastea 200 °C-tara berotu da $4\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ -ko malda erabiliz. Tenperatura honetara iristen denean, erreakzioa 30 minutuz (nukleazio fasea) mantendu da. Jarraian, 300°C-ra igo da $2,2\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ -ko malda erabiliz. Aipatu beharra dago, birfluxu-denbora 0,5-2 h bitarte aldatu dela sintesi parametroek nanopartikulen propietate magnetikoetan eragin ditzaketen aldaketak aztertzeko, baita hauen ezaugarri fisiko-kimikoekin erlazionatzeko ere. Kasu guztietan, birfluxu-denbora amaitu eta gero erreakzio nahasteek beltz kolorea aurkeztu dute. Hazkunde-fasea amaituta, nahastea giro tenperaturara hoztu da. Lortutako nanopartikulak etanolarekin eta Nd-zko iman iraunkor baten laguntzaz prezipitatu dira

eta 5 mL toluenotan birsakabanatu dira. Azken garbiketaren prozedura bi aldiz errepikatu da nanopartikulen artean gera daitekeen eter bentziliko guztia kentzeko. Azkenik, nahi ez diren ferrita-agregatuak zentrifugazio bidez ($4000 \text{ bira min}^{-1}$ -ra 80 minutuz) bereiztu dira.

Modu honetan azido oleikoz eta oleilaminaz inguratutako $Fe_{3-x}Co_xO_4$ ($0,01 < x < 0,15$) fase desberdinak lortu dira, hemendik aurrera Co_x _t modura izendatuko direnak, non x formulan Co-ren estekiometria teorikoa den eta t -ak temperatura altuetan birfluxuan mantendu den denbora (minututan) adierazten duen. Konposatu hauek lortzeko erabili diren birfluxu-denbora desberdinak eta aitzindari organometalikoaren kopuruak 1.1 taulan agertzen dira.

1.1 Taula. Kobaltoarekin dopatutako ferrita nanopartikulak sortzeko erabili diren sintesi-parametro desberdinen laburpena.

Lagina	Birfluxu-denbora (min)	Fe(acac) ₃ (mmol)	Co (acac) ₂ (mmol)
Co _{0,15} _30	30	1,900	0,100
Co _{0,15} _45	45	1,900	0,100
Co _{0,15} _60	60	1,900	0,100
Co _{0,10} _60	60	1,934	0,066
Co _{0,04} _60	60	1,974	0,026
Co _{0,01} _60	60	1,994	0,006
Co _{0,15} _75	75	1,900	0,100
Co _{0,15} _90	90	1,900	0,100
Co _{0,15} _105	105	1,900	0,100
Co _{0,15} _120	120	1,900	0,100

Birfluxu-denborak nanopartikulen hazkunde prozesuan duen eragina aztertzeko, 30 eta 120 minutuko bitarteko esperimenduak burutu dira, saiakuntza batetik bestera 15 minutuko tarreak mantenduz. Bestetik, sintesi-denbora 60 minututan konstante mantenduz, aitzindari organometaliko kontzentrazio desberdinak (0,15 (%5 masan), 0,1 (%3,3 masan), 0,04 (%1,3 masan) eta 0,01 (%0,3 masan)) erabili dira. Hurrengo ataletan, parametro bi hauek lortutako nanoegituretan eragindako propietate kimiko, morfologiko, egiturazko eta magnetikoak aztertuko dira.

1.3 Egituraren karakterizazioa eta karakterizazio kimikoa.

Aitzindari metal-organikoen deskonposizio termikoaren bidezko sintesietan, non kobaltoaren eduki estekiometriko teorikoa (x) 0,01-etik 0,15-era aldatu den eta birfluxu-

denbora desberdinak erabili diren ($t = 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120$ min), azido oleikoz eta oleilaminaz inguratutako Co_x _t nanopartikulak lortu dira.

Igorpen-espektrometria induktiboki akoplatutako plasmaren (ingelesez *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*, ICP-AES) teknikaren bidez sintetizatutako oxidoetan kobalto eta burdinaren kantitateak kalkulatu dira (1.2 taula). Analisi hau, UPV/EHUko Bizkaiko Analisisirako Zerbitzu Zentralean kokatutako induktiboki akoplatutako plasmadun Horiba Yobin Yvon Activa ekipoan gauzatu dira, A.1. eranskinean deskribatzen den bezala. Modu honetan, kobaltoarekin burututako dopajea berretsi den arren, nanopartikulek kobaltoan aberastasun eskasa erakusten dute. Izan ere, $x=0,15$ konposizio nominala duten nanopartikulek $x=0,08-0,16$ bitarteko kobalto-edukiak aurkeztu dituzte.

1.2 Taula. ICP emaitzetatik lortutako formulak, (311) difrakzio maximoaren dekonboluzioaren bidez lortutako 2θ kokapenak, 311 difrakzio maximoen zabalera tontor altuera erdian (FWHM), LeBail doiketaren bidez lortutako gelaxka parametroa $a(\text{\AA})$, Debye Scherrer ekuazioaren bidez kalkulaturako NP tamaina(D_{XRD}), TEM analisitik lortutako partikulen tamainak (D_{TEM}), termograbitmetria bidez kalkulaturako nanopartikulen materia organiko ehunekoa (TGA_T) eta termograbitmetrian $600-800^\circ\text{C}$ bitartean ematen diren masa galera ehunekoak ($TGA_{600-800}$).

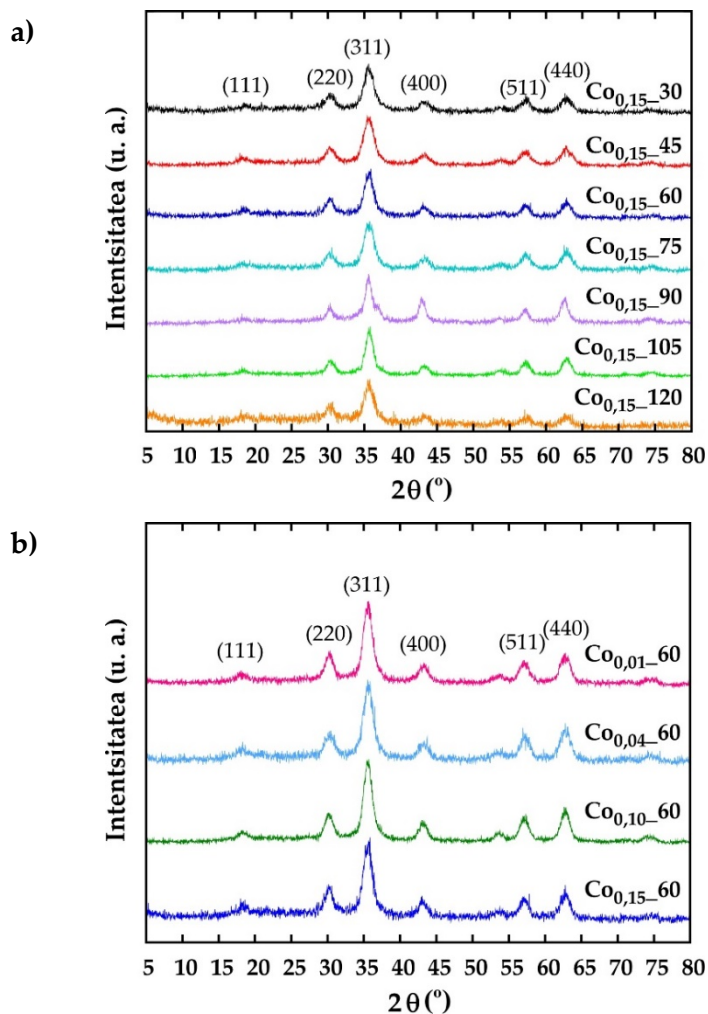
Lagina	ICP	$(2\theta)_{(311)}$	FHWM	$a(\text{\AA})$	D_{XRD} (nm)	D_{TEM} (nm)	TGA_T (%)	$TGA_{600-800}$ (%)
Co _{0.15} _30	Fe _{2,92} Co _{0,08} O ₄	35,66	1,68	8,37 (4)	5,6	6 ± 1	28	7
Co _{0.15} _45	Fe _{2,92} Co _{0,08} O ₄	35,64	1,76	8,37 (3)	5,4	6 ± 1	31	10
Co _{0.15} _60	Fe _{2,86} Co _{0,14} O ₄	35,64	1,51	8,38 (3)	6,4	8 ± 1	44	16
Co _{0.10} _60	Fe _{2,93} Co _{0,07} O ₄	35,62	1,39	8,38 (2)	6,9	7 ± 1	30	11
Co _{0.04} _60	Fe _{2,97} Co _{0,03} O ₄	35,66	1,59	8,37 (3)	6,0	7 ± 1	23	4
Co _{0.01} _60	Fe _{2,91} Co _{0,01} O ₄	35,63	1,52	8,37 (2)	6,3	6 ± 1	26	13
Co _{0.15} _75	Fe _{2,9} Co _{0,1} O ₄	35,67	1,72	8,37 (3)	5,5	7 ± 1	41	16
Co _{0.15} _90	Fe _{2,11} Co _{0,09} O ₄	35,68	1,63	8,43 (4)	5,8	11 ± 1	32	11
Co _{0.15} _105	Fe _{2,89} Co _{0,11} O ₄	35,71	1,35	8,38 (2)	7,2	8 ± 1	26	9
Co _{0.15} _120	Fe _{2,84} Co _{0,16} O ₄	35,67	1,66	8,37 (5)	5,7	6 ± 1	37	15

Kobaltoaren aberastasun txikitze hau tentsioaktibo gisa azido oleikoarekin, oleilaminarekin eta 1,2-hexadekanodiolarekin aurrez prestatutako antzeko ferrita-nanopartikuletan ere aipatua izan da^[29]. Izan ere, C.A Crouse eta lagunek zehaztu zuten, sintesi-parametro ezberdinak aldatuz, hala nola, tentsioaktiboen edo aitzindari metalikoen proportzioa, kobalto(II) katioiak ferrita-sarean okupatzen duen posizioa alda zitekeela. Modu honetan, aztertutako konposizio guztietan kobalto edukia gora egin ahala, nanopartikulen tamaina murrizten zela ikusi zuten^[30]. Azterlan horrek

erakusten du, halaber, nanopartikulen sintesian 1,2-hexadekanodiolen kontzentrazio txikiak erabiltzeak nanopartikula txikiagoak sortzen dituela. Honekin batera, beste ikerketa batek 1,2-hexadekanodiolen kontzentrazioak partikulen tamainaren banaketan eragina duela azaldu zuen^[31]. Bestalde, G. Shemer eta lagunek diol katearen luzeraren eragina nabaritu zuen kobaltoarekin dopatutako ferriten osaketan^[32]. Modu honetan, 1,2-hexadekanodiola egoteak Co^{2+} ioien kopurua ferritan nabarmen murrizten duela jakinarazi zuten, eta diol motako tentsioaktiboen presentziak nanopartikulen hazkunde-mekanismoarekin lotura zuzena duela zehaztu zuten. Izan ere, ferrita egituran kobaltoa sartzea aitzindari metalikoen deskonposizio-tenperaturarekin lotuta egon liteke; eta $Co(acac)_2$ -ren kasuan, deskonposizio-temperatura $Fe(acac)_3$ -rena baino handiagoa baita^[18,33]. Beraz, irakite-puntu altuko disolbatzaileak erabiliz birfluxu-denbora luzean, kobalto kontzentrazio altuagoko nanopartikulak sortuko lirateke. Lan honetan egin diren analisien emaitzek, ordea, birfluxu-denbora luzapenarekin ez dute joera hori erakusten.

Laginen egitura identifikatzeko X izpien bidezko difraktogramak (DRX) aztertu dira (1.2 irudia). Hauts moduan eta giro-tenperaturan neurtutako laginen X izpien difraktogramak, UPV/EHUko X izpien Ikerketa Zerbitzu Orokorraren PANalytical X'Pert PRO difraktometroan gauzatu dira, A.2. eranskinean deskribatutako baldintzetan. Difrakzio-maximoen intentsitateak eta kokapenak bat datoz aurpegian zentratutako magnetita-fase kubikoarekin ($Fd-3m$, JCPDS No. 89-0691). Difrakzio-maximo nagusi guztiak (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511) eta (440) plano kristalografikoei esleitu dira, bigarren mailako beste fase batzuei dagozkien beste difrakzio-maximoen agerpenik gabe. Kobaltoaren dopajearen eragina ezin da patroieta bereizi, espero zen bezala difrakzio-maximo zabalak lortu baitira kristal tamaina txikiaren ondorioz.

Difrakzio-datuak Le Bail^[34] metodoaren bidez doitu dira FullProf^[35] programa erabiliz, eta doikuntzatik lortutako unitate-gelaxkaren parametroak 1.2 taulan aurkezten dira. Kontuan hartuta Co^{2+} -aren erradio ionikoa ($0,745 \text{ \AA}$)^[36] Fe^{2+} -arena ($0,78 \text{ \AA}$)^[36] baino apur bat txikiagoa dela, kobalto-eduki gorakorra duen soluzio solido baten unitate-gelaxkaren parametroek Vegarden legea jarraitzea espero daiteke^[37].



1.2 irudia. Birfluxu-denbora desberdinekin (a) eta kobalto-edukiaren aldakuntzarekin (b) lortutako laginen X izpien difrakzio-datuak.

Modu honetan, difrakzio-datuak doitzean gelaxka unitate parametroen murrizketa arina eta orokorra hauteman da. Honek, magnetitarekin (8.39 \AA)^[38] alderatuta, dopatutako lagin guztien gelaxka unitatean kobaltoa sartu dela berresten du, erantzun magnetikoan dopajearen eragina behar bezala ulertzeko funtsezko faktorea izanik. Izan ere, propietate magnetikoak kobalto katioiek espinela egituran duten kokapen sakabanaketa oktaedriko edo tetraedrikoaren menpe daude. Co_x -t laginen sintesi prozesuan, Co(II) aitzindari bat erabili da nahiko erreduktorea den ingurune batean, eta beraz, Co^{2+} katioiak bakarrik egotea espero da.

Eremu kristalinoaren teoriaren arabera, Co^{2+} katioiek kokapen oktaedrikoetan kokatuko lirarteke, baina aldi berean jakinarazi da Co(III) ioiak eta Co(II) ioiak espinelaren egituran batera daudenean, Co^{3+} katioiek soilik toki oktaedrikoak betetzen dituztela, Co^{2+} katioiak kokapen tetraedrikoetara mugituz^[39,40]. Aurreko gogoetak

kontuan hartuta, ferrita-nanopartikuletan kobalto kontzentrazioa baxua denean Co^{2+} katioiek leku oktaedrikoak betetzea nahiago izango dute^[41], *a priori* Co_xO_t nanopartikuletan gerta litekeena.

Aldi berean, difrakzio maximo handieneko (311) altuera ertaineko zabaleratik (ingelesez, *Full Width at Half Maximum*, FWHM) eta kokapenetik abiatuta, Scherrerren ekuazioa erabiliz (1.1), laginen partikulen batez besteko tamaina kalkulatu da^[42].

$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta_{\tau} \cos \theta} \quad (1.1)$$

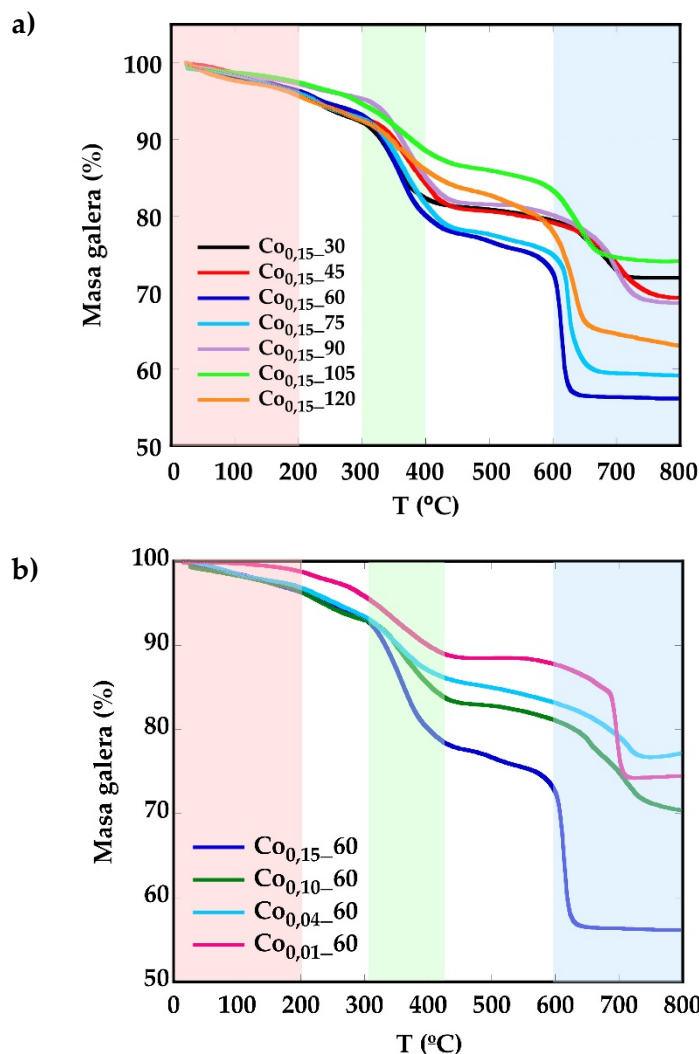
non τ kristal domeinua (nanopartikularen diametroa, monokristalinoa eta esferikoa denean), K forma faktorea (1 forma esferikoen kasuan), λ erabilitako uhin luzera (1,54178 Å kobrezko $K\alpha$ erradiazioaren kasuan), β_{τ} altueraren erdian pikuak duen zabalera eta θ tontorraren kokapena diren. Hau, kristalaren tamaina zehazten duen hurbilketa baino ez da. Izan ere, nanopartikulen formarekin zerikusia duen faktorearen zehaztapena zaila da, azkenengo balioan eragina izan dezakeena. Lortutako emaitzak 1.2 taulan adierazita daude.

Modu honetan, lortutako kristal diametroak domeinu bakarreko nanopartikulak lortu direla egiaztatu dute, TEM bidez lortutako irudietan ageri diren kristalekin bat eginez. Domeinu bakarrak lortzea izaera superparamagnetikoa izateko oso garrantzitsua da. Izan ere, domeinu magnetiko desberdinen presentzia hondar-magnetizazioa sortzen baitu^[43].

Lehen aipatu bezala, nanopartikulak tentsioaktiboen presentzian prestatu dira, eta beraz, azido oleikoz inguratuta daude nagusiki. Partikulen inguruko materia organikoaren kantitatea kalkulatzeko, analisi termogravimetrikoa (TGA) egin zen. Analisi horiek Kimika Organikoa eta Ez Organikoa sailean kokatutako NETZSCH STA 449C ekipo batean egin dira, 10 mg lagin inguru erabiliz, $10^{\circ}Cmin^{-1}$ abiaduran berotuta, argoizko atmosferan, 25-800 °C artean, A.3 eranskinean deskribatzen den moduan. Lagin guztietarako deskonposizio-kurbek hiru urrats desberdin aurkeztu dituzte. Horrela, 1.3 irudian ikus daitekeen moduan laginek %23.3 eta %43.8 bitarteko masa galera aurkeztu dute.

Alde batetik, lehenengo masa galera, 200 °C-raino gertatzen dena, hondar-disolbatzaileen eta xurgatutako uraren degradazioari legokieke. Atal honetan burututako masa galera, erabilitako denbora eta aitzindari metaliko kantitatearekiko

independentea dirudi, kasu guztietan antzekoa izanik. Nanopartikulen gainazalean disolbatzailearen %5 inguru adsorbatuta geratzen da, hein batean toluenoz eta etanolez egindako garbiketetatik datorrena.



1.3 irudia. Co_x-t denbora desberdinetan (a) eta kobalto kontzentrazio desberdinetan (b) sintetizatutako laginen TGA kurbak.

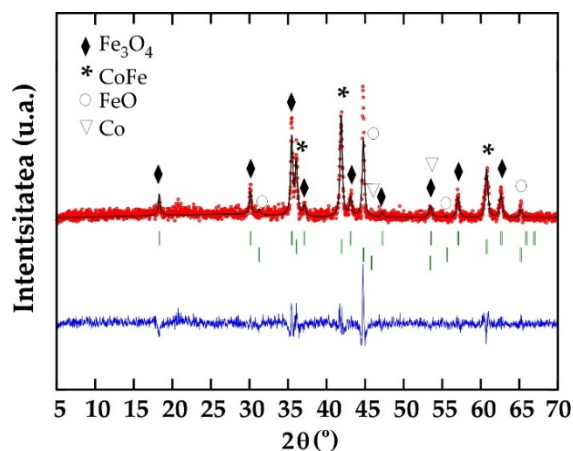
Bigarren masa-jaitsieran, 300 °C eta 400 °C arteko tartean, azaleraren estaldura funtzionaleko molekulen (azido oleikoaren eta oleilaminaren molekulak) deskonposizioa gertatzen da, nanopartikularen gainazalean modu ahulean lotuta daudenak. Izan ere, azido oleikoaren eta oleilaminaren irakite-tenperaturak 360°C eta 364°C dira, hurrenez hurren. 1.3 irudian ikus daitekeen bezala, lagin batetik bestera doan masa galera desberdintasuna nanopartikula tamainarekin lotuta dago. Zehazki, denbora desberdinetan baina aitzindari organometaliko kontzentrazio berdinekin sintetizatutako laginen artean, 11 eta 7 nm-ko tamaina aurkeztu duten laginek (1.4.a irudian $Co_{0,15-60}$, $Co_{0,15-75}$, $Co_{0,15-90}$ eta $Co_{0,15-120}$) materia organiko kantitate

handiagoa, %43,8-31,3 bitartekoa, erakutsi dutenak izan dira. Halaber, 6 nm-ko diametroa duten nanopartikulek (1.3.a irudian $Co_{0,15_45}$, $Co_{0,15_30}$ eta $Co_{0,15_105}$) masa galera txikiagoak aurkeztu dituzte, %30,7-%25,8 bitartekoak (1.2 taula). Aldi berean, kobalto kontzentrazio desberdinekin sintetizatutako laginak (1.3.b irudia), aurkeztu berri den joera berdina aurkeztu dute, tamaina handiagoa duten nanopartikulak masa galera handiagoa aurkeztuz.

Azkenik, 600°C-tik gorako %20-ko masa-galera, hertsiki nanopartikulen gainazalera lotutako molekulen edo tarteko karbonatoen deskonposizioari esleitu daskioke, ferritaren nukleo ezorganikoaren eboluzio-prozesuarekin batera^[44,45]. Dena den, estaldura organikoaren bilakaeran ez da joera zehatzik somatzen.

Bestalde, denbora finkoarekin baina kobalto kontzentrazio desberdinekin sintetizatutako laginek, denbora desberdinetan sintetizatutako laginen joera berdina aurkeztu dute, non kobalto kontzentrazioa txikitu ahala nanopartikulen tamaina jatsi egiten den, eta honekin gainazaleko materia organikoaren ehunekoa. Ez-ohiko tamaina eta materia organiko erlazio hau, sintesi prozesuan zein garbiketa prozesuekin erlazionatuta egon liteke. Alde batetik, 1.2 taula ikus daitekeenez, tamaina handiena duten nanopartikulek materia organiko kantitate handienak aurkeztu dituztenak izan dira.

Aurrean azaldutako nukleo ezorganikoaren bilakaera baieztatzeko, TGA-n lortutako hondakinaren ezaugarriak X izpien difrakzio teknikaren bidez aztertu da. Lortutako difraktograma Le Bail doikuntza bidez aztertu da FullProf^[35] programa erabiliz (1.4 irudia).



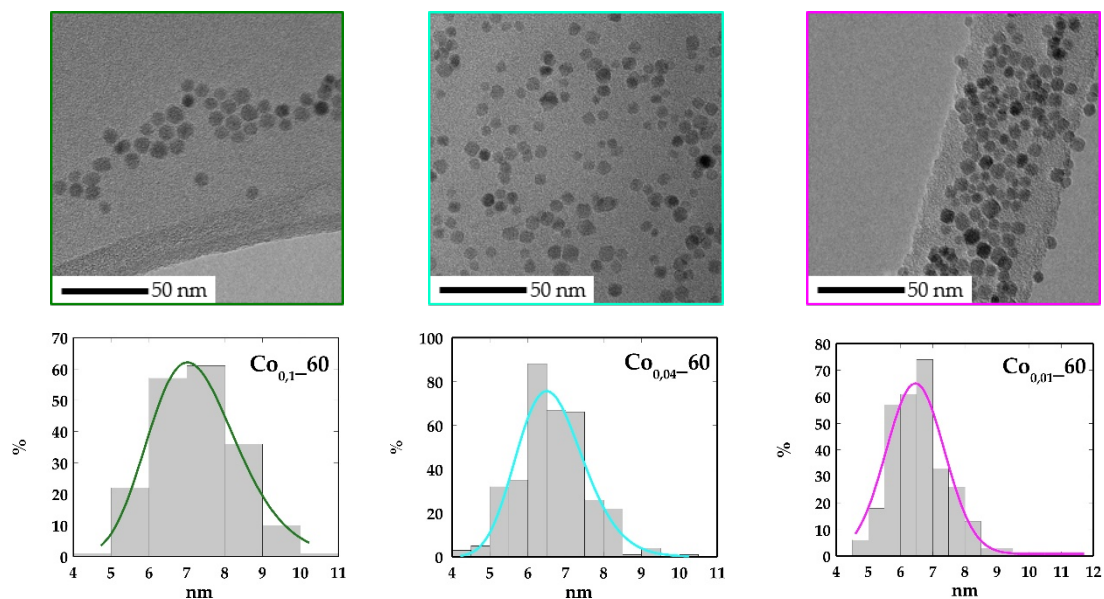
1.4 irudia. Le Bail prozedura erabiliz $Co_{0,15_60}$ laginaren TGA hondakinaren doikuntza.

Honetan, puntu gorriek difraktograma esperimentalak irudikatzen dute. Lerro beltz jarriak programak kalkulaturako difraktogramari dagokio. Lerro urdina, difraktograma teorikoaren eta esperimentalaren arteko desberdintasunen kalkulua da eta marra bertikal berdeak fase bakoitzaren Bragg kokapenei dagozkie. Azterketa honetan, Fe_3O_4 fasearekin batera, FeO (ICCD 01-089-0687) eta CoFe (ICCD 44-1433) konposatuen kontzentrazio esanguratsuak aurkitu dira, $Fe_{3-x}Co_xO_4$ nukleo ezorganikoaren bilakaerarekin bat eginez. Modu honetan, lortutako fase kopurua ehunekotan hurrengoak hauek dira: %43 Fe_3O_4 , %40 FeO, %16 CoFe eta %1 Co.

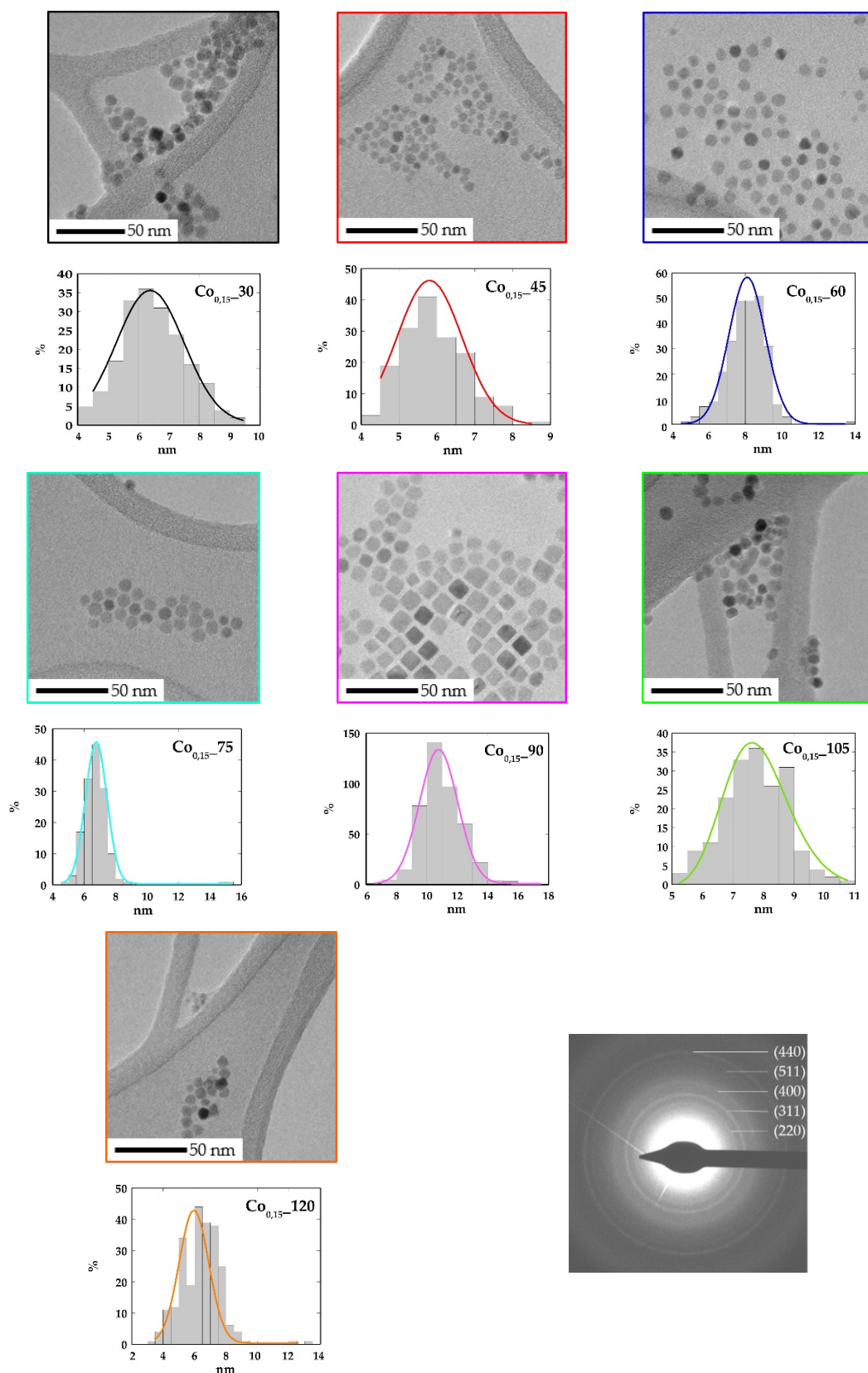
1.4 Karakterizazio morfologikoa

Memoria honetan aurkeztutako TEM irudiak UPV/EHUko Mikroskopia Elektronikoaren eta Mikroanalisiaren Zerbitzu Orokorrean instalatutako EDX mikroanalisiak hornitutako Philips CM200 mikroskopiorekin egin dira. Bai irudirako bai difrakziorako 200 kV-ko abiaduran lan egin da inklinazio sinpleko euskarriak erabiliz (A.4 eranskina).

Lagin guztietako TEM mikrografiek ondo sakabanatutako nanopartikula homogeneoak erakusten dituzte (1.5 eta 1.6 irudiak). Agregatu faltak iradokitzen du kobaltoarekin dopatutako ferrita nanopartikulak molekula organikoekin ongi inguratuta daudela. TEM irudien analisitik lortutako batez besteko diametroak 6 eta 11 nm bitartekoak dira (1.2 taula).



1.5 irudia Birfluxu-denbora berdinak erabiliz Co kontzentrazio desberdinekin dopatutako ferrita nanopartikulen TEM irudiak eta tamaina-banaketaren doikuntza: $Co_{0,10-60}$; $Co_{0,04-60}$; $Co_{0,01-60}$.



1.6 irudia Birfluxu-denbora desberdinak erabiliz kobaltoarekin dopatutako ferrita nanopartikulen TEM irudiak eta tamaina banaketa doikuntza eta $Co_{0,15-30}$ laginari dagokion elektro difrakzio patroia. Eskalako barra: 50 nm.

Partikulen tamaina eta banaketa zenbatesteko (1.5 irudia eta 1.6 irudiak), lagin bakoitzerako TEM irudiak aztertu dira. Tamainak doitzeko, *Gaussiarra* edo *log-normal* diren banaketak erabili dira (B.1 eranskina). Hori kontuan izanik, 1.5 eta 1.6 irudietan erabilitako doikuntza *log-normal* banaketa izan da, partikulen tamaina txikiaren ondorioz.

$Co_{0,15_30}$ laginerako elektroien difrakzio-patroia 1.6 irudian agertzen da. Kalkulatutako d espazioak bat datoz magnetitari (Fe_3O_4) dagozkion (220), (311), (400), (511) eta (440) planoekin^[46].

1.4. irudian ikus daitekeenez, erreakzio-denborak aldatzerakoan forma eta tamaina desberdinak dituzten nanopartikulak lortzen dira. Modu honetan, sintesian erabilitako birfluxu-denbora 30 minututik 90 minutura luzatzerakoan sintetizatutako $Co_{0,15_30}$, $Co_{0,15_45}$, $Co_{0,15_60}$, $Co_{0,15_75}$ eta $Co_{0,15_90}$ nanopartikulen tamaina 6 nm-tik 11 nm-ra handitzen da lortutako nanopartikulen morfologia lagin batetik bestera aldatzen doan heinean. Bilakaera hori beste ikerlari batzuek ere azaldu dute, zeinek morfologian izandako aldaketa horiek eter bentzilikoko disolbatzaile kopuruarekin zein birfluxu-denborarekin lotu dituzten^[47]. Denbora honetatik aurrera, nanopartikulen tamaina txikitu egiten da 8 nm-koa izanik 105 minutuko sintesian ($Co_{0,15_105}$) eta 6 nm-koa 120 minutukoan ($Co_{0,15_120}$).

Literaturako datuen arabera, nanopartikulen forma erreakzio-denbora horren araberakoa izan daiteke^[48,49]. Gure kasuan, 1.4 irudian ikus daitekeen bezala, sintesi denbora 90 minutura luzatuz nanopartikulen tamaina progresiboki 6 nm-tik 11 nm-ra handitzen da, LaMer eta Reiss proposatu zuten difusio bidezko nanopartikulen hazkunde teoria jarraituz^[50]. Modu honetan, laginen arteko morfologia aldaketa nabarmena gertatzen da, morfologia esferoidala duten nanopartikulak izatetik, morfologia kubikoa aurkezten duen $Co_{0,15_90}$ lagina izatera. 1.4 irudian ikus daitekeen bezala, $Co_{0,15_30}$, $Co_{0,15_45}$, $Co_{0,15_60}$ eta $Co_{0,15_75}$ laginek morfologia esferikoagoa aurkeztu dute. Hau, A. Lopez-Ortega eta lankideek azaldu zuten moduan, nanopartikula txikien gainazal tentsioaren ondorio zuzena da, nanokristalen hazkundera forma esferiko baterantz bultzatzen duena^[51]. Honekin batera, $Co_{0,15_90}$ laginean ikus daitekeen morfologia aldaketa, espinela egitura kubikoa duten materialek egitura kubikoak eratzeko duten joeraren ondorio zuzena da^[52]. Morfologia kubiko hau,

erreakzio-denbora luzatzerakoan galtzen da, non nanopartikulen tamainak modu mailakatuan behera egiten duen 11 nm-tik 6 nm-ra. Azaldu berri den tamainaren txikitzea Ostwald Ripening fenomenoarekin lotuta egon daiteke^[53]. Izan ere, sintesi disoluzioan nanopartikulen hazkundera faboratuko luketen espezieen falta (bai metal espezieak bai estekatzailena) egonez gero, nanopartikulak sintetizatzeke erreakzio zinetika aldatuko lirateke. Modu honetan nanopartikulen gainazalak energetikoki ezegonkorrak izango lirateke, oreka nanopartikula txikiagoen formakuntzan aurkituz R. Hufschmid azaltzen duten moduan^[54].

Honekin batera, sintesian erabilitako estekatzailen kontzentrazio erlatiboa ere aztertua izan da. Kasu honetan, burututako sintesi guztietan 2:1 estekatzaila-aitzindari metaliko erlazioa erabili da. 1.4 irudian ikus daiteke nola 30 – 75 minutu eta 105 – 120 minutu bitarte sintetizatutako laginek morfologia esferiko-kuboktaedrikoa azaldu duten, 90 minuturekin sintetizatutako lagina (Co_{0,15}_90) morfologia kubikoa aurkezten duen bitartean. H. Yang eta lankideek azido oleikoa eta oleilamina kontzentrazio baxuetan morfologia nagusia esferikoa zela eta estekatzailen kontzentrazioa handitzean nanokuboak lortzen direla azaldu zuten. Izan ere, azido oleikoaren talde karboxilikoak {100} planora lotzeko duen lehentasunaren ondorioz, norabide horretako hazkundera oztopatzen du hazkuntza kubikoa azalduz^[55]. Lehenago azaldu den bezala, morfologia aldaketa hauek sintesi prozesuan gerta litekeen disolbatzaile galerekin lotuta egon liteke, non aitzindari organometalikoaren kontzentrazioak gora eginez sintesi ingurunean dauden estekatzailerekin duen korrelazioa aldatuko lukeen, tamaina eta morfologia desberdinetako materialak lortuz^[56].

Kobalto kontzentrazio desberdinak dituzten laginen artean, zeinak sintesi prozedura eta denbora berdinarekin prestatuak izan diren, tamaina desberdinak aurkeztu dituzte. Kobaltozko aitzindariaren kontzentrazioa handiagoa denean, nanopartikulek tamaina handiagoa (8 nm) dute, txikitzen den heinean nanopartikulen tamaina txikituz (6 nm). Kobalto(II) azetilazetonatoaren deskonposizio-tenperatura (165-170°C) burdina(III) azetilazetonatoarena (180-190°C) baino baxuagoa da. Hori dela eta, kobalto kontzentrazio handiagoa den kasuetan nanopartikulen nukleazioa lehenago gerta daiteke, hazkunde prozesuan nanopartikula handiagoak lortuz^[18].

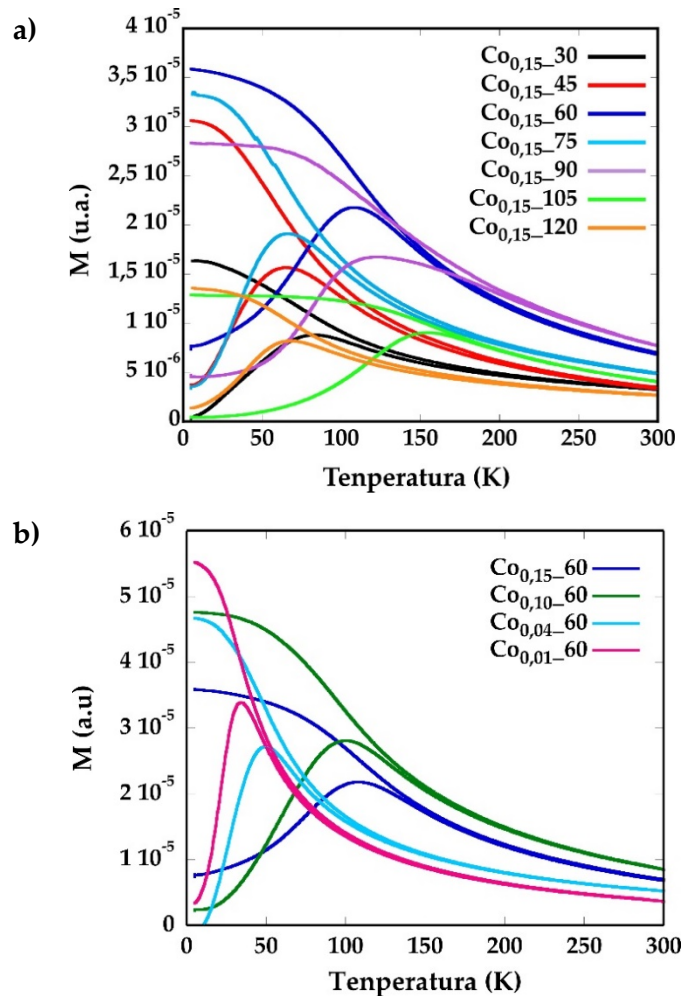
1.5 Karakterizazio magnetikoa

Nanopartikulen karakterizazio magnetikoa hainbat metodoren bidez aztertu zen A.5 eranskinean azaltzen den moduan, hala nola: eremuaren eta tenperaturaren menpeko magnetizazio-neurriak, $M(H)$ eta $M(T)$, eta erresonantzia magnetiko elektronikoaren espektroskopia (EMR). Alde batetik, tenperatura aldakorrean (5 eta 300 K artean) baina eremu konstantean neurtutako laginak UPV/EHUko Neurketa Magnetikoen Zerbitzu Orokorrean kokatutako Quantum Designen SQUID magnetometro komertzial (MPMS 7T) batean burutu ziren, 7T-raino iristen den iman supereroale batez eta 2 eta 400 K bitarteko tenperaturan neurtu dezakeen kriostato batez hornituta dagoena. Laginak neurtzeko, toluenoan disolbatuta dauden lagin bakoitzaren (0.5 mg mL^{-1}) tanta batzuk iragazki paper baten gainean sakabanaturik neurtu ziren nanopartikulen arteko elkarrekintzak saihesteko helburuarekin. Tenperaturarekiko magnetizazioa zero eremuan hoztu ondoren (ingelesez *Zero Field Cooling*, ZFC) eta eremu pean hoztu ondoren (ingelesez *Field Cooling*, FC) (1.7 irudia) 10 Oe-ko eremu magnetiko konstante pean neurtu zen.

Tamaina berdineko nanopartikulen multzo bat duen sistema batetan, suposatzen da ZFC kurbaren maximoa laginaren blokeo-tenperaturaren berdina dela, T_B , nanopartikulen momentu magnetikoen blokeo-desblokeatze prozesuarekin lotuta dagoena, energia termikoaren arabera. Stoner-Wohlfarthen^[57] teoriaren arabera, blokeo-tenperaturak, norabide erraz baliokideen artean E_B energia-langarekiko proportzionalak dira:

$$T_B = \frac{E_B}{\ln\left(\frac{\tau_m}{\tau_0}\right)k_B} \quad (1.2)$$

non k_B Boltzmanen konstantea den eta τ_m -ek jauzi saiakeren maiztasunaren alderantzizkoa adierazten duen, Arrhenius motako lasaikuntza-denbora suposatuz, non τ_0 esperimentuaren denbora-leiho den. K_{eff} anisotropia magnetiko eraginkorra, $E_B = K_{eff} V$ ekuazioak definitzen du, non V partikularen bolumena den eta materialaren formak, azalerak eta anisotropia magnetokristalinoak (K_c) baldintzatzen duten^[58]. Hala ere, nanopartikulen arteko interakzio dipolarren ondorioz anisotropia magnetiko eraginkorrari egin diezaiokeen ekarpenena ere ager daiteke. Oro har, 1.2 ekuazioan suposatzen da $\tau_m = 100 \text{ s}$ eta $\tau_0 = 10^{-9} \text{ s}$ dela.



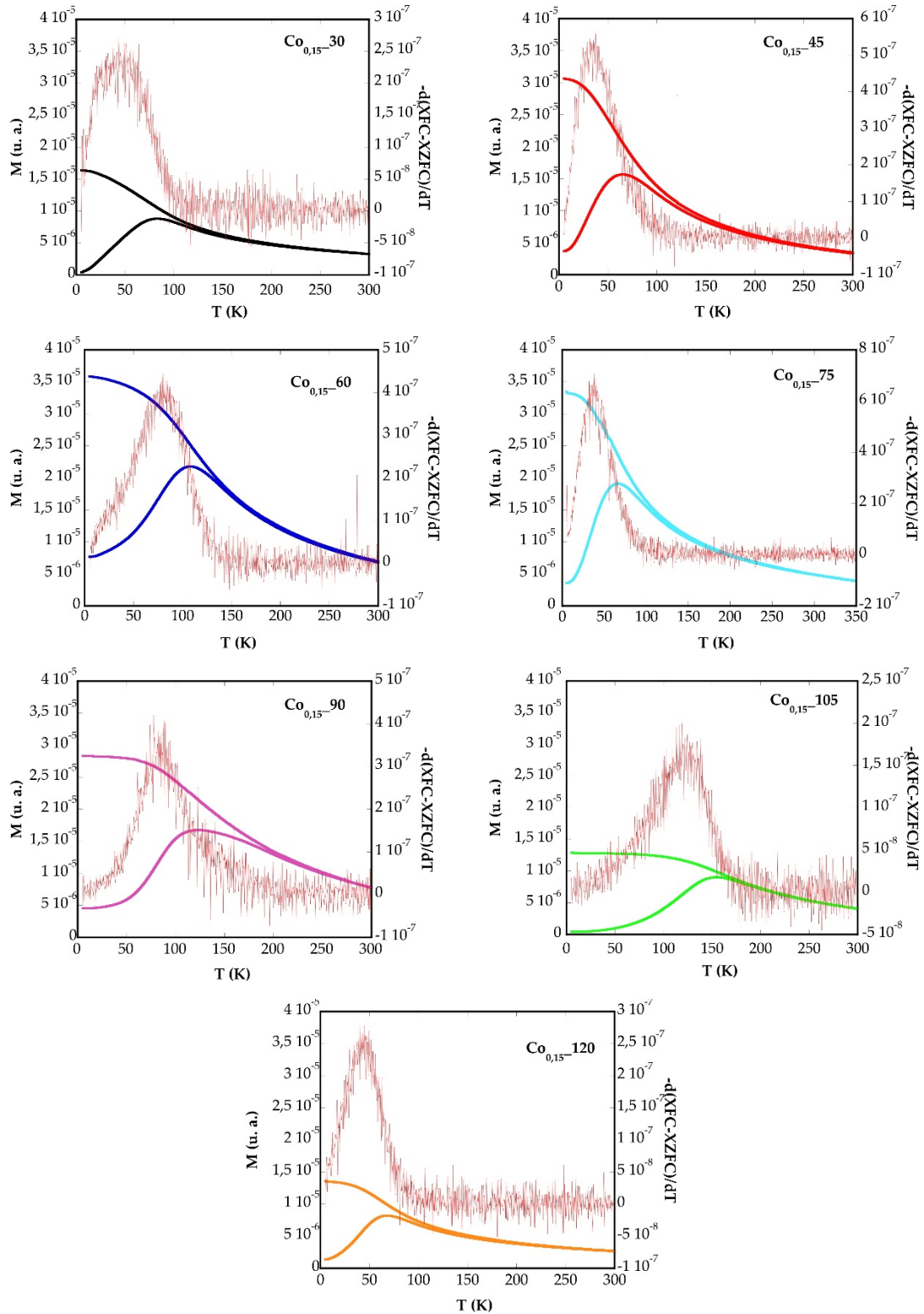
1.7 irudia. ZFC eta FC magnetizazioen temperaturarekiko mendekotasuna (a) Co_x laginetarako birfluxu-denboretarako eta (b) Co kontzentrazioetarako, 10 Oe-ko eremu magnetiko batean neurtuta.

1.7 irudian, $Co_{0,15_60}$, $Co_{0,15_90}$ eta $Co_{0,15_105}$ nanopartikuletarako ZFC kurben maximo zabalak ikus daitezke, beste laginetako maximoak baino temperatura altuagotan kokatzen direnak. T_B -ren desplazamendu hau $Co_{0,15_60}$, $Co_{0,15_90}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginek erakutsitako partikula tamainarik altuenekin (8 ± 1 , 11 ± 1 eta 8 ± 1 nm, hurrenez hurren) lotuta egon liteke [59]. Honekin batera, TEM irudietan ikusi den bezala, $Co_{0,15_60}$, $Co_{0,15_90}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginak tamaina dispersio handiak aurkeztu dituzten laginak izan dira, kurben zabalera azaltzen duena. Hau, G. Baldi eta lankideek argitaratutako lanarekin bat dator, zeinek kobaltoarekin dopatutako nanopartikulek 5 eta 7 nm bitarteko tamainak aurkeztu zituzten. Honetan, laginentzat aurkeztutako ZFC/FC kurbetan blokeo-temperatura 177 K-etik 289K-era igotzen zen nanopartikulen tamaina gora egiten zuen heinean[60].

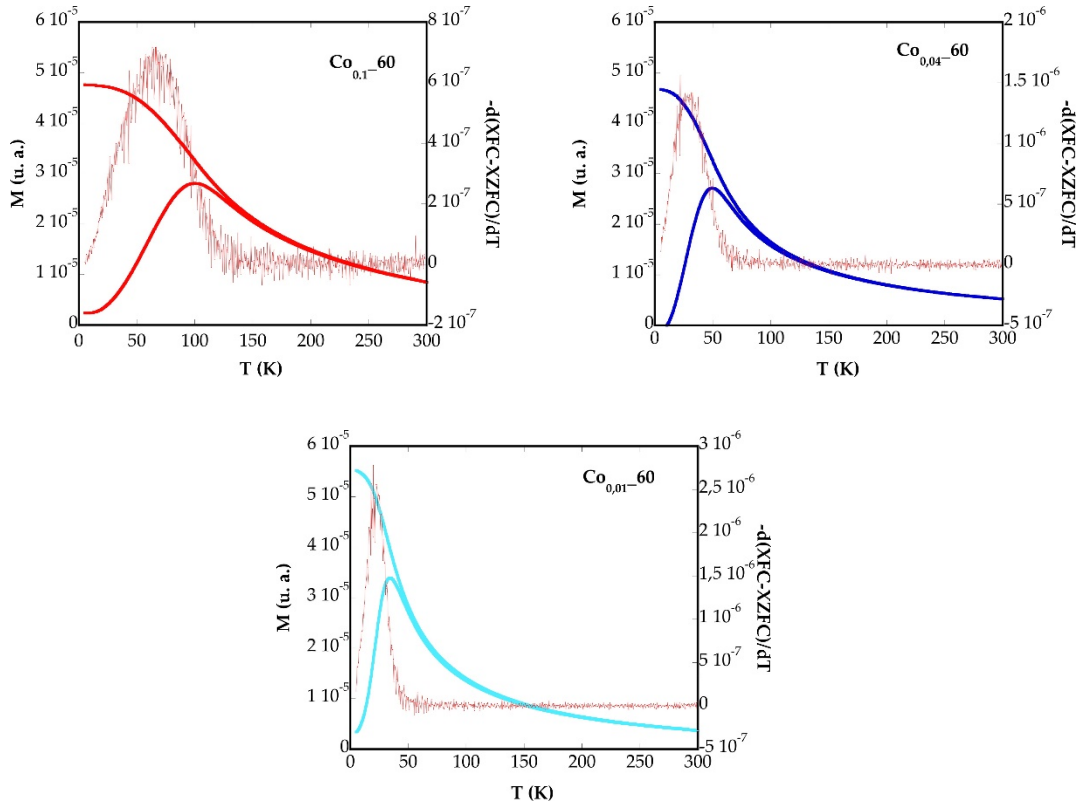
ZFC kurben maximoari esleitutako tenperatura hauek, T_B , ZFC eta FC kurbak bereizten diren tenperaturetatik, T_{irrv} , apur bat aldentuta daude, nanopartikula handien momentu magnetikoaren desblokeoaren adierazle direnak. $Co_{0.15}_{90}$ laginean, ZFC/FC kurban $T_B = 123$ K eta $T_{irrv} = 220$ K artean (1.8 irudia) ikusitako aldea, partikularen tamainaren banaketa zabalaren adierazlea da, hots, anisotropiako energia-langen banaketarena. Beraz, laginen T_B balioak behar bezala zehazteko eta alderatzeko, baliogarriagoa da $\langle T_B \rangle$ batez besteko blokeo-tenperatura kalkulatzeko. Energia-hesien banaketa lortzeko, magnetizazioa vs tenperaturarekiko egindako neurketatik lortutako ZFC eta FC kurben arteko kenketa zuzenetik lortutako emaitzaren deribatua erabili da (B.2 eranskina). Lortutako $\langle T_B \rangle$ balioak 1.8 eta 1.9 irudietan eta 1.4 taulan adierazita daude.

1.3 taula. ICP emaitzetatik lortutako formulak, batez besteko blokeo tenperatura ($\langle T_B \rangle$), itxurazko diametro magnetikoa ($D_{ZFC/FC}$), 1.2 ekuaziotik abiatuta lortutako K_{eff} anisotropiaren konstantea (0 K), K_c anisotropia magnetokristalinoa, asetze-magnetizazioa 250 K-tan eta kalkulaturako kobalto teorikoa (Co_x).

Lagina	ICP	$\langle T_B \rangle$ (K)	$D_{ZFC/FC}$ (nm)	K_{eff} (0 K) ($kJ \cdot m^{-3}$)	K_c ($kJ \cdot m^{-3}$)	H_c (5K) (Oe)	M_s ($Am^2 \cdot kg^{-1}$)	Co_x (x)
Co_{0.15}_30	Fe _{2,92} Co _{0,08} O ₄	51,8	6,37 (2)	115,6	462,4	3300	69,7	0.05
Co_{0.15}_45	Fe _{2,92} Co _{0,08} O ₄	47,8	6,14 (1)	107	428	3600	70,6	0.04
Co_{0.15}_60	Fe _{2,86} Co _{0,14} O ₄	75,7	7,51 (1)	138	553,2	5300	82,15	0.05
Co_{0.10}_60	Fe _{2,93} Co _{0,07} O ₄	66,7	7,68 (1)	102	434	3650	74,25	0.04
Co_{0.04}_60	Fe _{2,97} Co _{0,03} O ₄	34,8	7,39(1)	54,9	219,6	999	82,59	0.02
Co_{0.01}_60	Fe _{2,91} Co _{0,01} O ₄	24,6	6,86 (1)	46,5	186,2	610	85,25	0.02
Co_{0.15}_75	Fe _{2,9} Co _{0,1} O ₄	46,1	6,44 (1)	102,4	409,6	3310	77,48	0.04
Co_{0.15}_90	Fe _{2,11} Co _{0,09} O ₄	96,5	10,7 (2)	55,1	220,6	2262	65,63	0.02
Co_{0.15}_105	Fe _{2,89} Co _{0,11} O ₄	110,2	7,96 (1)	208,8	835,2	6360	77,93	0.08
Co_{0.15}_120	Fe _{2,84} Co _{0,16} O ₄	49,9	5,98 (2)	120,9	483,6	1800	86,16	0.05



1.8 irudia. 10 Oe-ko eremuan neurtutako suszeptibilitate magnetikoa (ZFC eta FC) eta $-d(\chi_{FC} - \chi_{ZFC})/dT$ $Co_{0,15-30}$, $Co_{0,15-45}$, $Co_{0,15-60}$, $Co_{0,15-75}$, $Co_{0,15-90}$, $Co_{0,15-105}$ eta $Co_{0,15-120}$ laginentzat.



1.9 irudia. 10 Oe-ko eremuan neurtutako suszeptibilitate magnetikoa (ZFC eta FC) eta $-d(\chi_{FC} - \chi_{ZFC})/dT$, $Co_{0.1_60}$, $Co_{0.04_60}$ eta $Co_{0.01_60}$ laginen kasuan.

$\langle T_B \rangle$ balio hauek anisotropia konstante eraginkorra estimatzeko erabil daitezke. Hala ere, ekuazio honetatik abiatuta kalkulaturako K_{eff} -a ZFC maximoaren hurbileko temperaturen anisotropiaren adierazlea izango litzateke, lagin batetik bestera aldatzen dena.

Datu horiek ezin dira alderatu, kobaltoa duten nanopartikulek anisotropiaren konstantearen aldaketa esanguratsuak aurkezten baitituzte temperaturarekin^[61]. Beraz, haien arteko konparazioak egiteko, lagin guztiek temperatura baxuetan (0 K) duten anisotropia konstante eraginkorra zehaztea baliagarriagoa izango litzateke. Horretarako, ZFC kurbak 1.2 ekuazioarekin doitu dira, zeina termikoki aktibatutako nanopartikulei dagokien termino batekin eta blokeatutako nanopartikulei dagokien beste termino batekin osatuta dagoen (B.3 eranskinean azaldutako eredua).

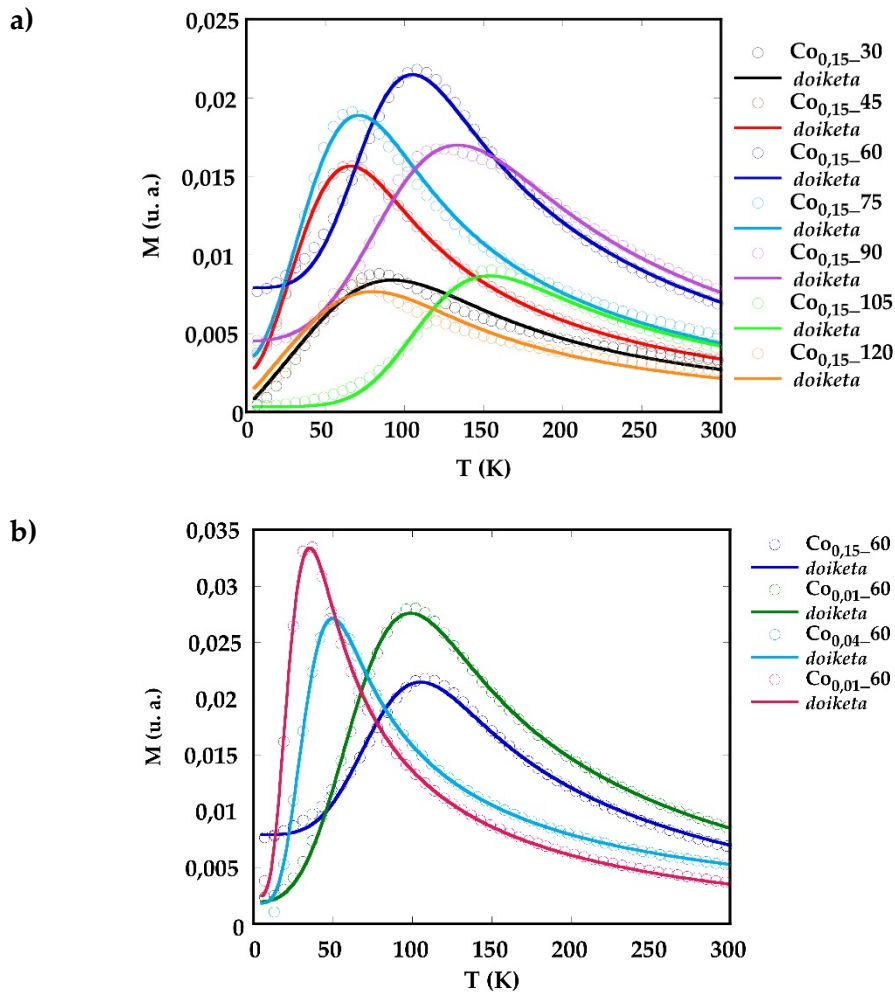
$$M_{ZFC}(T) = \oint_0^{V_c(K_{eff}, T)} M_s L \left(\frac{MVH}{k_B T} \right) f(V) dV + \oint_{V_c(K_{eff}, T)}^{\infty} M_s \left(\frac{MH}{3K} \right) f(V) dV \quad (1.2)$$

non M domeinu magnetizazioa, M_s asetze-magnetizazioa eta $f(V)$ nanopartikulen tamaina sakabanaketa diren. V_c (K_{eff}, T) parametroak temperatura zehatz batean termikoki aktibatutako bolumen frakzio kritikoari dagokio

1.10 irudian adierazitako doikuntzek erakutsitako akordio onek berresten dute erabilitako ereduaren baliozkotasuna, non elkarrekintza dipolarren ekarpenak ez diren kontuan hartu. $Co_{0,15_60}$, $Co_{0,15_90}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginek, batez besteko $\langle T_B \rangle$ balio maximoekin, nanopartikula handienekin erlazionatuta dauden anisotropia-konstanteen balio altuenak dituzte (138, 55 eta 208 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-3}$, hurrenez hurren)^[57]. Modu honetan, nahiz eta $Co_{0,15_90}$ laginak sintetizatutako nanopartikulen artean tamaina handiena duten nanopartikula dituen, anisotropia-konstante txikiena aurkeztu duen lagina izan da. Hein honetan, nanokristal esferikoen topologia kurbatuarekin alderatuta, nanokristal kubikoek dituzten gainazal lauei esker, gainazaleko katioi metalikoek koordinazio simetrikoagoa eta oxigeno atomo koordinatu gehiago dituzte^[52]. Hori dela eta, $Co_{0,15_90}$ laginak $Co_{0,15_60}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginek (esferikoagoak direnak) baino anisotropia-konstante txikiagoa aurkeztu du. Horrela, $Co_{0,15_60}$ eta $Co_{0,15_105}$ nanopartikulentzat lortutako anisotropia-konstante balio hauek bat egiten dute A. Lopez-Ortega eta lagunek argitaratutako lanarenik, non nanopartikularen tamainak gora egin ahala (20 nm-ra arte) nanopartikulen anisotropia-konstante balioek gora egiten duten^[51]. Gainera, kontuan hartu behar da, $Co_{0,15_60}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginek antzeko tamaina (8(1) nm) eta kobalto kontzentrazio desberdina (ICP bidez kalkulaturako estequiometria $x = 0.14$ eta 0.11) izanda anisotropia-konstante balio altuena kobalto kontzentrazio txikiena duena aurkeztu duela.

Gertaera hori Co^{2+} -aren kontzentrazio altuekin ($x > 0,09$) azaltzen da. Co^{2+} ioiek ferrita sarean anisotropiaren energia handitzea eragiten dute, bereziki ioi horiek hutsune oktaedrioetan kokatzen direnean, zeinek endekapen orbital hirukoitza, ${}^4T_{1g}$ oinarrizko egoera, eta spin-orbita akoplamendu handia dituzten. Joera hori argi eta garbi nabarmentzen da $Co_{0,01_60}$, $Co_{0,04_60}$, $Co_{0,1_60}$ eta $Co_{0,15_60}$ laginetan; izan ere, energia-anisotropiaren konstanteen balioak, 46,5 , 54,9 , 102 eta 138 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-3}$ dira. Hortaz, anisotropia balioak, pixkanaka handitzen dira kobalto-edukia handitzen den heinean (ikusi 1.3 taula), aurrez argitaratutako antzeko faseetan ikusi den bezala^[48]. Honekin batera, T. Bala eta lankideek argitaratu zuten bezala, tamaina nanometrikoa duten

materialen anisotropia-konstantea egoera masiboko materialek duten anisotropia-konstantearen balioa baino altuagoa izan dezakete gainazaleko efektuen eta materialaren tamainaren arabera^[62].



1.10 irudia. 1.2 ekuazioa erabiliz Co_xO_t laginen birfluxu-denbora desberdinetarako (a) eta kobalto kontzentrazio desberdinetarako (b) ZFC neurketa esperimentalak (markatzaile zirkularrak) eta burututako doikuntzak (lerro jarriak).

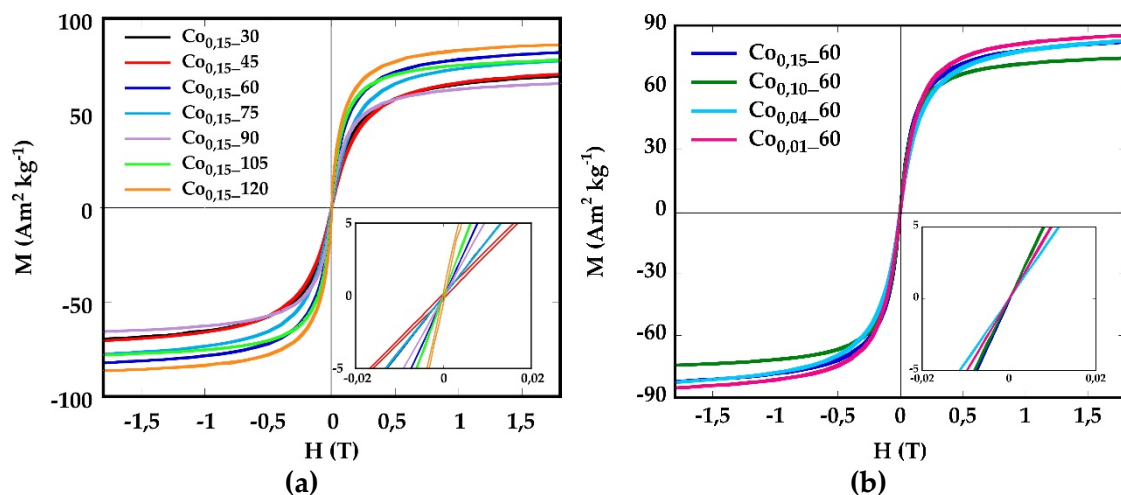
Hala ere, Co^{2+} ioiak ferritaren sarean sartzeak sintetizatutako lagin guztiei eragiten die; izan ere, lortutako anisotropia-balioak magnetita nanometrikoen kasuan behatutakoak baino altuagoak dira^[63], baina Fe_2CoO_4 nanopartikulentzat lortutako anisotropia-konstanteak baino baxuagoak^[9].

Kobaltoarekin dopatutako laginetan, anisotropia magnetokristalinoaren ekarpena garrantzitsua izan daiteke eta kubikoa izatea espero da^[64-67]. Lortutako balioak 428 eta 835 $kJ \cdot m^{-3}$ bitarteko tartean daude, eta ferrita horietako kobaltoaren eduki teorikoa kalkulatzeko (1.3 taula) erabili dira ($x = 0.05 - 0.25$) Q. Zhang eta lagunek proposatutako formularekin, $K_{eff} = K_c/4$ ^[58]. ICP teknikaren bidez lortutako balioak baino txikiagoak

diren arren, neurketa magnetikoetan lortutako balio horiek magnetitaren gelaxka-unitatean dagoen Co edukiak adieraziko lituzkete. Izan ere, ICP teknikaren bidez lortutako emaitzak kontzentrazio osoaren balioak islatuko lituzke, gelaxkaren barruan zein fase bereizi batean egonda. Co-aren eduki teorikoa $x = 0,15$ duten laginetarako, ZFC-FC kurbetatik lortutako kobalto-proporzioak $x = 0,08-0,02$ balio inguruan mantentzen da, birfluxu-denbora edozein dela ere. Co_{x_60} laginen kasuan, Co edukia $x = 0,05$ -tik $x = 0,02$ -ra murriztea bat dator Co kantitate teoriko beherakorren joera orokorrarekin. Modu honetan, $Co_{0,15_60}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginentzat lortutako Co-aren edukiek ($x = 0,05$ eta $x = 0,08$ hurrenez hurren) lehenago aipatu den anisotropia-kontante balioen desberdintasuna azalduko luke, kobalto kontzentrazio altuena duen laginak anisotropia-balio handiagoa ere erakutsiz.

Bestalde, A.5 eranskinean adierazten den moduan ingurune tenperaturan neurtutako eremuaren menpeko magnetizazio neurriak UPV/EHUko Neurketa Magnetikoen Zerbitzu Orokorrean kokatutako VSM ez komertzial batetan neurtu zen, gehienez 1,8 T-ko eremua duen elektroiman batez hornituta dagoena. Honetan, laginak hauts moduan gelatinazko kapsula baten barnean neurtu ziren.

Ferrita-nanopartikulen portaera superparamagnetikoa, 250 K-etan neurtutako magnetizazioa (M) vs aplikatutako eremu magnetikoa (H) adierazten duten grafikoetan (1.11 irudia, 1.3 taula) ikus daiteke, giro tenperaturan eremu koertzitiboaren (H_c) faltak berretsi duen bezala.



1.11 irudia Co_x_t laginen histeresi zikloak giro tenperaturan birfluxu-denbora desberdinak erabiliz (a) eta kobalto kontzentrazio desberdinentzat (b).

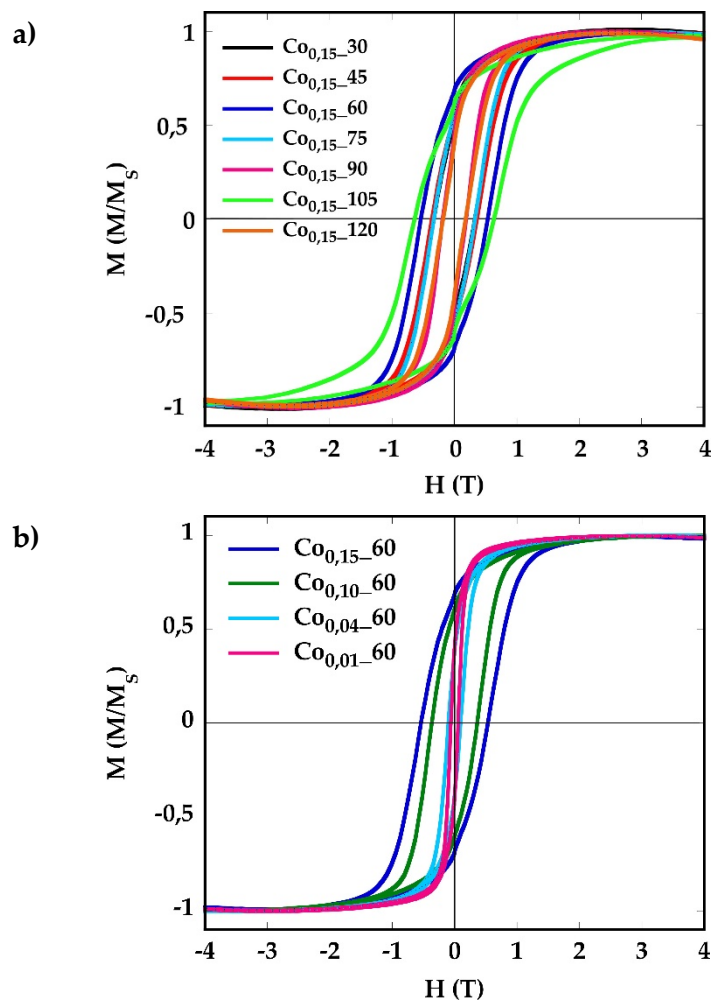
Laginen asetze-magnetizazio balioen arteko desberdintasunak, ICP teknikaren bidez ondorioztatu den bezala, kobaltoak magnetita sarean egiten dituen ordezkapen kantitate desberdinekin zerikusia izan dezake^[29]. Honekin batera, nanopartikulen tamaina eta morfologia desberdinek lortutako balioetan eragin zuzena izan dezake gainazalean azpikoordinatuta dauden atomoengatik^[62].

1.11 irudian ikus daitekeenez, magnetizazioa ez da inola ere saturaziora iristen, ezta aplikatutako eremu altuenetan ere. Interakzio magnetikoa, hutsune tetraedrikoen (A) eta oktaedrikoen (B) arteko supertrukaketa elkarrekintzaren bidez azal daitekeenez, M formula bakoitzeko momentu magnetikoak bi hutsuneen momentu magnetikoen arteko diferentzia adieraziko luke, $M = M_B - M_A$. Hau honela, partzialki alderantzizkoa den egituran Fe^{2+} katioiaren ordezkari (4 μ_B) Co^{2+} katioia (3 μ_B) kokatuko balitz (B lekuetan kokatzeko lehentasuna aurkezten duena) lagin guztien asetze-magnetizazioaren balioaren jaitsiera gertatuko litzateke^[9]. Co_x laginek giro-tenperaturan aurkezten dituzten asetze-magnetizazioaren balioak 86 $Am^2 \cdot kg^{-1}$ -tik 65 $Am^2 \cdot kg^{-1}$ -ra aldatzen dira (1.3 taula), magnetita "bulk" materialaren asetze-magnetizazioa baino baxuagoak (92 $Am^2 \cdot kg^{-1}$) eta magnetita fase purua eta kristalinitate altua aurkezten duten nanopartikulenak baino baxuagoak^[68]. Asetze-magnetizazio balio hauen goitiberak, kobalto(II) magnetita sarean duen kokapenarekin erlazionatuta dago. Izan ere, aipatu bezala, leku tetraedrikoetan kokatuko balitz, asetze-magnetizazio balio altuagoak lortuko lirateke. 1.3 taulan ikus daitekeen bezala, sintesi denbora laburrak (30 – 60 min) erabiliz, asetze-magnetizazio balio altuenak lortu dira. Honekin batera, sintesi denbora luzatuz gero (60 – 90 min), argi ikusten da nola kobaltoaren kontzentrazioa sintetizatutako nanopartikuletan behera egiten duen $x = 0,14$ -tik $x = 0,09$ -ra. Horren ondorioz, asetze-magnetizazio balioen igoera bat gertatzea espero liteke^[39], 1.3 taulan adierazitako balioek adierazten dutenaren kontrakoa. Hortaz, sintesi denbora luzatze honek, kobalto(II) katioi gehiago leku oktaedrikoetan kokatzea eragin duela esan daiteke, asetze magnetizazioaren jaitsieraren erantzule izango litekeena^[9]. Dena den, denbora luzeenarekin sintetizatutako bi laginek, $Co_{0,15_105}$ eta $Co_{0,15_120}$, ICP bidez lortutako emaitzetan kobalto kontzentrazio handienak aurkeztu dituzten laginen artean daude eta asetze-magnetizazio gorakorra aurkeztu dute. Hortaz, kobaltoarekin dopatutako nanopartikulak sintetizatzerako orduan, asetze-magnetizazio balio altuak

lortzeko, denbora laburrak (60 min) zein oso luzeak (120 min) erabiltzea komenigarria da.

Kobalto kontzentrazio desberdinekin sintetizatutako laginei dagokienez, 1.3 taulan adierazitako balioei erreparatuz, gero eta kobalto kontzentrazio txikiagoa orduan eta asetze-magnetizazio handiagoa aurkezten dutela ikus daiteke. Modu honetan ikusten da, denbora jakin batean, kasu honetan 60 minutu, kobalto kontzentrazio txikien erabilpenak lortutako materialen asetze-magnetizazioaren handipena eragiten duela.

Histeresi-zikloak 5 K-tan ere neurtu dira eta eremu koertzitiboen balioak (H_c) kalkulatu dira (1.3 Taula, 1.12 irudia).



1.12 irudia. Birfluxu-denbora desberdinetan (a) eta kobaltoaren kontzentrazio desberdinetan (b) sintetizatutako laginen histeresi zikloak 5 K-etan.

Balio horiek 610 eta 6360 Oe artekoak daude Co_x _t nanopartikuletarako, eta laginen arteko mikroegiturazko desberdintasunekin aldatzea espero da. $0,1 < x < 1$ bitarteko Co estekiometria duten nanopartikulen kasuan, 1130 Oe baino altuagoa duten H_c -aren

balioak behatu dira^[69]. $Co_{0,15_60}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginen kasuan, kobaltoaren eduki nominal altuenak dituztenek (0,14 eta 0,11, hurrenez hurren), H_c balio altuenak aurkeztu dituzte, 5300 eta 6360 Oe. Beste laginetan, kobalto-edukiaren eraginarekin batera, beste efektu batzuek, hala nola, nanopartikulen tamaina eta morfologia desberdinek, eremu koertzitiboan ere eragina izan dezakete^[70]. 1.5 taulan adierazitako balioetan fijatuz gero, argi ikus daiteke nola, laginen kobaltoaren edukia igo ahala, nanopartikulen eremu koertzitiboak gora egiten duen, bibliografian azaltzen den moduan^[30,41].

1.6 Erresonantzia magnetiko elektronikoa

Laginen portaera magnetikoan sakontzeko, Erresonantzia Magnetiko Elektronikoaren (EMR) neurketak egin ziren. Laginak X bandan (9,4 GHz inguru) lan egiten duen eta ER-4123-SHQ barrunbeaz eta 200 mW-ko mikrouhin-energia iturriaz hornituta dagoen Bruker ELXSYS 500 espektrometroan neurtu ziren. Horretarako nanopartikulen $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ dispersioak toluenoan prestatu dira A.6 eranskinetan azaltzen den bezala. 1.13 irudiak Co_x_t laginen EMR espektroak erakusten ditu.

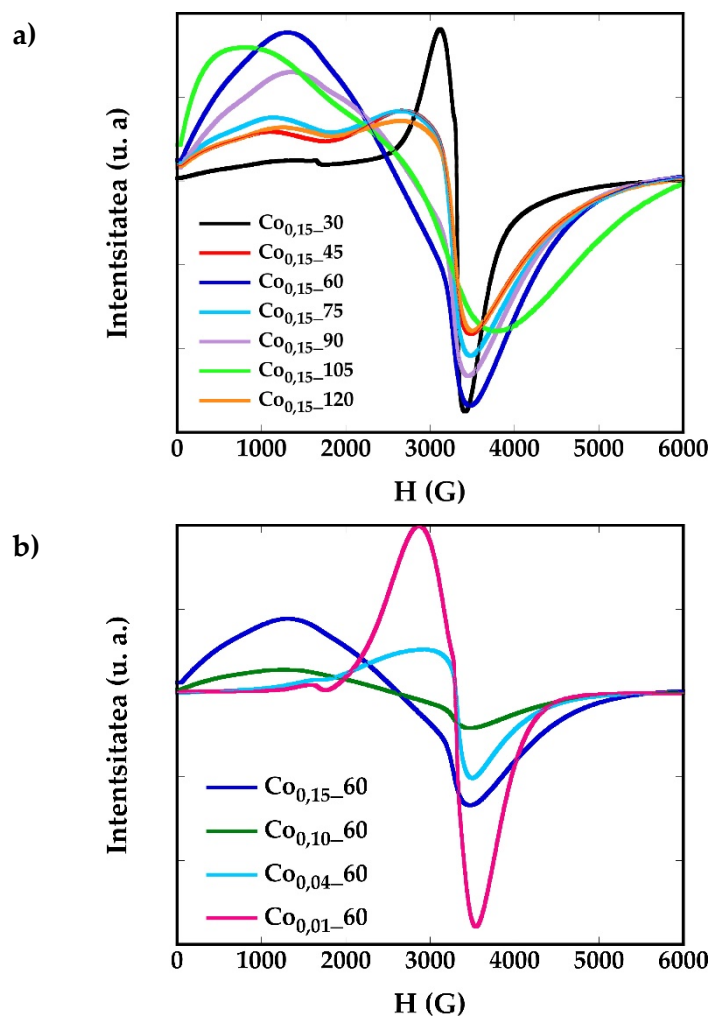
Fe_3O_4 nanopartikulen laginek, tamaina, forma eta konposizio homogeneoa dutenean eta nanopartikulak txikiak direnean bakarrik $g = 2$ eremuan zentratuiko seinale bat aurkezten dute. g faktorea erresonantzia maximoan (H_r) gertatzen den eremu magnetikoarekin erlazionatuta dago, honako ekuazio honen bidez:

$$g = \frac{h\nu}{\beta H_r} \quad (1.3)$$

non h Plancken konstantea den, ν mikrouhinen frekuentzia eta β Bohr-en magnetoia. Aldez aurretik ikusi da lerroaren zabaltasuna eta erresonantziaren balioa, H_r , magnetita nanopartikularen lagin batetik bestera aldatu egiten direla. Aldakuntza horrek nanopartikularen tamainarekin oso korrelazio estua dauka⁶. Hala ere, Co_x_t nanopartikuletan, non kobaltozko eduki aldaketa txikiak agertzen diren, tamaina edo morfologia aldatu ahala, $g = 2$ faktorean zentratuta ez dauden seinale zabal eta asimetrikoak lortzen dira (ikusi 1.13 irudia, 1.7 Taula).

Seinaleetako asimetria hori kobaltoaren presentziarekin lotuta egon liteke. Izan ere, kobaltoaren presentziak eragindako anisotropia magnetokristalinoaren ekarpen handipenak, partikulen ausazko orientazioekin batera, nanopartikula monodomeinu ferromagnetikoen espektroak zabaltzea eragiten du^[71]. Egoera hau, partikulen arteko

elkarrekintza indartsuekin batera espektroen lerro zabaleraren balizko arrazoia izan liteke^[72].



1.13 irudia. Birfluxu-denbora desberdinetan (a) eta Co kontzentrazio desberdinekin (b) sintetizatutako Co_x-t laginen EMR espektroak.

1.4 Taula. Co_x-t laginen g_{eff} balioak, TEM bidez kalkulaturako diametroekin batera.

Lagina	D_{TEM} (nm)	g
$Co_{0,15_30}$	6 ± 1	1,97
$Co_{0,15_45}$	6 ± 1	1,93
$Co_{0,15_60}$	8 ± 1	1,94
$Co_{0,10_60}$	7 ± 1	1,94
$Co_{0,04_60}$	7 ± 1	1,93
$Co_{0,01_60}$	6 ± 1	1,90
$Co_{0,15_75}$	7 ± 1	1,94
$Co_{0,15_90}$	11 ± 1	1,96
$Co_{0,15_105}$	8 ± 1	1,78
$Co_{0,15_120}$	6 ± 1	1,93

1.13 irudian ikus daitekeen bezala, espekto guztietan bi osagai agertzen dira: bata erresonantzia-eremu altuetan eta bestea erresonantzia-eremu baxuenetan. Alde horretatik, erresonantzia maximoko H_r eremu magnetikoari dagozkion g balioak $g = 1,78 - 1,97$ tartean daude, eta erresonantzia minimoko eremuari dagozkionak $4,96 - 8,28$ tartean. Ikus daiteke antzeko seinaleak dituzten laginek ere hurbileko forma, tamaina eta kobalto-edukia dutela. Izan ere, $Co_{0,15_45}$, $Co_{0,15_75}$ eta $Co_{0,15_120}$ laginek, ZFC – FC neurketen arabera kalkulatuak, 6 nm-ko tamainak eta $x = 0,04$ -ko kobalto-edukiak dituzte (1.4 taula).

Aipatu beharra dago 1.13 irudian irudikatutako espektoetan hiru kurba mota bereizten direla. Alde batetik, $Co_{0,15_90}$, $Co_{0,15_60}$, $Co_{0,1_60}$ eta $Co_{0,15_105}$ laginak, tamaina handieneko nanopartikulak izanik, eremu txikietan erresonantzia-espekto zabalenak aurkeztu dituzte. Seinale-zabaltasun hori lagin horiek duten kobalto-eduki handiagatik izan liteke. Laginen izaera superparamagnetikoa eta kobaltoaren anisotropia-balio handiko eta izaera ferromagnetiko handiko metala izatea^[68], nanopartikulak aplikatutako eremuarekiko lerrotatzearen zailtasunaren eragile nagusia izan litezke. Honek, beste laginek baino espekto zabalagoak eragingo ditu, bibliografiarekin bat datorrena^[71]. Halaber, $Co_{0,15_45}$, $Co_{0,15_75}$ eta $Co_{0,15_120}$ laginen espektoek bi maximo erakusten dituzte. Bibliografian ikusi den bezala, giro-tenperaturan neurtutako nanopartikulen seinale-kopuruaren gorakadak, lagin berean bi nanopartikula populazio edo gehiagoren presentziaz berri ematen du^[73,74]. Aurrekoa ikusita, $Co_{0,15_30}$ eta $Co_{0,01_60}$ laginek, espekto estuagoak erakusten dituztenez, egituraren kobalto kantitate txikiagoa dutela, baita tamainen sakabanatze txikiagoarekin lotuta dagoela ere ondoriozta daiteke. Honekin batera, $Co_{0,15_30}$ eta $Co_{0,01_60}$ laginen espektoetan tamaina txikiko (2-4 nm) nanopartikulen ekarpena ikus daiteke, 1600 G-tan agertzen den seinale debekatua deitutakoaren agerpenaren ondorioz^[75].

Ondorioak

Kapitulu honek $Fe_{2,92}Co_{0,08}O_4$, $Fe_{2,86}Co_{0,14}O_4$, $Fe_{2,93}Co_{0,07}O_4$, $Fe_{2,97}Co_{0,03}O_4$, $Fe_{2,91}Co_{0,01}O_4$, $Fe_{2,9}Co_{0,1}O_4$, $Fe_{2,11}Co_{0,09}O_4$, $Fe_{2,89}Co_{0,11}O_4$, eta $Fe_{2,84}Co_{0,16}O_4$ formula orokorrarekin kobaltoz aberastutako ferrita-nanopartikulen lorpenaren ikuspegi sakonagoa ematen du. $Fe_{2,85}Co_{0,15}O_4$ -ko konposizio teorikoa duten ferriten sarean sartutako kobaltozko kantitatea kontrolatzeko birfluxu-denbora 30 eta 120 minutu bitartean doitu behar da. Badirudi prestaketa-prozesuaren aldaketa horrek partikularen batez besteko tamainan edo partikularen tamaina-banaketan ez duela eragin nabarmenik, ez ordea kobaltoaren benetako edukian. Izan ere, ICP analisiaren bidez ikusi denez, hasiera batetan sintesian erabilitako kobalto kantitatea baino kontzentrazio txikiagoak lortu dira. Argi geratu da, kobaltoarekin dopatutako nanopartikulak prestatzerako orduan, erabilitako kobalto aitzindariaren kontzentrazioa oso garrantzitsua dela.

Bestetik, ikusi da birfluxu-denbora kobalto kantitatean eragin zuzena duela. Hots, 60 eta 120 minutu dira $x = 0,15$ konposizioa duten nanopartikulak lortzeko denborarik egokienak. Beste birfluxu-denbora batzuk erabiltzeak kobalto kontzentrazio desberdinak eragiten ditu. Azpimarratzekoa da, 30 eta 45 minutuko sintesietan, lortu nahi den kobalto aberastasuna ($x = 0,15$) baino kontzentrazio txikiagoko nanopartikulak lortu direla. Honekin batera 60 eta 120 bitarteko denboran burututako sintesietan lortutako nanopartikulek kobalto kontzentrazio gorakorra aurkeztu dute, $x = 0,1$ eta $x = 0,16$ bitartekoa izanik. Kobalto kontzentrazio ezberdintasun hauek sintesian zehar ematen diren zinetika prozesuekin lotuta egon liteke, non denborak gora edo behera egin ahala kobalto ioiak nanopartikula egituraren barnean gehiago edo gutxiago sartzen diren.

Bestalde, kobalto-edukiak erantzun magnetikoan duen eragina frogatzeko, Fe/Co aitzindari metalikoen erlazioa aldatuz, 60 minutuko birfluxu-denbora berarekin beste lagin multzo bat prestatu da: $Fe_{3-x}Co_xO_4$ -ren ($x = 0,1, 0,04, 0,01$). Kasu honetan, nahiz eta sintesi denbora berdina erabili den, kasu guztietan lortutako kobalto aberastasuna, teorikoa baino txikiagoa izan da, $Co_{0,01_60}$ laginean izan ezik. Modu honetan, ondoriozta daiteke kontzentrazio teorikoa duten nanopartikulak lortzeko birfluxu-denbora luzeagoak edo kobalto aitzindari kontzentrazio handiagoak erabiltzea komenigarria izango litzatekela.

X izpien difrakzio bidez egindako analisek baieztatu dute lortutako nanopartikulen fasea aurpegietan zentratutako magnetita-fase kubikoa dela. Gainera, burututako difraktogramen Le Bail doikuntzak, kobaltoa ferrita egituraren barnean sartu dela baieztatu du, lortutako parametroak magnetitarenak baino txikiagoak baitira kasu gehienetan. Termograbimetriaren bidez nanopartikulek duten materia organikoa aztertu da. Pentsatu ez bezala, tamaina handiagoko nanopartikulek materia organiko kantitate handiagoa aurkeztu dute tamaina txikiagoko nanopartikulek baino. Kontuan izanda nanomaterialen azalera/bolumen erlazioa tamaina txikitzerakoan handitzen dela, jokaera hori nanopartikulen garbiketa prozesuekin erlazionatua egon daiteke. Honekin batera, sintesi prozesuan gerta zitezketen disolbatzaile galerak sintesi inguruneko estekatzaile-kontzentrazioa igo zitekeen, azkenean materia organikoaren kontzentrazio handiagoa duten laginak lortuz.

Mikroskopia elektronikoaren bidez, nanopartikulen tamaina eta morfologia aztertu da. Lortutako mikrografietan ikus daitekeen bezala, sintetizatutako nanopartikulek, 6-11 nm bitarteko tamaina aurkeztu dutenak, nahiko homogeneoak dira eta tamainasakabanaketa egokia aurkeztu dute. Honetan, erreakzio-denbora aldatu ahala nanopartikulen morfologia aldatzen dela egiaztatu da, denbora laburretan (30-75 min) eta luzeetan (105-120 min) nanopartikula esferiko eta kuboktaedrikoagoak lortuz eta erdiko tartean (90 min) nanopartikula kubikoak lortuz. Lehenago azaldu den moduan, estekatzaileen presentziarekin erlazionatuta dago, zeinak nanopartikulen gainazalarekin lotura desberdinak eratzen dituzten hazkuntza plano desberdinen hedapena galaraziz. Kobalto kontzentrazio desberdinak erabiliz sintetizatutako laginei dagokienez, ez da tamaina edo morfologia aldaketa nabarmenik somatu. Honekin batera, gero eta sintesi denbora luzeagoak erabili tamaina fluktuazio bat kusi da, non 90 minutura arte nanopartikulak handitzen diren eta gero, 105 eta 120 minutura igarotzen denean, nanopartikulen tamainak behera egiten du. Modu honetan, alde batetik, tamaina txikiko nanopartikulak sintetizatzeke sintesi denbora laburrak (30, 45 eta 60 minutu) eta kobalto kontzentrazio txikiak ($x = 0,1, 0,04$ eta $0,01$) erabiltzea komenigarria da. Bestetik, tamaina handiagoko nanopartikulak lortu nahi badira, kobalto kontzentrazio handiagoak ($x = 0,15$) eta sintesi denbora luzeagoak (90 eta 105 minutu) erabiltzea komeni da.

Datu magnetikoei dagokienez, laginen ZFC/FC neurketek blokeo-tenperaturak nanopartikula tamainarekiko duen menpekotasuna erakutsi dute, non tamaina handiena aurkeztu duten nanopartikulek, blokeo-tenperatura altuena aurkeztu duten. Honekin batera, kobaltoaren presentzia bermatu ahal izan da. Izan ere, Co eduki handiagoa aurkeztu duten laginek 5K-etan neurtutako histeresi zikloen zabalera eragin du. ZFC kurben doikuntzetatik abiatuta, anisotropia-energia konstanteak eta kobalto eduki nominalak ere lortu dira. Aipatzekoa da, sintetizatutako nanopartikula tamaina handienek aurkeztu dituzten laginak, $Fe_{2,86}Co_{0,14}O_4$, $Fe_{2,9}Co_{0,1}O_4$ eta $Fe_{2,89}Co_{0,11}O_4$, anisotropia-konstate balio altuenak dituztela (138, 55 eta 208 kJ m⁻³), kobalto kontzentrazio altuenak erakutsi dituzten laginak direlarik. Anisotropia-energia balio altu hauek, Co⁺² ioiak ferrita egituraren txertatzearekin azaltzen da, batez ere hutsune oktaedrikoetan kokatzen direnean, ferrita sarearen anisotropia-energia handitzen baitute. Aldi berean, sintesi-denbora berdina erabiliz (60 minutu) baina kobalto kontzentrazio desberdinekin (x=0,01, 0,04, 0,1 eta 0,15) sintetizatutako laginek ($Fe_{2,86}Co_{0,14}O_4$, $Fe_{2,93}Co_{0,07}O_4$, $Fe_{2,97}Co_{0,03}O_4$ eta $Fe_{2,91}Co_{0,01}O_4$), joera berdina azaltzen dute; non, kobalto kobalto kontzentrazioa igo ahala laginen anisotropia-energiak 46,5 kJ m⁻³-tik 138 kJ m⁻³-ra gora egiten duen. Modu honetan, energia magnetokristalinoaren baloreak erabili dira sintetizatutako kobaltozko ferriten kobalto eduki teorikoa kalkulatzeko. Lortutako kobalto eduki teorikoak ICP-AES teknikaren bidez lortutako balioak baino txikiagoak diren arren, lagin bakoitzaren gelaxka-unitatean dagoen kobalto edukia adierazten du. Azkenik, EME neurketek $g = 2$ zentratu gabeko seinale zabal eta asimetricoen bidez kobaltoarekin dopatutako ferritak daudela baieztatu dute.

Bibliografia

1. Sabale, S. *et al.* Superparamagnetic MFe₂O₄ (M = Ni, Co, Zn, Mn) nanoparticles: synthesis, characterization, induction heating and cell viability studies for cancer hyperthermia applications. doi:10.1007/s10856-015-5466-7.
2. Blanco-Gutierrez, V., Virumbrales, M., Saez-Puche, R. & Torralvo-Fernandez, M. J. Superparamagnetic Behavior of MFe₂O₄ Nanoparticles and MFe₂O₄/SiO₂ Composites (M: Co, Ni). *J. Phys. Chem. C* **117**, 20927–20935 (2013).
3. Mohapatra, J., Xing, M., Elkins, J. & Liu, J. P. Hard and semi-hard magnetic materials based on cobalt and cobalt alloys. *J. Alloys Compd.* **824**, 153874 (2020).
4. Strnat, K., Hoffer, G., Olson, J., Ostertag, W. & Becker, J. J. A Family of New Cobalt-Base Permanent Magnet Materials. *J. Appl. Phys.* **38**, 1001 (2004).
5. Murray, C. B. *et al.* Colloidal synthesis of nanocrystals and nanocrystal superlattices. *IBM J. Res. Dev.* **45**, 47–56 (2001).
6. International Centre for Diffraction Data (ICDD). PDF-2 Database Sets. in *Powder diffraction file 1994* 1–44 (1994).
7. Yang, H. T., Su, Y. K., Shen, C. M., Yang, T. Z. & Gao, H. J. Synthesis and magnetic properties of ε-cobalt nanoparticles. *Surf. Interface Anal.* **36**, 155–160 (2004).
8. Yafet, Y. & Kittel, C. Antiferromagnetic Arrangements in Ferrites. *Phys. Rev.* **87**, 290 (1952).
9. Carta, D. *et al.* A Structural and magnetic investigation of the inversion degree in ferrite nanocrystals mfe₂o₄ (M = Mn, Co, Ni). *J. Phys. Chem. C* **113**, 8606–8615 (2009).
10. Gahrouei, Z. E., Labbaf, S. & Kermanpur, A. Cobalt doped magnetite nanoparticles: Synthesis, characterization, optimization and suitability evaluations for magnetic hyperthermia applications. *Phys. E Low-dimensional Syst. Nanostructures* **116**, 113759 (2020).
11. Amiri, S. & Shokrollahi, H. The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science. *Mater. Sci. Eng. C* **33**, 1–8 (2013).
12. Srinivasan, S. Y., Paknikar, K. M., Bodas, D. & Gajbhiye, V. Applications of cobalt ferrite nanoparticles in biomedical nanotechnology. <https://doi.org/10.2217/nmm-2017-0379> **13**, 1221–1238 (2018).
13. T. J. Daou, *,† *et al.* Hydrothermal Synthesis of Monodisperse Magnetite Nanoparticles. *Chem. Mater.* **18**, 4399–4404 (2006).
14. Jauhar, S., Kaur, J., Goyal, A. & Singhal, S. Tuning the properties of cobalt ferrite: a road towards diverse applications. *RSC Adv.* **6**, 97694–97719 (2016).
15. Peeples, B. *et al.* Structural, stability, magnetic, and toxicity studies of nanocrystalline iron oxide and cobalt ferrites for biomedical applications. doi:10.1007/s11051-014-2290-9.
16. Song, Q. & Zhang, Z. J. Shape Control and Associated Magnetic Properties of Spinel Cobalt Ferrite Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 6164–6168 (2004).
17. Nam, P. H. *et al.* Polymer-coated cobalt ferrite nanoparticles: synthesis, characterization, and toxicity for hyperthermia applications. *New J. Chem.* **42**, 14530–14541 (2018).
18. Hu, L., Montferrand, C. de, Lalatonne, Y., Motte, L. & Brioude, A. Effect of Cobalt Doping Concentration on the Crystalline Structure and Magnetic Properties of Monodisperse Co_xFe_{3-x}O₄ Nanoparticles within Nonpolar and Aqueous Solvents. *J. Phys. Chem. C* **116**, 4349–4355 (2012).
19. Fantechi, E. *et al.* Exploring the Effect of Co Doping in Fine Maghemite Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **116**, 8261–8270 (2012).
20. Tomar, D. & Jeevanandam, P. Synthesis of cobalt ferrite nanoparticles with different morphologies via thermal decomposition approach and studies on their magnetic properties. *J. Alloys Compd.* **843**, 155815 (2020).
21. Beatrice Muzzi *et al.* Unraveling the mechanism of the one-pot synthesis of exchange coupled Co-based nano-heterostructures with a high energy product. *Nanoscale* **12**, 14076–14086 (2020).

22. de Medeiros, F., Madigou, V., Lopes-Moriyama, A. L., de Souza, C. P. & Leroux, C. Synthesis of CoFe₂O₄ nanocubes. *Nano-Structures & Nano-Objects* **21**, 100422 (2020).
23. Vadivel, M., Babu, R. R., Ramamurthi, K. & Arivanandhan, M. Effect of PVP concentrations on the structural, morphological, dielectric and magnetic properties of CoFe₂O₄ magnetic nanoparticles. *Nano-Structures & Nano-Objects* **11**, 112–123 (2017).
24. Baaziz, W. *et al.* Tuning of Synthesis Conditions by Thermal Decomposition toward Core-Shell Co_xFe_{1-x}O@Co_yFe_{3-y}O₄ and CoFe₂O₄ Nanoparticles with Spherical and Cubic Shapes. *Chem. Mater.* **26**, 5063–5073 (2014).
25. Mourdikoudis, S. & Liz-Marzán, L. M. Oleylamine in Nanoparticle Synthesis. *Chem. Mater.* **25**, 1465–1476 (2013).
26. Guardia, P. *et al.* Water-Soluble Iron Oxide Nanocubes with High Values of Specific Absorption Rate for Cancer Cell Hyperthermia Treatment. *ACS Nano* **6**, 3080–3091 (2012).
27. Pablo Guardia *et al.* One pot synthesis of monodisperse water soluble iron oxide nanocrystals with high values of the specific absorption rate. *J. Mater. Chem. B* **2**, 4426–4434 (2014).
28. Bao, N. *et al.* Formation Mechanism and Shape Control of Monodisperse Magnetic CoFe₂O₄ Nanocrystals. *Chem. Mater.* **21**, 3458–3468 (2009).
29. athya, A. *et al.* Co_xFe_{3-x}O₄ Nanocubes for Theranostic Applications: Effect of Cobalt Content and Particle Size. *Chem. Mater.* **28**, 1769–1780 (2016).
30. Fantechi, E., Innocenti, C., Albino, M., Lottini, E. & Sangregorio, C. Influence of cobalt doping on the hyperthermic efficiency of magnetite nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **380**, 365–371 (2015).
31. A. Crouse, C. & R. Barron, A. Reagent control over the size, uniformity, and composition of Co-Fe-O nanoparticles. *J. Mater. Chem.* **18**, 4146–4153 (2008).
32. Gabriel Shemer, †, Einat Tirosh, †, Tsachi Livneh, ‡ and & Gil Markovich*, †. Tuning a Colloidal Synthesis to Control Co²⁺ Doping in Ferrite Nanocrystals. *J. Phys. Chem. C* **111**, 14334–14338 (2007).
33. Calero-DdelC, V. L., Gonzalez, A. M. & Rinaldi, C. A Statistical Analysis to Control the Growth of Cobalt Ferrite Nanoparticles Synthesized by the Thermodecomposition Method. *J. Manuf. Sci. Eng.* **132**, 0309141–0309147 (2010).
34. Rietveld, H. M. & IUCr. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. *urn:issn:0021-8898* **2**, 65–71 (1969).
35. Rodríguez-Carvajal, J. Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction. *Phys. B Condens. Matter* **192**, 55–69 (1993).
36. Peter Atkins, Julio de Paula, J. K. *Atkins. Physical-Chemistry.* (2018).
37. Maria Castellanos & R. West, A. Deviations from Vegard’s law in oxide solid solutions. The systems Li₂TiO₃-MgO and Li₂TiO₃ -Na₂TiO₃. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases* **76**, 2159–2169 (1980).
38. Apesteguy, J. C., Kurllyandskaya, G. V., De Celis, J. P., Safronov, A. P. & Schegoleva, N. N. Magnetite nanoparticles prepared by co-precipitation method in different conditions. *Mater. Chem. Phys.* **161**, 243–249 (2015).
39. Ajroudi, L. *et al.* Magnetic, electric and thermal properties of cobalt ferrite nanoparticles. *Mater. Res. Bull.* **59**, 49–58 (2014).
40. PATTRICK, R. A. D. *et al.* Cation site occupancy in spinel ferrites studied by X-ray magnetic circular dichroism developing a method for mineralogists. *Eur. J. Mineral.* **14**, 1095–1102 (2002).
41. Byrne, J. M. *et al.* Controlled cobalt doping in biogenic magnetite nanoparticles. *J. R. Soc. Interface* **10**, (2013).
42. Patterson, A. L. The scherrer formula for X-ray particle size determination. *Phys. Rev.* **56**, 978–982 (1939).

43. Schrefl, T., Fidler, J. & Kronmüller, H. Remanence and coercivity in isotropic nanocrystalline permanent magnets. *Phys. Rev. B* **49**, 6100 (1994).
44. Ayyappan, S., Panneerselvam, G., Antony, M. P. & Philip, J. High temperature stability of surfactant capped CoFe₂O₄ nanoparticles. *Mater. Chem. Phys.* **130**, 1300–1306 (2011).
45. V. Mameli *et al.* Studying the effect of Zn-substitution on the magnetic and hyperthermic properties of cobalt ferrite nanoparticles. *Nanoscale* **8**, 10124–10137 (2016).
46. W. Yu, W., C. Falkner, J., T. Yavuz, C. & L. Colvin, V. Synthesis of monodisperse iron oxide nanocrystals by thermal decomposition of iron carboxylate salts. *Chem. Commun.* **0**, 2306–2307 (2004).
47. Eom, Y., Abbas, M., Noh, H. Y. & Kim, C. G. Morphology-controlled synthesis of highly crystalline Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ nanoparticles using a facile thermal decomposition method. *RSC Adv.* **6**, 15861–15867 (2016).
48. Fantechi, E. *et al.* Exploring the Effect of Co Doping in Fine Maghemite Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **116**, 8261–8270 (2012).
49. Al-Anazi, A. *et al.* Cobalt ferrite nanoparticles with controlled composition-peroxymonosulfate mediated degradation of 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid. *Appl. Catal. B Environ.* **221**, 266–279 (2018).
50. Polte, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. *CrystEngComm* **17**, 6809–6830 (2015).
51. López-Ortega, A., Lottini, E., Fernández, C. de J. & Sangregorio, C. Exploring the Magnetic Properties of Cobalt-Ferrite Nanoparticles for the Development of a Rare-Earth-Free Permanent Magnet. *Chem. Mater.* **27**, 4048–4056 (2015).
52. Song, Q. & Zhang, Z. J. Shape Control and Associated Magnetic Properties of Spinel Cobalt Ferrite Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 6164–6168 (2004).
53. Liu, B. & Hu, X. Hollow Micro- and Nanomaterials: Synthesis and Applications. *Adv. Nanomater. Pollut. Sens. Environ. Catal.* 1–38 (2020) doi:10.1016/B978-0-12-814796-2.00001-0.
54. Hufschmid, R. *et al.* Synthesis of phase-pure and monodisperse iron oxide nanoparticles by thermal decomposition. *Nanoscale* **7**, 11142–11154 (2015).
55. Yang, H., Ogawa, T., Hasegawa, D. & Takahashi, M. Synthesis and magnetic properties of monodisperse magnetite nanocubes. *J. Appl. Phys.* **103**, 07D526 (2008).
56. Alexey Shavel & M. Liz-Marzán, L. Shape control of iron oxide nanoparticles. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 3762–3766 (2009).
57. Stoner, E. C. & Wohlfarth, E. P. A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. A, Math. Phys. Sci.* **240**, 599–642 (1948).
58. Zhang, Q. *et al.* Model Driven Optimization of Magnetic Anisotropy of Exchange-Coupled Core-Shell Ferrite Nanoparticles for Maximal Hysteretic Loss. *Chem. Mater.* **27**, 7380–7387 (2015).
59. Vargas, J. M., Nunes, W. C., Socolovsky, L. M., Knobel, M. & Zanchet, D. Effect of dipolar interaction observed in iron-based nanoparticles. *Phys. Rev. B* **72**, 184428 (2005).
60. Baldi, G., Bonacchi, D., Innocenti, C., Lorenzi, G. & Sangregorio, C. Cobalt ferrite nanoparticles: The control of the particle size and surface state and their effects on magnetic properties. *J. Magn. Magn. Mater.* **311**, 10–16 (2007).
61. Bruvera, I. J., Mendoza Zélis, P., Pilar Calatayud, M., Goya, G. F. & Sánchez, F. H. Determination of the blocking temperature of magnetic nanoparticles: The good, the bad, and the ugly. *J. Appl. Phys.* **118**, 184304 (2015).
62. Bala, T. *et al.* Cobalt and Magnesium Ferrite Nanoparticles: Preparation Using Liquid Foams as Templates and Their Magnetic Characteristics. (2005) doi:10.1021/la051595k.
63. Usov, N. A. Numerical simulation of field-cooled and zero field-cooled processes for assembly of superparamagnetic nanoparticles with uniaxial anisotropy. *J. Appl. Phys.* **109**, 23913 (2011).

64. Carmen Bautista, M., Bomati-Miguel, O., Del Puerto Morales, M., Serna, C. J. & Veintemillas-Verdaguer, S. Surface characterisation of dextran-coated iron oxide nanoparticles prepared by laser pyrolysis and coprecipitation. in *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* vol. 293 20–27 (North-Holland, 2005).
65. Eisenstein, I. & Aharoni, A. Asymptotic superparamagnetic time constants for cubic anisotropy. II. Negative anisotropy constant. *Phys. Rev. B* **16**, 1285 (1977).
66. Slonczewski, J. C. Origin of Magnetic Anisotropy in Cobalt-Substituted Magnetite. *Phys. Rev.* **110**, 1341 (1958).
67. Shenker, H. Magnetic Anisotropy of Cobalt Ferrite ($Co_{1.01}Fe_{2.00}O_{3.62}$) and Nickel Cobalt Ferrite ($Ni_{0.72}Fe_{0.20}Co_{0.08}Fe_2O_4$). *Phys. Rev. JOURNALS Arch.* **107**, 1246–1249 (1957).
68. Cullity, B. *Introduction to Magnetic Materials*. (Addison-Wesley, 1972).
69. Nlebedim, I. C., Snyder, J. E., Moses, A. J. & Jiles, D. C. Anisotropy and magnetostriction in non-stoichiometric cobalt ferrite. *IEEE Trans. Magn.* **48**, 3084–3087 (2012).
70. Lo, A., Lottini, E., de Julia, sar & Sangregorio, C. Exploring the Magnetic Properties of Cobalt-Ferrite Nanoparticles for the Development of a Rare-Earth-Free Permanent Magnet. (2015) doi:10.1021/acs.chemmater.5b01034.
71. Shafi, K. V. P. M., Gedanken, A., Prozorov, R. & Balogh, J. Sonochemical Preparation and Size-Dependent Properties of Nanostructured $CoFe_2O_4$ Particles. (1998) doi:10.1021/cm980182k.
72. X, C. & L, G. Spindly cobalt ferrite nanocrystals: preparation, characterization and magnetic properties. *Nanotechnology* **16**, 180–185 (2005).
73. Lasheras, X. *et al.* Mn-Doping level dependence on the magnetic response of $Mn_xFe_{3-x}O_4$ ferrite nanoparticles. *Dalt. Trans.* **48**, 11480–11491 (2019).
74. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Fe_3O_4 nanoparticles prepared by the seeded-growth route for hyperthermia: Electron magnetic resonance as a key tool to evaluate size distribution in magnetic nanoparticles. *Nanoscale* **6**, 7542–7552 (2014).
75. Noginova, N. *et al.* Observation of multiple quantum transitions in magnetic nanoparticles. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **77**, 014403 (2008)

2. Kapitulua: $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulak.

2.1 Sarrera

Erresonantzia magnetiko bidezko irudigintza (IRM, ingelesez *Magnetik Resonance Imagin, MRI*) gaur egun gaixotasunen diagnostikoa eta monitorizazio klinikoa egiteko erabiltzen den terapia ez inbaditzailea da.

Diagnostiko medikoaren esparruan, IRM-ak hidrogenoaren nukleoak erabiltzen ditu diagnostiko-irudiak sortzeko, giza gorputzean kantitate handietan daudenak. Hidrogeno nukleoak protoi bakarra dauka eta elektroiek bezala spina ere badu. Honen ondorioz, dipolo magnetiko baten izaera izaten du. Hortaz, eremu magnetiko baten eraginpean kokatuz gero, eremuarekin sortuko den interakzioaren ondorioz, 1H nukleoaren spinak bi norabide desberdinetan ordenatuko dira: paralelo eta antiparalelo. Dena den, ordenamendu hau ez da egonkorra eta protoien spinaren norantza etengabe norabide batera edo bestera aldatzen da, beti ere paralelo eta antiparaleloen arteko proportzioa egonkorra mantenduz. Modu honetan, eremu magnetikoaren eraginpean dagoen sistema honi irrati-frekuentzia uhinak ezartzen bazaizkio, alde batetik, energia xurgatuko dute energia maila altuko egoera bat hartuz, non protoi antiparaleloen proportzioak gora egingo duen^[1]. Harira, protoiek eremu magnetikoa aplikatzeko erabili den bobinarekiko bektore magnetiko perpendikularra aurkezteak seinale elektriko bat eragingo du Faraday-ren indukzio legearen arabera. Hortaz, aztertzen ari diren ehunetan dauden protoi kopuru desberdinen arabera, seinale elektriko desberdinak sortuko dituzte eta irudi desberdinak lortzeko aukera aurkeztuko dute^[2].

Aipatutako irrati-frekuentziako pultsua amaitzerakoan, lortutako seinalea bortizki galtzen da, azaldu berri den indukzioa galduz. Modu honetan, protoiek oinarriko egoerara bueltatzeko prozesuari lasaikuntza deritzo. Alde batetik, protoiaren magnetizazio-bektorea aplikatutako eremuarekiko paralelo izatera bueltatze prozesuari luzerako lasaikuntza (*spin-lattice relaxation*) deritzo, T_1 sinboloa jasotzen duena. Lasaikuntza mota hau, protoiek ingurunearekin edo hurbil dituzten beste molekulekin duten energia elkartrukearen ondorioz gertatzen da. Bestetik, protoiek lerrokatuta egoteari uzten diote, seinalearen zeharkako osagaiaren balioa txikitzen duena. Ordenik gabeko antolaketa hau, lehen esandako indukzioaren txikitzearen arrazoi nagusia da.

Fenomeno hau zeharkako-lasaikuntza (*spin-spin relaxation*) da eta T_2 sinboloarekin izendatzen da. Horrela, lasaikuntza-prozesuan independenteak diren bi prozesuak aldi berean gertatzen dira, T_2 prozesua T_1 prozesua baino azkarra izanik. Dena den, ehun mota bakoitzak, gaixotasunaren arabera, berezko T_1 eta T_2 lasaikuntzen balore espezifikoak ditu, gaixotasunen detekzioan oso lagungarria dena^[3].

Hala eta guztiz ere, kasu askotan lortutako irudien kalitatea ez da oso ona, irudi-bereizmena hobetuko duten materialen beharra izanik, kontraste-eragile deiturikoak. Oro har, teknika honetan erabilitako kontrasteak kontraste positibo (T_1) eta negatibo (T_2) gisa sailkatzen dira, materialak duen osakeraren, egituraren eta lasaikuntza-prozesuaren arabera. Lasaikuntza horiek lotura zuzena dute materialak ingurunearekin duen erlazio protonikoarekin. Eragile paramagnetiko batek T_n ($n = 1, 2$) lasaikuntza murrizteko duen gaitasunari r_n ($n = 1, 2$) lasaikortasunaren bidez deskribatzen da. Oro har, uraren protoien T_1 lasaikuntza protoien truke kimikoa gertatzen den zentro paramagnetikoen barne-esferaren mekanismoarekin lotzen da, eta T_2 lasaikuntza, berriz, partikula magnetikoaren bidez protoiak hedatzen diren kanpoko esferaren erregimenari egotzen zaio^[4].

Erresonantzia magnetikoan gehien erabili diren T_1 kontraste-eragileak gadoliniozko konplexuetan oinarritzen direnak izan dira^[5]. Beste batzuen artean, Dotarem® (Gadoteratoa), Onmiskan® (Gadodiamida) edo Gadavist® (Gadobutrol) dira gaur egun merkatuan aurki daitezkeenak^[6]. Harira, T_1 lasaikuntza irrati-frekuentziaren pultsu bat aplikatu ondoren, erabilitako materialaren magnetizazio netoaren oreka-prozesuan oinarritzen da. Izan ere, magnetizazioaren aldaketa hau protoiaren spinaren eta gertuko molekulen matrizearen arteko energia transferentziaren ondorio bat da. Sistema biologiko guztiak hainbat molekula eta organismoz osatuta daude, eta T_1 lasaikuntza-denbora desberdinak dituzte. Ondorioz, aztertu nahi den ehunetik gertu ioi paramagnetikoak egoteak lasaikuntza hobetzen du eta T_1 lasaikuntza-denbora laburtzen du. Bereziki, trantsizioko ioi metalikoei eta desparekatutako elektroi kopuru handi bat duten lantanidoek, Mn^{2+} , Fe^{3+} eta Gd^{3+} kasu, oso lasaikuntza eraginkorra erakusten dute. T_2 kontraste-eragileekin alderatuta, T_1 kontraste-eragileek irudi positiboak lortzen dituzte, erresonantzia magnetikoaren indarra maximiza dezaketena. Honen ondorioz, bereizmen espazial handiko irudi anatomikoak lortzen dira. Gainera, lortutako seinale distiratsua beste eragile patogeno edo biologikoetatik argi bereiz daiteke^[7].

Honekin batera, gaur egun erabiltzen diren T_2 kontraste-eragile anitzen artean, magnetitazko nanopartikulak, Edorem® ferrofluidoa adibidez, kokatzen dira^[8]. Gainera, dimentsio eta forma nanometrikoen ondorioz aurkezten dituzten propietateek konbentzionalki erabili diren konposatuak baino biobanaketa hobea eta irudi aukera desberdinak ahalbidetzen dituzte^[9]. Orokorrean, nanopartikula hauek T_2 eragile bezala erabili dira^[10].

Harira, nanopartikula magnetikoen spin-spin lasaikuntzaren azelerazioa (T_2 laburtzea) momentu magnetikoen desfasearen ondorioa da, magnetizatutako partikula txikiek sortutako eremu magnetikoko gradienteen ondorioz sortzen dena. Prozesu honetan, lasaikuntza-mekanismo nagusia, kanpoko esferaren elkarreragin dipolarra da, uraren protoiaren spinen eta nanopartikulen momentu magnetikoaren artean gertatzen dena^[7]. Beraz, K.E. Kellar eta lankideek iradokitako ereduan erakusten den bezala, spin-spin lasaikuntza nanopartikulen momentu magnetikoaren araberakoa da. Bestela esanda, T_2 kontraste-eragile eraginkorrak izateko, nanopartikulek magnetizazio handia izan behar dute^[11].

Magnetismoa nanomaterialen berezko propietate bat den arren, nanopartikulen propietate magnetikoak, neurri handi batean, lehenengo kapituluan frogatu den bezala, nanopartikulen tamaina, forma eta osaera kimikoaren araberakoak dira^[12]. Modu honetan, T_2 kontraste-eragile eraginkorrak sortzeko, propietate magnetiko zehatzak dituzten nanopartikulak lortzea ezinbestekoa da. Honetarako, nanopartikulen osaera kimiko, kristal-egitura, tamaina edo morfologia desberdinak dituzten nanopartikulak ikertzea beharrezkoa da. Horrela, elementu desberdinekin dopatutako magnetitazko nanopartikulak T_2 kontraste-eragile eraginkorrak izan daitezkeela ikusi da^[13]. Bibliografian topa daitezkeen ferrita bimetalikoaren artean, Fe_2CoO_4 , Fe_2MnO_4 eta Fe_2NiO_4 bereizten dira. Hauen artean, emaitza hoberenak aurkeztu dituen konposizioa manganesoarekin dopatutako ferrita izan da, magnetizazio oso altua duena eta, beraz, lasaikortasun balio handia. Zehazki, manganesozko ferritak espinela egitura mistoa du, beste ferritek alderantzizko espinela egitura duten bitartean. Modu honetan, kanpoko eremu magnetiko baten eraginpean, manganesoarekin aberastutako ferritaren leku oktaedrikoetan (Oh) kokaturiko spin magnetikoak aplikatutako eremuarekiko paraleloki lerrokatuko dira eta leku tetraedrikoetan (Td) kokatzen direnak

antiparaleloki. Horren ondorioz, manganeso-ferritak beste ferritek baino suszeptibilitate magnetiko altuagoa, gutxi gora behera $5 \mu_B$ ingurukoa, aurkezten du^[14].

Izan ere, d blokeko zenbait elementu (Mn, Co, Ni, Cu eta Zn kasu) nanopartikularen egitura kristalinoan txertatzen direnean, espinela egituraren formazioa errazten dutenak, dopatu gabeko nanopartikula baino propietate magnetiko eta lasaikuntza hobeak dituzten materialen eraketa faboratzen da. Hortaz, magnetita nanopartikulak d blokeko beste elementuez aberastuz, IRM aplikaziorako propietate egokiagoak dituzten konposatuak lortzen dira^[15]. Dena den, nahiz eta metal aberaste hauek ferriten propietateak hobetzen dituzten, erabilitako elementuen toxikotasuna ere kontuan izan behar da. Izan ere, Ni^{2+} -rekin aberastutako burdina(III) oxidozko nanopartikulak degradazioarekiko sentikorrak dira eta zitotoxikotasuna eragin dezakete^[16]. Beraz, sistema horiek tratamendu gehigarria beharko dute gorputz barnean egonkortzeko. Zn^{2+} ioiarekin aberastutako nanopartikulek, berriz, momentu magnetiko altuagoa dute magnetitaren egituran leku tetraedrikoetan dauden Fe^{3+} ioiak ordezkatzeko dituztelako, eta ondorioz, kontraste negatiboa eragiten dute^[17]. Hauekin batera, Co^{2+} ioiekin egitura kristalinoa aberasteak propietate magnetokristalinoak hobetzen ditu elementu honen anisotropia altuagatik^[18]. Manganeso ioiekin (Mn^{2+}) dopatutako NP-ek ere magnetizazio-balio handiak aurkezten dituzte, beste material batzuek baino zeharkako lasaikuntza-balio handiagoak izanik^[19]. Galioz (Ga^{3+}) dopatutako burdina(III) oxidoa ere interesgarria da. Izan ere, laginak duen galioaren arabera energiaren mendeko fotoxurgapena aurkezten du^[20].

Aipatu berri diren ordezkapen hauek burutzeko Zn(II), Co(II) edo Mn(II) bezalako ioiak erabili dira, azaleko Fe(II) ioi kopurua murrizten dutenak eta T_1 lasaikuntza hobetzen dutenak^[21,22]. Adibidez, manganesozko ferritek, magnetitaren asetze-magnetizazio bera dutenak, anisotropia kristalino handiagoa dute, lasaikuntza-denbora murrizten duena. Zn ferritek, Mn ferritek baino toxikotasun txikiagoa aurkezten dute eta magnetitak baino asetze-magnetizazioaren balio altuagoak dituzte, erresonantzia magnetikoaren bidezko irudiaren sentikortasuna hobetzen duen T_2 seinalea handitzen duenak^[15]. Lasaikuntza-denbora T_2 kontraste ilunen kasuan hobetzeko, ordezkapenen-estrategiaren bidez ez ezik, nanopartikulen morfologiak eta konposizioak kontrolatuz ere ustiatu da^[23-25].

Erresonantzia magnetikoak bereizmen espazial handiko xehetasun anatomikoak ematen dituen arren, minbiziaren bilakaeraren esplorazioaren kasuan irudi nuklearreko teknikak ere erabiltzen dira. Hala nola, positroien igorpenaren bidezko tomografia (ingelesez *Positron Emission Tomography*, PET) edo fotoi bakarraren igorpenaren bidezko tomografia (ingelesez, *Single-Photon Emission Computed Tomography*, SPECT), espazioan duten bereizmen handiagatik. Horrela, magnetitari ^{68}Ga gehituta, PET/MRI irudiak lortzeko nanosistema multimodalak garatu ahal dira^[26-28]. Sistema mota horiek ultrasoinuen bidezko irudi magnetomotrizatze (ingelesez, *Magnetomotive Ultrasound Imaging System*, MMUS) gisa ere probatu dira, denboran eremu magnetiko aldakor baten pean inguruko ehunaren mugimendua detektatzen dutenak^[29].

Alde horretatik, galiozko ferritek interes handia piztu dute, ez bakarrik MRI diagnostikoan kontraste-nanomaterial edo erradiofarmako gisa erabiltzeko aukeragatik, baita hipertermia magnetikoa bezalako terapia medikoetan ere izan dezaketen erabilgarritasunagatik^[30,31]. Nabarmendu behar da, nahiz eta galiozko ferriten ohiko aplikazioak dituzten propietate magnetoelektrikoei eragozten zaizkien, galioak efektu biologiko onuragarriak ere badituela: hezur-metastasian, Paget gaixotasunean, menopausia osteko osteoporosian edo linfoma batzuetan, besteak beste^[32,33]. Biomedikuntzarako potentzialtasun horiek guztiak, konposizio desberdineko galio-ferritak prestatzera eta ezaugarritzera ekarri du, haien ezaugarriei dagokien aplikazioaren arabera propietateak egokitzeko.

Hala ere, Ga^{3+} ioien banaketa Fe_3O_4 -aren alderantzizko espinela-egituraren posizio tetraedrikoan (Td, A) eta oktaedrikoan (Oh, B) ez da gai arrunta. Nahiz eta Ga^{3+} ioiaren erradio txikiak ($0,62 \text{ \AA}$) leku Td-ekiko hobespena iradokiko lukeen, nanopartikulen sintesi baldintzek eta nanomaterialen propietate ezberdinek tamaina handiko/*bulk* materialarekin alderatuta, portaera espezifikoko baten iragarpena zailtzen dute^[34-36]. Kontuan hartuta $FeGa_2O_4$ galioko ferriten familiako materialik oparoen bezala agertu dela, ikerketa gehienak Fe^{3+} ioiak Ga^{3+} ioiengatik ordezkatzuz $Fe_{1+x}Ga_{2-x}O_4$ materialak prestatzera zuzendu dira. Bide honetan, J. Ghose eta lankideek azaldu zuten Fe^{3+} ioiek Ga^{3+} ioiak ordezkatzeko dituztela Fe^{2+} ioiak posizio oktaedrikoetara desplazatuz, gehienez $x = 0,6$ konposiziora arte, non Fe^{3+} ioiak ziur asko posizio oktaedrikoetan kokatzen diren, Fe^{2+} ioiak posizio oktaedrikoetara bideratu gabe^[37].

Banaketa honek A-B interakzioak oztopatzen ditu, laginen erantzun magnetikoari eragiten diotenak. Gainera, sintesian erabilitako aitzindarien edo suberaketa-baldintzen arabera, $FeGaO_3$ bigarren mailako fase gisa ager daiteke, okupazioaren joera eta propietate magnetikoak aldaraziz. V.L. Pool eta lagunek ferritaren burdina(II) ioien ordezkapena %20 baino txikiagoa bada, Fe^{2+} ioiak posizio oktaedrikoetara mugitu gabe, Ga^{3+} ioiek posizio oktaedrikoak hartzeko joera dutela azaldu dute^[36]. Azkenik, I.S. Lyubutinek eta lagunek Ga_2FeO_4 laginaren sintesian $Ga_2FeO_4/GaFeO_3$ bi faseren balizko agerpena gerta litekeela esan dute, ioien okupazioa eta bere propietateak aldatzeko joera izan lezakeena, Jahn-Teller efektua kasu^[38,39].

Eztabaidak eztabaida, egileen arteko akordio faltak ez du argi uzten galioaren kokapena zer nolakoa den. Aipatu berri diren ikerketa gehienetan laginak konbustio-metodoen bidez prestatu dira. Metodo honen bidez lortutako materialek askotan ez dute morfologia eta tamaina homogenea aurkezten, euren propietateetan eragin zuzena dutena. Hori ikusita eta bibliografia eskasia dela eta, galioarekin dopatutako nanopartikulek izan ditzaketen propietate anitzen azterketa sakona egitea beharrezkoa ikusi da.

Galio-ferriten egitura-portaera eta ezaugarri magnetikoei buruzko ezagutza handitzeko, $Ga_xFe_{3-x}O_4$ ($0,15 < x < 1,35$) konposizioa duten sei lagin desberdin prestatu dira. Horiek guztiak deskonposizio termikoaren bidez sintetizatu dira, berotze-abiadura bera erabiliz. Hidrofilikoak eta biobateragarriak egiteko poli(anhidrido maleico-alt-1-octadezenoa) (PMAO) polimeroarekin funtzionalizatu dira. Material sintetizatuen egiturazko karakterizazioa X izpien difrakzioaren (DRX), X izpien espektroskopia fotoelektronikoa eta X izpien xurgapenaren bidez egituraren ertzetik gertu (XANES) tekniken bidez aztertu da. Azken honek, tokiko egiturekiko sentikorra dena, katioi metalikoen tokiaren oxidazio egoerari eta simetriari buruzko informazio baliotsua ematen du. Galio-ferritei buruzko bibliografian Ga-aren eta Fe-ren ertzetan informazio espektroskopikorik ez dagoenez, azterlan hau ezinbesteko ekarpena da fase horiei buruzko etorkizuneko ikerketarako. Galiozko ferritazko nanopartikulen tamaina eta morfologia transmisioko mikroskopia elektronikoaren bidez aztertu da, eta nanopartikulen gainazaleko materia organikoa analisi termograbitrikoaren bidez kuantifikatu da. Gainera, laginen azterketa magnetiko zorrotza egin da interferentzia kuantiko supereroaleko gailu (SQUID) baten eta elektroien erresonantzia

magnetikoaren (EMR) bidez. Azkenik, laginak erresonantzia magnetikoaren kontraste-eragile gisa aplikatzeko aukera aztertu da, lasaikuntza-neurketen bidez eta laginen biobateragarritasuna aztertu den in-vitro saiakuntzen bidez.

2.1 $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,14 < x < 1,35$) nanopartikulen sintesia.

Gaur egun arte $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ materialak prestatzeko erabili diren metodo gehienak egoera solidoan oinarritutako konbustio metodoak izan dira. Adibidez, I. S. Lyubutin eta lagunek, %99-ko purutasuna zuen burdina(III) nitratoa, azido zitrikoa eta glizina duen disoluzio urtsua nahastuz lortutako aitzindaria 200, 400, 500, 600 eta 900 °C -tan kiskaldu dute^[39]. Modu honetan, 1,8 eta 28 nm bitarteko $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulak lortu dituzte. Baina konbustioaz aparte, beste metodo batzuk ere erabili dira. C. C. Huang eta lagunek koprezipitazio metodoa erabiliz 25 nm-ko $FeGa_2O_4$ nanopartikulak lortu dituzte lehendik laser ablazio bidez sintetizatutako $GaOOH$ nanopartikulak, $FeCl_2$ eta urearekin nahastuz^[30,40]. Hauekin batera, J. Sanchez eta lagunek sol-gel metodoa erabiliz 37,5 Am² kg⁻¹-ko asetze-magnetizazioaren balioa duten 15-20 nm bitarteko $Fe_{1,4}Ga_{1,6}O_4$ nanopartikulak lortu dituzte^[31].

Aipatu beharra dago, metodo hauen bidez lortutako nanopartikulak, morfologia eta tamaina-banaketa handiak aurkezten dituztela. Gainera, terapia biologikoetan kontraste-eragile bezala erabilgarriak izan daitezzen, tamaina-banaketa txikia duten nanopartikula biobateragarriak lortzea ezinbestekoa da. Hori dela eta, V. L. Pool eta lagunek deskonposizio termikoaren metodoa erabili zuten galioarekin aberastutako nanopartikulen sintesia burutzeko^[36]. Honetan, $(Fe_{1-x}Ga_x)_3O_4$ nanopartikulak sintetizatu zituzten $x = 0,05 - 0,33$ bitarteko ordezkapena eginez. Horretarako, $Ga(acac)_3$ eta $Fe(acac)_3$ aitzindarien deskonposizioa bentzil eter disolbatzailean burutu zuten. Honekin batera, azido oleikoa eta oleilamina estekatzaile bezala erabili zituzten eta 1,2-hexadekanodiola erreduktore gisa.

Bibliografian agertzen diren metodoak aztertu ostean, galioak magnetitaren egituran eta propietate magnetikoetan dituen eraginak aztertzeko helburuarekin, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,15 < x < 1,35$) nanopartikulak deskonposizio termikoaren bidez sintetizatu dira. Izan ere, lehen azaldu den bezala, sintesi-metodo honen bidez aplikazio biologikoetan erabilgarriak izan daitezkeen nanopartikulak prestatzen dira, tamaina-banaketa txikia eta kristalinitate maila altua aurkezten dutenak. Horrela, galio(III)

2.Kapitulua: $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulak

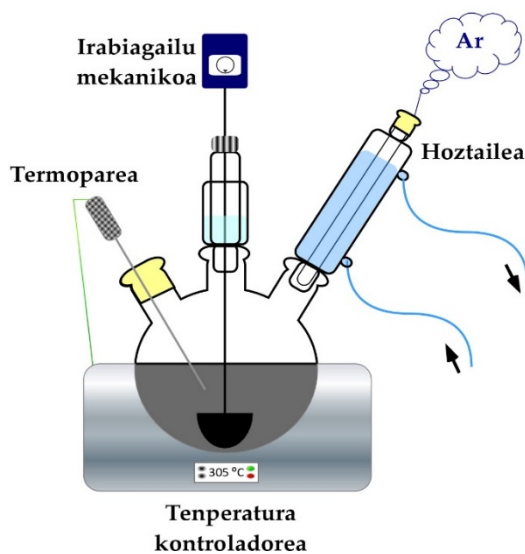
azetilazetonato ($Ga(C_5H_7O_2)_3$) eta burdina(III) azetilazetonato ($Fe(C_5H_7O_2)_3$) kantitate estekiometriko desberdinak nahastuz espinela egituran dagoen galioaren %5 eta %45 bitarteko ordezkapena lortu nahi izan da. Lortu nahi diren estekiometriaren arabera nanopartikulen sintesietan erabilitako errektibo kantitateak 2.1 taulan adierazi dira.

Modu honetan, $Fe_{2,85}Ga_{0,15}O_4$ fasearen sintesia burutzeko, hiru ahoko matrize batetan, 0,1 mmol $Ga(C_5H_7O_2)_3$ (0,036 g), 1,9 mmol $Fe(C_5H_7O_2)_3$ (0,67 g), 4 mmol azido oleiko ($C_{18}H_{34}O_2$, OA) (1,4 mL), 4 mmol oleilamina ($C_{18}H_{37}N$, OLA)(1,89 mL), 8 mmol 1,2-hexadekanodiol (HDD, 2,29 g) eta 25 mL bentzil eter nahastu dira. Jarraian, nahasgailu mekanikoa, tenperatura-kontrolagailua eta hozkailua jarri dira. Behin sistema ondo zigilatuta dagoela Ar fluxua konektatu da (ikus 2.1 irudia).

Modu honetan, errektiboak 30 minutuz irabiaketa konstantean mantendu dira inongo tenperaturarik eragin gabe errektzio-nahasturan dauden oxigeno eta ur molekula guztiak kanporatzeko. Ondoren, nahasketa 200 °C-ra berotu da 4 °C·min⁻¹-ko berotze arrapala batekin eta tenperatura horretan 30 minutuz mantendu da (nukleazio fasea). Jarraian, tenperatura 300 °C-ra igo da 2,2 °C·min⁻¹-ko berotze arrapala batekin eta 90 minutuz errefluxuan mantendu da (hazkunde fasea).

2.1 taula Galiozko ferriten sintesian erabilitako errektiboaren kantitateak. Galio ferriten funtzionalizazioan erabilitako PMAO kantitateak.

Lagina	Fe(acac) ₃ (mmol)	Ga(acac) ₃ (mmol)	HDD (mmol)	OA+OLA (mmol)	Bentzil eter (mL)	PMAO (mmol)
$Fe_{2,86}Ga_{0,15}O_4$	1,9	0,1	8	4	25	0,081
$Fe_{2,73}Ga_{0,30}O_4$	1,8	0,2	8	4	25	0,093
$Fe_{2,55}Ga_{0,45}O_4$	1,8	0,3	8	4	25	-
$Fe_{2,42}Ga_{0,6}O_4$	1,6	0,4	8	4	25	0,069
$Fe_2Ga_{1,05}O_4$	1,3	0,7	8	4	25	-
$Fe_{1,78}Ga_{1,35}O_4$	1,1	0,9	8	4	25	-



2.1 irudia. Deskonposizio termiko bidezko sintesia burutzeko erabiltzen den muntaiaren eskema.

Temperaturaren igoeraren ondorioz, erreakzioaren kolorea marroi gorrixkatik beltzera aldatu da. Hazkuntza fasearen ondoren, lortutako disoluzioa giro temperaturara hoztu da.

Lortutako nanopartikulak etanolarekin eta Nd-zko iman iraunkor baten laguntzaz prezipitatu dira eta 5 mL toluenotan birsakabanatu dira. Azken garbiketaren prozedura bi aldiz errepikatu da nanopartikulen artean gera daitezkeen eter bentzilikoaren arrastoak kentzeko. Azkenik, toluenotan berriro sakabanatu egin dira dispertsio hidrofoboak lortuz.

Modu honetan, azido oleikoz eta oleilaminaz inguratutako $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,015 < x < 1,35$) fase desberdinak lortu dira. Hemendik aurrera $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ bezala izendatuko dira, non x -ak sintetizatutako ferritan dagoen galioaren ordezkapena adierazten duen (2.1 taula).

2.1 taulan ikusten den moduan, burututako galio ordezkapenak %5 eta %45 moletan bitartekoak izan dira, nanopartikulen propietate magnetikoetan galioaren kontzentrazioak duen eragina ikertzeko asmoz. Hurrengo ataletan, galio aberastasun hauek lortutako nanoegituretan eragindako propietate kimiko, morfologiko, estrukturalak eta magnetikoak aztertuko dira.

2.2 Nanopartikulen funtzionalizazioa PMAO polimeroarekin.

Sintetizatutako laginen artean, geroago aztertuko dugun moduan, batzuk propietate magnetiko esanguratsuak aurkeztu zituzten. Hori dela eta, etorkizunean material hauek IRM-n erabiltzeko, ezinbestekoa da materialen biobateragarritasuna aztertzea eta ingurune urtsuetan ditzuten lasaikuntza-propietateak ikertzea. Horregatik, lagin hauek ingurune fisiologikoetan sakabanagarriak izan daitezten, polimero biobateragarri batekin inguratu dira.

Kasu honetan, $Fe_{2,86}Ga_{0,13}O_4$, $Fe_{2,73}Ga_{0,26}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ lagin hidrofoboek, asetze-magnetizazio balio altuenak aurkeztu dituztenak, W.J. Parak eta lagunen protokoloa egokituz, uretara eraman dira poli-(anhidrido maleiko alt-1-octadezenoa) (PMAO), polimeroarekin gaininguratuz^[41].

Horretarako, lagin bakoitzean, nanopartikula gainazalaren nanometro karratuko 100 monomero PMAO duen disoluzioa 40 mL kloroformotan prestatu da, hau da: 0,081 g PMAO $Fe_{2,86}Ga_{0,13}O_4$ laginaren kasuan, 0,093 g PMAO $Fe_{2,73}Ga_{0,26}O_4$ laginean eta 0,069 g PMAO $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ kasurako (2.1 taula). Behin polimero disoluzioa kloroformoan prestatu denean/dela, 2,5 mg nanopartikula gehitu dira eta giro-tenperaturaren ultrasoinuan 30 minutuz mantendu da. Ondoren, lehendik 40 °C-tan berotutako errotabapore batera eraman da disolbatzailea hutsean erauzteko. Behin lurrunduta, talde anhidroen hidrolisia burutzeko, pH = 9,5 duen SBBS-aren (ingelesez, *Sodium Borate Buffer Saline*) 2 mL gehitu dira eta errotabaporean 10 minutuz utzi da hutsik gabe. Denbora hau igarota, nanopartikulak SBBS disoluzioan sakabanatu dira. Hortaz, lagina garbitzeko 20 minutuz zentrifugatzailean sartu dira 6000 bira minutuko abiaduran. Zentrifugatzailetik ateratzean, gainjalkina kendu da eta 1 mL uretan birsakabanatu da lagina. Sakabanaketa hau hobeto garbitzeko, zentrifugatzeko prozesua beste bi aldiz errepikatu da, azkenik 1 mL ur destilatuan mantenduz.

2.3 $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ (0,13 < x < 1,35) nanopartikulen analisiak eta egituraren karakterizazioa.

$Fe_{3-x}Ga_xO_4$ (0,13 < x < 1,35) nanopartikulen karakterizazio kimikoa teknika desberdinak erabiliz burutu da. Alde batetik, galioaren eta burdinaren benetako edukia ICP-AES bidez kalkulatu da, laginaren kantitate txiki bat *aqua regia* nahasketa azidoan disolbatuz. Analisi hau, UPV/EHUko Bizkaiko Analisisirako Zerbitzu Zentralean

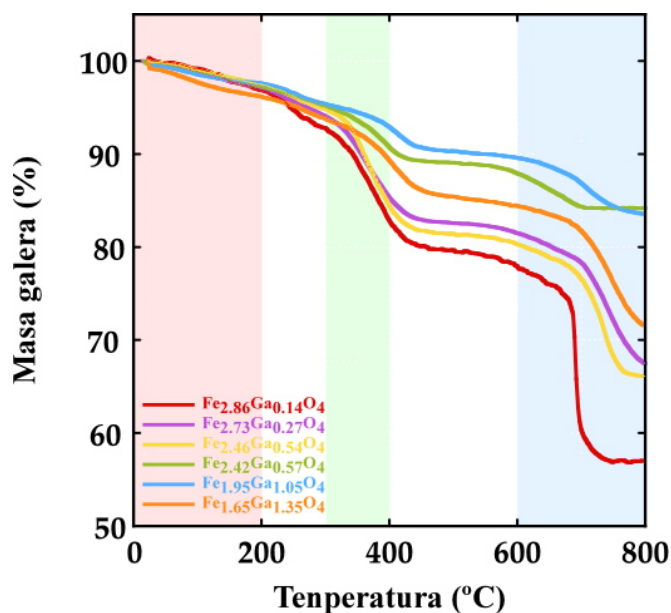
kokatutako induktiboki akoplatutako plasmadun Horiba Yobin Yvon Activa ekipoa burutu da, A.1. eranskinean deskribatzen den bezala. Lortutako emaitzek %4,9 eta %45 arteko galio-ehunekoak aurkeztu dituzte, sintesian erabilitako kantitate teorikoetatik nahiko hurbil daudenak. 2.2 taulan analisi kimikotik abiatuta kalkulaturako formulak adierazi dira.

2.2 taula. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,15 < x < 1,35$) laginen konposizioa eta tamainak: ICP analisisan oinarrituta kalkulaturako formula, materia organikoaren ehunekoa (M.O.), (3 1 1) eta (4 0 0) planoetan oinarritutako Scherrer formularen bidez kalkulaturako domeinu kristalinoaren tamaina (D_{DRX}), eta TEM bidez (D_{TEM}) lortutako partikulen batez besteko diametroa.

Lagina	ICP - Formula	M.O. (%)	D_{DRX} (nm) tamaina 311-400	D_{TEM} (nm)
$Fe_{2,86}Ga_{0,15}O_4$	$Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$	42	5 (1)	$6,8 \pm 1,0$
$Fe_{2,73}Ga_{0,30}O_4$	$Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$	32	6 (1)	$9,1 \pm 1,7$
$Fe_{2,55}Ga_{0,45}O_4$	$Fe_{2,55}Ga_{0,45}O_4$	33	6 (1)	$8,9 \pm 5,0$
$Fe_{2,42}Ga_{0,6}O_4$	$Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$	15	8 (1)	$9,8 \pm 2,3$
$Fe_2Ga_{1,05}O_4$	$Fe_{1,95}Ga_{1,05}O_4$	16	9 (1)	$7,8 \pm 1,2$
$Fe_{1,78}Ga_{1,35}O_4$	$Fe_{1,65}Ga_{1,35}O_4$	28	7 (1)	$8,7 \pm 1,1$

$Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginetan ez da kalkulaturako galio eduki osoa sartu nahiz eta kasu guztietan eduki teorikoaren %90 edo kopuru handiagoa barneratu den. Emaitza hauek magnetita galioarekin dopatzeko metodoaren bideragarritasun altua frogatzen dute.

Arestian aipatu bezala, nanopartikulak ligando organikoen aurrean prestatu dira, eta, beraz, inguratutako azido oleiko eta oleilamina kantitateak analisi termograbitrikotik ondorioztatu dira (2.2 irudia). Analisi horiek Kimika Organiko eta Ez Organiko sailean kokatutako NETZSCH STA 449C ekipo batean egin dira, 10 mg lagin inguru erabiliz, $10^\circ C \cdot min^{-1}$ berotuta, argoizko atmosferan, $25-800^\circ C$ artean, A.3 eranskinean deskribatzen den moduan. Materia organikoari dagozkion pisu-galerak lagin batetik bestera aldatzen dira, %15etik %42ra bitarteko tartean (2.2 taula). Desberdintasun horiek ez daude nanopartikulen tamainarekin soilik lotuta, baita lotura ahuleko molekulak ezabatuko lituzkeen garbiketa-prozesuarekin ere.



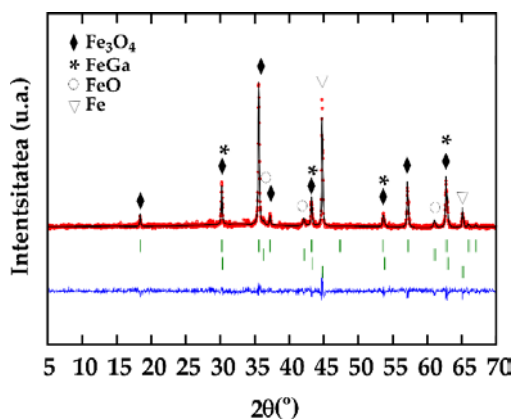
2.2 irudia. Sintetizatutako galio ferriten laginen TGA kurbak.

Lagin guztien deskonposizio-kurbek hiru urrats desberdin dituzte. 200 °C-ra arte gertatzen den masa galera (2.2 irudiko tarte gorria), nanopartikulen gainazalean adsorbatutako disolbatzaile hondakinen eta uraren degradazioari dagokio. Urrats honetan burututako masa galera, sintesian erabilitako aitzindari metaliko kantitatearekiko independentea dirudi, kasu gehienetan antzekoa izanik. Nanopartikulen gainazalean disolbatzailearen %5 inguru adsorbatuta geratzen da, toluenoz eta etanolez egindako garbiketetan jatorria duena. 300°C eta 400°C-ren arteko tartean (2.2 irudiko tarte berdea), azaleko estaldura funtzionalaren deskonposizioa gertatzen da, modu ahulean zein indartsuan atxikitutako estekatzaille molekulena. Izan ere, azido oleikoaren (OA) eta oleilaminaren (OLA) irakite-tenperaturak 360 °C eta 364 °C dira. 2.2 irudian ikus daitekeen bezala, lagin batetik bestera doan masa-galeren arteko desberdintasunak nanopartikularen tamainarekin erlazio estua dauka. Zehazki, tamaina txikiena aurkeztu duen laginak ($Fe_{2.86}Ga_{0.14}O_4$) masa galera handiena izan du, eta tamainak gora egin ahala, gainontzeko laginen kasuan, masa galeraren ehunekoak behera egin du (2.2 taula). Efektu hori, gainazal/bolumenaren erlazioaren aldaketaren ondorio zuzena da. Izan ere, azaleko burdina atomoen eta partikulen bolumen osoaren arteko erlazioaren murrizteak nanopartikularen gainazala funtzionalizatzeko aukerak txikitzen ditu^[42,43].

Azkenik, 600°C-tik gora beha daitekeen masa galera (2.2 irudiko tarte urdina) %20 eta %5 bitartekoa da. Honetan, nanopartikularen gainazalean gera zitezkeen molekulei edo

tarteko karbonatoen deskonposizioari egotzi dakiokete, ferrita ez-organikoaren nukleoaren bilakaera-prozesuak jarraitzen duen bitartean^[44-46]. Kontuan izanik aitzindari metalikoen arteko erlazioa laginetik laginera desberdinak izan direla eta bien deskonposizio-tenperaturak desberdinak direla, laginen arteko masa-galera desberdinak ikusi dira. Modu honetan, aitzindari ferrikoa erabili den kasuetan, non galioaren kantitate txikiagoa erabili den, masa-galera handiagoa ikusi da. Galio(III) azetilazetonatoaren deskonposizio tenperatura, 198 °C ingurukoa da, burdina(III) azetilazetonatoa 180°C-koa den bitartean. Deskonposaketa tenperatura desberdintasun honek nanopartikulen erakuntza prozesuan eragin zuzena izan dezake. Izan ere, nukleazio prozesuan eratutako nukleoak, burdina kantitate handiagorekin sintetizatutako laginetan, anitzagoak dira deskonposaketa tenperatura baxuagoa izateagatik. Aldiz, galio aitzindariaren kantitate handiagoa erabiltzen denean, deskonposaketa tenperatura altua dela medio, nukleazioa mantsoagoa izan daiteke, nukleoaren erakuntza gutxitu dezakeena. Hau guztia, $Fe_{1,78}Ga_{1,35}O_4$ laginaren polidispersitatea eta masa galera desberdintasunen adierazle nagusia izan daiteke^[47]. Modu honetan, 2.2 irudian ikusten den masa galera desberdinak azal daitezke.

Aurreko kapituluan bezala, azaldutakoa baieztatzeko TGA-tik ateratako hondakinen ezaugarriak X izpien difrakzio teknikaren bidez azertu dira. Hauts moduan eta giro-tenperaturan neurtutako laginen X izpien difraktogramak, UPV/EHUko X izpien Ikerketa Zerbitzu Orokorraren PANalytical X'Pert PRO difraktometroan burutu dira, A.2. eranskinean deskribatutako baldintzetan. Kasu honetan, lortutako difraktograma Le Bail doikuntza bidez azertu da FullProf^[48] programa erabiliz. Lortutako doikuntza 2.3 irudian agertzen da.

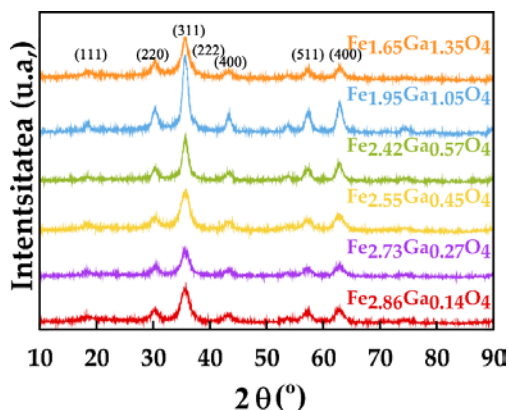


2.3 irudia Le Bail prozedura erabiliz $Fe_2Ga_{1,05}O_4$ laginaren hondakinen difraktograma eta doikuntza.

Honetan, puntu gorri jarraiek difraktograma esperimentalak idurikatzen dute. Lerro beltz jarraia programak kalkulaturako difraktograma teorikoari dagokio. Lerro urdina, difraktograma teorikoaren eta esperimentalaren arteko desberdintasunen kalkulua da eta marra bertikal berdeak fase bakoitzaren Bragg posizioei dagozkie. Modu honetan, Fe_3O_4 fasearekin batera, FeO (ICCD 01-089-0687), $FeGa$ (ICCD 04-018-7438) eta Fe (ICCD 00-006-0696) konposatuen kontzentrazio esanguratsuak aurkitu dira, $Fe_2Ga_{1,05}O_4$ laginaren nukleo ezorganikoaren bilakaerarekin bat eginez. Modu honetan, lortutako fase kopurua ehunekotan hurrengoak dira: %67 Fe_3O_4 , %6 FeO , %4 $FeGa$ eta %23 Fe .

M. Rudolph eta lagunek azaltzen duten bezala, ferritaren nukleo ez-organikoa atmosfera geldo baten eraginpean ezartzerakoan, ferrita partzialki FeO eta Fe faseetan deskonposatzen da. Kasu honetan, ferritaren osagaietako bat galioa izanik, $FeGa$ fasearen agerpena gerta liteke. Fase hau, 2.3 irudian ikus daitekeen bezala FeO fasearekin bat dator, baina Fe fasearekin batera ere ager daiteke. Izan ere, J. Borrego eta lagunek $Fe-Ga$ metal aleazioen inguruan argitaratutako lanaren arabera, galio aberastasun txikiak burdina fasearen egitura kristalinoaren eraldaketa txikia erakutsiko luke^[49].

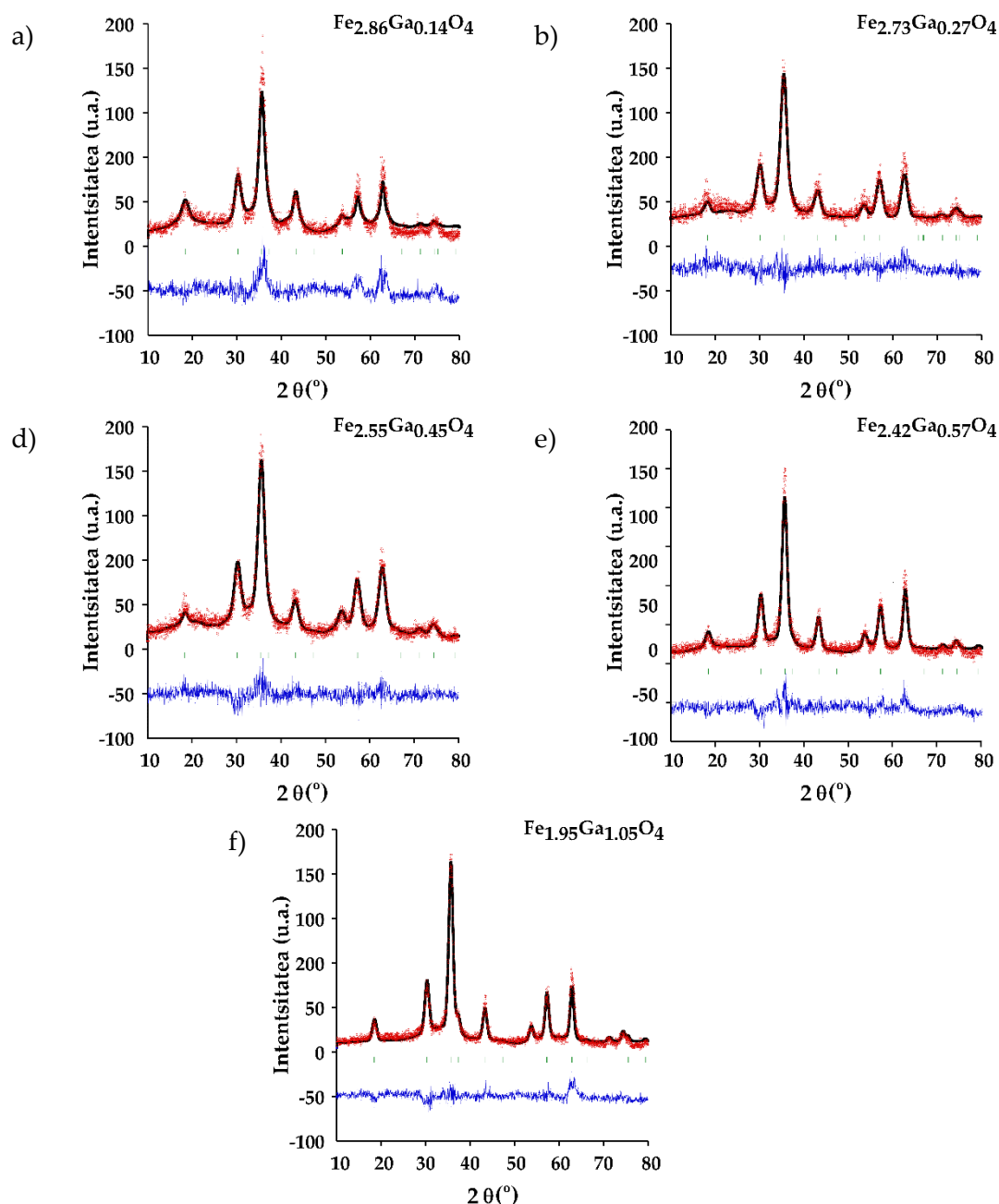
Materia organikoa aztertu ondoren, sintetizatutako faseen egitura-ezaugarriak X izpien difrakzio bidez ikertu dira (XRD). Lortu diren laginen difraktogramek tontor zabalak eta ez oso ondo ebatziak erakutsi dituzte (2.4 irudia), nanopartikulen kristal domeinuaren tamaina txikia eta nanopartikulak estaltzen dituen materia organikoaren kantitate handiaren ondorio zuzena da.



2.4 irudia. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,15 < x < 1,35$) laginen X izpien difrakzio-patroiak.

Lortutako X izpien difraktogrametan, Rietveld doiketen bidez (2.5 irudia), laginen tontorrak eta intentsitateak ondo egokitzen dira magnetitaren alderantzizko espinela-

egiturara ($Fd-3m$). Gainera, aipatu beharra dago ez dela bigarren mailako faseren presentziarik nabaritu. Nanopartikuletan kristalen tamaina Scherrer formularen (1.1) bidez kalkulatu da, (311) eta (400) planoetan oinarrituta. Lortutako emaitzak 2.3, 2.4 eta 2.5 tauletan irudikatu dira.



2.5 irudia. a) $Fe_{2.85}Ga_{0.15}O_4$, b) $Fe_{2.73}Ga_{0.27}O_4$, d) $Fe_{2.55}Ga_{0.45}O_4$, e) $Fe_{2.42}Ga_{0.57}O_4$ eta f) $Fe_{1.95}Ga_{1.05}O_4$ laginen Rietveld doikuntzak, non difraktograma experimentalak puntu gorriez, kalkulaturako difraktograma lerro beltzez eta hauen bien arteko desberdintasuna lerro urdinez irudikatuta azaltzen diren. Lerro bertikal berdeek magnetitaren Bragg posizioak irudikatzen dituzte.

2.Kapitulua: Fe_{3-x}Ga_xO₄ nanopartikulak

2.3 taula. Galioarekin dopatutako laginen (311) difrakzio-maximoaren dekonboluziotik lortutako parametroak eta Scherrer ekuazioa erabiliz kalkulaturako kristal tamaina.

Lagina	Difrakzio maximoa	B obs. (°2θ)	B inst. (°2θ)	B estruc. (°2θ)	Maximoaren pos. (°2θ)	Kristal tamaina [nm]*
Fe _{2,86} Ga _{0,14} O ₄	311	1,803	0,100	1,703	43,359	5,0± 0,3
Fe _{2,73} Ga _{0,27} O ₄	311	1,757	0,100	1,657	35,702	5,0±0,3
Fe _{2,55} Ga _{0,45} O ₄	311	1,803	0,100	1,703	35,632	4,9±0,3
Fe _{2,42} Ga _{0,57} O ₄	311	1,336	0,100	1,236	35,686	6,8±0,3
Fe _{1,95} Ga _{1,05} O ₄	311	1,076	0,100	0,976	35,674	8,6±0,4
Fe _{1,65} Ga _{1,35} O ₄	311	1,366	0,100	1,266	35,615	6,6±0,4

*tamainaren desbiderapena $K = 0,85-0,95$ faktoreak erabiliz lortu da.

2.4 taula. Galioarekin dopatutako laginen (400) difrakzio-maximoaren dekonboluziotik lortutako parametroak eta Scherrer ekuazioa erabiliz kalkulaturako kristal tamaina..

Lagina	Difrakzio maximoa	B obs. (°2θ)	B inst. (°2θ)	B estruc. (°2θ)	Maximoaren pos. (°2θ)	Kristal tamaina [nm]*
Fe _{2,86} Ga _{0,14} O ₄	400	1,745	0,100	1,645	43,242	5,2±0,3
Fe _{2,73} Ga _{0,27} O ₄	400	1,518	0,100	1,467	43,383	6,0±0,4
Fe _{2,55} Ga _{0,45} O ₄	400	1,567	0,100	1,418	43,351	5,8±0,4
Fe _{2,42} Ga _{0,57} O ₄	400	1,209	0,100	1,109	43,359	7,6±0,4
Fe _{1,95} Ga _{1,05} O ₄	400	1,035	0,100	0,935	43,357	9,1±0,6
Fe _{1,65} Ga _{1,35} O ₄	400	1,333	0,100	1,233	43,274	7,0±0,4

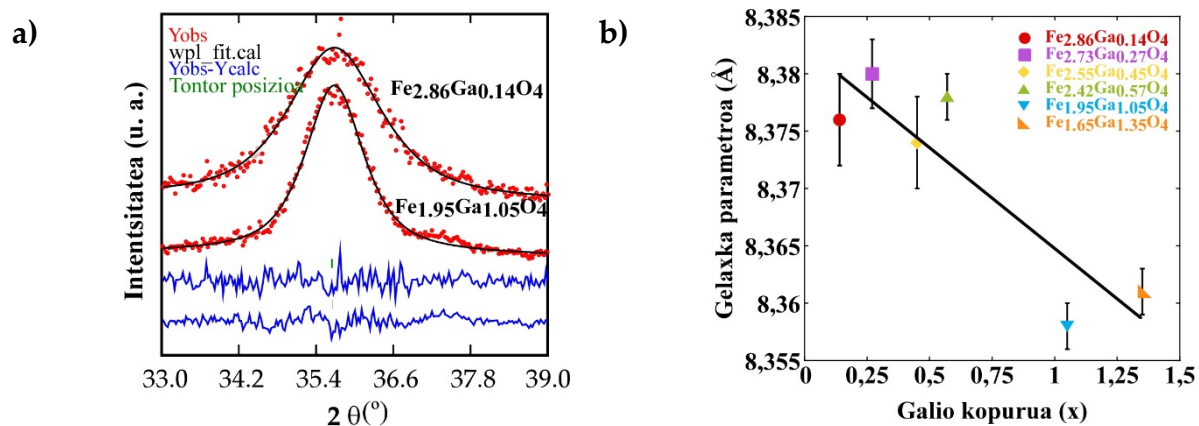
* tamainaren desbiderapena $K = 0,85-0,95$ faktoreak erabiliz lortu da.

2.5 taula. (311) eta (400) difrakzio-maximoen dekonboluziotik lortutako batz besteko (BB) kristal tamaina.

Lagina	Fe _{2,86} Ga _{0,14} O ₄	Fe _{2,73} Ga _{0,27} O ₄	Fe _{2,55} Ga _{0,45} O ₄	Fe _{2,42} Ga _{0,57} O ₄	Fe _{1,95} Ga _{1,05} O ₄	Fe _{1,65} Ga _{1,35} O ₄
BB kristal tamaina [nm]	5 (1)	6 (1)	6 (1)	7 (1)	9 (1)	7 (1)

Izan ere, (311) difrakzio tontorraren zabalera, (222) intentsitatearen zati bat harrapatu lezake, emaitza zehaztugabeak emango lituzkeena^[50]. Modu honetan, 2.6.a irudian argi ikus daiteke nola, nanopartikula txikienek (Fe_{2,86}Ga_{0,14}O₄), tontor zabalagoak dituzten eta tamaina handitu ahala tontorren zabalera txikitzen den. Izan ere, nanopartikulak gero eta txikiagoak direnean, orduan eta burdina zein galio atomo-kopurua txikiagoa, hau da, plano kristalografiko gutxiago. X izpien difrakzio-tontorrek, atomoek kristalaren planoetan sakabanaturako X izpien interferentzia konstruktiboaren

ondorioz lortzen dira. Beraz, Braggen legea betetzen duten plano askoren interferentziaren ondorioz, tamaina handiagoko laginetako difrakzio-tontorren intentsitateak altuagoak eta estuagoak dira. Modu honetan, gero eta kristal-tamaina txikiagoa izan, orduan eta tontor-zabalera handiagoa izango da (2.6.a irudia)^[51].



2.6 irudia. a) (311) difrakzio-tontorraren doikuntza eta b) Rietvelden bidezko doiketaren lortutako "a" gelaxka-parametroa versus ICP-MS bidez kalkulaturako Ga (x) edukia.

Harira, Rietveld doiketaren bidez sare-parametroak kalkulatu dira. Difrakzio tontorren lerro forma sasi-Voigt funtzio baten bidez sortu da, eta hondoa difraktogramen hondoko puntu finko batzuen artean interpolatu da. Azken doiketaren parametro hauek doitu dira: unitate-gelaxkaren parametroak, zero puntua, batez besteko zabalera, simetria-parametroak, eskala-faktorea, koordenatu atomikoak eta faktore isotropiko termikoak. Lagin bakoitzarentzat kalkulaturako sare-parametroak 2.6 taulan adierazi dira.

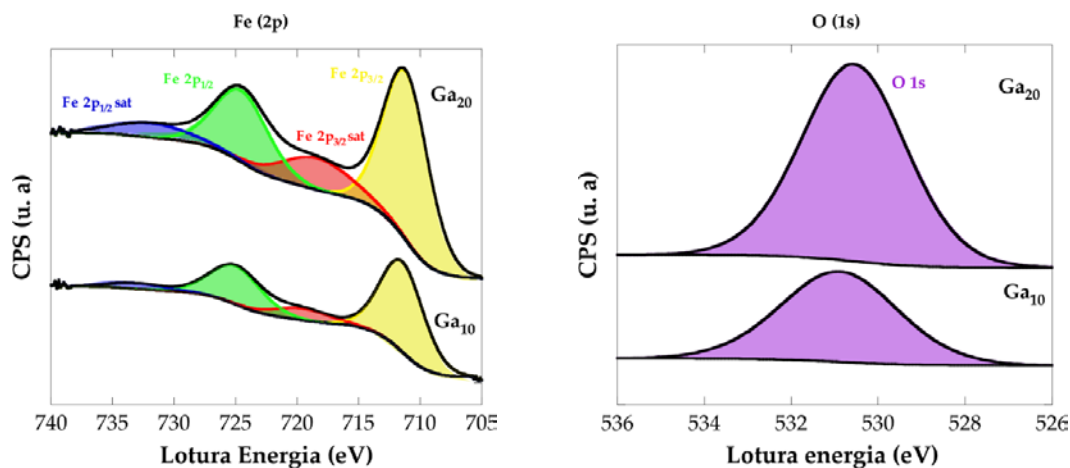
2.6 taula. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,15 < x < 1,35$) laginen datu kristalografikoen laburpena eta Rietveld doiketaren xehetasunak. R-faktore patroia (R_p), R-faktore haztatuaren patroia (R_{wp}), espero den R faktore patroia (R_e), Braggen faktorea (R_B) eta txi-karratu faktorea χ^2 .

	$Fe_{2.86}Ga_{0.14}O_4$	$Fe_{2.73}Ga_{0.27}O_4$	$Fe_{2.55}Ga_{0.45}O_4$	$Fe_{2.42}Ga_{0.57}O_4$	$Fe_{1.95}Ga_{1.05}O_4$	$Fe_{1.95}Ga_{1.05}O_4$
Space Group	F d-3m	F d-3m	F d-3m	F d-3m	F d-3m	F d-3m
a=b=c	8,376(4)	8,379(3)	8,375(3)	8,374(5)	8,358(2)	8.3(2)
V (Å ³)	587,6(4)	588,4(3)	587,5(3)	587,3(3)	583,9(2)	584,4(3)
R_p	57	45,3	34,1	53,2	42,4	51
R_{wp}	51	45,6	34,3	50,6	44,3	46
R_e	35	40,9	35,6	34,9	28	38
χ^2	2,15	1,24	0,93	2,1	2,5	1,4
R_B	18,5	19,4	9,21	13,8	14,5	12,6

Galio-edukia handitzearekin batera gelaxkaren parametroaren aldaketa linealik ez da behatzen, baliteke difrakzio-patroien kalitate baxuaren ondorioz izatea, baina parametroaren etengabeko murrizketa bai beha daitekeela (2.6.b irudia). Beherazko balio horiek bat datoz literaturan agertzen diren galioarekin dopatutako beste ferrita batzuen sare-parametroaren aldaketarekin^[31]. Are gehiago, Ga^{3+} katioien (d^{10}) tamaina eta karga kontuan hartuta, Fe^{3+} ioien lekuetan kokatzea espero beharko litzateke, posizio tetraedrikoekiko edo oktaedrikoekiko lehentasun berezirik gabe. V.L Pool eta lankideen arabera, %20tik beherako galio kontzentrazioetan, Ga^{3+} ioiek espinela egituraren posizio tetraedrikoetan kokatzeko joera dute^[36]. Hala ere, beste azterlan batzuek erakusten dute Ga^{3+} -ren ausazko banaketa posizio tetraedrikoen eta oktaedrikoen artean, eta horrek ere gelaxka-parametroen bilakaera ez-lineala ekarriko luke galio-edukiarekin^[30,52]. Ikerketa horretan, erresoluzio handiko X izpien absortzio espektroskopia (ingelesez, *X-ray Absorption Spectroscopy*) eta X izpien dikroismo zirkular magnetikoaren (ingelesez, *X-ray Magnetic Circular Dichroism*, XMCD) teknikak erabili dituzte konposizioa, egitura elektronikoa eta propietate magnetikoak aztertzeko. Teknika hauek sentikortasun handiko eta kontraste magnetiko handiko elementuei buruzko informazio espezifikoak ematen dute eta ikerketa askotan dopatutako nanopartikula magnetikoen ioien posizioak eta balentzia elektronikoa identifikatzeko erabili dira^[53]. Modu honetan, V. L. Pool eta lankideek β - Ga_2O_3 fasearen XAS L_3 espektroa, $(Fe_{1-x}Ga_x)_3O_4$ fasearen XAS L_3 espektroarekin konparatuz, galioak Fe_3O_4 fasearen leku tetraedrikoetan dauden Fe^{3+} ioiak ordezkatzeko ari dituela azaldu dute^[36]. Honekin batera, magnetitaren Fe^{2+} ioi oktaedrikoen presentziak gora egiten ez duela azaldu dute, galioaren ordezkapena leku tetraedrikoetan gertatzen dela argituz. Gainera $(Fe_{1-x}Ga_x)_3O_4$ fasearen XMCD L_3 espektroa, magnetita fasearenarekin konparatuz, ingurune oktaedrikoetako burdinaren seinalearen handipena gertatzen dela behatu dute. Gertaera hori, magnetitaren izaera ferrimagnetikoarekin erlazionatuta dago, Ga^{3+} ioi ez magnetikoen ordezkapena leku tetraedrikoetan kokatzen baita.

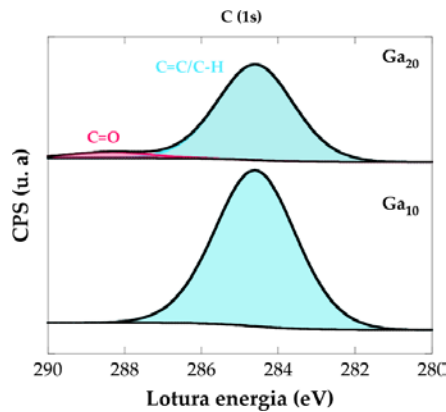
Aipatu berri den katioien banaketa sakonki aztertzeko X izpien espektroskopia fotoelektronikoa (XPS, *X-ray Photoelectron Spectroscopy*) erabili da. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginen espektroak, lagin polikristalinoa gainazal eroale baten gainean itsatsita neurtu ziren UPV/EHUko X Izpien Bidezko Espektroskopia Fotoelektroniko Zerbitzu Orokorretan, Phoibos 150 1D-DLD analizatzaileaz eta $Al K\alpha$ (1486.7 eV)

erradiazio iturriaz hornituta dagoen SPECS (Berlin, Alemania) sistema batetan, A.7 eranskinean azaltzen den baldintzetan. Ikerketaren XPS espektroek (2.7, 2.8 eta 2.9 irudiak) Fe, Ga, C eta O elementuak zeudela erakutsi zuten. Azaleraren azterketa kuantitatiboa egiteko, elementu bakoitzaren kasuan lortutako tontorren azalera eremuak (Fe 2p, C 1s, O 1s, N 1s eta Ga 3s, 2p, 3p, 3d) XPS Zerbitzu Orokorretan doitu ziren, CasaXPS 2.3.16 softwarea erabiliz^[54]. 2.7 irudian $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginen espektroak behatzen dira Fe 2p tontorren zabalerak erabiliz.



2.7 irudia. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginen burdinarentzat (Fe 2p) eta oxigenoarentzat (O 1s) lortutako XPS espektroak.

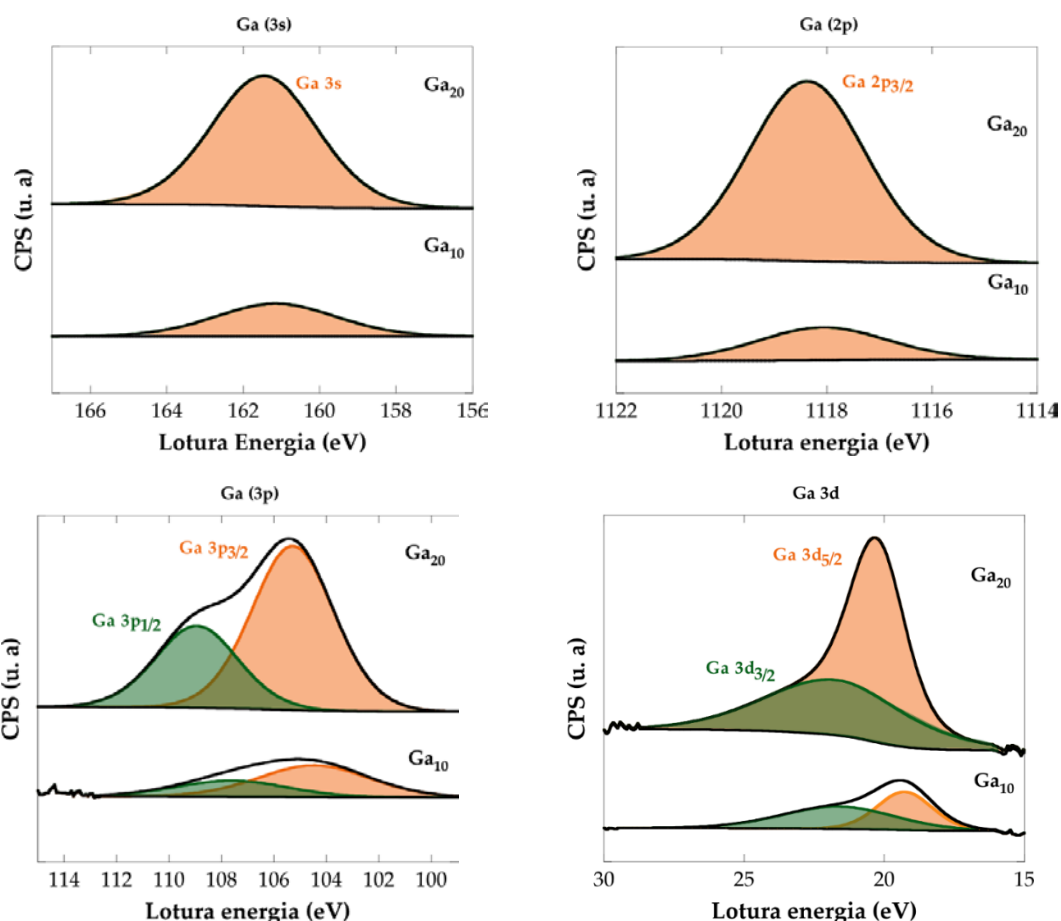
2.7 irudian ikusten denez, burdinaren kasuan lortutako espektroen doiketan bi kontribuzio desberdin agertu dira. Alde batetik, 711,5 eV eta 711,2 eV-ko lotura-energia baxuetan ageri diren tontorrak Fe $2p_{3/2}$ espezieari dagokio, 719,5 eV eta 718,4 eV inguruan dituen sateliteak aurkeztuz. Bestetik 725 eta 724,5 eV inguruan kokatzen diren tontorrak Fe $2p_{1/2}$ espeziea adierazten du, 731,9 eV eta 733,1 eV inguruan ageri diren sateliteekin batera. Bi tontor hauen presentziak galioarekin dopatutako laginek magnetita egitura dutela baieztatzen du^[55,56]. Honekin batera, 2.8 irudian $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginenetan lortutako oxigenoaren (O 1s) espektroek, 530,9 eta 530,6 eV-eko lotura energian aurkeztutako tontorrek ere fase honen lorpena bermatzen dute^[57].



2.8 irudia. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ karbonoarentzat (C 1s) lortutako XPS espektroak.

Prestatutako nanopartikulak oleilamina eta azido oleikoz inguratuta egonda, C 1s espezieen seinaleak ere neurtu dira (2.8 irudia). Kasu honetan, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak bi seinale aurkeztu ditu eta $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ -ak bakarra. Biek 284,5 eV-ko lotura energian kokatutako seinalea aurkeztu dute, erabilitako estekatzailen kate alifatikoei dagokiena. Bestalde, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak 288,3 eV-ko lotura-energian kokatutako seinalea azido oleikoaren karbono karboxilikoari dagokio^[58]. Modu honetan, ondoriozta daiteke, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak gainazalean dituen estekatzailen artean azido oleikoa nagusitzen dela ez baita oleilaminaren nitrogenoaren presentzia somatu. Gainera, 2.7 taulan adierazi diren karbono kopuru erlatiboari erreparatuz gero, analisi termograbitrikoen bidez aztertutako materia organikoaren galerarekin bat datozeela esan daiteke. Izan ere, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginak $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak baino masa galera bikoitza izan du, kasu honetan somatzen den karbono kopuruekin bat datorrena.

Hurrengo 2.9 irudian $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginen galioaren seinale (3s, 2p, 3p eta 3d) espektroak irudikatu dira.



2.9 irudia. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginen galioarentzat (Ga 3s, 2p eta 3p) lortutako XEF espektroak.

2.9 irudian ikus daitekeenez, 3s pikua kasuan lortutako espektroek 160,1 eta 160,4 eV-an tontorrak aurkeztu dituzte. Honekin batera, galio espektroek ere 1118 eV-ko energian tontor bakarra aurkeztu dute Ga $2p_{3/2}$ espeziearentzat. Jarraian, Ga 3p espeziearen kasuan, bi tontor lortu dira, lehenengoa 104,5 eta 105,3 eV (Ga $3p_{3/2}$) lotura-energian eta 107,6 eta 108,9 eV (Ga $3p_{1/2}$) lotura-energian bigarrena. Azkenik, Ga 3d espeziaren espektroak 21,8 eta 22,12 eV (Ga $3d_{3/2}$) eta 19,2 eta 20,3 eV (Ga $3d_{5/2}$) lotura-energietan bi tontor aurkeztu ditu. Galioarentzat lortutako balio hauek, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginaren kasuan, β - Ga_2O_3 faseak *bulk* egoeran aurkezten dituen balioekin bat dator. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginari dagokionez, 3d espeziearentzat lortutako espektroa β - Ga_2O_3 fasearekin ere bat dator, baina beste balioak fase honek aurkezten dituen balioetatik behera kokatzen dira^[59]. Balioen antzekotasun honek, β - Ga_2O_3 fasearen presentziaren berri eman lezake, nanopartikulen gainazalean egon litekeena. Aipatu beharra dago, fase honen presentzia erabilitako beste karakterizazio tekniken bidez ez dela somatu. Izan ere, β - Ga_2O_3 faseak egitura monoklinikoa du^[60], baina X izpien difrakzioan ez da

2.Kapitulua: $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulak

magnetita fasea ez den beste fase bat aurkitu. Modu honetan, pentsa liteke galio-ferriten prestaketan β - Ga_2O_3 fasearen geruza oso fina .

Hurrengo 2.7 taulan, elementu bakoitzean lortutako espekto-tontorren kokapen zehatza, kontzentrazioa eta atomoen arteko erlazioa adierazten da.

2.7 taula. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginen XPS analitik lortutako espezie bakoitzaren espektoaren kokapena (eV), kontzentrazioa (%) eta atomoen arteko erlazioa (%).

Elementua		$Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$			$Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$		
		Posizioa (eV)	Kontz. %	Atomo-erlazioa	Posizioa (eV)	Kontz. %	Atomo-erlazioa
C	C-C, C-H	284.6	66.7	66.7	284.6	34.2	36.5
	C 1s	-	-	-	288.4	2.3	
O	O 1s	530.9	26.0	26.0	530.6	45.1	45.1
Fe	Fe (2p 3/2)	711.5	3.1	5.4	711.2	5.4	10.4
Fe	Fe (2p 3/2, sat)	719.5	0.5		718.4	1.5	
Fe	Fe (2p 1/2)	725.0	1.5		724.5	2.7	
Fe	Fe (2p 1/2, sat)	733.1	0.2		731.9	0.8	
Ga	Ga 3d	19.3	1.8	1.8	20.3	6.4	6.4

2.7 taulan ikus daitekeen bezala, elementuen arteko erlazioa desberdina da. $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginak, karbonoaren kontzentrazio handiena dauka, %66-koa izanik. Gainazala aztertzen duen teknika izanik, espero zen elementu honen kontzentrazioa handia izatea nanopartikulen inguruan kokatzen diren estekatzailen presentziaren ondorioz. $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginaren kasuan, karbonoaren kontzentrazioa txikiagoa da. Lehen azaldu den bezala, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginak $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak baino estalki organiko kantitate bikoitza du (2.2 taula), nukleoaren azterketa zailtzen duena.

Beste elementuei dagokienez, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginak baino oxigeno, burdina eta galio kantitate txikiagoak aurkeztu ditu. Esan bezala, neurtutako gainazalaren materia organikoaren presentzia beste elementuen azterketa galarazi ahal du, 2.7 taulan agertzen diren proportzio desberdinak azaleratuz. Ga eta Fe elementuen arteko konparaketa eginez gero, argi ikusten da $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginak baino galio kopuru handiagoa aurkezten duela. Gainera, bien arteko erlazioa eginez bi laginetan ICP neurketek baino galio gehiago aurkezten dutela ikus daiteke. Hau da, metalen %25a $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ kasuan eta %37a $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ kasuan.

Aipatu berri den hipotesia balioztatzeko, X izpien xurgapena ertzaren egituratik gertuko (ingelesez, *X-Ray absorption near edge structure*, XANES) erresoluzio handiko teknika erabili da.

Parametro kristalografikoek Ga edukiarekin izan duten bilakaeraren ebidentzia badago ere, nanopartikulak XANES bidez karakterizatzeak metalaren oxidazio-egoerei eta katioien leku-simetriari buruzko informazio osagarria eman lezake^[61]. Horretarako, Fe eta Ga-aren K ertzetan XANES espektroak egin dira. XANES espektroak (X izpien xurgapena ertzaren egituratik gertu) giro-tenperaturan erregistratu ziren Elettra Sinkrotroiaren (Trieste, Italia) XAFS (11.1R) argi-lerroan, A.8 eranskinean azaltzen diren baldintzetan.

Lortutako espektroen hondoa ostuz eta datuak normalizatuz, xurgapen-espektroak ordezkatu dira. 2.10 irudian laginen espektroak eta ohiko estandarrak irudikatu dira, bai eta Fe_2GaO_4 ferritarena *bulk* eran eta Fe_3O_4 nanopartikulen espektroak ere. $FeGa_2O_4$ lagina sol-gel sintesi metodoaren bidez sintetizatu zen. Zehazki, $4,07 \cdot 10^{-3}$ mol burdina(III) nitrato nonahidratatu ($Fe(NO_3)_3 \cdot 9 H_2O$, 0,835g) eta $2,03 \cdot 10^{-3}$ mol galio(III) nitrato ($Ga(NO_3)_3$, 1,046 g) 5 mL ur destilatuan disolbatu ziren agitazio magnetikoaren bidez. Behin aitzindariak disolbatuta, 1,25 mL etilenglikol ($C_2H_6O_2$) eta 3,45 g azido zitriko ($C_6H_8O_7$) gehitu ziren agitazio mekanikoa mantenduz disoluzio homogeneoa lortu arte. Gero, disoluzioa $100\text{ }^\circ\text{C}$ -an 24 orduz berotu zen erabilitako disolbatzaileak lurrunduz. Lortutako gris koloreko gela portzelanazko arrago batean jarri eta muflan sartu zen $400\text{ }^\circ\text{C}$ -an bi orduz mantenduz. Tratamendu termiko honetatik lortutako hauts beltzari, beste tratamendu bat egin zitzaion $700\text{ }^\circ\text{C}$ -tan hiru ordu mantenduz. Hemendik ateratako laginaren miligramo bat hartu zen XANES neurketak egiteko. Modu honetan, 1 mg Fe_2GaO_4 eta 10 mg polibinilpirrolidona ($(C_6H_9NO)_n$, PVP), morteroaren laguntzaz nahastu ziren eta neurketarako pastilla bat egin zen. Prozedura hau, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($x = 0,14, 0,27, 0,45$ eta $0,57$) eta $\beta\text{-}Ga_2O_3$ laginak prestatzeko ere erabili zen.

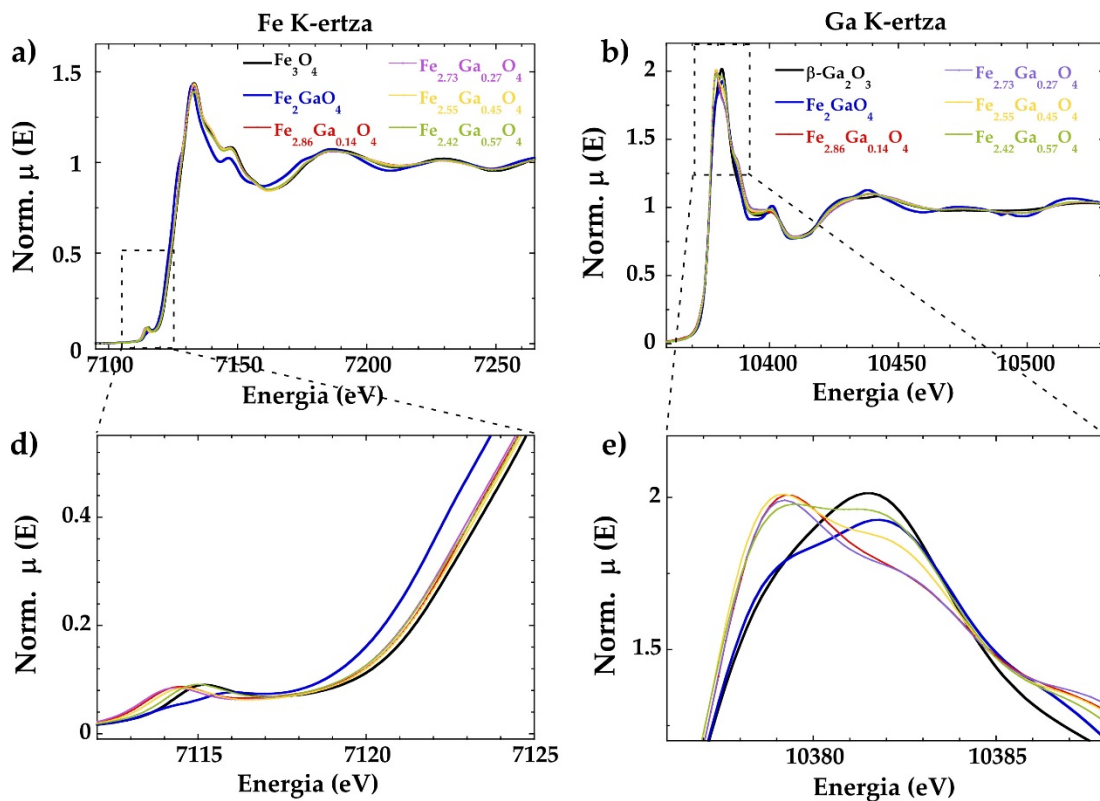
Lehen aipatu bezala, magnetitak alderantzizko espinela egitura du, non 8 Fe^{2+} ioi leku oktaedrikoetan, 8 Fe^{3+} ioi leku tetraedrikoetan eta 8 Fe^{3+} leku oktaedrikoetan kokatzen diren. Aitzitik, Ga-ferrita (Fe_2GaO_4) espinela arrunta da, non Ga^{3+} katioiek nagusiki leku tetraedrikoak eta partzialki oktaedrikoak okupatzen dituzten eta Fe^{2+} eta Fe^{3+} katioiak, aldiz, hutsune oktaedrikoetan kokatzen diren, tetraedrikoki koordinatuta dauden Fe^{3+} ioi batzuekin batera.

XANES espektroetan hainbat ezaugarri aztertu behar dira oxidazio-egoerari eta atomo xurgatzailearen simetriari buruzko informazioa lortzeko: ertzaren posizioa

2.Kapitulua: $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulak

(xurgapen-koefiziente normalizatuaren balioa 0,5 den energia gisa definituta), ertz aurrekoaren eremua eta ertzaren ondorengo eremua.

2.10a irudian burdinaren K ertzean hartutako espeketroak ordezkatu dira eta magnetita purua eta Fe_2GaO_4 ferritaren posizioen arteko desplazamendu arina ikusten da. Magnetitaren ertzaren posizioa 7124,3 eV-an agertzen den bitartean, 1,1 eV energia baxuagoetara mugitzen da prestatutako Fe_2GaO_4 laginaren kasuan (7123,2 eV) (2.10d irudia). Ertzaren posizioa oxidazio-egoeraren adierazle argia da, eta, beraz, ertzaren posizioa 7 eV-eko energia baxuagoetara desplazatzen da oxidazio-egoera Fe^{3+} -tik Fe^{2+} -ra jaisten denean^[62,63]. Bai magnetitak bai Fe_2GaO_4 -ak balentzia-egoera mistoa dute, non $Fe^{2+}:Fe^{3+}$ erlazioa 1:2-tik (magnetita) 1:1-ra (Fe_2GaO_4) aldatzen den eta, beraz, behatutako 1,1 eV-ko energia-desplazamendua bat dator Fe^{3+} gutxitze erlatiboarekin galio-ferritan.



2.10 irudia a) $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen ($x = 0,14, 0,27, 0,45$ eta $0,57$) nanopartikularen XANES espektrora normalizatuak, erreferentziako konposatuekin alderatuta: magnetita (Fe_3O_4) eta Ga-ferrita (Fe_2GaO_4). (b) (a)-n konparatutako ertzaren aurreko eskualdeko eremua. (c) $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen Ga K-ertzeko XANES espektrora, Fe_2GaO_4 eta Ga_2O_3 laginekin alderatuta. (d) (c)-an konparatutako eskualdearen zooma.

Bigarrenik, ~ 10 eV ertzaren posizioaren azpitik agertutako sorbaldan aldaketa nabarmenak behatzen dira. Aurre-ertzaren tontor hori nukleoaren 1s egoetatik 3d egoerarako trantsizio elektronikoei egotzen zaie, dipoloak hautatzeko arauak

debekatzen baitituzte, eta haien intentsitateak eta posizioak atomo xurgatzailaren simetriari buruzko informazioa ematen dute^[62,64]. Fe_2GaO_4 -aren XANES espektroak K ertzean aurre-ertz zabala eta oso altua ez den intentsitatekoa dauka, atomoen ingurune zentrosimetriko baten bereizgarria. Magnetitak, aldiz, tontor estuagoa eta biziagoa du, eta koordinazio tetraedrikoaren bereizgarri diren leku ez-zentrosimetrikoak daudela baieztatzen du. Azkenik, ertzaren atzeko eremuak magnetitaren eta Fe_2GaO_4 ferritaren atomo xurgatzaileen arteko diferentziak tarte ertaineko mailan adierazten ditu^[65].

$Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen kasuan ($x = 0,14, 0,27, 0,54$ eta $0,57$), guztiek magnetitaren antzeko espektroa erakusten dute. Ertzaren kokapenari dagokionez, beheazko energiarekiko $0,3$ eV-eko desplazamendu txiki bat hautematen da $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$ eta $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginetan, Ga kontzentrazioarekin bat datorrena $x = 0,2-0,3$ denean. Aitzitik, $Fe_{2,46}Ga_{0,54}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ posizioen aldakuntza hautemangarriak $0,2$ eV (errorearen barruan) justu ziren, ICP-aren bidez lortutako Ga kontzentrazioen arabera desplazamendu handiagoak espero zirenean. Prestatutako laginetan, Ga edukia handitzen denean ertzaren posizioa ez lineala izateak Fe^{2+} hutsune batzuk daudela iradoki dezake, $Fe^{2+}:Fe^{3+}$ erlazioa aldatuz, bibliografian ondorioztatu den bezala^[63]. Izan ere, aurretik aipatu denez, ez da X izpien difrakzioaren bidez bigarren mailako faserik detektatzen (2.4 irudia). Aurre-ertzaren eskualdeak baieztatzen du ertz kokapenetan somatu den energia-aldaketa, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginetan galioa egoteak ia ez du aldatzen aurre-ertzaren forma eta intentsitatea, magnetitaren aldean.

$Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginetarako espektroak galioaren K ertzean, $2.10c$ irudian behatzen dira, β - Ga_2O_3 eta Fe_2GaO_4 laginekin batera. Sintetizatutako nanopartikulen ertz posizioa Ga_2O_3 eta Fe_2GaO_4 XANES espektroetan behatutakoekin bat datoz, laginetan dauden galio atomoen oxidazio-egoera Ga^{3+} dela adieraziz. Laginen arteko alde nagusiak, eta Ga erreferentziazko oxidoekin alderatuta, lerro zuriaren eskualdean agertzen dira. Ertzaren kokapenaren gainean, espektro guztiek marra zuri zabal bat erakusten dute, sorbalda bikoitzeko ezaugarriarekin, non sorbalden arteko intentsitate erlatiboa laginen artean aldatzen den. Lehen aipatutakoaren arabera, β - Ga_2O_3 -aren kasuan, sorbalda bikoitz hau, Ga^{3+} -ren ingurune misto bati egozten zaio^[66,67]. Alde batetik, tetraedrikoki koordinatutako Ga^{3+} -ak 10379 eV inguruan zentratutako energia baxuko gailurra sortzen du, eta, bestetik, energia altuko gailurra, 10382 eV-etan zentratua, oktaedrikoki koordinatutako Ga^{3+} -ri egozten zaie. Modu honetan, bistakoa da, sintetizatutako

nanopartikuletan Ga-ak ingurune mistoa eduki arren, Ga edukia baxua denean, adibidez $x = 0,14$ laginaren kasuan, Ga^{3+} posizio tetraedrikoak hartzen dituela nagusiki, lehen sorbalda biziena izanik. Ga^{3+} edukiera handitzen doan heinean, erlazio tetraedrikoa/oktaedrikoa pixkanaka gutxitzen doa, Fe_2GaO_4 ferritaren egoerara iritsi arte, jada okupazio tetraedriko garrantzitsu bat agerian uzten duena, aurretik, Fe K ertzean neurtutako espektroaren aurre-ertzatik ondorioztatzen zen bezala.

XANES espektroen eboluzioak adierazten du Ga^{3+} eta Fe^{3+} ioiek toki tetraedriko eta oktaedrikoetan kokatzen direla, baina $Ga^{3+}Td/Ga^{3+}Oh$ -aren erlazio aldakor batekin, laginetan gero eta galio kopuru handiagoaren arabera.

2.5 Karakterizazio morfologikoa

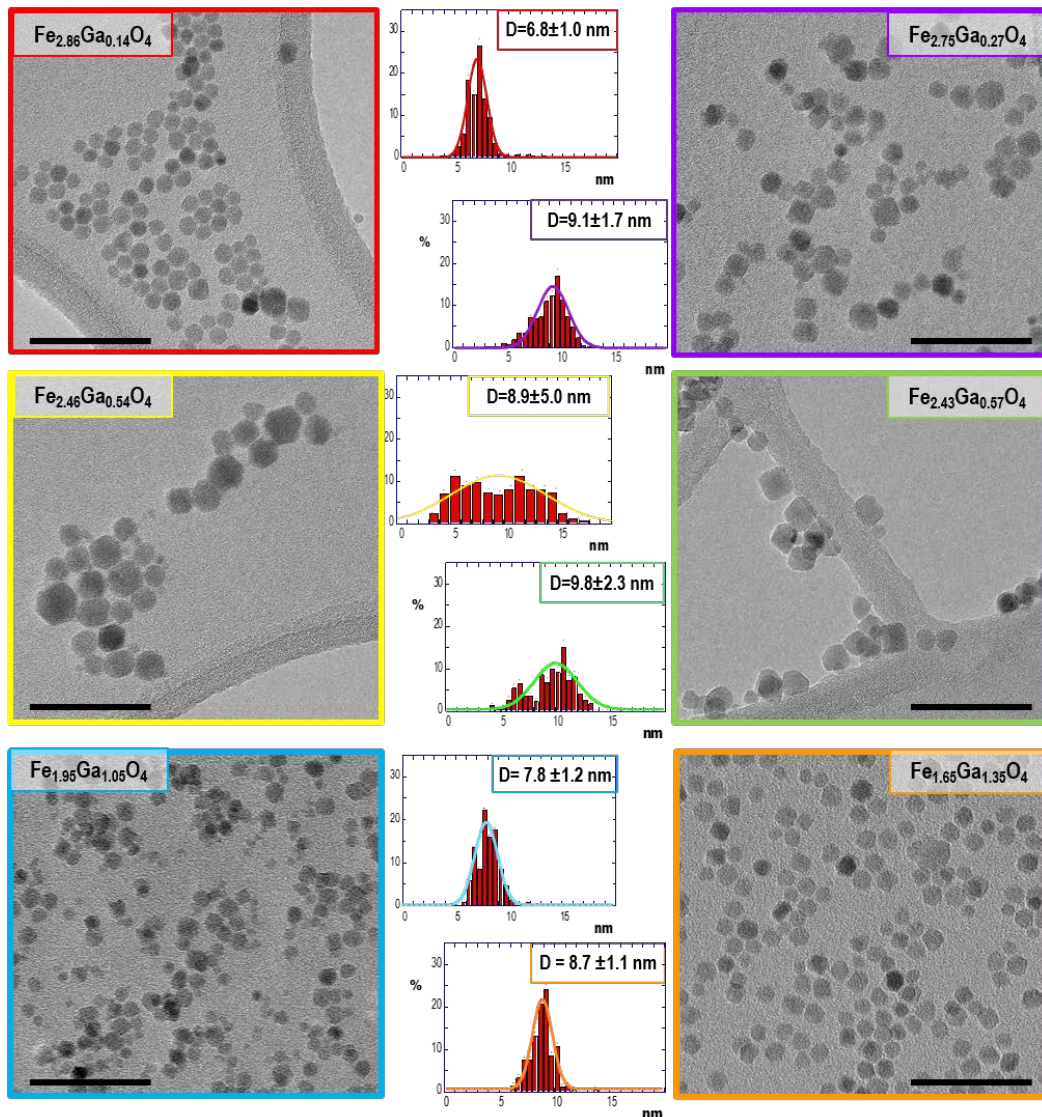
Lagin guztien Transmisio-Mikroskopia Elektronikoaren (TME, ingelesez *Transmission Electronik Microscopy*) bidez lorturako argazkiak 2.11 irudian aurkezten dira. Laginak aztertzeko, $0,05-0,1 \text{ mg}_{NP} \cdot \text{mL}^{-1}$ bitarteko kontzentrazioa zuten sakabanaketa koloidaletako zenbait tanta jarri dira karbono-estaldura duten kobrezko sareta batzuen gainean. Sintetizatutako lagin guztien mikrografiak partikulen tamaina, morfologia eta aglomerazio-maila aztertzeko erabili dira.

Halaber, laginetan ere difrakzio-patroiak erregistratu dira eta agerian utzi dute partikulen kristalinitate altua eta Fe_3O_4 fasearen presentzia bakarra.

Laginen analisi morfologikoari dagokionez, transmisioko mikroskopiako argazkiek antzeko morfologia (kubooktaedroak) eta tamaina erakusten dute, 6,8 (1) eta 9,8 (2) nm-ko tartean daudenak, 2.11 irudian ikus daitekeen bezala. Neurtutako tamainak nahiko bateragarriak dira aldeztatik difrakzio datuetatik abiatuta Scherrer ekuazioaren bidez kalkulaturako datuekin (2.2 taula). Ezaugarri honek, nanopartikulak nagusiki monokristalak direla esan nahi du.

Nanopartikula guztien antzeko ezaugarriak espero dira, sintesi guztietan erreakzio baldintza berdinak (sintesi-denbora, tenperatura-programa, bentzil eter bolumenta eta estekatzaile kantitatea) erabili baitira. Erabilitako tenperatura-programa berdina izan denez, sintesi bakoitzean antzeko erreakzio-baldintzak egotea eragin beharko luke. Eginkizun honek, sintesi prozesuetan burutzen diren nukleazio eta hazkuntza prozesuetan aldaketa txikiak izatea eragingo luke, kasu bakoitzean erabilgarri dauden ioien arteko nukleazioa burutuz^[68].

Hala ere, mikrografiei buruzko behaketa zehatzago batek erakusten du galio eduki txikiagoa duten nanopartikulek tamaina txikiagoa dutela eta hain fazetatuak ez daudela. Ga³⁺ edukia handitu ahala, nanopartikula tamaina handiagoak lortzen dira eta partikula prismatikoagoak behatzen dira (kubooktaedroak eta oktaedro trunkatuak). Kontuan hartu behar da, Ga(acac)₃ aitzindari metalo-organikoak 198 °C-ko fusio-puntua duela, Fe(acac)₃ aitzindariarena baino 18°C altuagoa dena. Temperatura desberdintasun honek LaMerrek^[69] azaldutako nanopartikulen nukleazio eta hazkunde prozesuetan aldaketak sortu ditzake. Nanopartikulak eratuko dituzten atomoak aitzindariaren deskonposizio-abiaduraren arabera iristen dira nukleazio-guneetara, eta horrek nahitaez eragingo dio nukleazio-prozesua hein handiagoan edo txikiagoan gertatzea^[70]. Modu honetan, argi ikusten da nola burdina(III) aitzindari metalorganikoaren kontzentrazio handienak (%95-65 bitartekoa) dituzten sintesietan nanopartikula txikiagoak lortzen diren. Burdina(III) aitzindari organometalikoak deskonposizio tenperatura baxuagoa izanik, sintesi-ingurunean espezie askoren nukleazioa aldi berean ematen da.



2.11 irudia. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ($0,15 < X < 1,35$) laginen TEM irudiak eta horien banaketa logaritmiko normalizatua.

Modu honetan, hazkuntza prozesuan nanopartikulen hazkunde txikiagoa ematen da, sintesi-ingurunean nanopartikulen hazkundera emateko espezieen presentzia urriagoa delako. Aldiz, galio(III) aitzindariaren presentzia nabarmenagoa denean (%40-tik gorakoa), nanopartikula handiagoak lortzen dira. Izan ere, burdina(III) espezie urritasunak nukleo gutxiago ematea eragiten du, gerora hazkuntza nukleo izango direnak.

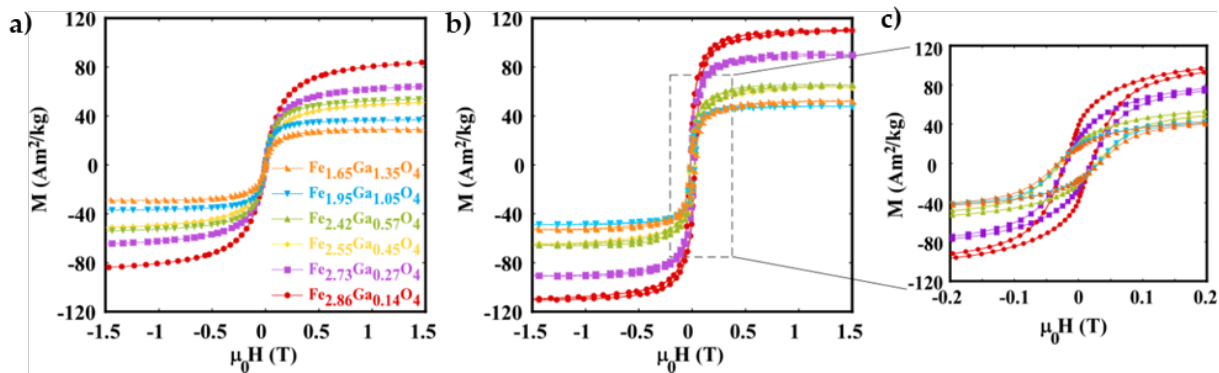
Emaitza horrek iradokitzen du galioak Fe_3O_4 -ren sarean egiten dituen inbertsioek berebiziko garrantzia izan dezaketela $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ -ren laginen tamaina, morfologia eta banaketetan, eta horrek, eragin nabarmena izango du laginen propietate magnetikoetan. Holako erlazioak bibliografian topatu dira, izan ere, J. Liu eta lagunek aurkeztutako

$Fe_{3-x}Zn_xO_4$ ($0 < x < 1$) nanopartikulen ikerketan alderantzizko joera aurkezten da^[71]. Honetan, zink kontzentrazioa igo ahala, nanopartikulen tamaina etengabe jaisten da $x = 0,4$ konposiziora arte, gero tamainak gora egiten du berriz. Izan ere, ikerketa honek azaldu duen bezala, zinkarekin burututako aberastasunak $x = 0,2$ kontzentrazioetik aurrera, alderantzizko espinela egitura osatzen duten aurpegian zentratutako unitate kubikoen kopurua murriztea eragiten du.

2.8 Karakterizazio magnetikoa

Ga edukiak nanopartikulen portaera magnetikoan duen eragina aztertzeko, karakterizazio magnetikoa hainbat metodoren bidez aztertu zen, A.5 eranskinean azaltzen den moduan, hala nola: eremuaren eta tenperaturaren menpeko magnetizazio-neurriak, $M(H)$ eta $M(T)$, eta erresonantzia magnetiko elektronikoaren espektroskopia (EMR). Alde batetik, A.5 eranskinean adierazten den moduan ingurune tenperaturan neurtutako eremuaren menpeko magnetizazio neurriak UPV/EHUko Neurketa Magnetikoen Zerbitzu Orokorretan kokatutako VSM ez komertzial batean neurtu zen, gehienez 1,8 T-ko eremua duen elektroiman batez hornituta dagoena.

300 K eta 5 K-etan neurtutako $M(H)$ kurbak 2.12 irudian eta datu nabarmenak 2.9 taulan adierazten dira. Giro-tenperaturan laginen portaera superparamagnetikoa (SPM), koertzitibitatea (H_c) eta erremanentzia (M_r) ez egoteagatik baieztatzen da, nanopartikulen tamaina txikiarekin bat egiten duena. Nanopartikulen asetze-magnetizazioa nukleo magnetikoari dagokio, masa zuzendu baita laginen materia organikoaren ekarpena kenduz. Nabarmentzekoa da M_s -ren balioek etengabe gora egiten dutela laginen galioaren edukia murrizten denean. 5 K-etan $110 \text{ Am}^2/\text{kg}$ -ko baliora iristen da %5-eko ordezkapena ($x = 0.14$) duen laginaren kasuan, magnetitak egoera masiboan duen asetze-balioa ($98 \text{ Am}^2/\text{kg}$ 5 K-etan) baino nabarmenki altuagoa dena.



2.12 irudia. Laginen M vs H kurbak a) 300 K-etan b) 5 K-etan eta c) 5K-tan neurtutako laginaren behe eremuko datuen handipena.

Asetze-magnetizazioaren aldakuntza hori nanopartikulen tamainarekin ere lotuta egon liteke. $Ga^{3+}-O$ (374 kJ/mol) lotura-energia $Fe^{3+}-O$ (407 kJ/mol) lotura-energia baino pixka bat txikiagoa dela kontuan izanda, $Ga_xFe_{3-x}O_4$ nanopartikulen tamaina handitzeko joeran eragina izan dezake. Izan ere, $Ga^{3+}-O^{2-}$ loturak sortzeko energia gutxiago beharko litzateke, eta horrek nanopartikulen hazkundera eragingo luke^[72,73]. Harira, asetze-magnetizazioa pixkanaka gutxitzen doa dopatzaile kopurua handitzean eta, beraz, partikulen tamaina handitzean. Gainera, galio-ferritetan egindako azterketa magnetiko eta estrukturalak frogatu dute bai Fe^{3+} ioiak bai Ga^{3+} ioiak Td edo Oh hutsuneetan egon daitezkeela, aurreko atalean XANES espektroskopiaren bidez baieztatu dena^[36,37,39]. Modu honetan, galio aberastasun maila txikiena duten nanopartikuletan ($x = 0,14$), badirudi galioaren banaketa leku tetraedrikoetan nagusitzen dela, temperatura baxuetan duen asetze-magnetizazioaren balioa altua azaltzen duena. Hala ere, nanopartikulen tamaina eta galio aberastasunaren maila handitu ahala, galioaren banaketa aldatu egiten da, eta leku tetraedriko eta oktaedrikoen artean koka daiteke. Honen ondorioz, nanopartikulen sare ferrimagnetikoan momentuen desorekatzea gertatzen da, eta horrek asetasun-magnetizazioaren murrizte mailakatua eragiten du. Gainera, magnetita fasean galio aberasteak partikulen gainazaleko ioi magnetikoen elkartrukaketako elkarrekintzetan desoreka eragin dezake, nanopartikulen propietate magnetikoetan eragin zuzena izango lukeena^[74]. Horregatik, nanopartikulen tamaina zenbat eta handiagoa izan, orduan eta nabarmenagoa izango da gainazalaren desordena, zuzenean nanopartikulen propietate magnetikoei eragingo liekeena. Zehazki, giro temperaturan neurtu den $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulen asetze-magnetizazioa, $85 \text{ Am}^2\text{kg}^{-1}$ -tik $29 \text{ Am}^2\text{kg}^{-1}$ -ra jaisten da galioaren kontzentrazioa $x = 0,14$ -tik $x = 1,35$ -ra igotzerakoan. Modu

honetan, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulen asetze-magnetizazioa igotzeko galioaren eduki moderatuak ($x \approx 0,14$) egokiagoak direla ondoriozta daiteke.

2.9 taula. TEM bidez lortutako nanopartikulen tamainaren laburpena. 300 K eta 5 K-ko histeresikurbetatik lortutako nanopartikulen asetasun-magnetizazioaren (M_s), koertzitibitatearen (H_c) eta hondoko magnetizazio murriztuaren (M_r/M_s) laburpena, giro tenperaturan neurtutako $M(H)$ kurben doikuntzatik lortutako batez besteko diametro magnetikoen (D) eta dispersioa (σ) dispersioa.

Lagina	D_{TEM} (nm)	M_s RT (Am ² /kg)	M_s 5K (Am ² /kg)	M_r/M_s 5K	H_c 5K (mT)	$D_{M(H)RT \pm \sigma}$ (nm)
$Fe_{2.86}Ga_{0.14}O_4$	6,8(1)	85(1)	110(1)	0,4(2)	20,7(1)	5,9(1)
$Fe_{2.73}Ga_{0.27}O_4$	9,0(1)	65(1)	90(1)	0,3(2)	19,9(1)	6,9(2)
$Fe_{2.55}Ga_{0.45}O_4$	8,9(5)	52(1)	64(1)	0,3(2)	26,6(1)	7,3(3)
$Fe_{2.42}Ga_{0.57}O_4$	9,8(2)	54(1)	65(1)	0,3(2)	31,0(1)	8,3(3)
$Fe_{1.95}Ga_{1.05}O_4$	7,8(2)	37(1)	48(1)	0,4(2)	30,0(1)	11,0(3)
$Fe_{1.65}Ga_{1.35}O_4$	7,4(1)	29(1)	52(1)	0,3(2)	32,3(1)	10,8(3)

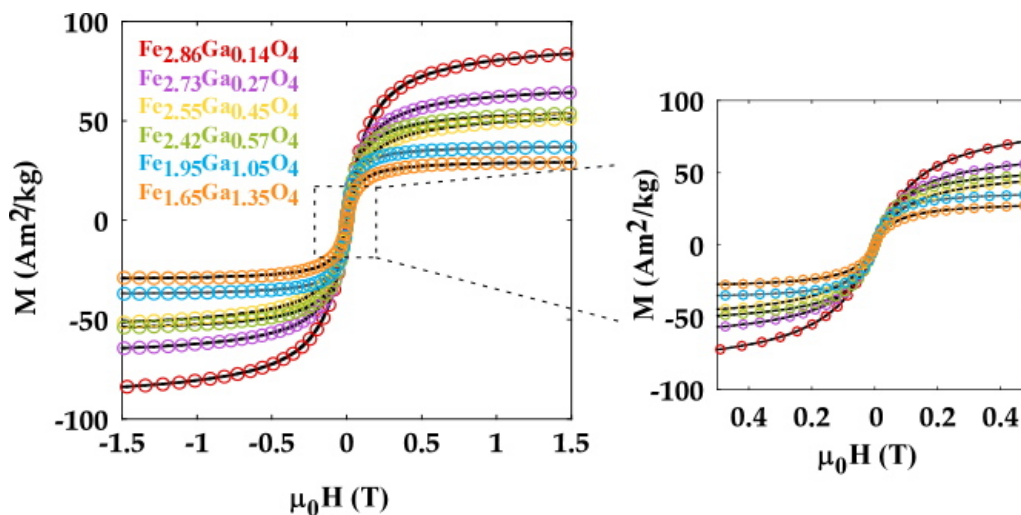
Temperatura baxuko laginen koertzitibitateari dagokionez, balioak 20 eta 32 mT artekoak dira, eta antzeko tamaina duten ferrita biguneko tartean daude^[75]. Harira, $Fe_{2.86}Ga_{0.14}O_4$ laginak, H_c balio baxuena (20 mT) aurkeztu du. Lagin honek, bataz besteko dimentsio txikiena (6 nm) duen lagina da eta beraz, efektu termikoak oso nabarmenak dira. 2.9 taulan ikus daitekeen bezala, lagin guztien temperatura baxuko erremanentzia-balio murriztuak (M_r/M_s) 0,3 inguru daude, Stoner-Wohlfart ereduak^[76] aurreikusten duen 0,5 baliotik nabarmenki alderatuta dagoena. Ezaugarri hori momentu magnetikoaren fluktuazio termikoen efektuaren ondorioa da ere, 10 nm-tik beherako nanopartikulen kasuan arbuigarriak ez direnak (baita temperatura baxuetan ere).

Honekin batera, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ lagin desberdinen nukleo magnetikoen tamaina kalkulatu da giro tenperaturan neurtutako $M(H)$ kurbetan superparamagnetismoaren eredu ideala erabiliz^[77]. Laginaren magnetizazioa 2.1 ekuazioaren bidez adieraz daiteke, $f(D)$ banaketa gaussiano bateko diametro (D) guztien gaineko integrala den aldetik.

$$M(H) = M_s (emu \cdot g^{-1}) \int_0^{max} L \left(\frac{M(emu \cdot cm^{-3}) V(cm^3) H(Oe)}{k_B T(erg)} \right) f(D) dD \quad (2.1)$$

non M_s asetasun-magnetizazioa den eta $L(x)$ Langevinen funtzioa. Horrela, ikuspegi kuantitatibo honen bidez, nukleo ez-organikoaren batez besteko tamaina eta dispersioa kalkula daiteke. 2.13 irudiak $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen $M(H)$ kurba esperimentalak burututako

doikuntzekin batera erakusten ditu, azaldu berri den ekuazioa erabiliz lagin bakoitzaren M_s parametroa balio experimentalari finkatuz (lerro zuzenak). Lortutako tamainak desbideraketekin batera 2.19 taulan laburtu dira. Aipatzekoa da, lortutako tamaina magnetikoak TEM eta DRX bidez lortutako batez besteko tamainekin nahiko bateragarriak direla.



2.13 irudia. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen $M(H)$ kurbak giro temperaturan SPM ereduaren bidez doituta.

Bestalde, temperatura aldakorrean (5 eta 300 K artean) baina eremu konstantean neurtutako laginak UPV/EHUko Neurketa Magnetikoen Zerbitzu Orokorretan kokatutako SQUID magnetometro komertzial batean (MPMS3, Quantum design) burutu ziren, 7T-raino iristen den iman supereroale batez eta 2 eta 400 K bitarteko temperaturan neurtu dezakeen kriostato batez hornituta dagoena. Azken lagin hauek neurtzeko, lagin bakoitzaren tolueno dispartzioaren ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) tanta batzuk iragazki paper baten gainean sakabanaturik neurtu ziren, nanopartikulen arteko elkarrekintzak saihesteko helburuarekin.

Magnetizazioa ere temperaturarekiko neurtu da, eremu gabe (*Zero Field Cooling* ingelesez, ZFC) eta eremuarekin hoztuz (ingelesez *Field Cooling*, FC) gero, 10 Oe-ko (2.14 irudia) eremu magnetiko konstante baten pean. Lagin guztiek nanopartikula superparamagnetikoen profil tipikoa aurkeztu dute, non ZFC adarrak sistemaren blokeo-temperaturari (T_B) lotutako maximo bat duen; FC adarrak, berriz, magnetizazioa etengabe handitzen dela erakusten du, giro temperaturatik temperatura baxuetara^[78].

ZFC kurbaren maximoa sistemaren T_B blokeo-temperaturatzat hartzen den arren, zehatzagoa da batez besteko $\langle T_B \rangle$ kalkulatzeko. Horretarako, energia-hesien banaketa $f(T_B)$ kalkulatu behar da (B.3 eranskina)^[79,80]. Horrela, $\langle T_B \rangle$ balio fidagarriagoak lor

daitezke (ikus 2.10 taula), eta horrek ere K_{eff} anisotropia efektiboaren konstantearen kalkulaketa errealistagoa dakar (2.2 ekuazio ezagunaren bidez).

$$T_B = \frac{K_{eff}V}{25k_B} \quad (2.2)$$

2.10 taulan ikus daitekeen bezala, $\langle T_B \rangle$ balioak, 16 eta 40 K bitarte daudenak, gero eta handiagoak dira laginen batez besteko tamaina handitzearekin batera. Balio horiek bibliografian agertzen diren eta antzeko tamaina duten magnetitzako nanopartikulenak baino txikiagoak dira, ziur aski Ga^{3+} ioiek egituraren duten biguntze efektuaren ondorio zuzena dena^[81]. Efektu hau, galio gehien duten laginetan lortutako K_{eff} balio txikienetik ere ondoriozta daiteke. Kontuan izan behar da $\langle T_B \rangle$ balioetatik abiatuta kalkulaturako K_{eff} balioek ZFC kurbaren maximotik gertu dauden tenperaturetan dagoen anisotropia adierazten dutela. Beraz, K_{eff} -ren balioek tenperatura baxuetan (5 K), lortutako anisotropia balioak baino zertxobait txikiagoak izan beharko lukete, anisotropia magnetikoaren mendekotasun termikoaren ondorioz.

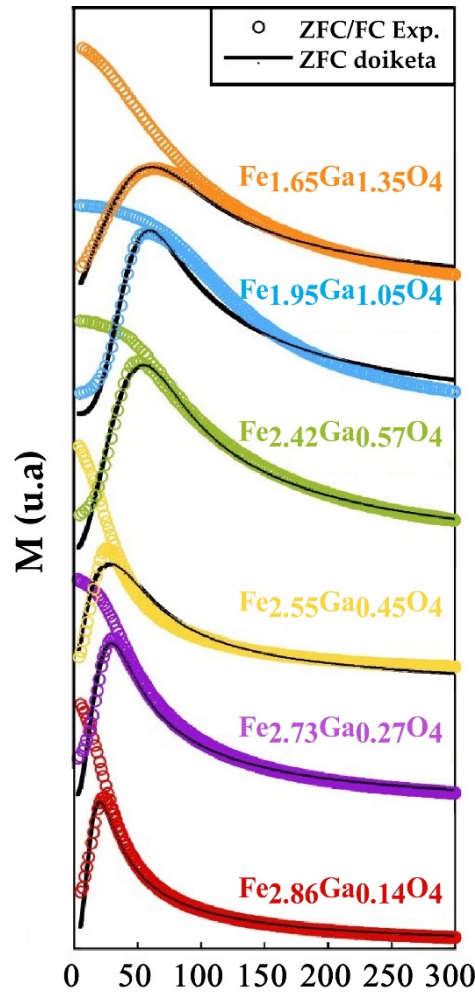
K_{eff} balioak 5 K-tan Stoner-Wohlfath^[76] ereduaren esparruan, nanopartikula superparamagnetikoen zein blokeatuta dauden nanopartikulen ekarpenak azaltzen dituen, ZFC kurbak doituaz kalkula daitezke (2.3 ekuazioa):

$$M_{ZFC} = \int_0^{V_C} M^{SPM} f(D)dD + \int_{V_C}^{\infty} M_{ZFC}^{bl} f(D)dD \quad (2.3)$$

$$M_{ZFC}^{bl} = M_S \frac{MH}{3K} \quad V_C = \frac{25k_B T}{K}$$

2.10 taula. ZFC kurben doikuntzatik lortutako anisotropia efektiboaren balioak tenperatura baxuetan ($K_{effZFC,T=0}$) eta batez besteko diametro magnetikoen (D) eta dispertsioa (σ) ($D_{ZFC\pm\sigma}$) eta $\langle T_B \rangle$ batez besteko blokeo-tenperatura eta $\langle T_B \rangle$ bidez lortutako anisotropia magnetiko efektiboaren konstantea ($K_{eff\langle T_B \rangle}$).

Lagina	$D_{ZFC\pm\sigma}$ (nm)	$K_{effZFC,T=0}$ (kJ/m ³)	$K_{eff\langle T_B \rangle}$ (kJ/m ³)	$\langle T_B \rangle$ (K)
Fe _{2.86} Ga _{0.14} O ₄	7,2±1,1	22,0	25,1	16,3
Fe _{2.73} Ga _{0.27} O ₄	7,5±1,3	28,9	25,4	23,4
Fe _{2.55} Ga _{0.45} O ₄	7,5±2,1	20,1	19,8	18,6
Fe _{2.42} Ga _{0.57} O ₄	9,7±2,0	22,6	20,2	34,4
Fe _{1.95} Ga _{1.05} O ₄	12,3±1,8	14,1	12,7	40,5
Fe _{1.65} Ga _{1.35} O ₄	11,3±3,0	13,1	12,6	41,4

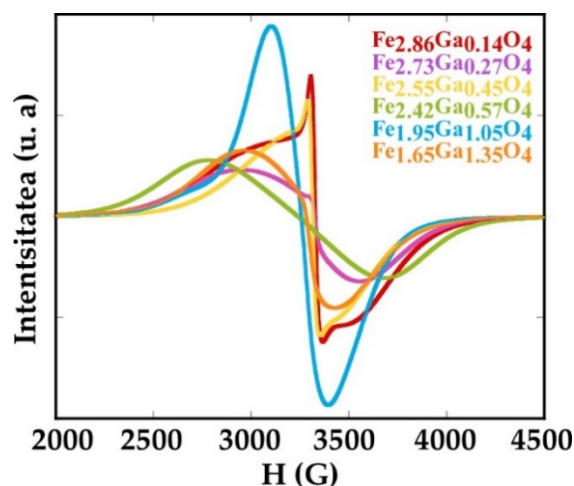


2.14 irudia. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ lagin multzorako 10 Oe eremuaren pean egindako ZFC/FC-ren neurketa esperimentalak (markagailu zirkularrak) ZFC adarraren doikuntzarekin (lerro solidoa). ZFC/FC

$Fe_{3-x}Ga_xO_4$ lagin guztien ZFC adarraren doikuntzak 2.14 irudian aurkezten dira lerro lerro beltz baten bidez. Doikuntza horiek ez dute temperatura baxuko anisotropia-konstantearentzat soilik balio bat ematen, baita nanopartikulen batez besteko diametroa eta honen desbiderapen estandarrak ere (2.10 taula). Modu honetan, temperatura baxuetan kalkulaturako K_{eff} balioek $\langle T_B \rangle$ erabiliz kalkulaturako K_{eff} balioekin bat egiten dute. Ezaugarri honek lehenago aipatu den hipotesiarekin bermatzen du, non nanopartikulak galioaren kontzentrazioa handitu ahala material bigunago bilakatzen direla aipatu den. Gainera, ZFC doikuntzatik abiatuz kalkulaturako D (diametro) eta σ (desbiderakets) balioak akort dira $M(H)$ kurben doikuntzetatik lortutako datuekin (2.14 irudia), baita TEM eta DRX analisietatik lortutako batez besteko dimentsioekin (2.2 taula).

2.15 Erresonantzia Magnetiko Elektronikoa (EME)

Portaera magnetikoari buruzko informazio osagarria lortzeko Erresonantzia Magnetiko Elektronikoen neurketak egin dira. Horretarako nanopartikulen $0.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ dispersioak toluenoan prestatu dira, A.6 eranskinetan azaltzen den bezala. 2.15 irudian $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulen dispersioen espektrora erakusten dira.



2.15 Irudia $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen tolueno dispersioan 9,40 GHz-ko maiztasunean eta giro tenperaturan neurtutako EMR espektrora.

Ikusten den seinalearen anplitudea laginean dauden nanopartikula desberdinen eremu magnetiko erresonanteetako (H_r) diferentzietan erlazionatuta dago. Ondorioz, H_r balio horretan partikulen tamainak, banaketak, formak, egiturak edo konposizio kimikoak eragin handia izan dezake^[81]. Fe_3O_4 nanopartikulez osatutako laginek, tamaina, forma eta konposizio homoginoa dituztenek, espektrora bakarra eta estua aurkezten dute, $g_{eff} = 2.0023$ balioa dutenak. g_{eff} faktorea elektroien momentu angularraren eta honek sortzen duen une magnetikoaren arteko proportzionaltasun konstantea da eta H_r erresonantzia maximoan gertatzen den eremu magnetikoarekin erlazionatua dago 2.2 ekuazioaren bidez. Ezagutzen dugunera arte ez da gailoarekin dopatutako magnetita laginen Erresonantzia Magnetiko Elektronikoren espektrorik topatu, gailoaren eragina nolakoa den ezezaguna izanik.

$$g = \frac{h\nu}{\beta H_r} \quad (2.2)$$

Espektrora aztertuz, beha daiteke bai lerroaren anplitudea bai eta lerro erresonantearen balioa, H_r , magnetita nanopartikula lagin batetik bestera aldatzen dela. Aldaketa hau, barneko espinak eragindako eremu magnetikoarekiko duen lerrokatze-mailarekin zuzenean erlazionatuta dago, hau da, nanopartikulen tamainarekin^[81]. Hau

jakinda, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulen espektroak aztertu dira eta bi espektro mota behatu dira. Alde batetik, $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginek ($x = 0,57, 1,05, 1,35$) $g = 2,07$ inguruan kokatzen diren seinale zabalak eta simetrikoak aurkeztu dituzte. Honekin batera, $Fe_{1,95}Ga_{1,05}O_4$ eta $Fe_{1,65}Ga_{1,35}O_4$ laginek dituzten espektroen banda-zabalera txikiak (ΔH_{pp}), tamaina txikiko nanopartikulen banaketa homogeneousaren adierazleak dira. Honek, lagin hauen kasuan TEM bidez lortutako tamaina-banaketa estuarekin bat egiten du (2.11 irudia), $Fe_{1,95}Ga_{1,05}O_4$ konposizioaren kasuan nabarmena izanik. $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak, $H_{r_{min}} = 2766$ Oe eta $H_{r_{max}} = 3700$ Oe arteko eremu erresonanteak erakusten ditu, tamaina ezberdineko nanopartikulen espinen lerrokadura etengabekoa adierazten duena (2.15 irudia).

Bestalde, beste laginen ($Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ eta $Fe_{2,55}Ga_{0,45}O_4$), espektroetan, $g = 2.02$ an zentratuta dauden arren eta oso zabalak ez badira ere, osagai bat baino gehiago ikus daiteke. Espektroek bi kontribuzio desberdin aurkeztu dituzte: bata fina eta estua eta bestea zabalagoa. Alde batetik, aipatutako seinale fin hau, beti eremu txikietan (~ 1120 G) dagoen beste seinale fin batekin agertzen ohi da, seinale debekatu deritzona^[82,83]. Eginkizun honek laginak oso homogeneousak ez direla adierazten du. $H_r = 3300$ Oe-ko eremuan agertzen den tontor txikia, tamaina oso txikiko (4 nm) nanopartikulen populazio txiki baten adierazlea da, laginen TEM irudi batzuetan ikus daitekeena^[84].

Honekin batera, aipatu beharra dago nanopartikulen tamaina banaketak eta morfologia desberdintasunak, lortutako EMR seinaleen eremu erresonanteetan eragina izan lezakela, laginetan galio-eduki desberdina izateagatik ikusiko liratekeen efektuetan inferi dezakeena.

Dena den, lagin hauen artean, galio kontzentrazioa igo egin ahala, g_{eff} balioak (2.11 taula) 2,018-tik 2,072-ra gora egiten duela ikus daiteke. Nahiz eta aldaketa txikia dirudien, faktore honen handipena, magnetitaren alderantzizko espina egituraren galioa sartzen ari denaren seinalea ere izan daiteke.

2.11 taula. $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginen g_{eff} balioa eta TEM bidez kalkulaturako diametroak.

Lagina	D_{TEM}	g_{eff}
$Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$	6,8(1)	2,018
$Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$	9,1(2)	2,023
$Fe_{2,55}Ga_{0,45}O_4$	8,9(5)	2,029
$Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$	9,8(2)	2,072
$Fe_{1,95}Ga_{1,05}O_4$	7,8(1)	2,063
$Fe_{1,65}Ga_{1,35}O_4$	8,7(1)	2,046

Lehenago aipatu den bezala, galioa magnetita egitura sartzean Fe^{+3} eta Fe^{+2} ioien arteko erlazioa eta kopurua aldatzen ditu, egitura barneko ioien ordenamendua aldatuz. Honekin batera, alderantzizko egituraren inbertsio gradua ere alda daiteke. Egituraren aldaketa hauek eragin zuzena izango du ioi bakoitzaren portaeran, kasu honetan lortutako seinalearen espektroan eragin zuzena izango duena. Modu honetan, Fe^{+2} ioiaren presentzia Fe^{+3} ioiarena baino handiagoa bada, g_{eff} balioaren handipena ere eragin dezake.

2.8 Aplikazio biomedikoak

$Fe_{3-x}Ga_xO_4$ ren nanopartikulen azterketa fisiko-kimiko xehatuaren ondoren, laginen izan dezaketen potentzial biomedikoa eztabaidatuko da.

2.8.1.1 $Fe_{3-x}Ga_xO_4@PMAO$ konposizioen zitotoxizitatea.

Sarreran aipatu bezala, nanopartikula magnetikoak aplikazio biomediko anitzetan erabili dira. Baina sistema hauen eraginkortasuna frogatzeko, ezinbestekoa da nanosistemek ingurune biologikoetan duten biobateragarritasuna eta egonkortasuna frogatzea. Hori dela eta, prestatutako nanopartikulak RMI-n kontraste-eragile gisa erabili ahal izateko, funtsezkoa da nanosistema hauen konposizioa, tamaina, gainazaleko estalkiagatik zein erabilitako dosiagatik duten toxikotasun potentziala aztertzea^[85,86].

Hein honetan, prestatutako galiozko ferriten biobateragarritasuna aztertu da. Izan ere, burdina(III) oxidoz osatutako nanopartikulek, teoriarik, zitotoxizitate txikia aurkezten dute^[87]. Baina toxizitate hau nanopartikulen konposizioaren arabera aldatzen da. Adibidez, S. Moise eta lagunek zinkarekin eta kobaltoarekin dopatutako magnetitak aztertu zituzten, lagin bakoitzaren 500 μM -eko kontzentrazioa zuen disoluzioa erabiliz^[88]. Horretan, nanomaterialetan kobaltoaren ordezkapena gero eta handiagoa zenean nanomaterialek toxizitate maila altuagoa ($Fe_{2,6}Co_{0,4}O_4$, $Fe_{2,3}Co_{0,7}O_4$ eta Fe_2CoO_4)

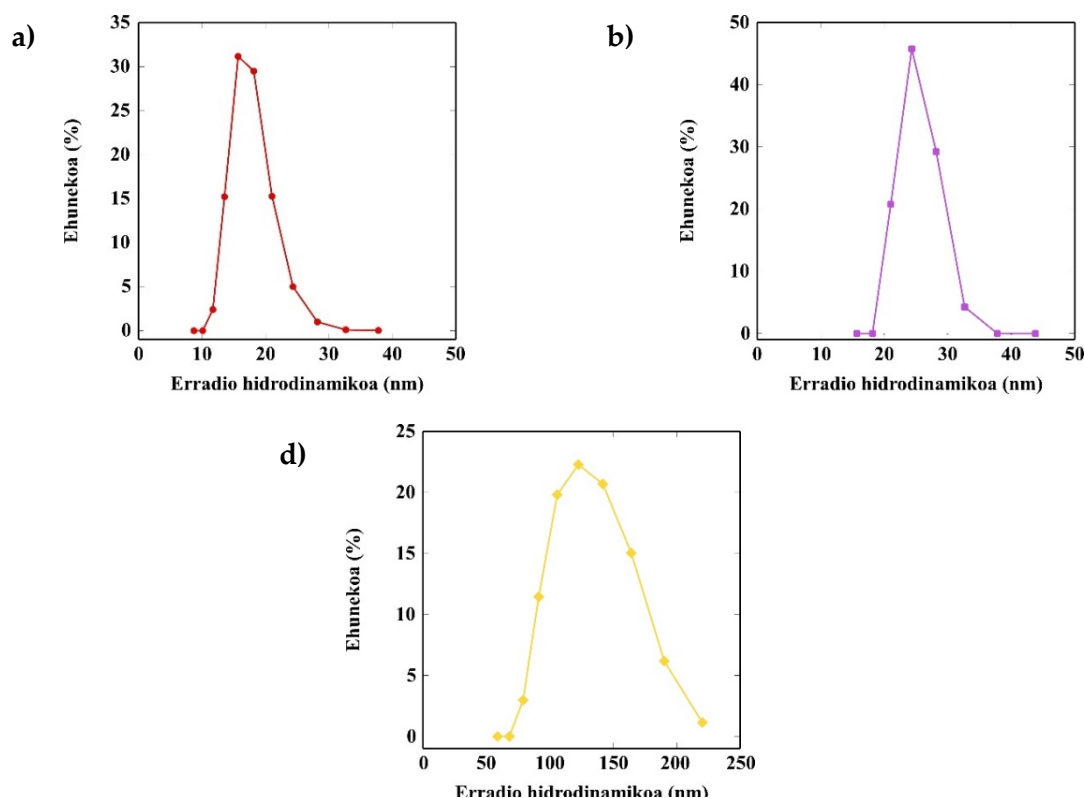
aurkezten zutela ikusi zen, zelulen bideragarritasuna %95-etik %70-ra jaitsiz. Esperimentu bera zinkarekin dopatutako laginekin errepikatu zuten eta zink kantitate txikiena zuten bi laginek ($Fe_{2,6}Zn_{0,4}O_4$ eta $Fe_{2,4}Zn_{0,6}O_4$) kobalto gutxien zuen laginaren toxizitate berdina aurkeztu zuten (%95-eko bideragarritasuna azaleratuz). Honekin batera, zink kontzentrazio handieneko lagina ($Fe_{2,1}Zn_{0,9}O_4$) toxikoa zela ondorioztatu zen.

Zinkaren zitotoxizitatea C. Lacovita eta lagunek ere egiaztatu zuten. Horretarako, $ZnFe_2O_4$ nanopartikulen $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ eta $0,2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ disoluzioak erabili zituzten zelula desberdinekin 24h-ko MTT entsegua burutzeko. Kasu honetan, erabilitako zelula gehienetan $0,1$ eta $0,2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ disoluzioek toxizitatea aurkeztu zuten, zelulen %10 eta %56 bitarteko zelulen heriotza gertatuz. Honekin batera C. Lacovita eta lagunek manganesoarekin dopatutako ferriten toxikotasuna frogatu zuten zinkarekin erabilitako saikuntza-parametro berdinak erabiliz. Azterketa honi dagokionez, manganesoarekin dopatutako nanopartikulek zinkarekin dopatutakoekin baino toxizitate maila askoz ere txikiagoa aurkeztu zuten, zelulen bideragarritasuna 24 ordu eta gero %98 eta %89 bitartekoa izanik. Honekin batera H. Yin eta lagunek azido oleikoarekin inguratutako eta inguratu gabeko 10 eta 150 nm-ko nikel ferrita nanopartikulak aztertu zituzten $0,2$ - $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ kontzentrazioak erabiliz^[89]. Ikerketan ikusi zen gainazaleko geruzarik gabeko nanopartikulek azido oleikoz inguratutako nanopartikulek baino toxikotasun handiagoa zutela. Zehazki, estalkirik gabeko nanopartikulei dagokienez, kontzentrazioa gora egin ahala nanopartikulen toxizitatea handiagoa zela ikusi zen, kasu guztietan 150 nm-ko nanopartikulen toxizitatea altuagoa izanik. Estalkidun nanopartikulen kasuan, azido oleikoaren geruza bakarradun nanopartikulek zitotoxizitate altuagoa aurkeztu zuten, azido oleikoaren bi geruza zutenekin baino, bien arteko kontzentrazio handienetan %20-ko bideragarritasun desberdintasuna aurkeztuz.

Galiidun nanopartikulei dagokienez, J. Pellico eta lankideek ^{68}Ga isotopoz aberastutako 2 nm-dun burdina(III) oxidozko nanopartikulak prestatu zituzten^[90]. Nanopartikula hauek, irudigintzan erabiltzeko propietate oso egokiak erakutsi bitarte biobateragarritasun altua ere aurkeztu zuten.

Hori ikusita, lan honetan aurkeztutako $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ laginetako batzuk, asetze-magnetizazio balio altuenak dituzten laginak, hain zuzen, poli-(anhidrido maleiko alt-1-octadezenoa) (PMAO) polimeroarekin gaininguratu ziren, ur ingurunean

egonkortzeko helburuarekin. Horrelako gaininguraketen oztopo nagusia estaldura polimerikoekin partikula bakarrak inguratzean datza, aglomeratu egin ohi baitira. Modu honetan, aglomerazio-maila aztertzeko asmoz Argiaren Dispersio Dinamikoaren bidez (ingelesez, *Dynamic Light Scattering*, DLS) tamaina hidrodinamikoak neurtu dira (2.16 irudian).



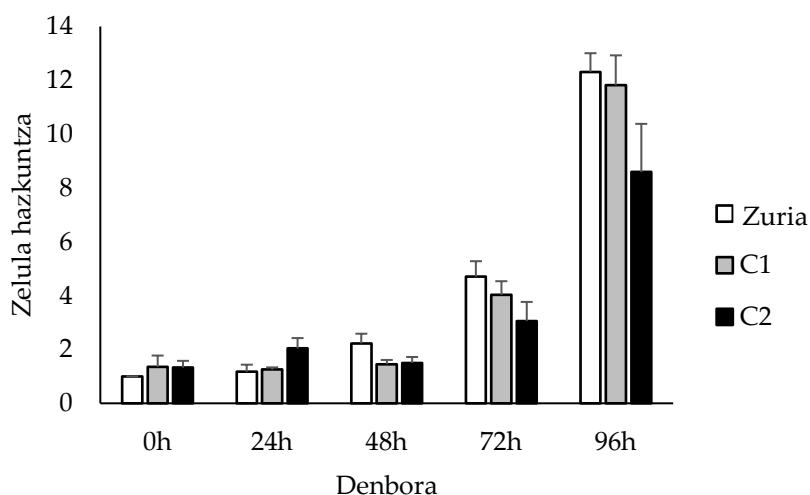
2.16 irudia. PMAO polimeroarekin funtzionalizatutako (a) $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4@PMAO$ (b) $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4 @PMAO$ and (d) $Fe_{2,42}Ga_{0,54}O_4 @PMAO$ nanopartikulen 0.05 mg/lagin/mL-ko dispersioan DLSan neurtutako diametro edo erradio dinamikoak.

Ur ingurunera eraman diren $Fe_{3-x}Ga_xO_4@PMAO$ laginen tamainak neurtzeko, lagin bakoitzeko $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ -ko kontzentrazioa zuten nanopartikula dispersioak prestatu ziren. Lagin horiek Zetasizer NanoS (Malvern) batean neurtu ziren, 25°C -an hiru aldiz, 60 segundoko neurketa-denborarekin (2.16 irudia). Irudian ikusten den bezala, $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$ eta $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginek 15 (2) eta 27 (3) nm inguruko diametroak aurkeztu dituzte, hurrenez hurren, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ laginak 126 (23) nm-koa erakutsi duen bitartean. Balio hauek, ez datoz bat lehenago X izpien difrakzioaren eta mikroskopia elektronikoaren bidez lortutakoekin, nanopartikulak funtzionalizazio-prozesuan aglomeratu direla ondorioztatuz. Aldi berean, lagin hauetarako lortu diren zeta potentzial balio altuak (-39.0 (4.9), -40.7 (5.9) eta -41.8 (8.3) mV) koloideen egonkortasunaren adierazle dira.

Hala eta guztiz ere, ikerketa honetarako $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ @PMAO lagina aukeratu da, galio-eduki nabarmena duelako eta aplikazio biomedikoetarako propietate magnetiko aproposak aurkeztu dituelako.

Horretarako MTT entsegua burutu zen giza kolon eta ondesteko minbiziaren HCT116 (ATCC, *American Type Culture Collection*) zelula-lerroa erabiliz. MTT saiakuntza zelulen jarduera metabolikoa ebaluatzeko esperimentu kolorimetrikoa da^[91]. Saiakera, tetrazolio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio) gatzaren erredukzioaren menpe dago, zelula bideragarrien deshidrogenasa mitokondrialaren bidez burutzen dena kolore urdineko produktu bat sortzeko. Zenbat eta kolore intentsitate handiagoa sortu, orduan eta zelulen bideragarritasuna handiagoa adierazten du, zelulen metabolismo mekanismoak aktibo jarraitzen duela azalduz. Modu honetan ultramore ikuskorraren bidez neurtutako kolorimetria-intentsitatearen arabera entseguan zehar biziraun duten zelulen ehunekoak ezagutzen da. MTT saiakuntzak aurkezten dituen zehaztasun, azkartasun eta soiltasun erlatiboagatik, oso ohikoa da zitotoxikotasunaren inguruan egiten diren azterlanetan mota honetako frogak egitea. Gainera, denbora jakin batean egin daitezkeen proben kopuru handia dela eta, oso errentagarria da.

Beraz, lehenik eta behin giza kolon eta ondesteko minbiziaren HCT116 (ATCC) zelula-lerroa Dulbecco (DMEM) (Gibco) (FBS %10 eta antibiotikoak, 37 °C-tan eta CO₂ atmosfera %5) ingurune aldatuan hazi ziren. Hazitako zelulak, 96 kikaradun plaketan erein ziren 1000 zelulako dentsitatea erabiliz eta plakan itsasten utzi ziren nanopartikulak gehitu aurretik. Ondoren, kikara bakoitzean 10 μg NP ($C1 = 0,01 \mu\text{gNP}\cdot\text{zelula}^{-1}$) edo 100 μg NP ($C2 = 0,1 \mu\text{gNP}\cdot\text{zelula}^{-1}$) gehitu ziren. Entsegua adierazgarria izan dezan, kontzentrazio bakoitzerako hiru entsegu desberdin era isolatuan egin ziren, hauetako bakoitzarekin batera nanopartikularik gabeko kikara bat ere jarritz kontrol modura. Gainera, saiakuntzak lau denbora tarte desberdinetan burutu ziren (0 eta 96 ordu bitartean). Esperimentu bakoitzaren amaieran, zelulak %4ko paraformaldehidoan finkatu ziren eta %0,1eko kristal-bioletarekin tindatu ziren entsegu kolorimetrikoa burutu ahal izateko. Tindaketaren ondoren, zelulak urarekin garbitu ziren, %10-eko azido azetiko gehitu zen eta xurgapena 590 nm-ra neurtu zen. Modu honetan, 2.17 irudian galio kopuru esanguratsua duten $Fe_{2,42}Ga_{0,54}O_4$ nanopartikulek zelulen bideragarritasuna aztertzen duen zitotoxizitatearen emaitza irudikatu da.



2.17 irudia $Fe_{2.43}Ga_{0.57}O_4@PMAO$ nanopartikula bi kontzentrazio desberdinekin (C1 = 0.01 $\mu\text{gNP}/\text{zelula}$ eta C2 = 0.1 $\mu\text{gNP}/\text{zelula}$) inkubatutako zelulen ugalketa, saiakuntza-denbora desberdinetan. Hazkunde-tasak hazkunde erlatibo gisa adierazi ziren, 0 ordurekin alderatuta. Balioak 3 esperimentu independenteren batezbestekoaren batez bestekoa eta errore estandarra dira.

2.17 irudiak erakusten du $Fe_{2.42}Ga_{0.57}O_4@PMAO$ laginarekin inkubatutako zelulak, kontrolaren abiadura berean hazten direla (nanopartikularik gabeko zelulak kontroltzat hartuta, barra zuriak), alde esanguratsurik gabe. Beraz, ondoriozta daiteke $Fe_{2.43}Ga_{0.57}O_4@PMAO$ formulazioak ez direla toxikoak 0,01-0,1 $\mu\text{gNP}/\text{zelula}$ kontzentrazio-mailan.

2.8.1.2 $Fe_{3-x}Ga_xO_4@PMAO$ laginen lasaikortasuna.

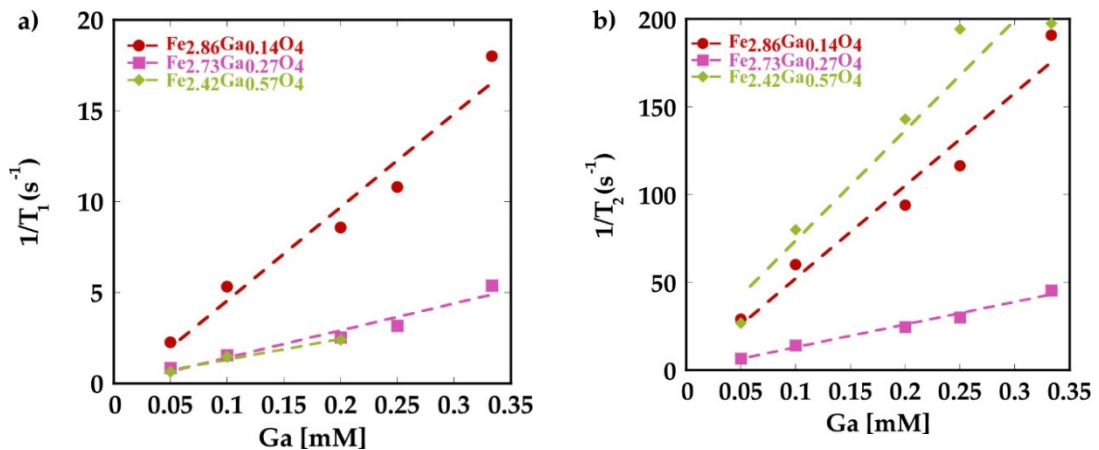
Sarreran aipatu den bezala, nanopartikulen lasaikuntza konposatuen asetze-magnetizazioaren mende dagoela kontuan izanik, magnetizazioaren balio altuenak dituzten konposizioak aukeratu dira IRM entseguak burutzeko. IRM neurketak CIC biomaGUNEen kokatutako Bruker Minispec MQ60 batean burutu ziren, A.8 Eranskinean azaltzen den baldintzetan.

Horrela, PMAO polimeroarekin funtzionalizatutako $Fe_{2.86}Ga_{0.14}O_4@PMAO$, $Fe_{2.73}Ga_{0.27}O_4@PMAO$ eta $Fe_{2.42}Ga_{0.57}O_4@PMAO$ nanopartikulen luzetarako lasaikuntza-denborak (T_1) eta zeharkako lasaikuntza-denborak (T_2) neurtu ziren urezko dispersioen kontzentrazio desberdinetan (0,33, 0,25, 0,2, 0,1, eta 0,05 mM) 37 °C-tara, 1,4 T-ko eremua aplikatuz.

Erresonantzia magnetikoaren kontraste-eragileak inguruko ur-protoien luzetarako eta zeharkako lasaikuntza-denborak (T_1 eta T_2) kanpoko eremu magnetiko baten eraginpean murrizteko gai dira. Lasaigarritasuna lasaikuntza-denboren alderantzizko

balioak definitzen du ($r_{1,2} = 1/T_{1,2}$); beraz, MRI kontraste-eragile eraginkor batek uraren lasaikuntza-abiadurak areagotzen du. Hala ere, efektu hori kontraste-eragilearen kontzentrazioaren araberakoa da, eta parametro gehigarri bat behar da MRI kontraste-eragilearen eraginkortasuna alderatzeko. Luzetarako eta zeharkako lasaigarritasuna, r_1 eta r_2 , honela definitzen dira: uraren lasaikuntza-tasen aldaketa erabilitako kontrastearen kontzentrazioarekin normalizatuta, kasu honetan mM. Luzerako eta zeharkako lasaigarritasun balio hauek 2.18 irudian irudikatu diren galioaren kontzentrazioarekiko $1/T_1$ eta $1/T_2$ balioentzat irudikatutako maldaren bidez kalkulatu dira. Kontraste-eragileak, r_2/r_1 erlazioaren arabera T_1 edo T_2 eragile bezala sailkatu daitezke. r_2/r_1 balio altuak (10 ingurukoa) T_2 efektu dominantea adierazten du eta kontraste ilun bat lortzen da T_2 -an haztatutako irudietan. Bestalde, r_1 balio handia eta r_2/r_1 erlatiboki baxua (1-2 bitarte) duten materialak T_1 kontraste-eragile eraginkorrak izango dira^[92-95].

Beraz, $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4@PMAO$, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4@PMAO$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4@PMAO$ nanopartikulen (T_1) eta (T_2) lasaikuntza-denborak ordezkatu ondoren (2.18 irudia), puntuen doiketa linealatik r_1 eta r_2 lasaigarritasun balioak kalkulatu dira (2.12 taula).



2.18 irudia Luzetarako (a) eta zeharkako (b) erlaxazio-kurbak, $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4@PMAO$, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4@PMAO$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4@PMAO$ laginen galio-kontzentrazioaren mendekoak.

2.12 taula. Lasaigarritasunaren balio esperimentalak 1,4 T-an lortu dira $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4@PMAO$, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4@PMAO$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4@PMAO$ laginetarako.

Lagina	r_1 (mM ⁻¹ s ⁻¹)	r_2 (mM ⁻¹ s ⁻¹)	r_2/ r_1
$Fe_{2,86}Ga_{0,13}O_4$	51	532	10,4
$Fe_{2,73}Ga_{0,26}O_4$	15	131	8,7
$Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$	11	635	55

Aztertutako lagin guztiek r_1 eta r_2 balio nabarmen altuak aurkeztu dituzte, kontrasteko merkataritza-eragileek (AMI-227, SHU-555C komertzialak ($r_1 = 2,9 \text{ mM}^{-1} \text{ S}^{-1}$, $r_2 = 69 \text{ mM}^{-1} \text{ S}^{-1}$)), antzeko tamaina duten beste magnetita nanopartikula batzuk edo galio-ferrita nanopartikulek duten lasikuntza-balioak baino altuagoak^[30]. 2.12 taulan ikus daitekeen moduan, ikerketa honetan lasaikuntza-balio desberdinak lortu dira galio edukiaren arabera. Modu honetan, laginetako bik 10etik gorako r_2/r_1 erlazioak dituzte ($Fe_{2,86}Ga_{0,13}O_4$ eta $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$), eta kontraste-eragile iluntzat hartzen dira. Kontuan izanik r_2 balioak magnetizazioaren, kristaltasunaren, tamainaren eta nanopartikulen agregazioaren mende daudela, $Fe_{2,86}Ga_{0,13}O_4$ laginak giro-tenperaturan aurkezten duen magnetizazio-balio altuak ($85(1) \text{ Am}^2/\text{kg}$) lagin honen r_2 balioa azalduko luke. Bestalde, $Fe_{2,42}Ga_{0,57}O_4$ nanopartikulek ur-dispertsioan duten aglomeratzeko joerak ($126(23)\text{nm}$), laginak aurkezten duen r_2 balio altu hori azaldu dezake^[96].

Lan honetan lortutako balioak azaltzeko, ioi desberdinekin dopatutako ferritak IRM-n aplikatzeko aztertu dira. Alde batetik, nukleo-oskola (ingelesez *core-shell*) egitura duten nikelarekin dopatutako burdina(III) oxidoak prestatu ziren eta aurkeztu zituzten r_1 eta r_2 lasaigarritasun-balioak alderagarriak dira erabiltzen diren kelatu komertzialenekin^[97]. Hala ere, IRM-ra bideratutako materialen ikerketa, nagusiki, manganesoz eta zinkez ordezkaturako burdina oxidoetan oinarritzen da, material hauek aurkezten duten zیتotoxicitate txikiaren ondorioz. Modu honetan, J.A. Petersen eta lankideek argitaratutako berrikuspenean hainbat tamainatako Mn-Zn ferriten magnetizazioa, estaldura eta morfologiak aztertu ziren. Dena den, soilik 18 nm -tik gorako tamaina eta $90 \text{ Am}^2/\text{kg}$ -ko asetasun-magnetizazioa duten $Mn_xFe_{x-0,3}O_4$ nanopartikulek $700 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ etik gorako zeharkako lasaigarritasuna aurkeztu dituzte^[24,96]. Gure kasuan, $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$ lagin biobateragarriak, tamaina txikiagoa eta ordezkaturako katioi kantitate txikiagoarekin, $r_2 = 532 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($1,5 \text{ T}$) balioa aurkeztu du, batez ere oso partikula kristalinoak eta homogeneoak sortzen dituen metodo sintetikoaren kontrol egokia erabiltzearen ondorio zuzena izanik.

Luzetarako lasaigarritasuna hobetzeko ordezkaturako ferriten garapenari buruzko emaitzak urriagoak dira. Duela gutxi, mikrouhin bidezko sintesi bidez kobre kantitatea kontrolatuz magnetitan (%4 moletan), $r_1 = 15,7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($1,5 \text{ T}$) eta $r_2/r_1 = 2,1$ lasaigarritasun-balioak lortu ziren. Egileek diotenez, nukleo magnetikoak estaltzen dituen ligando geruza finak luzetarako lasaigarritasuna hobetzen laguntzen du^[98].

Harira, $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginak PMAO polimeroaz funtzionalizatuta antzeko lasaigarritasun balioak erakutsi ditu, r_1 eta r_2 15 eta 131 $mM^{-1}s^{-1}$ balioak, hurrenez hurren eta $r_2/r_1 = 8,7$ erlazioa aurkeztuz. Balio horiek ere manganesoz ordeztutako ferritetan behatutakoen antzekoak dira^[99]. Beraz, lortutako emaitzek Ga^{3+} -rekin dopatutako ferritazko nanopartikulek T_1/T_2 kontraste-eragile dual gisa erabiltzeko ikerketa eta hobekuntza bidea irekitzen dute.

Nanopartikulen ezaugarriak (beheranzko asetasun-magnetizazioa, tamaina aldakorrek eta konponbideko agregazioa, azaleraren/bolumenaren arteko erlazioa eta gainazaleko katioi paramagnetikoen kantitateak) kontuan hartuta, zeinek nanopartikulekin ur-protroi aldi baterako lotura edo hedapena baldintzatzen duten, zaila da T_1 eta T_2 lasaikuntza hobetzeko azalpen zehatza ematea^[93]. Lortutako emaitzetatik abiatuz, nanopartikulen sintesi eta funtzionalizazio-prozesuak hobetzeko ikerketa sakonagoa burutu beharko litzateke galio(III) ioiak ferrita egituraren duen kokapen zehatza ezagutzeko. Izan ere, honek nanomaterialen propietate magnetikoetan duen eragin zuzena ezagutzuz, kontraste agente gisa erabiltzeko propietateen hobekuntza prozesuan lagunduko bailuke.

Ondorioak

Galioarekin dopatutako magnetitazko sistema nanoegituratuen inguruan burututako lanak, agerian utzi du erabilitako sintesi-metodoak lortutako produktuen propietateetan eragin zuzena duela. Izan ere, deskonposizio termikoaren bidez lortutako nanopartikulak tamaina-dispersio txikia eta kristalinitate altua aurkezten dute. Modu honetan, prestatutako laginek, erabilitako galio kontzentrazioaren arabera, ezaugarri desberdinak aurkeztu dituzte.

Burdina(III) eta Ga(III) azetilazetonato aitzindarien eta oleilamina eta azido oleiko estekatzailen arteko proportzioak egokituz, lortutako nanopartikulen tamainaren eta konposizioaren kontrol nahiko zehatza lortu da, kasu guztietan 10 nm-tik beherako diametroa lortuz. Alde batetik, erabilitako disoluzio maila nanopartikulen tamaina txikiaren erantzule nagusia da. Honekin batera, aitzindari organometalikoaren eta estekatzailen (1:2) arteko proportzioak, nanopartikulen hazkuntza ere mugatu du. Gainera, 1,2-hexadekanodiolen erabilpenak nanopartikulen tamaina-sakabanaketa mugatzera ere lagundu du. Bestalde, sintesia egiterako orduan erabilitako tenperatura-programak nanopartikulen nukleazioa eta hazkuntza modu homogeneoan garatzea ahalbidetu du.

Laginen karakterizazio prozesuan, induktiboki akoplatutako plasmaren igorpen atomikoaren espektroskopia (ICP - AES) funtsezko tresna izan da. Honekin, lagin ezberdinetan zegoen galioaren edukia aztertu da, horren kontzentrazio desberdinek propietate magnetikoetan duten eragina ulertzen lagundu duena.

Ildo horretan, galioaren dopina X izpien difrakzio-tekniken bidez egiaztatzeaz gain, XANESen neurketek Ga^{3+} ioiak espina sarean sartu direla berretsi egin dute. Zehazki, Ga^{3+} eta Fe^{3+} ioiak leku tetraedriko eta oktaedrikoetan kokatzen direla ikusi da. Hala ere, kokapena hutsune tetraedriko eta oktaedrikoen artean ez da konstante mantentzen, baizik eta laginetako galio edukiarekin aldatzen dela, nanopartikulen erantzun magnetikoa argi eta garbi baldintzatzen duena. Horrela, Ga^{3+} eduki moderatua duten konposizioek (%5 edo %10) egokiagoak dira $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ -ren nanopartikulen asetze-magnetizazioa igotzeko. Izan ere, $Fe_{2,86}Ga_{0,14}O_4$ eta $Fe_{2,73}Ga_{0,27}O_4$ laginek magnetitak *bulk* egoeran duen magnetizazio balio oso antzekoa edo altuagoak aurkeztu dituzte (98 Am^2Kg^{-1} 5 K-etan), hau da, 124.57 Am^2Kg^{-1} eta 97.88 Am^2Kg^{-1} 5 K-etan. Horrela, Ga^{3+} hutsune tetraedrikoetan jartzen denean, Fe^{3+} ioien akoplamendu antiferromagnetikoa

desorekatzen dela proposatu da, asetasun magnetikoa areagotzen duena. Horrek esan nahi du galio-kontzentrazioa handitzen den heinean, kokapen jakina lehenesten ez duenez, hutsune oktahedrikoetan kokatzen diren galio ioien banaketa handitu egiten dela, eta ondorioz asetasun-magnetizazioa murriztu egiten dela.

Magnetizazioa versus temperatura neurketetan lortutako ZFC kurben doikuntzetatik bai eta teoria superparamagnetiko erabiliz burututako doikuntzetatik lortutako domeinu magnetiko, ekortze-mikroskopia elektronikoaren bidez lortutako nanopartikula tamainekin bat datoz. Blokeo-tenperaturen aldaketa, tamainaz gain, galioa laginean banatzearekin lotuta egon daiteke. Horrek aplikatutako eremu magnetikoarekin blokeatzeko duen erraztasuna ere agerian utzi du.

Honekin batera, erresonantzia magnetiko elektronikoaren bidez ikusi ahal izan da zeinbait laginek magnetita nanopartikulen oso txikien populazioak zituztela. Horrek, lagin horien g_{eff} balioa 2 tik gertuago egotea eragin du. Nahiz eta laginen arteko desberdintasuna kasu batzuetan nabaria izan den, populazio hori aurkeztu ez duten laginen g_{eff} balioa galioaren kontzentrazioarekin batera aldatzen daiteke. Nahiz eta balio honen kalkulaketan erroreak egon daitezkeen, galioak magnetita egituraren sartzetarako egiten dituen aldaketen ondorio zuzena izan daiteke. Izan ere, galioaren kantitatea handitzerakoan egituraren barne dagoen Fe^{+2} ioien presentzia nabariagoa izan daitekeela, balio hauen gorabeheren erantzule dena.

Honekin batera, PMAO polimeroarekin egindako funtzionalizazioei esker ingurune urtsuetan sakabanagarriak eta egonkorak diren laginak prestatzea ahalbidetu du. Polimero honek nanopartikulei eskeintzen dien biobateragarritasuna dela eta, material mota horiek prozesu biologikoetan aplikatzeari ekiteko aukera aurkeztu dute. Izan ere, konposizio batzuk MRI kontraste negatiboko eragile gisa jokatzen dute, eta r_2/r_1 8,7 erlazio ertaineko $Fe_{2,73}Ga_{0,26}O_4$ sistema, T_1 eta T_2 kontraste dualeko eragile gisa jokatzeke gai izan liteke. Beraz, emaitza hauek ikusita, ondoriozta daiteke $Fe_{3-x}Ga_xO_4$ nanopartikulak biomedikuntzarako biomaterial aproposak izan daitezkeela.

Laburbilduz, frogatu da galioarekin dopatutako magnetitazko material nanoegituratuak erresonantzia magnetiko irudigintzan kontraste-agente gisa etorkizun oparoa izan dezaketela. Erabilitako sintesi prozesuen kontrololak, lortutako materialen

propietateetan eragin zuzena du, gerora, nanopartikulak erabili nahi den aplikazioan eragin zuzena izango duena.

Bibliografia

- 1 Ray H. Hashemi, William G. Bradley, C. J. L. *MRI: The Basics*. (2012).
- 2 Roberts, D. C. *et al.* MRI magnetic field stimulates rotational sensors of the brain. *Curr. Biol.* **21**, 1635–1640 (2011).
- 3 Geraldes, C. F. G. C. & Laurent, S. Classification and basic properties of contrast agents for magnetic resonance imaging. *Contrast Media and Molecular Imaging* vol. 4 1–23 (2009).
- 4 Aaron, A. J., Bumb, A. & Brechbiel, M. W. Macromolecules, dendrimers, and nanomaterials in magnetic resonance imaging: The interplay between size, function, and pharmacokinetics. *Chem. Rev.* **110**, 2921–2959 (2010).
- 5 .Dalong Ni, Wenbo Bu, B. Ehlerding, E., Weibo Cai & Jianlin Shi. Engineering of inorganic nanoparticles as magnetic resonance imaging contrast agents. *Chem. Soc. Rev.* **46**, 7438–7468 (2017).
- 6 Kanal, E. Gadolinium based contrast agents (GBCA): Safety overview after 3 decades of clinical experience. *Magn. Reson. Imaging* **34**, 1341–1345 (2016).
- 7 Na, H. Bin, Song, I. C. & Hyeon, T. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. *Adv. Mater.* **21**, 2133–2148 (2009).
- 8 Ali, L. M. A. *et al.* Polymer-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles as T2 contrast agent for MRI and their uptake in liver. *Futur. Sci. OA* **5**, (2019).
- 9 Xie, W. *et al.* Review Shape-, size-and structure-controlled synthesis and biocompatibility of iron oxide nanoparticles for magnetic theranostics. *Theranostics* **8**, 3284–3307 (2018).
- 10 Johnson, N. J. J., Oakden, W., Stanis, G. J., Scott Prosser, R. & Van Veggel, F. C. J. M. Size-tunable, ultrasmall NaGdF₄ nanoparticles: Insights into their T1 MRI contrast enhancement. *Chem. Mater.* **23**, 3714–3722 (2011).
- 11 Kellar, K. E. *et al.* ‘NC100150’, a preparation of iron oxide nanoparticles ideal for positive-contrast MR angiography. *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.* 1999 **83** **8**, 207–213 (1999).
- 12 Park, J. *et al.* One-Nanometer-Scale Size-Controlled Synthesis of Monodisperse Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Angew. Chemie* **117**, 2932–2937 (2005).
- 13 Young-wook Jun, † *et al.* Nanoscale Size Effect of Magnetic Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 5732–5733 (2005).
- 14 Lee, J.-H. *et al.* Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging. *Nat. Med.* 2006 **131** **13**, 95–99 (2006).
- 15 árcena, C. *et al.* Zinc ferrite nanoparticles as MRI contrast agents. *Chem. Commun.* **0**, 2224–2226 (2008).
- 16 Sutunkova, M. P. *et al.* Toxic effects of low-level long-term inhalation exposures of rats to nickel oxide nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 1778 (2019).
- 17 Chen, F. *et al.* Hydrothermal synthesis of a highly sensitive T2-weighted MRI contrast agent: Zinc-doped superparamagnetic iron oxide nanocrystals. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **11**, 10438–10443 (2011).
- 18 Galarreta, I., Insausti, M., de Muro, I. G., de Larramendi, I. R. & Lezama, L. Exploring reaction conditions to improve the magnetic response of cobalt-doped ferrite nanoparticles. *Nanomaterials* **8**, 63 (2018).
- 19 Gallardo Amores, J. M. *et al.* Solid state chemistry of Fe-Ga mixed oxides. *J. Mater. Chem.* **11**, 3234–3240 (2001).
- 20 Anzai, Y. *et al.* Evaluation of neck and body metastases to nodes with ferumoxtran 10-enhanced MR imaging: Phase III safety and efficacy study. *Radiology* **228**, 777–788 (2003).
- 21 Lin, B. *et al.* Redirecting immunity: Via covalently incorporated immunogenic sialic acid on

- the tumor cell surface. *Chem. Sci.* **7**, 3737–3741 (2016).
- 22 Zhao, Z. *et al.* Surface manganese substitution in magnetite nanocrystals enhances: T1 contrast ability by increasing electron spin relaxation. *J. Mater. Chem. B* **6**, 401–413 (2018).
 - 23 Mazarío, E. *et al.* High specific absorption rate and transverse relaxivity effects in manganese ferrite nanoparticles obtained by an electrochemical route. *J. Phys. Chem. C* **119**, 6828–6834 (2015).
 - 24 Yang, L. *et al.* Europium-engineered iron oxide nanocubes with high T1 and T2 contrast abilities for MRI in living subjects. *Nanoscale* **7**, 6843–6850 (2015).
 - 25 Yang, L. *et al.* Composition Tunable Manganese Ferrite Nanoparticles for Optimized T2 Contrast Ability. *Chem. Mater.* **29**, 3038–3047 (2017).
 - 26 Madru, R. *et al.* (68)Ga-labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for multi-modality PET/MR/Cherenkov luminescence imaging of sentinel lymph nodes. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **4**, 60–9 (2013).
 - 27 Lahooti, A. *et al.* PEGylated superparamagnetic iron oxide nanoparticles labeled with 68 Ga as a PET/MRI contrast agent: a biodistribution study. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **311**,.
 - 28 Pellico, J. *et al.* In vivo imaging of lung inflammation with neutrophil-specific 68Ga nano-radiotracer. *Sci. Rep.* **7**, 1–10 (2017).
 - 29 Evertsson, M. *et al.* Combined Magnetomotive ultrasound, PET/CT, and MR imaging of 68Ga-labelled superparamagnetic iron oxide nanoparticles in rat sentinel lymph nodes in vivo. *Sci. Rep.* **7**, 1–9 (2017).
 - 30 Huang, C. C., Su, C. H., Liao, M. Y. & Yeh, C. S. Magneto-optical FeGa₂O₄ nanoparticles as dual-modality high contrast efficacy T2 imaging and cathodoluminescent agents. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 6331–6334 (2009).
 - 31 Sánchez, J. *et al.* Sol-gel synthesis of Mn_xGa_{1-x}Fe₂O₄ nanoparticles as candidates for hyperthermia treatment. *Ceram. Int.* **42**, 13755–13760 (2016).
 - 32 Warrell, R. P. *Skeletal Complications of Malignancy Gallium Nitrate for the Treatment of Bone Metastases*. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19971015)80:8.
 - 33 Enyedy, É. A. *et al.* Comparative solution equilibrium studies of anticancer gallium(III) complexes of 8-hydroxyquinoline and hydroxy(thio)pyrone ligands. *J. Inorg. Biochem.* **117**, 189–197 (2012).
 - 34 Gamari-Seale, H. & Papamantellos, P. A Neutron Diffraction Study on Gallium-Substituted Magnetite. *Phys. status solidi* **29**, 323–331 (1968).
 - 35 Ghose, J., Hallam, G. C. & Read, D. A. A magnetic study of FeGa₂O₄. *J. Phys. C Solid State Phys.* **10**, 1051 (1977).
 - 36 Pool, V. L., Klem, M. T., Chorney, C. L., Arenholz, E. A. & Idzerda, Y. U. Enhanced magnetism of Fe₃O₄ nanoparticles with Ga doping. in *Journal of Applied Physics* vol. 109 7–529 (American Institute of PhysicsAIP, 2011).
 - 37 Ghose, J. Effect of Fe³⁺ incorporation on the Fe²⁺ clustering in FeGa₂O₄. *J. Solid State Chem.* **79**, 189–193 (1989).
 - 38 Lyubutin, I. S. *et al.* Magnetic properties and charge transfer transition induced by Jahn-Teller effect in FeGa₂O₄ nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **120**, 25596–25603 (2016).
 - 39 Lyubutin, I. S. *et al.* Structural, magnetic and electronic properties of Fe¹⁺: XGa_{2-x}O₄ nanoparticles synthesized by the combustion method. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 22276–22285 (2016).
 - 40 Huang, C. C., Yeh, C. S. & Ho, C. J. Laser Ablation Synthesis of Spindle-like Gallium Oxide Hydroxide Nanoparticles with the Presence of Cationic Cetyltrimethylammonium Bromide. *J. Phys. Chem. B* **108**, 4940–4945 (2004).
 - 41 Lin, C. A. J. *et al.* Design of an amphiphilic polymer for nanoparticle coating and

- functionalization. *Small* **4**, 334–341 (2008).
- 42 Naidek, K. P. *et al.* Structure and morphology of spinel MFe_2O_4 ($M = Fe, Co, Ni$) nanoparticles chemically synthesized from heterometallic complexes. *J. Colloid Interface Sci.* **358**, 39–46 (2011).
 - 43 Huang, J. H. *et al.* Investigation of the growth mechanism of iron oxide nanoparticles via a seed-mediated method and its cytotoxicity studies. *J. Phys. Chem. C* **112**, 15684–15690 (2008).
 - 44 Ayyappan, S. *et al.* Effect of initial particle size on phase transformation temperature of surfactant capped Fe_3O_4 nanoparticles. *J. Appl. Phys.* **109**, 084303 (2011).
 - 45 V. Mameli *et al.* Studying the effect of Zn-substitution on the magnetic and hyperthermic properties of cobalt ferrite nanoparticles. *Nanoscale* **8**, 10124–10137 (2016).
 - 46 Ayyappan, S., Panneerselvam, G., Antony, M. P. & Philip, J. High temperature stability of surfactant capped $CoFe_2O_4$ nanoparticles. *Mater. Chem. Phys.* **130**, 1300–1306 (2011).
 - 47 Rudolph, M., Erler, J. & Peuker, U. A. A TGA-FTIR perspective of fatty acid adsorbed on magnetite nanoparticles- Decomposition steps and magnetite reduction. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **397**, 16–23 (2012).
 - 48 Rodríguez-Carvajal, J. Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction. *Phys. B Condens. Matter* **192**, 55–69 (1993).
 - 49 Borrego, J. M., Blázquez, J. S., Conde, C. F., Conde, A. & Roth, S. Structural ordering and magnetic properties of arc-melted FeGa alloys. *Intermetallics* **15**, 193–200 (2007).
 - 50 Patterson, A. L. The scherrer formula for X-ray particle size determination. *Phys. Rev.* **56**, 978–982 (1939).
 - 51 J. G. M. van Berkum, A. C. Vermeulen, R. Delhez, T. H. de K. and E. J. M. Applicabilities of the Warren-Averbach analysis and an alternative analysis for separation of size and strain broadening. *J. Appl. Crystallogr.* **27**, 345–357 (1994).
 - 52 Burnett, D. L. *et al.* Investigation of some new hydro(solvo)thermal synthesis routes to nanostructured mixed-metal oxides. *J. Solid State Chem.* **214**, 30–37 (2014).
 - 53 Singh, J. P. *et al.* Mechanistic insights into the interaction between energetic oxygen ions and nanosized $ZnFe_2O_4$: XAS-XMCD investigations. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 12084–12096 (2018).
 - 54 Failey N. CasaXPS Version 2.2.19, copyright 1999-2003.
 - 55 Fan, X. J. & Li, X. Preparation and magnetic properties of multiwalled carbon nanotubes decorated by Fe_3O_4 nanoparticles. *Xinxing Tan Cailiao/New Carbon Mater.* **27**, 111–116 (2012).
 - 56 Fan, T., Pan, D. & Zhang, H. Study on formation mechanism by monitoring the morphology and structure evolution of nearly monodispersed Fe_3O_4 submicroparticles with controlled particle sizes. *Ind. Eng. Chem. Res.* **50**, 9009–9018 (2011).
 - 57 Corrias, A. *et al.* Identifying spinel phases in nearly monodisperse iron oxide colloidal nanocrystal. *J. Phys. Chem. C* **113**, 18667–18675 (2009).
 - 58 Zhang, L., He, R. & Gu, H. C. Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **253**, 2611–2617 (2006).
 - 59 Wheeler, V. D., Shahin, D. I., Tadjer, M. J. & Eddy, C. R. Band Alignments of Atomic Layer Deposited ZrO_2 and HfO_2 High-k Dielectrics with $(-201) \beta-Ga_2O_3$. *ECS J. Solid State Sci. Technol.* **6**, Q3052–Q3055 (2017).
 - 60 Yamaguchi, H. & Kuramata, A. Stacking faults in $\beta-Ga_2O_3$ crystals observed by X-ray topography. *J. Appl. Cryst* **51**, 1372–1377 (2018).
 - 61 Benfatto, M. & Meneghini, C. A close look into the low energy region of the xas spectra: The xanes region. in *Synchrotron Radiation: Basics, Methods and Applications* 213–240 (Springer Berlin Heidelberg, 2015). doi:10.1007/978-3-642-55315-8_7.
 - 62 M. L. Fdez-Gubieda, A. García-Prieto, J. Alonso, and C. M. X-ray Absorption Fine Structure

- spectroscopy in Fe oxides and oxyhydroxides. in *“Fe oxides: from nature to applications* (ed. Faivre, D.) 397–422 (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2016).
- 63 Castellanos-Rubio, I. *et al.* Shaping up Zn-Doped Magnetite Nanoparticles from Mono- And Bimetallic Oleates- And Impact of Zn Content, Fe Vacancies, and Morphology on Magnetic Hyperthermia Performance. *Chem. Mater.* **33**, 3139–3154 (2021).
- 64 Wilke, M., Farges, F., Petit, P. E., Brown, G. E. & Martin, F. Oxidation state and coordination of Fe in minerals: An Fe K-XANES spectroscopic study. *Am. Mineral.* **86**, 714–730 (2001).
- 65 Venero, D. A. *et al.* Magnetic disorder in diluted Fe_xM_{100-x} granular thin films (M=Au, Ag, Cu; X < 10 at.%). *J. Phys. Condens. Matter* **25**, (2013).
- 66 Prieto, C., Blasco, T., Cambor, M. & Pérez-Pariente, J. Characterization of Ga-substituted zeolite beta by X-ray absorption spectroscopy. *J. Mater. Chem.* **10**, 1383–1387 (2000).
- 67 Porcaro, F. *et al.* Understanding the biomimetic properties of gallium in: *Pseudomonas aeruginosa*: An XAS and XPS study. *Dalt. Trans.* **46**, 7082–7091 (2017).
- 68 Chen, Z., Xu, A., Zhang, Y. & Gu, N. Preparation of NiO and CoO nanoparticles using M₂+oleate (M = Ni, Co) as precursor. *Curr. Appl. Phys.* **10**, 967–970 (2010).
- 69 Lamer, V. K. & Dinigar, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4847–4854 (1950).
- 70 Zeng, F. W., Zhang, D. & Spicer, J. B. Palladium nanoparticle formation processes in fluoropolymers by thermal decomposition of organometallic precursors. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 24389–24398 (2018).
- 71 Liu, J., Bin, Y. & Matsuo, M. Magnetic behavior of Zn-doped Fe₃O₄ nanoparticles estimated in terms of crystal domain size. *J. Phys. Chem. C* **116**, 134–143 (2012).
- 72 Guo, L., Shen, X., Meng, X. & Feng, Y. Effect of Sm³⁺ ions doping on structure and magnetic properties of nanocrystalline NiFe₂O₄ fibers. *J. Alloys Compd.* **490**, 301–306 (2010).
- 73 Modaresi, N. *et al.* Magnetic properties of Zn_xFe_{3-x}O₄ nanoparticles: A competition between the effects of size and Zn doping level. *J. Magn. Magn. Mater.* **482**, 206–218 (2019).
- 74 Coey, J. M. D. Noncollinear Spin Arrangement in Ultrafine Ferrimagnetic Crystallites. *Phys. Rev. Lett.* **27**, 1140 (1971).
- 75 Lasheras, X. *et al.* Mn-Doping level dependence on the magnetic response of Mn_xFe_{3-x}O₄ ferrite nanoparticles. *Dalt. Trans.* **48**, 11480–11491 (2019).
- 76 Stoner, E. C. & Wohlfarth, E. P. A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. A, Math. Phys. Sci.* **240**, 599–642 (1948).
- 77 Knobel, M. *et al.* Superparamagnetism and other magnetic features in granular materials: A review on ideal and real systems. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **8**, 2836–2857 (2008).
- 78 Fiorani, J. L. D. and D. *Magnetic Properties of Fine Particles.* (Elsevier, 1992).
- 79 Bruvera, I. J., Mendoza Zélis, P., Pilar Calatayud, M., Goya, G. F. & Sánchez, F. H. Determination of the blocking temperature of magnetic nanoparticles: The good, the bad, and the ugly. *J. Appl. Phys.* **118**, 184304 (2015).
- 80 Usov, N. A. Numerical simulation of field-cooled and zero field-cooled processes for assembly of superparamagnetic nanoparticles with uniaxial anisotropy. *J. Appl. Phys.* **109**, 23913 (2011).
- 81 Castellanos-Rubio, I. *et al.* Fe₃O₄ nanoparticles prepared by the seeded-growth route for hyperthermia: Electron magnetic resonance as a key tool to evaluate size distribution in magnetic nanoparticles. *Nanoscale* **6**, 7542–7552 (2014).
- 82 Noginova, N., Bates, B. & Atsarkin, V. A. Electron Magnetic Resonance in Magnetic Nanoparticles: Dependence on the Particle Size and Applicability of the Modified Giant Spin Model. *Appl. Magn. Reson.* **47**, 937–947 (2016).
- 83 Yulikov, M. M. & Purtov, P. A. FMR study of superparamagnetic Ni particles with weak and

- strong magnetic anisotropy. *Appl. Magn. Reson.* **29**, 231–249 (2005).
- 84 Gazeau, F. *et al.* Magnetic resonance of ferrite nanoparticles: Evidence of surface effects. *J. Magn. Mater.* **186**, 175–187 (1998).
- 85 Vidal, M. N. P. & Granjeiro, J. M. Cytotoxicity Tests for Evaluating Medical Devices: An Alert for the Development of Biotechnology Health Products. *J. Biomed. Sci. Eng.* **10**, 431–443 (2017).
- 86 Guerrini, L., Alvarez-Puebla, R. A. & Pazos-Perez, N. Surface modifications of nanoparticles for stability in biological fluids. *Materials* vol. 11 (2018).
- 87 Ankamwar, B. *et al.* Biocompatibility of Fe₃O₄ nanoparticles evaluated by in vitro cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells. *Nanotechnology* **21**, (2010).
- 88 Moise, S. *et al.* The cellular magnetic response and biocompatibility of biogenic zinc- and cobalt-doped magnetite nanoparticles. *Sci. Rep.* **7**, 1–11 (2017).
- 89 Yin, H., Too, H. P. & Chow, G. M. The effects of particle size and surface coating on the cytotoxicity of nickel ferrite. *Biomaterials* **26**, 5818–5826 (2005).
- 90 Pellico, J. *et al.* Fast synthesis and bioconjugation of ⁶⁸Ga core-doped extremely small iron oxide nanoparticles for PET/MR imaging. *Contrast Media Mol. Imaging* **11**, 203–210 (2016).
- 91 Stockert, J. C., Horobin, R. W., Colombo, L. L. & Blázquez-Castro, A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochem.* **120**, 159–167 (2018).
- 92 Caravan, P., Ellison, J. J., McMurry, T. J. & Lauffer, R. B. Gadolinium(III) chelates as MRI contrast agents: Structure, dynamics, and applications. *Chem. Rev.* **99**, 2293–2352 (1999).
- 93 Sánchez-Cabezas, S., Montes-Robles, R., Gallo, J., Sancenón, F. & Martínez-Máñez, R. Combining magnetic hyperthermia and dual T₁/T₂ MR imaging using highly versatile iron oxide nanoparticles. *Dalt. Trans.* **48**, 3883–3892 (2019).
- 94 Cardoso, V. F. *et al.* Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Advanced Healthcare Materials* vol. 7 (2018).
- 95 Deepak, F. L. *et al.* A Systematic Study of the Structural and Magnetic Properties of Mn-, Co-, and Ni-Doped Colloidal Magnetite Nanoparticles. (2015) doi:10.1021/acs.jpcc.5b01575.
- 96 Peters, J. A. Relaxivity of manganese ferrite nanoparticles. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **120–121**, 72–94 (2020).
- 97 Shultz, M. D., Calvin, S., Fatouros, P. P., Morrison, S. A. & Carpenter, E. E. Enhanced ferrite nanoparticles as MRI contrast agents. *J. Magn. Mater.* **311**, 464–468 (2007).
- 98 Fernández-Barahona, I. *et al.* Cu-Doped Extremely Small Iron Oxide Nanoparticles with Large Longitudinal Relaxivity: One-Pot Synthesis and in Vivo Targeted Molecular Imaging. *ACS Omega* **4**, 2719–2727 (2019).
- 99 Huang, G. *et al.* Tunable T₁ and T₂ contrast abilities of manganese-engineered iron oxide nanoparticles through size control. *Nanoscale* **6**, 10404–10412 (2014).

Chapter 3: Fe₃O₄ nanoparticles

3.1 Introduction

In previous chapters, iron oxide nanoparticles doped with cobalt(II) and gallium(III) have been presented and the effects of doping on morphology and magnetic properties of the nanoparticles has been analysed. Thus, this chapter will only focus on the Fe₃O₄ phase and its potential applications in novel in vitro and in vivo treatments.

Since the approval by the FDA (Food and Drug Administration) of magnetite (Fe₃O₄) and maghemite (γ -Fe₂O₃) as magnetic materials for use in human medical therapies, the scientific community has become interested in exploring new synthesis routes and expanding the range of applications^[1]. In this chapter, following the same dynamic as in the previous ones, the Fe₃O₄ nanoparticles have been synthesized by thermal decomposition of organometallic precursors. With the aim to apply iron(III) oxide nanoparticles in biomedical applications two main synthesis methods have been followed: seed-grow method and decomposition of iron(III) oleates. On the one hand, the nanoparticles obtained by seed growth method have been functionalized with positively charged ligands. Then, these nanoparticles have been deposited on Embozene TANDEM™ embolization microspheres (CeloNova BioSciences) used for drug embolization treatments. On the other hand, magnetite nanoparticles synthesized by decomposition of iron(III) oleates, larger and with better magnetic properties than those obtained by growing seeds, have been functionalized with drugs derived from selenium with potential applications in different types of cancer^[2,3]. The principal objective of these strategies is to provide to magnetic nanoparticles further versatility in order to be applied as multifunctional materials.

Embozene TANDEM™ microspheres have been chosen because of its embolic ability and are composed of a hydrogel inside and are biocompatible and non-absorbable coating of a perfluorinated inorganic polymer, poly [bis-(trifluoroethoxy)-phosphazene], named as Polyzene®-F. This nanosized coating on the surface of hydrogels has demonstrated thrombus resistance, anti-inflammatory and rapid healing effects in preclinical studies^[4]. Embozene TANDEM™ microspheres are drug-releasing microspheres currently used in transarterial chemoembolization therapies, a kind of intraarterial catheter-based chemotherapy that selectively delivers high doses of

cytotoxic drug to the tumour bed^[5]. In these sense, if magnetic nanoparticles are deposited in the surface of these microspheres, this microsystem could also act as hyperthermia inducing agent due to the heating capacity that magnetic nanoparticles have^[6,7]. In this way, a multifunctional drug transporter microsystem is designed that can act as a hyperthermia inducing agent in the target area.

Nowadays, these multifunctional systems are being investigated for their use in arterial embolization hyperthermia (AEH). This technique is based on the combination of traditional transcatheter embolization and magnetic hyperthermia induction^[8,9]. Transcatheter embolization involves the placement of drugs or synthetic materials called “embolic agents” through a catheter into a blood vessel to block blood flow to an area of the body^[10,11]. As it was explained in the introduction of this manuscript, magnetic hyperthermia (MH) is related to the heating of a part of the body using magnetic nanoparticles in order to increase the temperature in a localized area^[12,13]. Both of these techniques independently, have already demonstrated the capacity of reduce some tumour size generating partial necrosis of the tumour by blood supply or heating efficiency^[14-17].

The first clinical trial of AEH, performed using radio frequency hyperthermia, was developed in 1996 at the Russian Research Centre of Radiology and Surgical Technologies (St Petersburg), by employing silicone microspheres with iron carbonyl (Ferrocomposite®) inside^[18]. Although promising results were obtained, the used heating method was associated with the overheating of the healthy tissues, which could evolve serious secondary health effects in the patients^[19]. For that reason, some authors avoided this problem using magnetic hyperthermia. For example, P. Moroz et al., demonstrated that after hepatic arterial embolization of 100-200 nm maghemite nanoparticles suspended in Lipidol (Lipidol Ultra Fluid, Guerbet, France) flow-directed contrast agent and using 53 kHz and 30-45 kA/m MH treatment, could reduce almost 94% of the rabbit liver tumour volume depending on the particle concentration and their distribution^[20]. Other authors like P.E.L Renard et al. used an organogel containing silica microbeads filled with magnetic iron(III) oxide nanoparticles (Onyx®), obtaining a 78% of tumour necrosis at 20 min MH treatment at 141 kHz and high intensity magnetic field (12 mT). Although these last results seem promising, the use of high fields results in a high temperature increasement (greater than 45 degrees) in the tumour area, which

creates a thermal ablation and can generate secondary damage in healthy tissues adjacent to the tumours^[21]. In this sense, the creation of a multifunctional agent which could improve the efficiency previous explained AEH is required.

In order to produce this multifunctional agent, iron(III) oxide nanoparticles were synthesised by seed grow synthesis method. Taking advantage of the fact that the Embozene TANDEM™ microspheres have a negative surface charge, the obtained nanoparticles were functionalised with positive ligands to attach them on the microsphere surface by electrostatic interactions.

Nanocarriers for drugs against colon cancer and leishmaniasis were also synthesized. In recent years, much effort has gone into developing drug delivery systems to overcome the limitations of conventional carriers^[22]. Among other advantages, nanoparticles can be designed to have unique physical properties and can be functionalised with several different molecules, allowing the design of a specific system for each type of treatment and disease. Consequently, this customised design can effectively minimise systemic exposure to excessive amounts of drug and, consequently, the occurrence of adverse side effects^[22-24].

Leishmaniasis is a deadly tropical disease caused by different species of protozoa belonging to the genus *Leishmania*. It is transmitted to humans by the bite of the female phlebotomine and is endemic in 98 countries^[25]. At the same time, according to data from the Spanish Ministry of Health, in the last five years colorectal cancer is the third most detected type of cancer and caused 14.2% of cancer deaths in men and 15.1% in women^[26]. These reasons reinforce the urgent need for new treatments and new targets to be explored to treat those diseases. Thus, a group of Researcher from the Department of Pharmaceutical Chemistry and Technology department of the University of Navarra proposes the use of selenium compounds as new drugs for the treatment of these diseases^[2,27-29].

In order to create a more effective system for the treatment of both diseases, the molecules represented in the following Figure 3.1 were used to prepare two specific copolymer ligands to functionalise magnetic nanoparticles.

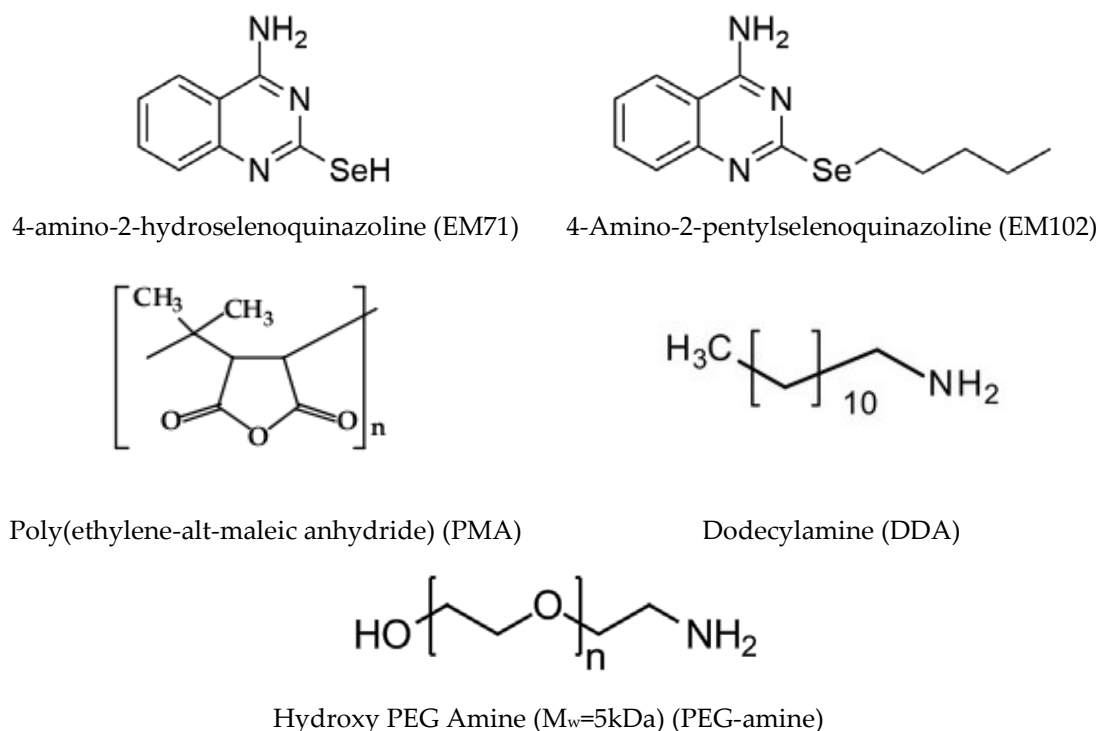


Figure 3.1. Molecular structure of used compounds to synthesize nanocarriers.

In this time iron(III) oleate thermal decomposition method was used to obtain iron(III) oxide nanoparticles. Since nanoparticles obtained by thermal decomposition are hydrophobic, their functionalization with hydrophilic and biocompatible polymers is necessary. In order to develop these nanosystems functionalized with biomolecules for oncological treatments, the poly(ethylene-alt-maleic anhydride) (PMA) polymer was employed, a biocompatible polymer widely used in this area^[30–32]. This copolymer is formed from alternating up and down maleic anhydride rings connected by butylene residues (Figure 3.1). The anhydrous rings in the monomer react spontaneously with the amino-compounds, resulting in an amide bond and other free carboxylic acid^[33]. Taking advantage of this, PMA was conjugated with 4-amino-2-hydroselenoquinazoline (EM71) and 4-amino-2-pentylselenoquinazoline (EM102) drugs to design a new drug carrier. In addition to this, dodecylamine (DDA) molecules were added to allow the functionalization of hydrophobic nanoparticles^[34]. Furthermore, with the aim of lengthening the lifetime in the bloodstream and improving the dispersion of nanosystems in biological media, polyethylene glycol (PEG) (Figure 3.1) molecules have been incorporated on the surface of the nanoparticle^[35,36].

In this sense, this chapter presents the two explored synthetic routes to obtain iron(III) oxide nanoparticles of different sizes: seed growth method and the thermal

decomposition of iron(III) oleates. Along with this, the different functionalisation developed for each material will be presented. In the case of the nanoparticles synthesized to be deposited on the microspheres, a functionalisation with positive ligands has been developed to keep them on the surface of the microspheres by electrostatic interactions. However, the nanoparticles obtained by oleate decomposition, need to be functionalise with a biocompatible polymer in order to be used in biological media. The functionalized nanoparticles which have also been conjugated with molecules for colon cancer and leishmaniasis treatments.

Once both nanosystems were obtained, each one was tested for its possible application. In this way, microspheres decorated with magnetic nanoparticles have been inoculated in mice to verify their toxicity and to determine the functionality of created nanosystem. On the other hand, the surface ligands synthesised from the copolymerisation of PMA with the EM71 and EM102 molecules have been tested by MTT assays to verify their efficacy in colon cancer cell lines.

3.2 Iron(III) oxide nanoparticle synthesis.

The procedure used in the previous chapters is suitable for obtaining doped magnetite nanoparticles with sizes smaller than 11 nm. In this chapter, the main goal is to obtain pure magnetite nanoparticles with larger sizes to apply in magnetic hyperthermia.

In this sense, superparamagnetic iron(III) oxide nanoparticles have been used for magnetic hyperthermia due to their biocompatibility, but they present some limitations that restrict their heating efficiency (specific absorption rate, SAR) such as size, shape, saturation magnetization and anisotropy^[37-39]. Considering the above, as previously mentioned, the seed-grow and the decomposition of iron(III) oleates methods have been used to obtain larger magnetite nanoparticles.

To synthesize magnetite nanoparticles in reproducible conditions, normally synthetic routes in organic media are followed since they allow to separate the nucleation and growth processes, enabling the control of the size, crystallinity and shape of the oxide nanoparticles^[40]. On the one hand, seed-grow method gives rise to nanoparticles with high crystallinity through the controlled growth of previously synthesized nucleus by

different additions^[41]. Although this method has also been used to obtain larger nanoparticles, it is also applied to modify the shape of the obtained nanoparticles. In this way, by growing seeds, not only different nanoparticle sizes can be obtained by the additions made, but also the geometry of the nanoparticles obtained can be modified by varying the ligands used^[42–44].

For the seed-growth mediated synthesis, Fe(CO)₅ was selected as iron precursor due to the high crystallinity of the obtained nanoparticles^[45]. As ligands, oleic acid (OA) and oleylamine (OLA) surfactants were used, which helped to obtaining the desired nanoparticle size, preventing the nanoparticles from agglomerating in their growth stage^[46].

On the other hand, the synthesis by decomposition of iron oleates also allows to obtain nanoparticles of larger size that can be used in magnetic hyperthermia. As in the previous synthetic route, separating the nucleation and growth stage, it is possible to obtain nanoparticles of different sizes, but this time performing a single synthesis^[47,48]. In this case, the morphology of the obtained samples can also be varied by varying the ratio between the iron oleate and the used ligand^[49,50]. In the procedure presented in this chapter a mixture of benzyl ether (BE) and 1-octadecene (ODE) solvents is used. The mixture of these solvents makes possible to increase the reflux temperature and to condition the reaction mechanism, obtaining nanoparticles of different morphology and size^[51,52]. The variation in the ratio between the two solvents generates a fluctuation of the temperature during the reflux time (T_{reflux}). The reflux temperature of synthesis greatly affects the growth of the nanoparticles. To see the effects that this temperature fluctuation causes, different syntheses have been carried out with different mixtures of these two solvents.

By those synthetic methods magnetic nanoparticles surrounded by a layer of hydrophobic ligand molecules are obtained. These molecules adhere reversibly to the surface of the nanoparticle acting as a physical and/or electrostatic barrier that prevents aggregation, limits growth, gives stability to the nanoparticles in dispersion and minimises the reactivity of the atoms on the surface acting as a

barrier against oxidation of the nanoparticles^[53]. This hydrophobic surface can be combined with hydrophilic molecules or coated with amphiphilic polymers to make the nanoparticles soluble in water and biocompatible for biomedical applications^[54].

3.2.1 Seed-grow synthesis route.

The seed-growth method allows to obtain large nanoparticles from the growth of smaller nanoparticles called seeds. In this way, the small nanoparticles are used as a growth nucleus, favouring the growth reaction over the creation of new nuclei, resulting in larger nanoparticles^[55]. Therefore, to achieve a nanoparticle size of around 18 nm, 4 steps had to be carried out: the synthesis of the seeds and their subsequent growth in 3 stages. Taking as reference the article published in the group by I. Castellanos-Rubio et al^[56] different synthesis were carried out.

For a standard synthesis, 25 mL of dibenzylether (5.74 g, 20 mmol) and 1.44 g of 1,2-hexadecanediol (5 mmol, C₁₆H₃₄O₂, HDD) are mixed in a three-necked round-bottom flask with a volume capacity of 250 mL (Figure 3.2), where the coolant, stirrer and temperature controller are located. Then 1.28 mL oleic acid (4 mmol, C₁₈H₃₄O₂, OA) and 2.8 mL oleylamine (6 mmol, C₁₈H₃₇N, OLA) were added. After sealing, the flask was placed under argon flow with constant mechanical stirring with a Teflon paddle.

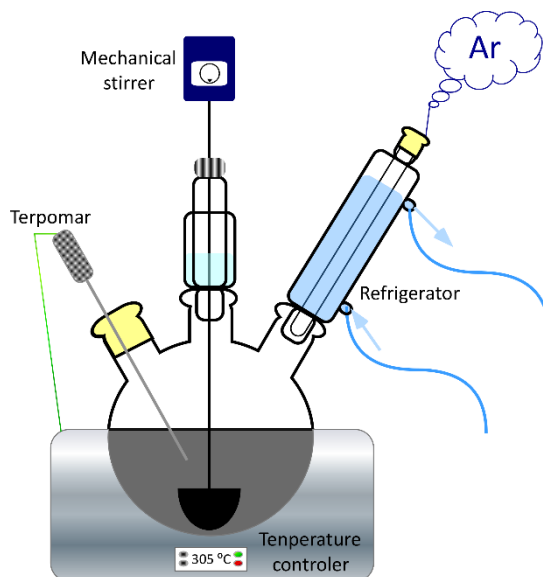


Figure 3.2. Set-up used for thermal decomposition synthesis.

The mixture was heated to 140 °C and 400 µL iron(0) pentacarbonyl (3 mmol, Fe(CO)₅) were added with a previously purged syringe. The mixture was stirred for 30 minutes to favour nucleation of nanoparticles. During the decomposition of Fe(CO)₅, yellowish

vapours were formed and the solution turned to brown. The temperature was then raised to 340 °C and the reflux was maintained for 2 hours, until the solution turned black (injection A1). Then, the reaction was cooled to room temperature without interrupting the mechanical stirring. Taking into account that these nanoparticles were about 8 nm in size, to obtain larger nanoparticles, different amounts of precursor and ligands were added depending on the stage of growth (Table 3.1)^[57]. Thus, the solution with NP seeds was heated again to 140°C and a second injection of 3 mmol of iron(0) pentacarbonyl was performed. After thirty minutes at this temperature, the reaction temperature was increased to 340 °C and 5.45 mmol of oleic acid and 6 mmol of oleylamine were added. After reflux time, the solution was cooled and heated again for the next growth synthesis (Table 3.1). In this way, two more additions were performed, making a total of 4 additions.

Table 3.1. reagents amount used in seed growth synthesis.

Injection	Fe (CO) ₅ (mmol)	Oleylamine (mmol)	Oleic Acid (mmol)	1,2-Hexadecanediol (mmol)
A1	3	6	4	5
A2	3	6	5.45	-
A3	10	6	8.04	-
A4	13	6	9	-

In this way different samples were synthesized being named as Fe₃O₄_S₁, Fe₃O₄_S₂, Fe₃O₄_S₃, Fe₃O₄_S₄ and Fe₃O₄_S₅. Five sample syntheses were carried out using the same number of reagents to investigate the reproducibility of the performed synthetic method.

3.2.2 Metalorganic precursor thermal decomposition.

Previously to the synthesis of the nanoparticles, the iron(III) oleate precursor was prepared based on the procedure published by R. Chen *et al*^[58]. For this purpose, a mixture of 140 mL of hexane (C₆H₁₄), 80 mL of ethanol (C₂H₆O) and 60 mL of distilled water were added to 11.4 g (40 mmol) of iron(III) chloride hexahydrate (FeCl₃ · 6 H₂O) and 36.5 g (120 mmol) of sodium oleate (C₁₈H₃₃NaO₂) in a 500 ml three-necked round-bottom flask, where the refrigerant, the stirrer and the temperature controller were located. These reagents were added in the indicated order and the solution acquired a brown-dark red colour. The reaction mixture was heated up with a heating mantle and kept at ~60 °C and during the whole reaction a nitrogen gas flow passed while the mixture was stirred with a mechanical stirrer. After for 1 hour, the heater was switched off and the solution was allowed to cool down. The formed brown-dark solution product

was taken out of the flask and washed three times with 100 ml of water in a separatory funnel. The synthesis reaction solvents were then evaporated and kept for 21 hours at 110 °C. After this time, the oleate acquired a black-reddish-brown colour.

This iron(III) oleate was used as precursor for the synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles. For the synthesis a mixture of two solvents was employed: 1-octadecene (C₁₈H₃₆, ODE) and benzyl ether ((C₆H₅CH₂)₂O, BE) in different ratio in order to conditionate the reflux time (T_{reflux}) and consequently the size of nanoparticles (Table 3.2.). The procedure used for the preparation of iron oleate(III) and posterior iron(II,III) oxide synthesis was carried out as explained in I. Castellanos-Rubio et al publication^[49].

Table 3.2 Reagents amounts used in the synthesis of nanoparticles starting from the oleates synthesized in the previous section.

Sample	Iron(III) oleate (mmol)	Oleic Acid (mmol)	ODE:BE (mL)	Treflux (°C)
Fe ₃ O ₄ _OL ₁	5	10	12:06	312-302
Fe ₃ O ₄ _OL ₂	5	10	10:05	315-308
Fe ₃ O ₄ _OL ₃	5	10	10:10	304-295
Fe ₃ O ₄ _OL ₄	5	10	12:06	312-297

In this sense, to prepare the Fe₃O₄_OL_n named nanoparticles, the following procedure was used. Firstly, 5 mmol of iron(III) oleate was dissolved in a mixture of organic solvents (Table 3.2) in the presence of oleic acid (10 mmol). The mixture was first heated to 110 °C and maintained at this temperature for 30 min to eliminate the possible water and oxygen present in the reaction system under N₂(g) atmosphere. Then the mixture was heated in 2 steps until 320 °C. Firstly, at 10 °C/min from R.T. to 190°C and, secondly, at 3 °C/min from 190 to 320 °C. The final temperature was kept for 1 hour and then the product was cooled to room temperature. The entire synthesis was carried out under mechanical stirring. The final product was cleaned by centrifugation (20000 rpm) using tetrahydrofuran (THF) and ethanol (EtOH). The obtained precipitate had black colour. The stock solution was dispersed in chloroform (CHCl₃) and stored in the fridge. Thus, by changing the ODE:BE ratio four different synthesis were carried out and the

products were named as Fe₃O₄_OL₁, Fe₃O₄_OL₂, Fe₃O₄_OL₃, and Fe₃O₄_OL₄. The solvent mixture was investigated to analyse its effect on the size, shape and phase properties of the obtained materials.

3.3 Nanoparticle surface functionalization.

3.3.1 Positively charged nanoparticle coating using CTAB

In order to incorporate Fe₃O₄ nanoparticles on the surface of Embozene *TANDEM*TM microspheres, Fe₃O₄_S_n nanoparticles surface modification was carried out with a positively charged ligand. The ligand used for this purpose was the hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) molecule, which presents both hydrophobic and hydrophilic parts, as can be seen in Figure 3.3.

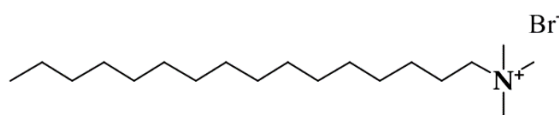


Figure 3.3 CTAB molecule.

To obtain CTAB-functionalised nanoparticles, some authors, such as A. Rajan et al., added the CTAB ligand to the reaction medium after synthesising the nanoparticles by co-precipitation, maintaining the nanoparticles with CTAB in agitation for one hour at 90 °C^[59]. Other authors, like J.A. Ramos et al., transferred nanoparticles in cyclohexane to water by using 9 mL of a CTAB solution (0.1 M) and 2 mL of isopropanol, leaving them in ultrasonic agitation for 3 hours^[60]. In addition, S. Pourmiri et al. used previously synthesised 15 mg of Fe₃O₄ nanoparticles, which were dispersed in chloroform and subsequently mixed with 10 mL of an aqueous solution of CTAB (2 mg·mL⁻¹) and sonicated for 20 minutes to form an emulsion^[61].

In this case, the procedure published by W. J. Parak et al. for the functionalisation of nanoparticles with polymer was followed and modified to obtain CTAB-functionalised nanoparticles^[62]. This CTAB coating should cover the oleic acid and oleylamine ligands surrounding the nanoparticle, creating a second organic layer around the nanoparticles that endows them with a positive charge. This fact is due to the binding of aliphatic chains of the CTAB to the nanoparticles via multi-point bonding. Thus, the quaternary amine, which is hydrophilic, becomes available to the outside (see Figure 3.4)^[60].

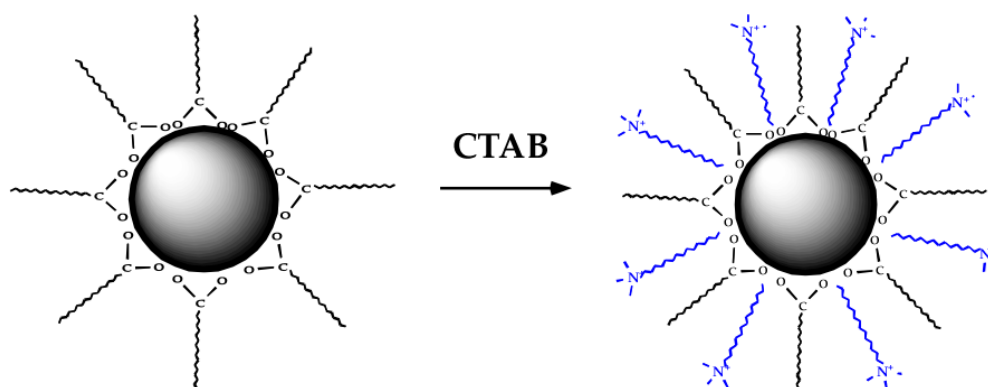


Figure 3.4 Schematic representation of the coating of hydrophobic nanoparticles in aqueous media using CTAB.

According to the followed protocol, 200 monomer units should be added per nm² of surface area. So, to estimate the amount of CTAB for coating, the particle size and the amount of organic matter present in nanoparticles have been considered. The summary of the experimental conditions is included in Table 3.3.

Table 3.3. Summary of the experimental conditions used in each synthesis

Sample	mg NP	mg CTAB	CTAB molecules per NP nm ²	V CHCl ₃ (ml)	V H ₂ O (ml)
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB1	25	722.18	600	200	20
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB2	25	722.18	600	200	20
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB3	5	14.5	60	5	5
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB4	2.5	14.5	120	5	5
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB5	2.5	37.5	300	5	1
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB6	2.5	45	360	5	1
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB7	2.5	53	450	5	1
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB8	5	0.03	1	5	1
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB9	2.6	0.65	5	5	1
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	25	722	600	200	2
Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB11	25	486	400	200	2

In a typical preparation, 25 mg of Fe₃O₄_S₁ nanoparticles dispersed in toluene were dried and redispersed in 1 mL of chloroform. Then, the CTAB solution was prepared by dissolving 722 mg of CTAB in 200 mL chloroform. The solution with the nanoparticles was added to the CTAB solution, which turned blackish brown in colour and was left for 20 minutes in the ultrasound bath. Afterwards, the solvent was evaporated at 40 °C in the rotatory evaporator and afterward, 20 mL of distilled water was poured in. Finally, nanoparticles were dispersed in an ultrasonic cleaner, creating a white-brown soap-like foam. The different synthesis performed are shown in Table 3.3.

To facilitate the incorporation of the CTAB into the nanoparticles, the temperature of the bath was raised to 60 °C and the nanoparticle dispersion was left for 1 hour spinning without vacuum, where the foam gradually disappeared. The sample was then cleaned in the ultracentrifuge. For this purpose, the sample was placed in a 50 mL polycarbonate tube and 30 mL of distilled water were added. Finally, the sample was centrifuged for 1 h at 20000 rpm. This last process was repeated twice to improve the cleanliness of the sample by removing all the leftover CTAB from the functionalisation. Obtained CTAB functionalized samples were named as Fe₃O₄_S₁-CTABX, where X is the number of performed experiment.

3.3.2 EM71 and EM102 drug functionalization of NPs.

In order to study the versatility of Fe₃O₄ nanoparticles as drug carriers for theranostic application in the treatment of colon cancer and leishmania, nanoparticles were properly functionalized with a co-polymer where biomolecule drugs were anchored. This method is based on the combination of PMA (poly(isobutylene-alt-maleic anhydride)) polymer with dodecylamine (DDA) and drugs to produce a co-polymer specifically designed for therapeutic use with the capacity to be used in the functionalization and stabilization of nanoparticles in physiological media (Figure 3.4). The presence of dodecylamine in this system will provide the interaction between the polymer chains and nanoparticle surface ligands creating a hydrophobic multi-point bonding^[33]. In this way, the conjugated drugs will remain on the surface making the system more efficient.

Moreover, to provide greater stability in physiological environments and thus extend their life span in the bloodstream 5 kDa PEG (polyethylene glycol) molecules were used^[35,36]. For this synthesis, the protocol described by Lin et al. was followed^[57]. The following sections explain the protocol followed to obtain the different co-polymers prepared: DDA-modified PMA, this same polymer functionalised with 5% of EM71 or EM102 drugs and further functionalization with PEG molecules.

a) PMA-DDA and PMA-DDA-Drug copolymer synthesis

The PMA polymer is a co-polymer formed from alternating up and down maleic anhydride rings connected by butylene residues. These anhydrous rings present in the monomer react spontaneously with the amino compounds resulting in an amine bond and carboxylic acid (Figure 3.1)[57]. Taking advantage of this reactivity and with the aim of providing the monomer with a hydrophobic chain, 75% of the maleic anhydride monomers of the backbone were modified with dodecylamine, leaving the other 25% intact for the addition of the drugs with selenium EM71 and EM102 (Figure 3.1) and the 5 kDa PEG molecules. All reactions were carried out at room temperature with constant magnetic stirring.

For the synthesis of the first copolymer (PMA-DDA, Table 3.4) 1 g (6.4 mmol) PMA were vigorously mixed with 1.1 mL (4.8 mmol) of dodecylamine in THF solution (20 mL) in the presence of triethylamine (0.8 mL, 1.93 mmol). Thus, the amount of added dodecylamine was enough to react with 75% of the anhydride rings. The cloudy solution became transparent upon heating (80 °C) overnight. After evaporation of the solvent, the resulting polymer was redissolved in anhydrous chloroform obtaining a 0.1M stock solution.

In the case of PMA-DDA-Drug copolymer synthesis, the same procedure was followed, after adding DDA the selenium containing drug EM71 or EM102 was incorporated. Once the solution has the homogeneous colour of the drug, green for EM71 and orange for EM102, the triethylamine was finally included. In this case, the solvent was changed to DMF as it was not possible to obtain a good solubility of the drugs in THF (Table 3.4, Figure 3.5).

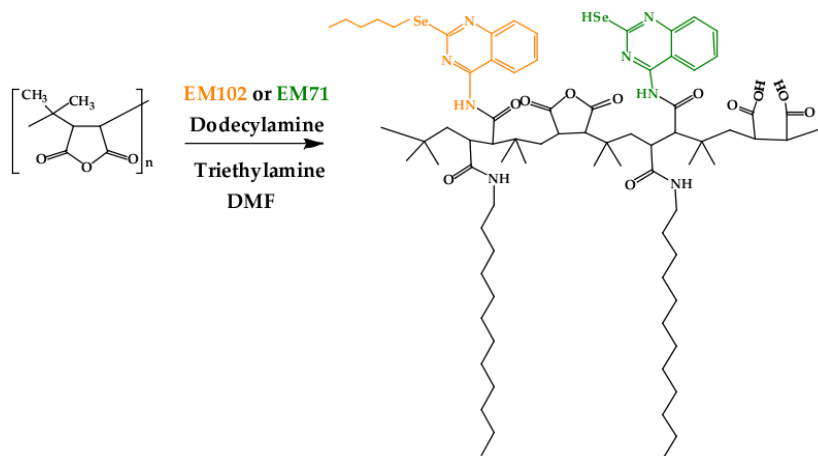


Figure 3.5. Drug functionalization reaction with PMA-DDA copolymer.

Table 3.4. Amounts of reagents used in the preparation of the copolymers.

Sample	PMA (mmol)	DDA (mmol)	Triethylamine (mmol)	Solvent	Solvent (ml)	Drug type	Drug (mmol)
PMA - DDA	6.4	4.8	7.17	THF	20	-	-
PMA - DDA - EM102 (1)	0.676	0.507	0.177	DMF	20	EM102	0.0338
PMA - DDA - EM71 (1)	0.88	0.66	0.264	DMF	20	EM71	0.044
PMA - DDA - EM71 (2)	0.88	0.66	0.88	DMF	20	EM71	0.044
PMA - DDA - EM102 (2)	0.676	0.507	0.676	DMF	20	EM102	0.03

After the characterization of the first samples synthesized, PMA-DDA-EM102(1) and PMA-DDA-EM71 (1), it was observed that the drug conjugation in the synthesized copolymer was very low. Therefore, in order to favour the reaction and to increase the amount of molecules in the polymer, the triethylamine amount was increased^[63].

b) PEG copolymer conjugation.

The conjugation of PEG with other molecules is called PEGylation (Figure 3.6) and favours the duration of nanosystems in cellular media providing a longer time window for therapy^[64].

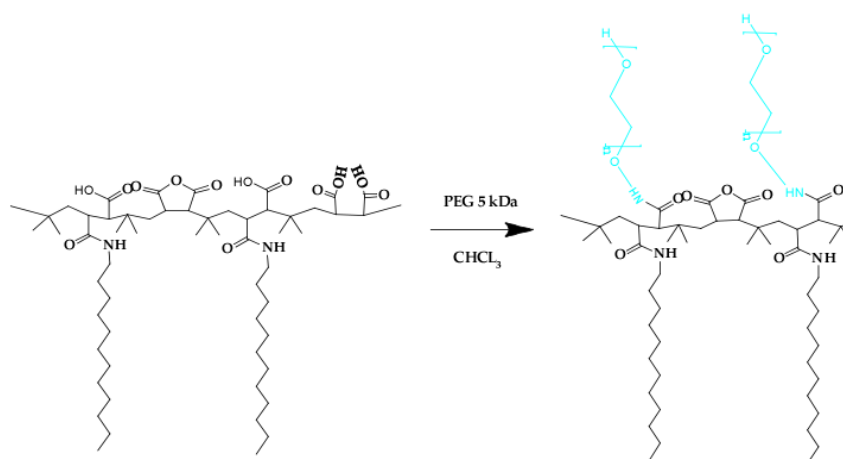


Figure 3.6. PEGylation of PMA - DDA copolymer.

In this context, since two different types of nanoparticles were used and in order to use the optimal amount of PEG for each particle size, three different amounts of PEG were used to prepare the selected copolymers: PMA-DDA-PEG-50%, PMA-DDA-PEG-25% and PMA-DDA-PEG-12.5% (Table 3.5). The numbers 50, 25 and 12.5 indicate the molar ratio between the PMA polymer and PEG. The procedure published by I. Castellanos-Rubio et al., was followed to prepare these co-polymers^[50]. In a typical preparation, 0.064 mmol of PMA functionalized with 50% of PEG-amine mol ratio, first 162 mg of PEG-amine were dissolved in 1 mL of CHCl₃. Then, 10 mg (0.064 mmol) of

PMA-DDA copolymer were dissolved in 100 μL of CHCl_3 . The previously prepared PEG-amine solution was slowly dropped (2.5 μL) into the diluted polymer solution and the mixture was stirred 24 h at room temperature. Then, the obtained PMA-DDA-PEG-50% copolymer was transferred to an eppendorf and CHCl_3 was added to obtain a total volume of 2 mL. By this way, a final solution of 5 mg mL^{-1} of PMA-DDA-PEG-50% was obtained. The same procedure was developed to perform the synthesis of PMA-DDA-PEG-25% and PMA-DDA-PEG-12.5% co-polymers only by varying the amount of PEG as shown in Table 3.5.

Table 3.5 Reagent quantities used for the preparation of the copolymers PMA- PEG 50%, PMA - PEG 25% y PMA - PEG 12.5%.

Sample	PMA (mg)	PEG - 5 kDa (mg)
PMA - DDA - PEG - 50	10	162
PMA - DDA - PEG - 25	10	81.2
PMA - DDA - PEG - 12.5	10	40.5

Thus, using a relation of 50% of PEG in relation to PMA total, a functionalization of 25% of the available carboxylic bonds of PMA is obtained. By decreasing the amounts of PEG, functionalisation with percentages of 12.5 and 6.5 of the bonds presents in the molecules would be achieved.

After synthesizing the three copolymers with different amounts of PEG-amine and having used them for the functionalization of the $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_3$ and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_4$ nanoparticles, it was determined that the optimal amounts of PEG for each particle were the following: 12.5% for $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_3$ and 25% for $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_4$. In this way, having optimized the amount of PEG for each particle, PEG molecules were added to previously PMA, DDA and drug conjugated polymers (Figure 3.7). Thus, the quantities of PEG and PMA-DDA-Drug used in these new co-polymers synthesis are reflected in Table 3.6 were used.

Table 3.6. Reagent quantities used for the preparation of PMA-DDA-Drug-PEG-25% and PMA-DDA-Drug-PEG-12.5% copolymers.

Sample	PMA (mg)	PEG (mg)
PMA - DDA - EM102 - PEG - 25%	3.81	15.50
PMA - DDA - EM71 - PEG - 25%	3.81	15.50
PMA - DDA - EM102 - PEG - 12.5%	3.39	13.77
PMA - DDA - EM71 - PEG - 12.5%	3.39	13.77

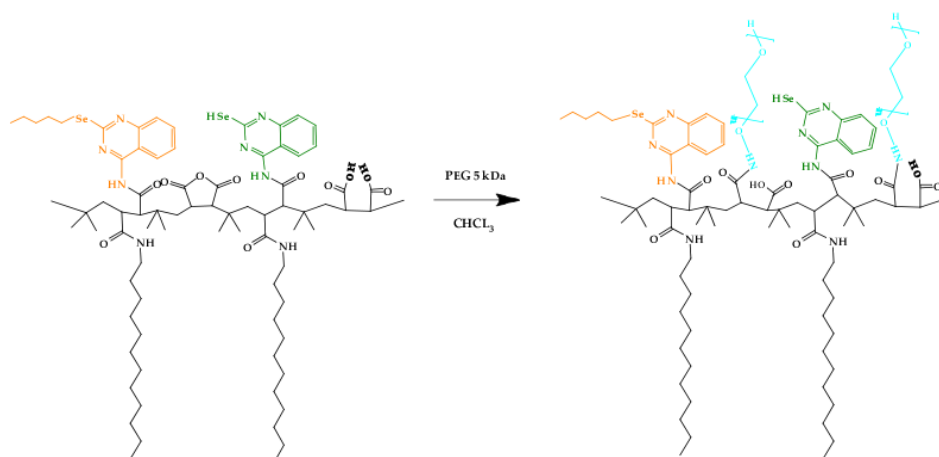


Figure 3.7. PMA – DDA – EM71 and PMA – DDA – EM102 pegylation.

To obtain these new co-polymers the same procedure of the previous PEGylation process was followed using in these case previously prepared PMA-DDA-Drug copolymers.

c) Nanoparticle functionalization.

Two of prepared nanoparticles, Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄, were selected for functionalization due to their different size and magnetic properties, as it will be explained in characterization section. With the aim to obtain individually or quasi-individually coated nanoparticles, the protocol optimized in our group was followed^[65]. In this way, different procedures were used to obtain Fe₃O₄ nanoparticles recovered with PMA-DDA, PMA-DDA-Drug, PMA-DDA-PEG (described as PMA-Drug in Table 3.7) and PMA-DDA-Drug-PEG copolymers.

First, Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ sample nanoparticles were functionalized with PMA-DDA and PMA-DDA-Drug ligands. The used reagents for this functionalization process are exposed in Table 3.7.

Tabla 3.7. Reagent quantities used for the functionalization of Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles with PMA-DDA and PMA-DDA-Drug copolymers.

Sample	NP (mg)	PMA (mg)	PMA molec. /nm ²
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-DDA-EM102	3	3.81	50
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA- DDA-EM71	3	3.81	50
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-DDA	3	3.81	50
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-DDA-EM102	3	3.39	50
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA- DDA-EM71	3	3.39	50
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-DDA	3	3.39	50

To carry out the functionalization of the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles, first 3 mg of nanoparticles dispersed in CHCl₃ were deposited in an eppendorf to which ethanol was added. These nanoparticles were centrifuged and concentrate in 100 μL of CHCl₃. Then, for each nanoparticle size, 3.81 mg and 3.39 mg of the 0.1M PMA stock solutions (50 PMA molecule per nanometer square of nanoparticle) of previously prepared for PMA-DDA or PMA-DDA-Drug copolymers were deposited in another eppendorf. The nanoparticles concentrated in 100 μL were added to the polymeric solution every 2.5 μL applying vortex agitation after each addition. When the total volume of nanoparticles was added, the dispersion of nanoparticles and copolymer was transferred to a 100 mL single-necked round-bottom flask and 4 mL of chloroform were added. This last dispersion was left in an ultrasound bath for 30 minutes and then taken to a rotary evaporator, where the solvent was evaporated in vacuum and at 60 °C.

Once all the solvent was evaporated, 10 mL of buffer (Borate Buffered Saline, BBS) pH = 9.5 was added and was left in ultrasound for 30 minutes. In the case of drug samples, the dispersion was left under constant stirring at 80 °C but without vacuum in the rotary evaporator to favour the hydrolysis of the anhydrous rings. The obtained final suspension was centrifuged for 5 minutes at 12000 rpm, the supernatant was removed, and the sample was re-dispersed in 1 mL of distilled water. The cleaning procedure was repeated 3 times and finally the sample was dispersed in 1 mL of distilled water. It should be noted that the samples prepared with the drug EM71 presented a light green-yellow supernatant in each cleaning step, which leads to thinking that the drug was lost throughout the cleaning process.

Once the nanoparticle dispersions with the PMA-DDA and PMA-DDA-Drug ligands were obtained, the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles were functionalized with PEG-modified ligands (PMA-DDA-PEG and PMA-DDA-Drug-PEG). The amounts of reagents used for this functionalization are shown in Table 3.8.

Tabla 3.8. Reagent quantities used for the functionalization of Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles with PMA–DDA–PEG and PMA–DDA–Drug–PEG copolymers.

Sample	NP (mg)	PMA (mg)	PMA molec. /nm ²	CHCl ₃ (ml)
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-50(1)	4	10	100	2
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-25(1)	4	10	100	2
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-12.5(1)	4	10	100	2
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-50(2)	4	10	100	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-25(2)	4	10	100	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-12.5(2)	4	10	100	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-25(3)	3	3.81	50	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-12.5(3)	3	3.39	50	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM71-PEG25%	3	3.81	50	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM102-PEG25%	3	3.81	50	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM71-PEG12.5%	3	3.39	50	5
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM102-PEG12.5%	3	3.39	50	5

As can be seen in Table 3.8, several experiments were done to perform the functionalization of the samples with the PEG-conjugated ligands. Thus, the procedure used in those experiments was similar to the used with the PMA–DDA and PMA–DDA–Drug ligands with a little variation. Thus, three different functionalization process were developed:

- *Experiment 1:* 4 mg of nanoparticles were added to the polymeric solution (1 mL, 100 PMA molecules per square nanometre of nanoparticle) every 2.5 µL applying vortex agitation after each addition. When the total volume of nanoparticles was added, the dispersion of nanoparticles and copolymer was transferred to a 100 mL single-necked round-bottom flask and left in an ultrasound bath for 30 minutes.
- *Experiment 2:* 4 mg of nanoparticles were added to 4 mL of the polymeric solution (100 PMA molecules per square nanometre of nanoparticle) in a 100 mL single-necked round-bottom flask. After that, the dispersion was left in an ultrasound bath for 30 minutes.
- *Experiment 3:* The same procedure of Experiment 2 was carried out but using 50 PMA molecules per square nanometre of nanoparticle.

In this sense, samples marked with (1), (2) and (3) in the Table 3.8 were obtained for each experiment.

After the 30 minutes in ultrasound bath, nanoparticle-copolymer dispersion was taken to a rotary evaporator where the solvent was evaporated in vacuum and at 60 °C. Once all the solvent was removed, 10 mL of buffer (BBS) pH = 9.5 was added and it was left in ultrasound again for 30 minutes. This suspension was centrifuged for 5 minutes at 12000 rpm, the supernatant was removed, and the sample was re-dispersed in 1 mL of distilled water. The cleaning procedure was repeated 3 times and finally the sample was dispersed in 1 mL of distilled water. On this time the same result was obtained for EM71 drug modified ligands.

Finally, the last experimental procedure (experiment 3) was used to obtain Fe₃O₄_OL_n-PMA-EM71-PEG% and Fe₃O₄_OL_n-PMA-EM102-PEG% nanoparticle samples.

3.3.3 Functionalization of Embocene TANDEM™ microspheres with positively charged magnetic nanoparticles.

After obtaining positively charged nanoparticles, these nanoparticles were used for the addition to Embocene™ microspheres. For this experiment, only the Fe₃O₄_S₁-CTAB1 and Fe₃O₄_S₁-CTAB10 (Table 3.3) nanoparticles were used due to the amount of sample available and to their high Z potential (35 and 64.5 mV). It must be noted that the functionalisation performed is based on the electrostatic interaction of opposite charges, as the potential of the microspheres is approximately -25mV. Thus, the greater the difference in Z potential, the greater the attraction between the two species of the system. For the synthetic preparations, the amounts of reagents in Table 3.9 were used.

Table 3.9. Reagents and nanoparticles used in the functionalization of Embocene TANDEM™ microspheres.

Sample	Np sample	NP mg	Solvent (μL)		Embocene diameter (μm)	Embocene™ (μL)
			H ₂ O	H ₂ O:PBS (10:1)		
Micro1	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB1	1.5		500	40	50
Micro2	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB1	2		500	40	50
Micro3	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB1	3		500	40	50
Micro4	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB1	3.5		500	40	50
Micro5	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	0.115	250		100	10
Micro6	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	0.200	250		100	10
Micro7	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	0.380	250		100	10
Micro8	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	0.115		250	100	10
Micro9	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	0.200		250	100	10
Micro10	Fe ₃ O ₄ _S ₁ -CTAB10	0.380		250	100	10

In this case, the functionalisation process was carried out in two different media: water and 1/10 (v/v) solution of 10 mM PBS. In consequence, the influence of the charged ions during the deposition process of nanoparticles on the microsphere surface was studied.

In a typical procedure, 50 μ L of 40 micrometre microsphere dispersion were placed in a 2 mL eppendorf and 1.5 mg of CTAB functionalized nanoparticle water dispersion and 500 μ L of supernatant (water or 1/10 (v/v) solution of 10 mM PBS) were added. These eppendorfs were then agitated for 24 hours in a rotary stirrer. After this time, samples were centrifuged for 30 seconds at 500 rpm and dispersed in 1 mL of distilled water. The samples obtained by this protocol were named MikroX, where X is the number of the experiment developed. Obtained samples were then analysed by optical microscopy and transmission electron microscopy.

3.4 Nanosystem Characterization

3.4.1 Iron(III) oxide nanoparticles

The structural and morphological characterization of the synthesized products was carried out using the techniques of X-ray Diffraction (XRD), Thermogravimetric Analysis (TGA), Dynamic Light Dispersion (DLS) and Transmission Electron Microscopy (TEM).

The magnetic characterization of the samples has been conducted by Electronic Magnetic Resonance (EMR) spectroscopy and magnetization measurements against the applied field, M (H), and against the temperature M (T). A special effort has been devoted to the correlation between the observed behaviors and the physical characteristics of the nanoparticles, an aspect of great relevance in ferromagnetic systems that, in many occasions, makes difficult to compare the results obtained by different authors. Next, the results deduced from the different techniques will be described.

3.4.1.1 Chemical and structural characterisation.

The synthesized samples were characterized by XRD in order to obtain information on the structure, crystallinity, and crystal size. The X-ray diffractograms, measured at room temperature, were recorded in the PANalytical X'Pert PRO diffractometer of the UPV/EHU's X-ray General Research Service (SGIker) under the conditions described in Appendix A.2.

In Figure 3.8, diffractograms of the nanoparticles synthesized from iron(0) pentacarbonyl and iron(III) oleate are shown. The diffraction maxima correspond to the

magnetite phase, Fe₃O₄, (FCC, spatial group: *Fd*-3m, PDF n° 89-0691), as can be observed for all the samples.

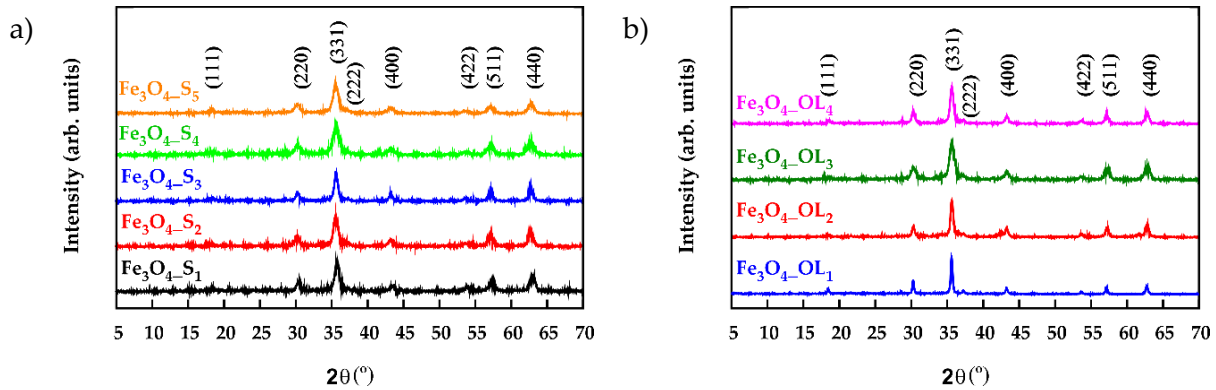


Figure 3.8. Diffractograms corresponding to the samples synthesized from (a) iron(0) pentacarbonyl and (b) iron(III) oleate.

As can be observed in Figure 3.8, some samples present larger peak widths than others, indicating differences between sizes^[66]. From the full width at half maximum, and from the position of the most intense diffraction peak (311), the mean particle size of the samples was calculated using the Scherrer formula^[67]:

$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta_{\tau} \cos \theta} \quad (3.1)$$

where τ is the crystalline domain (when the diameter of the nanoparticle is single-crystalline and spherical), K is the shape factor (0.95 in the case of spherical shapes), λ is the induced wavelength (1.54178 nm) in the case of copper $K\alpha$ radiation, β_{τ} is the width of the (311) maximum peak at the centre of the height. This is only an approximation that determines the size of the crystal. In fact, the determination of the factor related to the shape of the nanoparticles is difficult to determine and can affect the final value. The results obtained are shown in Table 3.10.

On the one hand, the samples synthesized from Fe(CO)₅ (Fe₃O₄_S₁, Fe₃O₄_S₂, Fe₃O₄_S₃, Fe₃O₄_S₄ and Fe₃O₄_S₅), which were prepared at the same conditions and with the same number of grow steps, present the lowest sizes (8.5 to 14 nm). Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ samples, synthesized from iron(III) oleate however have shown similar sizes, 11 and 18 nm respectively.

Table 3.10. Parameters obtained from the deconvolution of the maximum diffraction (311) and particle sizes calculated using the Scherrer formula (D_{XRD}).

Sample	311 Peak pos. (2 θ)	D_{XRD} (nm)	% OM
--------	-----------------------------	-----------------------	------

Fe ₃ O ₄ _S ₁	35.791	14.6 ± 1	15
Fe ₃ O ₄ _S ₂	35.637	12.0 ± 1	21
Fe ₃ O ₄ _S ₃	35.734	9.3 ± 1	15
Fe ₃ O ₄ _S ₄	35.688	8.5 ± 1	18
Fe ₃ O ₄ _S ₅	35.575	14.4 ± 1	9
Fe ₃ O ₄ _OL ₁	35.617	38.8 ± 2	20
Fe ₃ O ₄ _OL ₂	35.647	26.3 ± 1	8
Fe ₃ O ₄ _OL ₃	35.661	11.0 ± 1	12
Fe ₃ O ₄ _OL ₄	35.637	18.0 ± 1	10

On the other hand, the other samples synthesized from iron(III) oleate have shown larger sizes of 38.8 nm for Fe₃O₄_OL₁ and 26.3 nm for Fe₃O₄_OL₂. This size difference can be attributed to a different iron concentration in the synthesis medium due to benzyl ether evaporation during the synthesis process because of a not perfect sealing of the reaction flask.

In order to calculate the amount of organic matter present in the final products, a systematic thermogravimetric analysis have been conducted for on all the prepared samples. Performing this type of analysis is very important as the stability of nanoparticles in dispersion depends on the amount of organic ligands around nanoparticles and knowledge of the percentage of organic matter in each sample is absolutely necessary to fit magnetic data^[68]. These analyses were carried out in Ar atmosphere on a NETZSCH STA 449C equipment, under the conditions described in Appendix A.3.

All the analysed samples present a very similar decomposition profile (Figure 3.9). Initially, around 100 °C, the first mass loss is observed, related to the moisture that may have adsorbed in each case, usually less than 2%. From 200 °C onwards, the larger loss of mass associated with the decomposition of the organic ligands, whose interactions with the nanoparticle surface are stronger. Then, at temperatures above 400 °C, a plateau is observed, corresponding to the formation of stable iron carbonates, that decompose from 600 °C onwards.

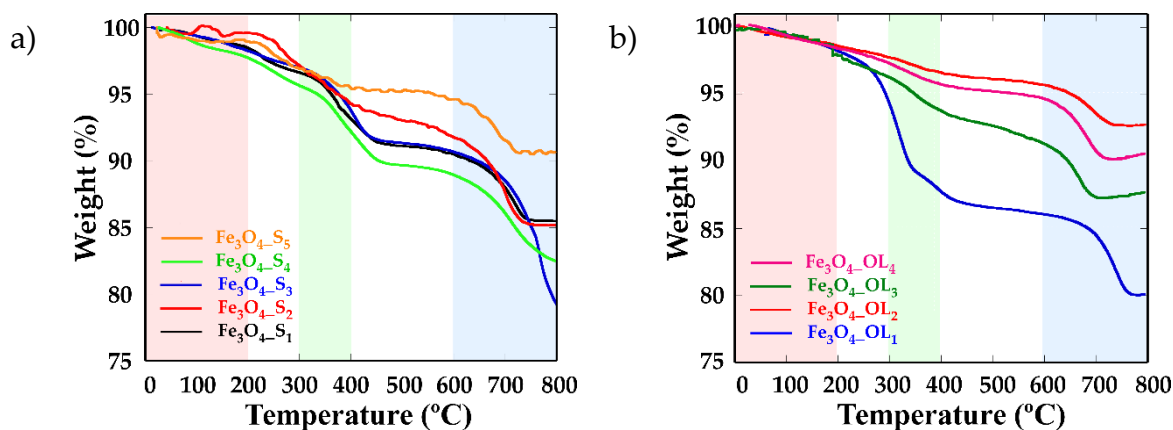


Figure 3.9. Thermogravimetric curves corresponding to samples synthesized from (a) iron(0) pentacarbonyl and (b) iron(III) oleate.

The first stage of decomposition, related to the loss of the adsorbed solvent, seems to be independent from the used precursor. The fact that about 2% of the solvent is retained on the surface of the nanoparticles, partly also from cleaning with toluene or chloroform and ethanol, is due to the interactions of these molecules with the aliphatic part of the ligands used (oleic acid and oleylamine). Furthermore, it is observed that, for the samples $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-S}_n$, with increasing particle size, both the amount of solvent retained and the amount of the ligands, oleic acid and oleylamine, decreases due to the lower surface area of the material^[41]. Decreasing the ratio of surface iron atoms to the total volume of particles logically reduces the number of functionalizing molecules because the number of possible binding nuclei is smaller^[69].

Among the $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_n$ synthesised samples, there is a clear relationship between mass loss size; increasing the nanoparticle size from 11 to 26 nm the weight loss decreases from 12.43% to 7.73%. It should be noted that 100 μL of oleic acid was added to the $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_1$ sample in the cleaning process and in the final stock solution to improve its dispersion in organic media. This could explain the higher mass comparing with $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-OL}_4$, synthesized under similar conditions but without oleic acid added in the cleanings.

From here on, only the characterization of the samples $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-S}_1$ and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-S}_2$ will be carried out, since they present the adequate phase and organic matter to be functionalised and subsequently used for the functionalisation of the Embozene TANDEM™ microspheres.

3.4.1.2 Morphological characterisation.

The micrographs presented in the Figure 3.10 were recorded with the Philips CM200 microscope equipped with EDX microanalysis, installed in the General Electron Microscopy and Microanalysis Service of the UPV/EHU. It has operated at a speed of 200 kV, using a simple sample holder for both image and diffraction as is explained in Annex A.4. The samples were prepared by adding several drops of the different colloidal dispersions on carbon-coated copper grids. Micrographs of the synthesised samples have been recorded in order to study their size, morphology, crystallinity and to check their state of aggregation. The electron diffraction patterns of the different samples have also been obtained, showing the unique presence of Fe₃O₄ phase nanoparticles. To estimate the particle size and its distribution, the TEM images for each sample has been analysed. Finally, *log-normal* fits have been used to obtain the size distribution for the smaller nanoparticles, while the larger ones have been analysed using *Gaussian* distribution fits (Appendix B.1).

As can be seen in Figure 3.10, Fe₃O₄_S_n samples show similar sizes, 13 ± 1.9 nm for Fe₃O₄_S₁ and 15 ± 2.6 nm for S₂_Fe₃O₄. It should be noted that the particle size estimated from the Scherrer formula (X-ray diffraction section) is in good agreement with the values obtained by TEM, suggesting that these nanoparticles are single crystals. Despite having similar sizes, the Fe₃O₄_S₁ sample shows an octahedral morphology, unlike the Fe₃O₄_S₂ sample which is cuboctahedral.

When nanoparticles are synthesized in the presence of two ligands, the morphology of the samples depends on the ratio ligands-iron precursor and the ratio between the two ligands in the reaction medium^[70]. For example, V.M. Lenart *et al.*, showed that by varying the ratio of oleic acid to oleylamine in the synthesis of iron(III) oxide nanoparticles, different nanoparticle sizes and morphologies could be obtained. In this way, varying from 0 to 16 mmoles the amount of oleylamine and keeping constant the volume of solvent and the amount of metal precursor, they obtained nanoparticles from 176 to 6 nm and morphologies from cuboctahedral to spherical ^[71].

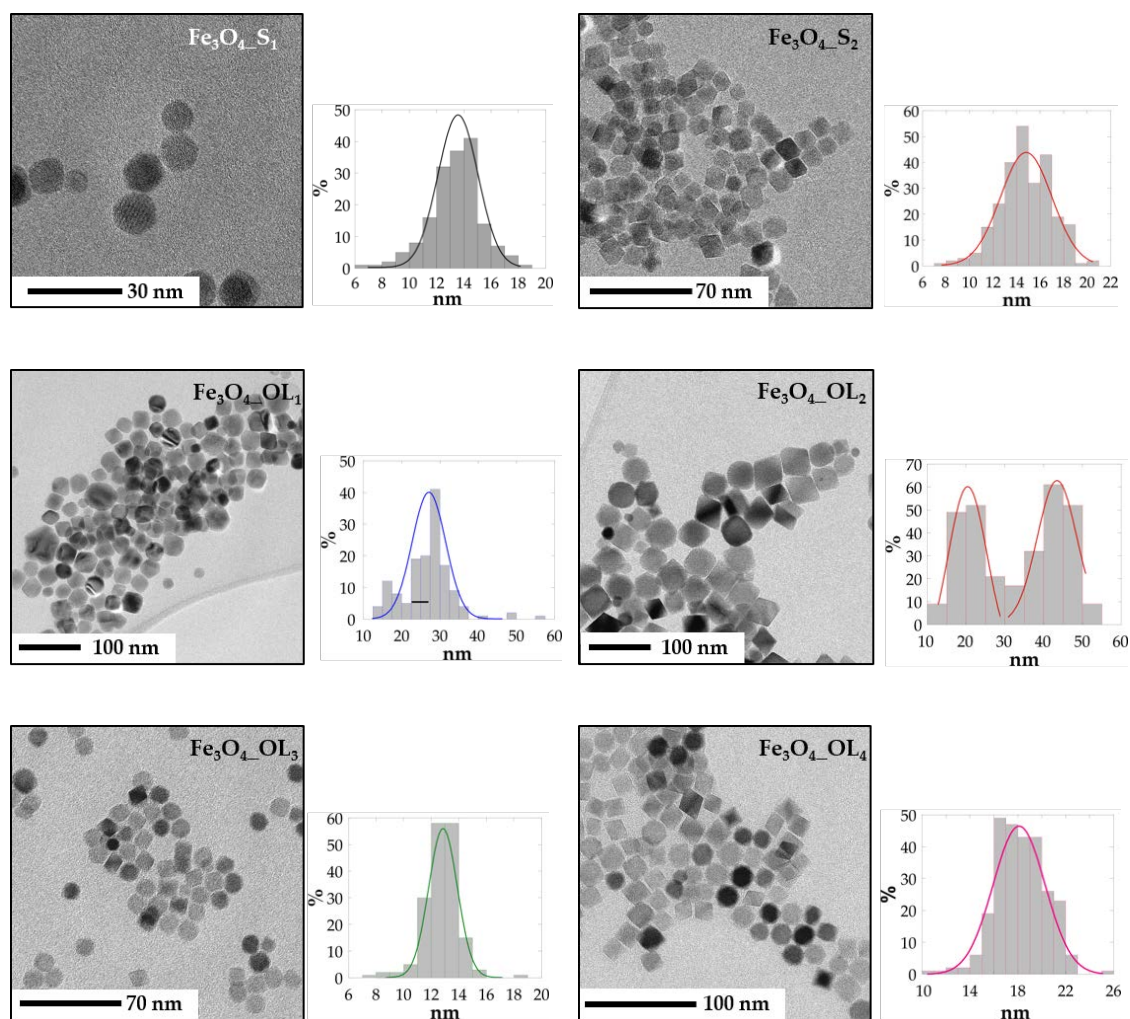


Figure 3.10 Micrographs of the samples Fe₃O₄_S₁, Fe₃O₄_S₂, Fe₃O₄_OL₁, Fe₃O₄_OL₂, Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ with their corresponding size distributions.

In Figure 3.10 are also represented micrographs for the samples Fe₃O₄_OL_n. The Fe₃O₄_OL₁ and Fe₃O₄_OL₄ samples, synthesized under similar conditions, show different sizes and morphologies. The Fe₃O₄_OL₁ sample presents 27 ± 5 nm nanoparticles of cuboctahedral and spherical morphologies. However, the size of Fe₃O₄_OL₄ sample is 18.2 ± 2.5 nm with octahedral morphology. In this case, the leakage of the solvent from the reaction flask, as has been explained before, could be the reason of the change in morphology^[72]. This factor also could explain the greater dispersion of sizes since the nucleation and growth processes can be altered due to the variation with time of the concentration of ligands and precursor^[73]. Considering the similar reflux temperatures of both samples, 302-312 °C for Fe₃O₄_OL₁ and 297-312 °C for Fe₃O₄_OL₄, no significant variations should be noticed.

Fe₃O₄_OL₃ nanoparticles present the smallest sizes, 12.9 ± 1.2 nm, probably due to the greater amount of benzyl ether used and the lower concentration of oleic acid in the reaction medium. Consequently, the surface energy of the nanoparticles will determine the chemisorption of the ligands on certain faces of the nanocrystal, preventing their growth^[74]. In spinel-type oxides, the {100} faces show a lower surface energy than the {111} ones^[75]. Thus, when the iron precursor concentration is high, the growth rate will occur more rapidly in some planes. However, when the precursor concentration is lower, growth will occur in several planes at the same time at a slower speed, creating more spherical nanomaterials^[76]. Thus, for Fe₃O₄_OL₃ the use of higher solvent volume resulted in a lower and more homogeneous growth rate of nanoparticles, obtaining more spherical nanoparticles. In addition, lower temperatures during reflux time may have negatively affected the growth of the nanoparticles because the iron(III) oleate decomposition is favoured at higher temperatures. In consequence, the concentration of monomers decreases, reducing the monomer diffusion onto the initial nuclei surface slowing down the particles grow process^[77].

In the case of the Fe₃O₄_OL₂ nanoparticles, a smaller volume of benzyl ether was used and the concentration of oleic acid and iron precursor increased, obtaining a sample with a 20 and 40 nm bimodal distribution (Fig. 3.10). This bimodal distribution could have been caused by a second nucleation in the growth stage of the nanoparticles or by an inhomogeneous growth that could have altered the thermodynamics of the system, affecting Ostwald maturation^[78]. Consequently, the nanoparticles present different morphologies: spherical, cuboctahedral, octahedral, tetrahedral... closely related to the different growth of the nanoparticles.

Finally, the amount and the type of solvent can directly affect the obtained nanoparticle sizes^[75]. In general, dibenzyl ether (DBE) acts as an oxidative agent, while 1-octadecene has a reductive effect. However, in the synthesis process while iron(III) oleate decomposes, ODE is oxidised. It has been shown in the literature that the degradation of ODE and the products originated by this solvent are directly related to the growth of the nanoparticles^[79]. Thus, the combination of both solvents, apart from achieving higher synthesis temperatures, affects the reaction kinetics and to the products obtained. Considering the amounts of used solvents for each Fe₃O₄_OL_n sample (Table 3.2), it can be concluded that using solvent mixtures with higher volumes of ODE than

DBE (sample Fe₃O₄_OL₄) produces larger nanoparticles. However, the use of similar volumes of solvents (sample Fe₃O₄_OL₃) provide smaller nanoparticles. Moreover, the reflux temperature for Fe₃O₄_OL₄ was higher than for Fe₃O₄_OL₃, which could have also affected the growth of the nanoparticles.

3.4.1.3 Magnetic characterization.

The magnetic characterization of nanoparticles was analysed by several methods as described in Appendix A.5, such as field- and temperature-dependent magnetization measurements, M (H) and M (T). On the one hand, samples measured at a variable temperature (between 5 and 300 K) but at constant field were carried out on a Quantum Design commercial SQUID magnetometer (MPMS 7 T) located in the General Service of Magnetic Measurements of the UPV/EHU, with a superconducting magnet up to 7 T and equipped with a cryostat to measure in the 2 - 400 K temperature range. On the other hand, the measurements at room temperature were measured in a non-commercial VSM equipped with an electromagnet with a maximum field of 1.8 T. In this last case, samples were measured as a powder inside a gelatine capsule. The most relevant results for samples Fe₃O₄_S_n and Fe₃O₄_OL_n, will be described below.

In the Figure 3.11 hysteresis loops at room temperature are represented where magnetisation reaches values close to saturation at moderately low fields (< 5 kOe), consistent with the ferrimagnetic properties of magnetite.

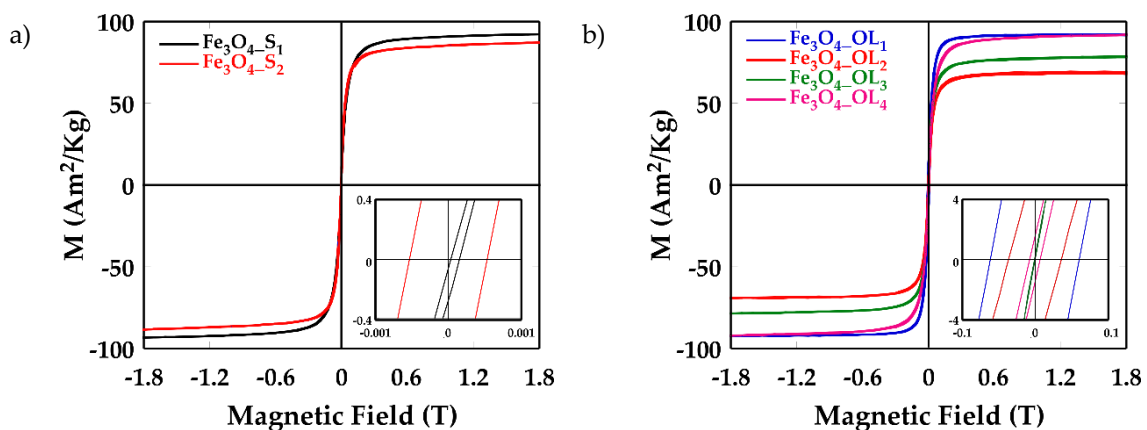


Figure 3.11 Hysteresis cycles at 300K obtained for (a) Fe₃O₄_S_n and (b) Fe₃O₄_OL_n samples.

The saturation magnetisation (M_s) values of samples Fe₃O₄_S_n at 300 K are $91.8 \text{ Am}^2 \text{ kg}_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{-1}$ for the sample Fe₃O₄_S₁ and $87.8 \text{ Am}^2 \text{ kg}_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{-1}$ for sample Fe₃O₄_S₂, Figure 3.11a, approaching to the corresponding value of magnetite bulk ($92 \text{ Am}^2 \text{ kg}_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{-1}$)^[80]. Although both samples have presented similar sizes, the magnetic response

is somewhat different, being the values of the sample Fe₃O₄_S₁ closer to the theoretical value of magnetite at room temperature. At the same time, the Fe₃O₄_S₂ and Fe₃O₄_OL₃ samples have showed lower saturation magnetization values than the sample Fe₃O₄_S₁ with similar size, 87 and 78 Am² kg_{Fe₃O₄}⁻¹ respectively. This fact leads to suspect the possible presence of surface oxidation layer in nanoparticles for the Fe₃O₄_S₂ sample due to the similar saturation magnetization of maghemite (80 Am² kg_{Fe₃O₄}⁻¹)^[80]. Thus, the nanoparticles of the Fe₃O₄_S₂ sample could have a core-shell structure of maghemite and magnetite, frequent in iron oxide nanoparticles prepared by thermal decomposition method^[81,82]. At the same time, detected decrease in magnetic saturation of these samples could also derive from surface-volume effects related to small nanoparticles^[83]. Although it is more pronounced in smaller size nanoparticles, the large number of atoms present on the nanoparticle surface causes reduced ferrimagnetic coordination. This could induce reduced electron mobility and surface magnetic frustration leading to lower magnetic saturation values^[84-86].

On the other hand, the saturation magnetization values at 300 K for the Fe₃O₄_OL_n samples, Table 3.11, oscillates between 68.0 and 91.8 Am² kg_{Fe₃O₄}⁻¹. The saturation values around 91 Am² kg_{Fe₃O₄}⁻¹ are indicative of the high purity and excellent crystallinity of the magnetite phase obtained by thermal decomposition, as already deduced from TEM measurements^[87]. In fact, sample Fe₃O₄_OL₂ has presented a magnetic saturation of 62.08 Am² kg_{Fe₃O₄}⁻¹. After a revision of diffraction pattern of this sample, a little contribution of 111 and 200 planes of wüstite have been observed^[49]. The presence of wüstite in the crystal lattice of magnetite, generates a structural magnetic disorder decreasing the saturation below the values of 85 Am² kg_{Fe₃O₄}⁻¹ of the maghemite, which explain the low saturation magnetization value of the sample^[81,82]. Furthermore, the loops recorded at room temperature also have shown the superparamagnetic behaviour of the Fe₃O₄_S_n and Fe₃O₄_OL₃ samples due to their low coercive field at room temperature^[88-90].

Powdered nanoparticles present large dipolar and magnetic interactions between particles, which disrupt magnetisation at low applied magnetic fields, so that the H_c values obtained from VSM measurements are not totally representative. To avoid such interactions, M(H) measurements at 5 K were performed by depositing the colloidal dispersions of NPs in chloroform (0.05 mg_{Fe₃O₄}·mL⁻¹) on filter paper (Figures 3.12). By

normalising the cycles at 5 K to the magnetisation obtained at room temperature, the values of the coercive fields are obtained, as shown in Table 3.11.

Table 3.11 Diameter sizes of the crystalline domain obtained by Scherrer calculation (D_{DRX}) and TEM (D_{TEM}), magnetic saturation at room temperature (M_s RT) and 5K (M_s 5K), reduced remanence at 5K and coercivity (H_c) at 300K and 5K.

Sample	D_{DRX} (nm)	D_{TEM} (nm)	M_s RT (Am ² kg ⁻¹)	M_s 5K (Am ² kg ⁻¹)	M_r/M_s 5K	H_c 300K (mT)	H_c 5K (mT)
Fe ₃ O ₄ _S ₁	14.6	13 ± 1.9	92	112.3	0.41	0.48	27
Fe ₃ O ₄ _S ₂	12.0	14.8 ± 2.6	87	89.6	0.40	0.55	27
Fe ₃ O ₄ _OL ₁	38.8	27 ± 5	91	103.2	0.41	6.22	55
Fe ₃ O ₄ _OL ₂	26.3	20/40	68	86.2	0.38	3.63	34
Fe ₃ O ₄ _OL ₃	11.0	12.9 ± 1.2	78	112.6	0.31	0.26	18
Fe ₃ O ₄ _OL ₄	18.0	18.2 ± 2.5	92	108.3	0.43	0.75	40

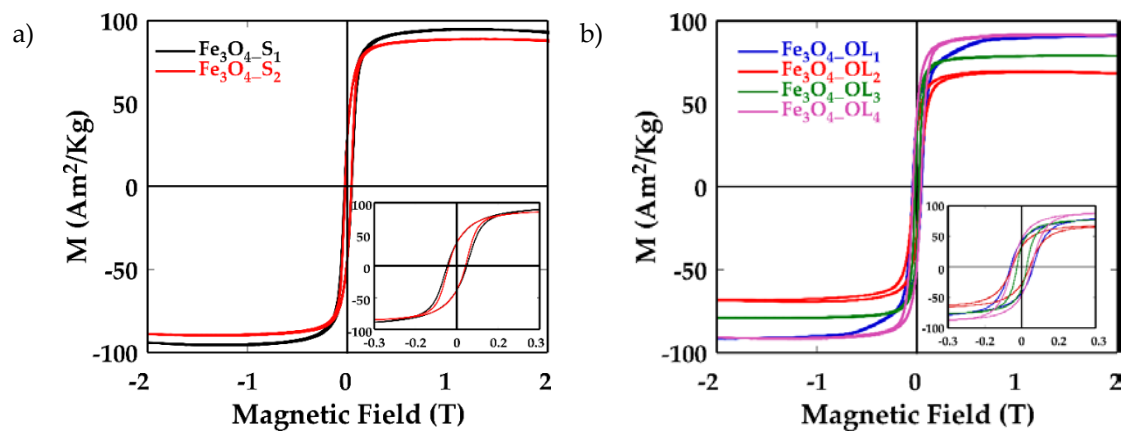


Figure 3.12 Hysteresis cycles at 5K normalized to RT M_s value for (a) Fe₃O₄_S_n and (b) Fe₃O₄_OL_n samples.

The evolution of the magnetisation value with temperature in ferro-, ferri- and antiferromagnetic materials provides useful information about their properties. Thus, the synthesised ferrites are expected to show high magnetic susceptibility and ferromagnetic behaviour below the Curie temperature (T_c , 585 °C). Above this temperature, the thermal energy exceeds the spin coupling energy and the ferrimagnetic material behaves as a paramagnetic material. Accordingly, magnetisation measurements have been performed as a function of temperature after cooling in zero field (ZFC curve) and 100 Oe field (FC curve) in the SQUID equipment. The ZFC-FC curves obtained for all samples are shown in Figure 3.13.

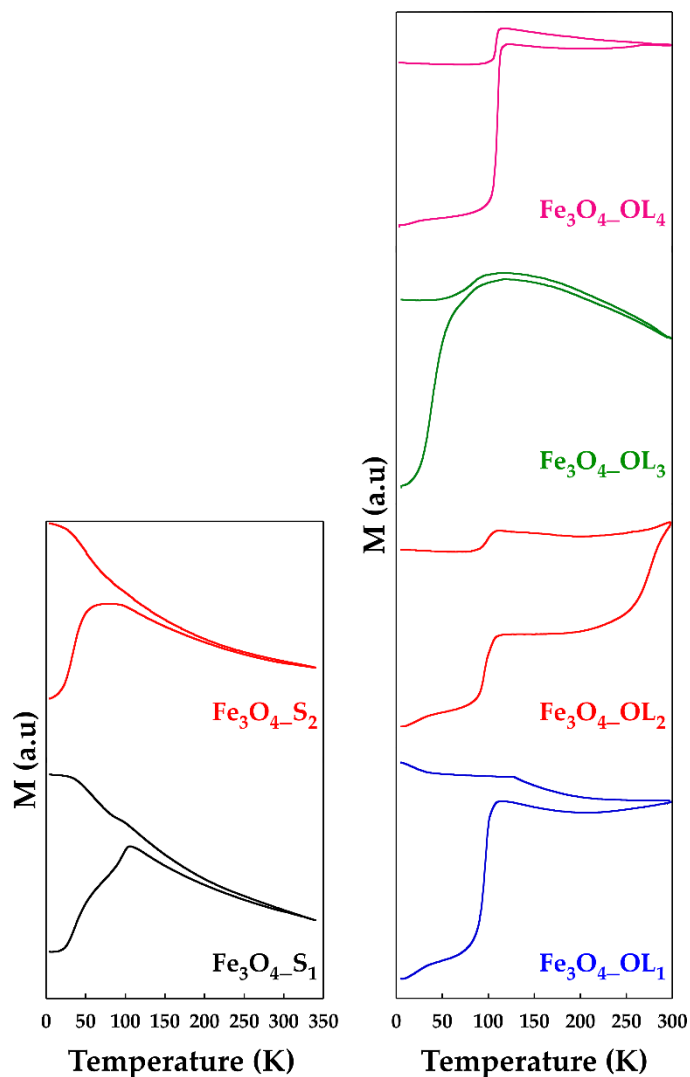


Figure 3.13. ZFC-FC curves of Fe₃O₄_OL_s and Fe₃O₄_OL_n samples.

On the one hand, in Figure 3.13 broad maxima of ZFC curves can be observed for the Fe₃O₄-S_n and Fe₃O₄-OL₃ nanoparticles. Specifically, the broadening of ZFC magnetisation curves and irreversibility of FC curve of the Fe₃O₄-S_n and Fe₃O₄-OL₃ samples highlight the thermal hysteresis of the nanoparticles due to their superparamagnetic character^[7,91,92]. In addition, the ZFC curve of Fe₃O₄-OL₃ particles shows a peak at 110–120 K, and a gradual decay at higher temperature as occur for the 12.3±2.9 nm iron(III) oxide nanoparticles published by Z. Nedelkoski et al^[93]. According to this author, the presence of antiphase domain boundaries (APB) could explain the reduction of saturation magnetization for the Fe₃O₄-OL₃ nanoparticles. The fractional unit cells generated in the surface of nanoparticles would change the super-exchange interaction between tetrahedral and octahedral sublattices reducing the saturation magnetization of Fe₃O₄ nanoparticles. This explanation is in good agreement with other

authors who explain the decrease of magnetic saturation for small nanoparticles by the phenomena of spin canting^[94–96].

On the other hand, Fe₃O₄_OL₁, Fe₃O₄_OL₂ and Fe₃O₄_OL₄ samples show clearly the characteristic hallmark of magnetite, Verwey transition (T_v)^[97]. This transition also appears in other samples but in a less detectable way. Magnetite crystals have a phase transition around 120 K (T_v) which produces a pronounced change in the crystalline structure of the system, the electron mobility and, consequently, in the magnetic properties of the nanoparticles. Precisely, the order of Fe²⁺ and Fe³⁺ cations in the crystal structure changes below 120 K to a lower density phase due to the alignment of three octahedral units of Fe²⁺. This alignment avoids the electron jump between the Fe³⁺ and Fe²⁺ cations and strongly reduces the material conductivity^[98]. At the same time, the occurrence of this transition in small nanoparticles has been related to the morphology of nanoparticles. According to M. Bohra et al., octahedral nanoparticles have more energetically stable {111} planes, which protect nanoparticles against surface oxidation. Thus, they have fewer surface effects and, therefore, a better stoichiometry, making possible the occurrence of this transition^[99].

In this way, this transition can be used to specify if the stoichiometry of the samples differs from the pure magnetite phase. Thus, depending on the temperature at which the T_v is placed, an imbalance of the Fe⁺²/Fe⁺³ ion ratio, as well as the presence of Fe⁺² vacancies in the crystal structure of prepared nanoparticle, can be suspected^[47].

If the crystal size values obtained by X-ray diffraction in table 3.11 are shown as the particle size decrease, the values obtained for H_c generally decrease due to the thermal effects^[91]. On the one hand, the Fe₃O₄_OL₁ and Fe₃O₄_OL₄ samples show T_v at 100.8 K and 112.14 K. The Fe₃O₄_S₁ sample, although less evident compared with other samples, has also shown this transition at 100 K (T_v). As published by I. Castellanos-Rubio et al., as the T_v shifts to higher temperatures, the Fe⁺²/Fe⁺³ pairs increase, approaching the stoichiometry of the pure magnetite phase^[47]. In consequence, those results explain the high magnetic saturation values at room temperature obtained for the Fe₃O₄_OL₁, Fe₃O₄_OL₄ and Fe₃O₄_S₁ samples. On the other hand, the Fe₃O₄_OL₂ sample with T_v at 95 K shows a decrease in magnetisation from 300 K to around 250 K in the ZFC curve. This aspect supports the above-mentioned hypothesis of a core-shell wüstite-magnetite structure, which would explain the low magnetic saturation values of the sample at

room temperature. According to T. Köhler et al., this decrease in saturation magnetization related to the presence of magnetite and maghemite interface is explained as exchange bias (EB) effect which would explain the lower H_c value obtained at 5K^[82].

3.4.1.4 Electronic Magnetic Resonance (EMR).

EMR is a powerful technique to study the properties of both bulk paramagnetic compounds (electron paramagnetic resonance, EPR) and magnetic ordered phases (ferromagnetic resonance, FMR). The principle is basically the same but in FMR we are not dealing with individual atoms, but with atoms coupled together by exchange interactions. EPR in paramagnetic samples give information about the electronic properties of the active specie and the symmetry of its environment. FMR in ferromagnetic materials inform about the contributions of internal magnetization: demagnetization field, anisotropy, etc. These techniques can also be applied to superparamagnetic (SPM) systems. In this materials exchange interaction is effective and spins are coupled, but the thermal energy is comparable to the anisotropy barrier and, therefore, the resonance field is strongly dependent on temperature. It is worth mentioning that the time window (t_w) for this technique is about 10⁻⁶ s, compared to 10⁻¹ s for conventional magnetization measurements. For this reason, the blocking temperatures (T_B), above which superparamagnetism occurs, that are determined using this technique are significantly higher than those derived from the ZFC/FC curves.

EMR technique has proven to be a good complement to TEM to evaluate the homogeneity and size distribution in magnetic nanoparticles, as well as a quick and easy experimental way to perform a preliminary characterization of the samples. The shape, width and resonant field of the observed signals allow predicting their magnetic behaviour and stability in suspension in different media.

In the paramagnetic state, the resonant field (H_{res}) is the same that *the applied field* (Equation 3.1), but in the ordered state the resonant condition is fulfilled with a smaller external field due to different contributions that give rise to an *internal field* (Equation:3.2):

$$H_{res}=H_{ap} + H_{int} \quad (3.1)$$

$$H_{int}= H_{ex} + H_{anis} + H_{dem} + \dots \quad (3.2)$$

where H_{ex} is the exchange field, H_{anis} is the anisotropy field, and H_{dem} is the demagnetization field. The magnitude of H_{res} and its dependence on the orientation of

the field and the temperature provides information about the magnetic anisotropy of the sample: a) *Magnetocrystalline anisotropy*, originates from the spin-orbit interaction; b) *Shape anisotropy*, for nonspherical particles; c) *Surface anisotropy*, very important in small MNPs. In superparamagnetic materials, H_{anis} is usually small and decreases as the temperature increases, thus the resonant field increases, but it retains some influence, especially at temperatures close to T_b . As also occur at the ordered state, due to the magnetocrystalline anisotropy the high field part of the signal exhibits a larger broadening and the line becomes asymmetric. Moreover, the peak-to-peak linewidth, ΔH_{pp} , is mainly related to the relaxation rate of the magnetization, but magnetic inhomogeneities in the sample, such as those caused by the presence of particles with different sizes, can significantly increase the linewidth and affect the resolution of the signals.

EMR measurements on the Fe₃O₄_OL_n samples were performed at room temperature using a Bruker ELEXSYS E500 spectrometer operating at the X-band (ca. 9.4 GHz). The spectrometer was equipped with a super-high-Q resonator ER-4123-SHQ and a maximum microwave output power of 200 mW. This equipment is located in the General Service of Magnetic Measurements of the UPV/EHU. The spectra were recorded using typical modulation amplitudes of 1.0 G at a frequency of 100 kHz, as described in the Annex A.6.

EMR experiments have been carried out on toluene dispersions (0.05 mgNP per ml) to avoid the lack of reproducibility that is observed when the spectra of this type of nanoparticles are recorded on solid samples: resonance fields that depend on the amount of powder, angular variations in apparently totally disordered systems, extremely large line widths, etc. It should be noted that on more concentrated samples a strong dependence of the linewidth with nanoparticle content is observed. Figure 3.14 shows the spectra obtained for the Fe₃O₄_OL_n samples.

The observed signals are in general asymmetric and complex, with minority components in some cases (Figure 3.14) and significant differences in the positions and widths of the lines. In order to compare the observed signals, a value of g_{eff} has been determined (Equation 3.3) for each sample assuming that the resonant field corresponds to the maximum of the microwave absorption curve.

$$\Delta E = h\nu = g\mu_B H_r \rightarrow g_{\text{eff}} = \frac{h\nu}{\mu_B H_r} \quad (3.3)$$

where h is Planck's constant, ν is the microwave frequency, μ_B is the Bohr magneton ($9.27 \cdot 10^{-21}$ erg G⁻¹) and H_r is the resonant field. The values obtained are shown in Table 3.12. This table also gives the peak-to-peak line widths, determined from the maximum and minimum main signal strengths in each case.

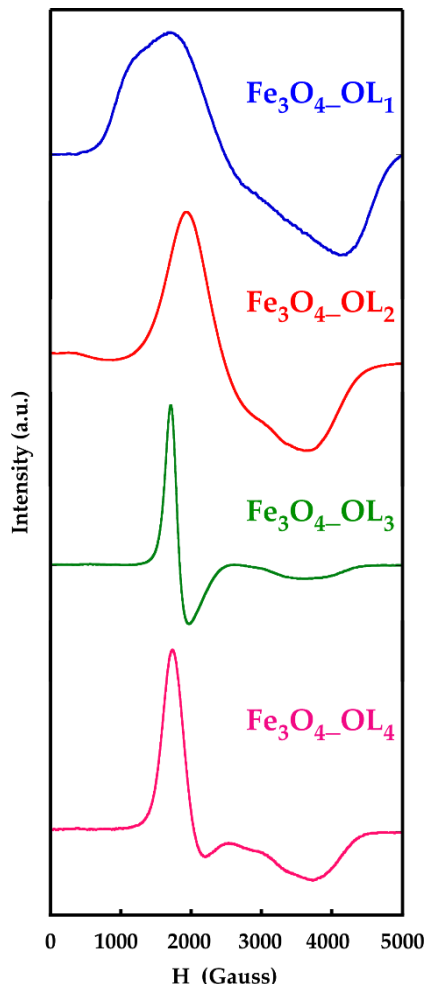


Figure 3.14. Electron Magnetic Resonance spectroscopy measurements for the Fe₃O₄_OL_n NPs prepared by iron(III) oleate decomposition method in toluene dispersions at room temperature.

Table 3.12. size dispersion obtained from TEM micrographs and g_{eff} factors calculated from the mean resonant magnetic field in each case.

Muestra	D _{TEM} (nm)	g_{eff}	Δ_{HPP} (Gauss)
Fe ₃ O ₄ _OL ₁	27 ± 5	2.73	1035
Fe ₃ O ₄ _OL ₂	20 ± 2 / 40 ± 2	2.73	1006
Fe ₃ O ₄ _OL ₃	13 ± 1	3.66	304
Fe ₃ O ₄ _OL ₄	18 ± 2	3.32	458

In all cases the determined g_{eff} values are much higher than the value of magnetite in the paramagnetic state (approx. 2), and also much higher than that of single-crystalline magnetite at 300 K in the direction of the easy magnetisation axis ($g_{eff}=2.122$)^[100]. This implies that:

- a) Although the blocking temperatures determined from the magnetisation curves are lower than room temperature, in EMR experiments these systems are not purely superparamagnetic at this temperature^[101].
- b) In all the cases the magnetic anisotropy is very important.

In this sense, the Fe₃O₄_OL₁ sample presents a very broad ($D_{\text{Hpp}}=2420$ Gauss) and anisotropic signal, with a g_{eff} value of 2.73. The large width of the signal implies a bad orientation of the easy axis of the nanoparticles against the applied field, which may be due both to a large dispersity of sizes and shapes and to the presence of agglomerates of particles with different orientations. The calculated resonant field is much lower than expected for superparamagnetic magnetite, implying that even at room temperature the thermal energy is not sufficient to average out the momentum orientation of the individual particles. Moreover, although the average resonant field is approximately 2450 Gauss, it should be noted that a shoulder in the signal is observed around a field as low as 1200 Gauss. Therefore, it can be concluded that the behaviour of the Fe₃O₄_OL₁ nanoparticles is indeed ferromagnetic, and very similar to that expected for bulk magnetite^[102].

At the same time, the Fe₃O₄_OL₂ sample shows a similar behaviour to Fe₃O₄_OL₁, with a similar average resonant field but a noticeably smaller linewidth ($D_{\text{Hpp}}=1730$ Gauss), in good agreement with a more homogeneous size distribution^[56,100]. The larger particles observed in TEM must be in the minority and are probably the origin of the small signal that appears at very low fields (< 300 Gauss).

Finally, the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ samples present similar behaviour, with very low resonant fields (1840 and 2040 Gauss approx.) and reduced linewidths (260 and 470 Gauss approx.). This implies a narrow distribution of sizes and shapes (as observed in TEM) and a strong anisotropy in the nanoparticles, as well as the ability to achieve a good alignment of their moments with the applied field^[103]. A secondary component around 3700 Gauss is observed in both samples, more intense in Fe₃O₄_OL₄, which is probably due to the presence of some agglomerates or larger particles.

For these samples, it can be concluded that the different signals observed are fundamentally related to the ease with which the nanoparticles are ordered among themselves and in front of the applied field. The nanoparticles in Fe₃O₄_OL₃ have a low

dispersion of shapes and sizes, and a sufficiently small size for their magnetic anisotropy to be mainly axial, which facilitates their alignment with the applied field and the appearance of a strong internal field due to the effect of dipole interactions.

In summary, the displacement of the resonant field of each sample depends to the temperature at which the measurement has been made (if it is high enough to disrupt the moments of the particles, the value of g_{eff} is close to 2), the viscosity of the medium, which can hinder the alignment of the nanoparticles, and the size of the nanoparticles themselves. Normally, as the size of the nanoparticles increase also increase their magnetic moment, which facilitates their alignment to the field in the direction of the easy magnetisation axis. However, as the size increases, so do the dipole interactions between nanoparticles, and, therefore, the larger the internal field that can be generated in the sample. Furthermore, this increase in size can also lead to higher agglomeration of the nanoparticles, which makes it more difficult to align them to the applied field and wider signals are obtained. Finally, increasing the size of the nanoparticles reduces their magnetic anisotropy since magnetite in the bulk state has a cubic anisotropy whereas axial anisotropies predominate in smaller nanoparticles. Thus, it should be noted that the shape of the nanoparticles will also influence the measurement, since the higher the contribution of shape anisotropy, the lower the external field required to achieve resonance.

3.4.2 Embozene TANDEM™ microspheres functionalized with positively charged magnetic nanoparticles.

As was previously explained Fe₃O₄ _S₁ nanoparticles were functionalized with CTAB (section 3.3.1) and Fe₃O₄ _S₁CTABX samples were obtained. In this sense, the positively charged (35 and 65 mV) Fe₃O₄ _S₁CTAB1 and Fe₃O₄ _S₁CTAB10 samples were obtained. Those samples were chosen to perform the surface decoration of Embozene TANDEM™ microspheres due to their size and magnetic properties. The experiments developed to deposit nanoparticles on the microsphere surface (section 3.3.3) were carried out in two different solvent media: water and 1/10 (v/v) solution of 10 mM PBS. Thus, MicroX samples were obtained. In this section, the most representative result of prepared nanosystems will be explained.

To verify the effect of the positive coating in nanoparticle dispersion, positively functionalized nanoparticles were characterized by TEM (Figure 3.15). As can be

observed in Figure 3.17, the CTAB-coated nanoparticles appear to be slightly agglomerated, which could cause some nanoparticle homogeneity distribution problems in the microspheres coating process.

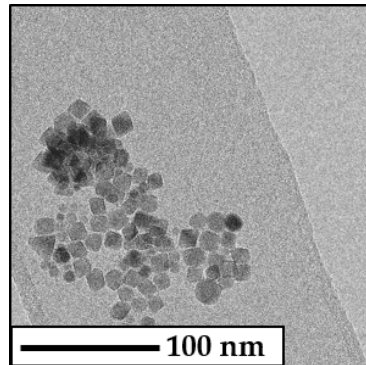


Figure 3.15. Fe_3O_4 - Si -CTAB1 nanoparticles functionalised with CTAB.

In order to verify the dimensions of the microspheres previously to be coated by nanoparticles, images by optical microscopy were obtained (Figure 3.16) for 40 micron and 100 micron Embozene TANDEM™. As can be seen in the images, both samples show a fairly homogeneous size distribution, not corresponding to the size in the case of the 40-micron microspheres, which show larger sizes (50 to 100 micron). In both cases, the architecture of the microsphere can be clearly distinguished: the polymeric surface and its apparently porous hydrogel interior.

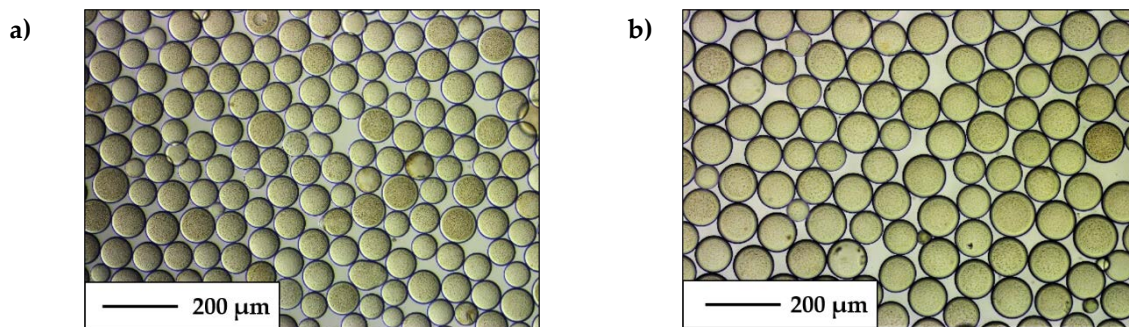


Figure 3.16. Images of (a) 40 micron and (b) 100 micron Embozene TANDEM™ microspheres obtained by optical microscopy.

Regarding the smaller microspheres (40 microns) coated with nanoparticles, Figure 3.17 shows the transmission electron micrographs obtained for sample Micro3. As can be observed in Figure 3.17.a, the nanoparticles are completely covering the surface of the microsphere. In addition, the 40 μm microsphere appears fractured, which could be either a consequence of the preparation method, or due to the vacuum applied to the

sample prior to their analysis. The same image shows an agglomeration of nanoparticles together with some pieces of microspheres.

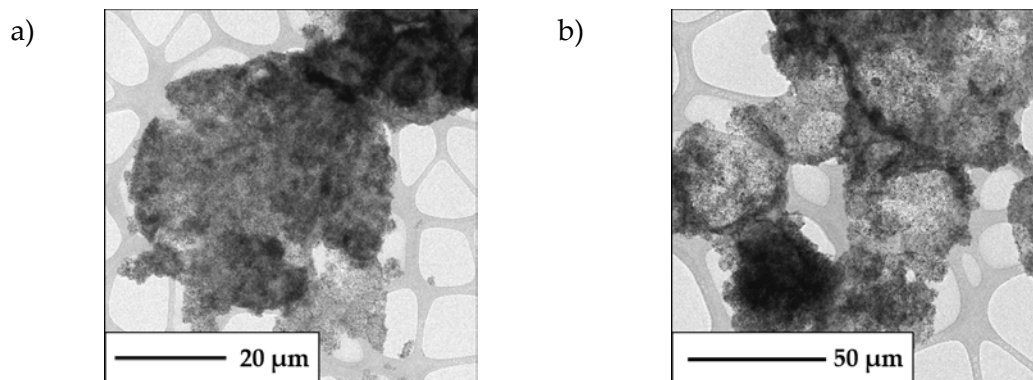


Figure 3.17. Transmission electron micrographs obtained for samples Micro3.

On the other hand, the image in Figure 3.17.b shows a group of 30 to 50 μm microsphere also coated with nanoparticles. Since the microspheres are broken, the presence of more polymer pieces with a nanoparticle excess is more clearly observed. Since the morphology of the microspheres is altered in the sample preparation process for electron microscopy, the Micro5 - Micro10 samples were characterised by optical microscopy (Figure 3.18).

The Micro5 sample prepared with 0.115 mg of nanoparticles (Figure 3.18.a and 3.18.d) appears similar to their counterparts without nanoparticles and without preference for a determined medium. In both cases, however, nanoparticles are deposited in small clusters on the surface of the microspheres. Together with the microspheres, small groups of nanoparticles also appear in the supernatant.

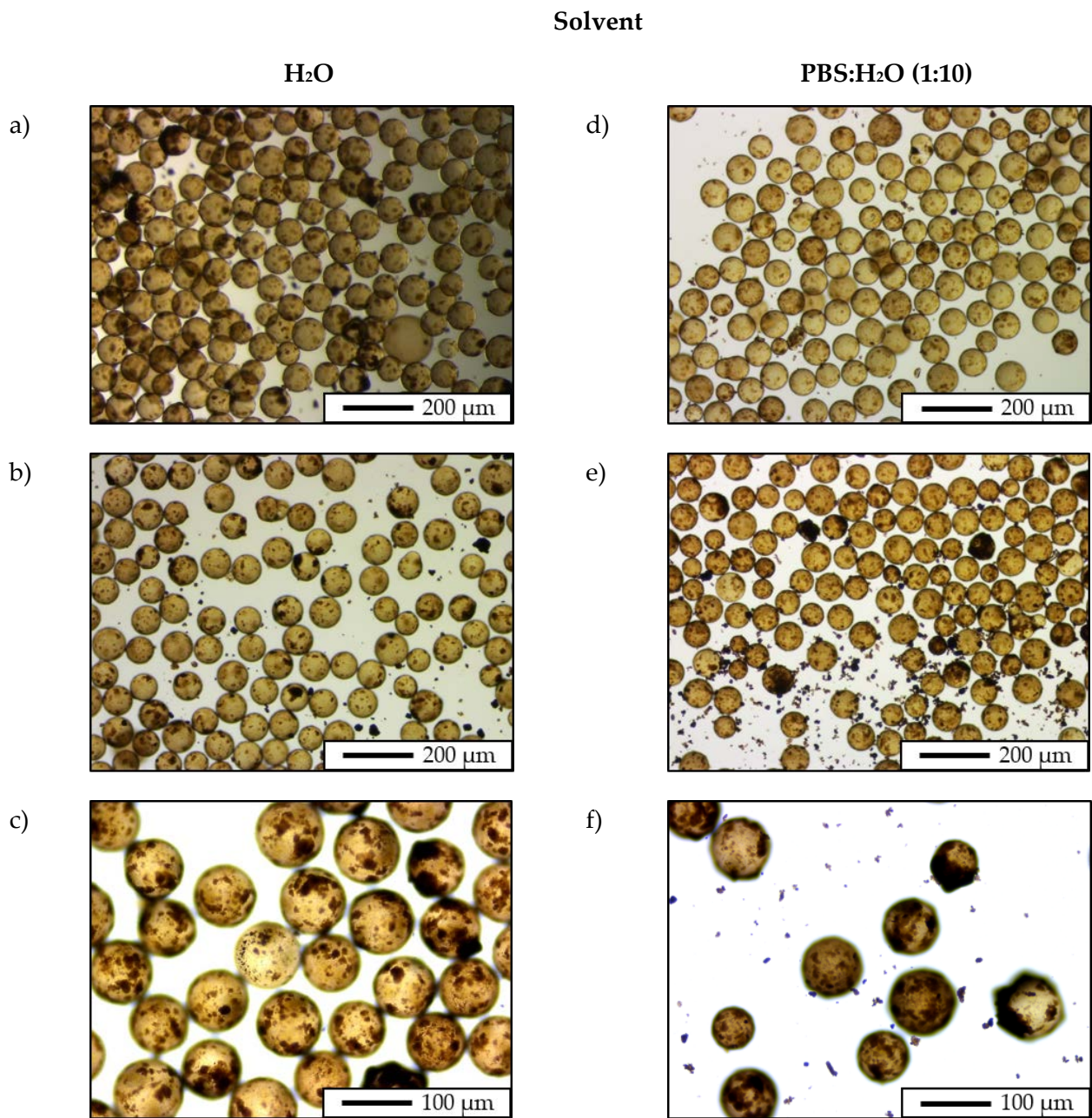


Figure 3.18. Images obtained for samples (a) Micro5, (b) Micro6, (c) Micro7, (d) Micro8, (e) Micro9 and (f) Micro10.

In the case of the samples prepared with 0.2 mg of nanoparticles (Figure 3.18.b and 3.18.e), something similar happened. It seems that the samples prepared in PBS were better coated, with some microspheres completely covered with nanoparticles. In the case of the samples prepared in water, small deposits of nanoparticles are also visible on the surface, but smaller amounts than in saline medium. Finally, the samples prepared with the highest concentration of nanoparticle, 0.3 mg (Figure 3.18.c and 3.18.f) show a

higher coating rate than in previous cases, with a better coating in PBS than the samples prepared in water.

Similar experiments have been carried out by some authors in the bibliography. For example, W. Chai et al developed the decoration of polystyrene microspheres with gold nanoparticles. For this propose, they functionalized the surface of microspheres with -SO₃H groups. Then, they decorated the microsphere surface with Ag seeds to favour the gold nanoparticle and finally performed the Au nanoparticle growth^[104]. Something similar was carried out by Y. Li et al., who modified polystyrene microspheres with polyaniline to favour the deposition of citrate capped Ag, Au and Pt nanoparticles. At the same time, X. Jia et al., managed to decorate Poly(methyl methacrylate-acrylic acid-divinyl benzene) (P(MMA-AA-DVB)) microspheres with Fe₃O₄ nanoparticles. For this propose P(MMA-AA-DVB) microspheres were directly added to thermal decomposition solution.

Based on the results obtained, as shown in figure 3.17, it appears that the saline medium favours the deposition of the nanoparticles on the surface of the 40 micron microspheres. This trend seems to be maintained for samples prepared with 100 micron microspheres, but a large number of agglomerated nanoparticles are observed in the supernatant (Figure 3.18). Although the microspheres used in this experiment are composed of the same materials, it is believed that the change in size may affect the electrostatic interactions that occur between the nanoparticles and the polymer surface of the microspheres. In any case, as suggested in the literature, one of the best ways to improve this coating could be to modify the surface of the microspheres. However, the presence of fluorine radicals on the surface of the nanoparticle makes this work very difficult due to their high electronegativity. Thus, in order to continue developing this type of microsystems, it would be advisable to change these microspheres for others with a different surface composition that facilitates the deposition of the nanoparticles on the surface.

3.4.3 EM71 and EM102 drug functionalized nanosystems.

3.4.3.1 Magnetometry studies

As was previously explained in section 3.3.2b PEG conjugated PMA-DDA copolymers were prepared to favour the duration of nanosystems in cellular media. In these sense, three different PEG-modified PMA-DDA polymers were prepared: PMA-DDA-PEG12.5%, PMA-DDA-PEG25% and PMA-DDA-PEG50%. Then, these copolymers were used to functionalize the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles (Table 3.8, section 3.3.2.c). It should be pointed that samples which are analysed in this section are the samples prepared using the first functionalization experiment.

In order to determine the optimum amount of PEG to be used per synthesized nanoparticle sample, the susceptibility values of the nanoparticles suspended in a mass standardised colloid have been calculated for the Fe₃O₄_OL_n-PMA-DDA-PEG% samples. For this purpose, the samples were characterized by VSM to analyse the appearance of dipolar interactions between the nanoparticles (Figure 3.19).

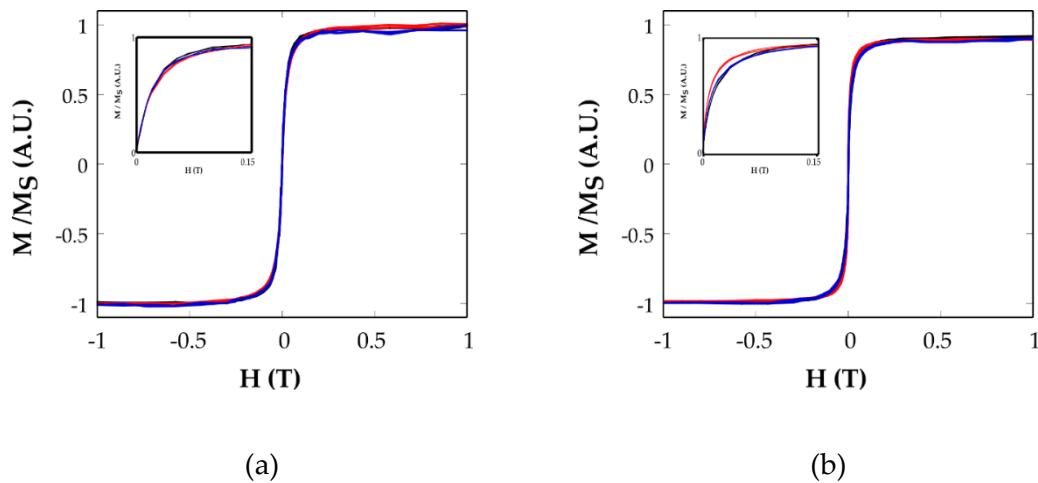


Figure 3.19 Sample hysteresis cycles of (a) Fe₃O₄_OL₃ and (b) Fe₃O₄_OL₄ functionalized with PMA-DDA-PEG12.5% (black), 25% (red) and 50% (blue) measured in 0.05 mg_{NP}/ml aqueous dispersion.

The magnetic susceptibility (χ) is a dimensionless proportionality constant that indicates the degree of sensitivity to magnetization of a material influenced by a magnetic field. Magnetic susceptibility is defined by the following 3.4 equation:

$$\chi = \frac{M}{H} \quad (3.4)$$

where M (A/m) is the magnetization of the sample and H (A/m) is the applied field. Single-domain the particles dispersed in a liquid can rotate freely and the magnetic response at low fields (apparent susceptibility) tends to increase when the magnetization

of nanoparticles is higher. In this context, smaller nanoparticles that are superparamagnetic and have no remanence will not respond easily to the applied field and will not physically rotate, and their magnetic momentum will give rise to low values of susceptibility. In the case of larger nanoparticles, which already have ferromagnetic properties, they will respond more quickly to the applied field and will rotate depending on their magnetization and the applied magnetic field, giving rise to higher values of susceptibility [105,106]. Furthermore, when the particles are agglomerated and the resulting net momentum is quite small (due to the individual super-spins of each nanoparticle anti-parallel coupled to their neighbours) these magnetic susceptibility values decrease [107,108].

The susceptibility values obtained show that the samples present paramagnetic properties since the values of χ are higher than 0 (see Table 3.13). Thus, the Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles samples present susceptibility values between 48.97 and 90.67 while the results for the samples with the Fe₃O₄_OL₃ core are around 18.29 and 20.96.

Tabla 3.13 Magnetic susceptibility values (χ) at 300 K of Fe₃O₄_OL_n-PMA-PEG-%.

Sample	χ
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-12.5	43.73
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-25	89.74
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG-50	56.90
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-12.5	18.29
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-25	19.73
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG-50	20.96

On the one hand, observing the susceptibility values obtained for the sample group Fe₃O₄_OL₄-PMA-PEG-%, it can be concluded that the optimal quantity for the functionalization of these 18 nm nanoparticles is the 25% in weight according to the quantity of PMA. This sample has shown a susceptibility value of 89.74, more than double than the sample Fe₃O₄_OL₄-PM-PEG-12.5 and much higher than Fe₃O₄_OL₄-PMA-PEG-50. Thus, 25% of PEG will be used for bonding with the drug-conjugated copolymer that will be used in the functionalization of Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles.

On the other hand, the 13 nm Fe₃O₄_OL₃ nanoparticle samples have not shown a very large variation in terms of the susceptibility values obtained due to their superparamagnetic behaviour. In this case, the sample with the highest susceptibility value has been Fe₃O₄_OL₃-PMA-PEG-50 with a value of 20.96, followed by the Fe₃O₄_OL₃-PMA-PEG-25 sample which has shown the value of 19.73. Finally, for the

sample Fe₃O₄_OL₃-PMA-PEG-12.5 it has been characterized with a value of 18.29. As there was no great variation between these values, the smallest amount of PEG was chosen, in this case 12.5%, for the subsequent conjugation of PEG with the drug-conjugated copolymers assuming that the exposure of the drugs could be higher.

3.4.3.2 Infrared Spectroscopy

This technique was used mainly to confirm that the ligands used in the synthesis of the nanoparticles and those used in their functionalisation are bounded to the surface of the nanoparticles. Consequently, the spectra of ligands and those of the nanosystems were recorded. In the range 400-4000 cm⁻¹ in a Shimadzu FTIR-8400S spectrophotometer. The samples were prepared as KBr pellets under the conditions described in Annex A.10. In all the cases, a background measurement was performed to eliminate as much as possible the residual humidity present in KBr (due to its hygroscopic character) and the possible appearance of the ambient CO₂ band around 2300 cm⁻¹.

In this way, Figure 3.20 shows recorded spectra of Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticle samples with the oleic acid used in their synthesis.

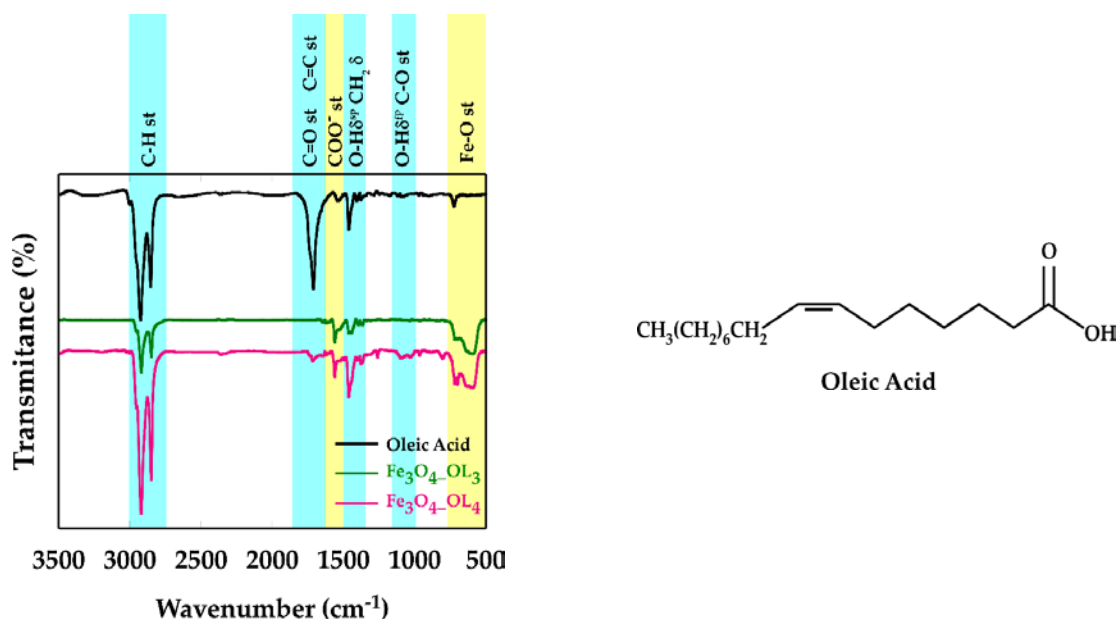


Figure 3.20 Infrared spectra of oleic acid and the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ samples in the left. The structure of the oleic acid is shown on the right side.

In the spectrum for the oleic acid as in both spectra of the nanoparticles functionalized with this ligand, appears the characteristic alkyl bands in the high-frequency region (3000 – 2800 cm⁻¹). Thus, the symmetric (ν_s CH₂) and asymmetric (ν_{as} CH₂) stretching vibrations (*st*) of the C-H bond of the methylene groups at 2920 and 2850 cm⁻¹ as is described in the literature^[109]. In addition, the vibration o signal of the methylene groups

in scissor geometry (CH₂δ) also appears at 1464 cm⁻¹ in all samples^[110]. As the oleic acid is bonded to the nanoparticle surface, in the region 1800-1400 cm⁻¹ it could be find the coordination bonds between the iron atoms on the nanoparticle surface and oleic acid ligand^[111,112]. As it could be seen in Figure 3.20, the carboxylic acid group of oleic acid present an asymmetric stretching singlet ($\nu_{C=O}$) at 1713 cm⁻¹, but when this is coordinated to the nanoparticle surface iron atom this band is shifted to lower frequencies presenting a carbonyl antisymmetric band ($\nu_{as} COO$) at 1560 cm⁻¹ with an associated symmetric band ($\nu_s COO$) at 1464 cm⁻¹^[109,111]. In addition, the broad band at 600 cm⁻¹ is the characteristic Fe-O bond stress vibration of the magnetite^[113]. As previously mentioned, the main objective of this chapter is to create biocompatible and water dispersible nanosystems for their subsequent use in biomedical applications. Thus, nanoparticles were transferred to water with different ligands (PMA-DDA, PMA-DDA-PEG, PMA-EM102 and PMA-DDA-EM102-PEG) previously presented. In order to verify the presence of these ligands on the surface of the nanoparticles, samples of Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ transferred to water with mentioned ligands were studied. It should be noted that it was particularly difficult to measure the water-transferred samples because, although they were dried, the presence of water made difficult to record clear spectra with high intensities. Figure 3.21 shows the spectra of the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles functionalised with the PMA-DDA co-polymer.

In the spectrum for the PMA-DDA copolymer in Figure 3.21, in comparison to the spectra obtained for the nanoparticle samples, the presence of the 3283 cm⁻¹ band corresponding to the N-H stretching of the secondary amines is observed^[114]. At the same time, the characteristic band of $\nu_{C=O}$ stretching of the maleic anhydrous rings can also be observed at 1795 cm⁻¹^[114,115]. This band disappears in the following samples, due to the opening of the ring because of the hydrolysis of the sample creating carboxylic acids or the -CONH- bonds with the dodecylamine molecules. As previously mentioned, these carboxyl groups present an asymmetric stretching singlet ($\nu_{C=O}$) at 1570 cm⁻¹ together with symmetric band ($\nu_s COO$) at 1466 cm⁻¹^[114].

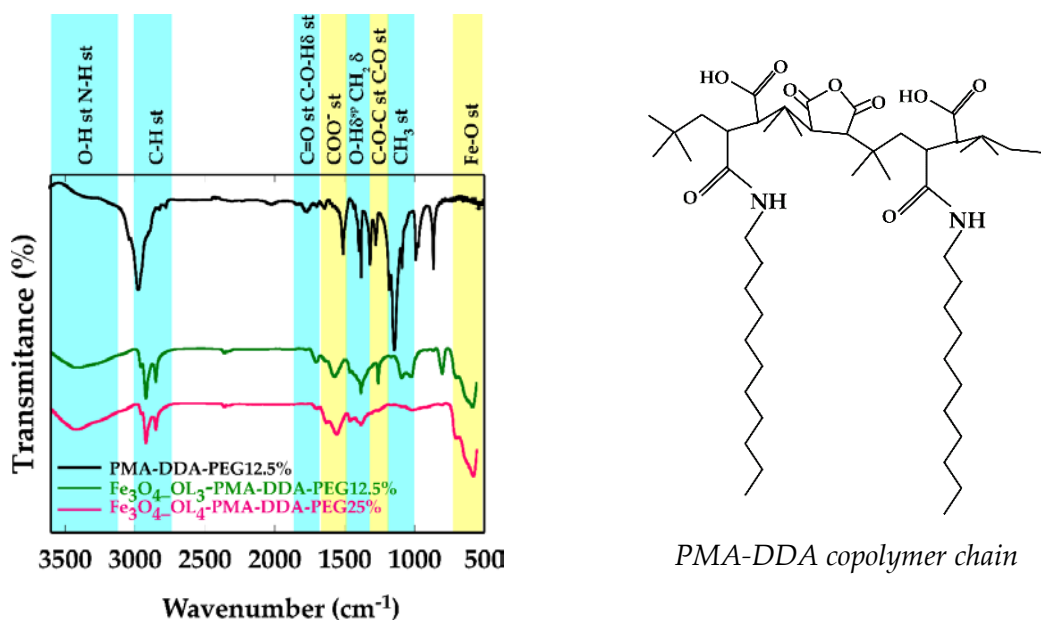


Figure 3.21 Infrared spectra of PMA-DDA co-polymer and the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA and Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA samples in the left. The structure of the PMA-DDA co-polymer is shown on the right side.

In this case, previously mentioned amine bond (ν C-N) created between the primary amine of the dodecylamine with a carboxyl group derived from the maleic anhydrous ring opening is observed around 1300 cm⁻¹ [116]. Finally, due to the presence of long aliphatic chains, is observed at band at 1000 cm⁻¹ corresponding to the skeletal stretching vibration of C-C [116].

Samples with the PMA-DDA-PEG ligand were also analysed. Figure 3.22 shows the spectra obtained for both the PMA-DDA-PEG ligand and the PMA-DDA-PEG functionalised nanoparticles.

As could be seen in Figure 3.21, the PMA-DDA-PEG and PMA-DDA ligands have shown different spectra due to the addition of 5kDa PEG molecules to the co-polymer. On this time, the PMA-DDA-PEG ligand spectra in Figure 3.22 show a broad absorption band in the region 3500-3000 cm⁻¹, corresponding to the stretching vibrations of hydroxyl groups [114,117]. The bands around 1260 cm⁻¹ are related to the asymmetric stretching vibration of ν C-O and C-O-C bands of ester groups of the PEG [118,119]. As it could be seen in the Figure 3.22, the intensity of the main peaks of PEG are not very visible in Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-12.5% and Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-25% nanoparticles samples, due to the low content of this compound in the surface of nanoparticle.

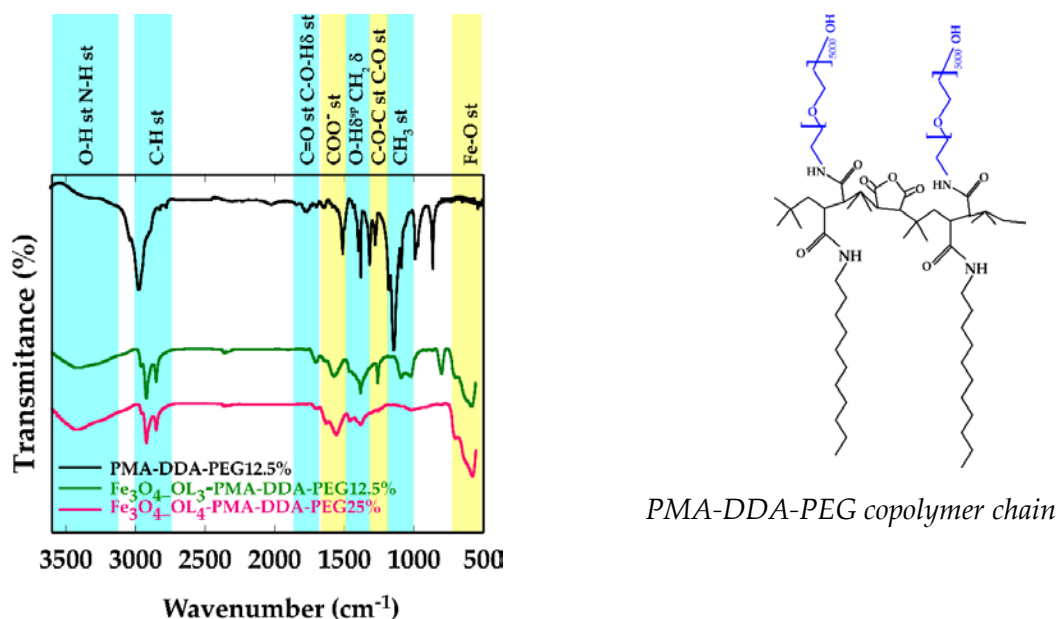


Figure 3.22 Infrared spectra of PMA-DDA-PEG12.5% co-polymer and the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-12.5% and Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-25% samples in the left. The structure of the PMA-DDA-PEG% co-polymer is shown on the right side.

Once copolymers PMA-DDA and PMA-DDA-PEG were analysed and compared with nanoparticles functionalized with those polymers, PMA-DDA and PMA-DDA-PEG copolymers were modified with the drugs EM71 and EM102. As it was explained in the section 3.3.2, samples prepared with EM71 drug were discarded due to the apparently drug loss in the cleaning step. The spectra for the drug and drug-functionalised copolymers (PMA-DDA-EM102 and PMA-DDA-EM102-PEG12.5%) and nanoparticles functionalized with these copolymers are shown in Figure 3.23 and Figure 3.24.

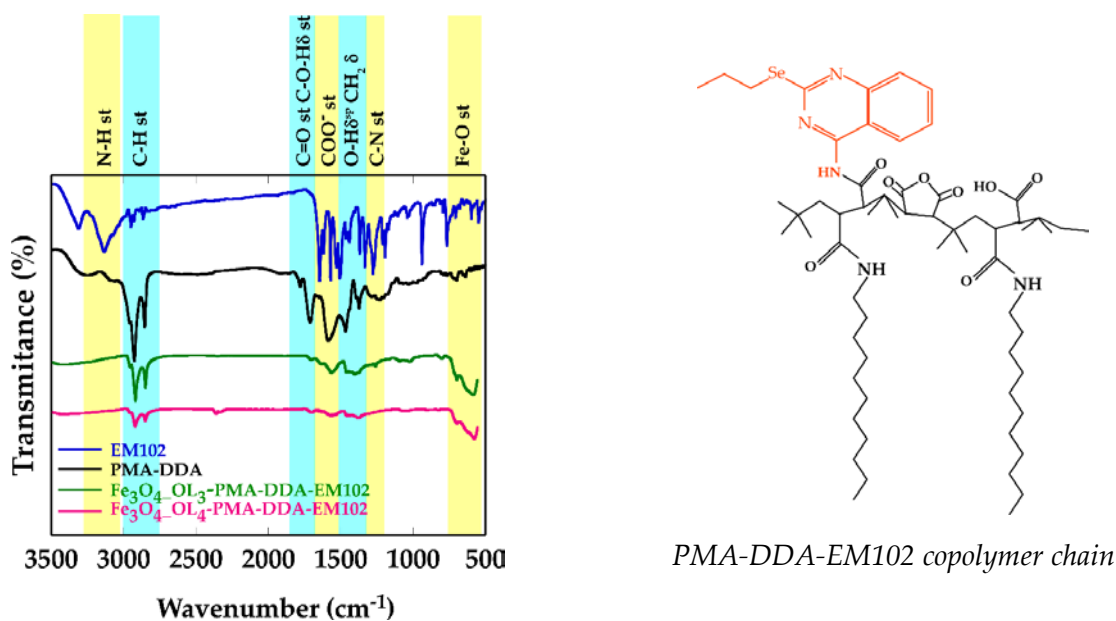


Figure 3.23 Infrared spectra of drug EM102, PMA-DDA-EM102 co-polymer and the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-12.5% and Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-25% samples in the left. The structure of the PMA-DDA-PEG co-polymer is shown on the right side.

As could be seen in Figure 3.23 the recorded spectra for EM102 drug present the characteristic C=C and C=N stretching bands at 1645 cm⁻¹ and aromatic C-H stretching band at 3141 cm⁻¹[120]. However, no one of these bands appear in the spectrum recorded for synthesized PMA-DDA-EM102 and PMA-DDA-EM102-PEG co-polymers neither in the nanoparticle samples functionalized with those copolymers.

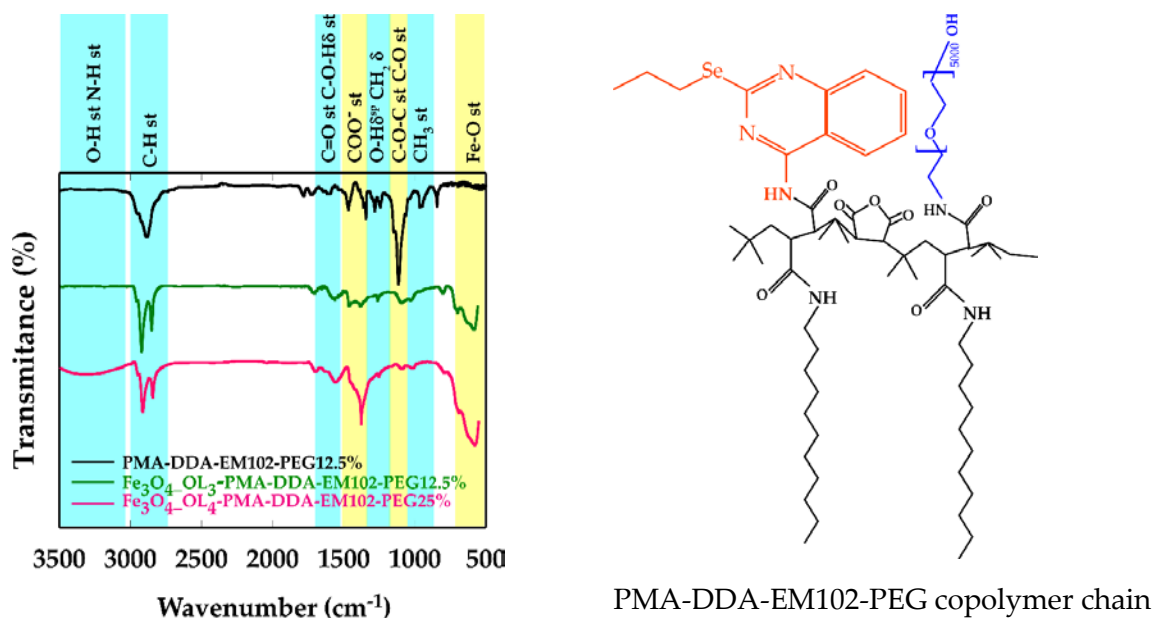


Figure 3.24 Infrared spectra of PMA-DDA-EM102-PEG12.5% co-polymer and the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-EM102-PEG12.5% and Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-EM102-PEG25% samples in the left. The structure of the PMA-DDA-EM102-PEG co-polymer chain fraction is shown on the right side.

The presence of previously mentioned asymmetric stretching singlet ($\nu_{C=O}$) together with carbonyl antisymmetric band ($\nu_{as} COO$) and associated symmetric band ($\nu_s COO$) could be masking the possible appearance of C=C and C=N stretching bands. In addition, the low quantity of drug (5% of mmol percent of PMA) incorporated to the PMA-DDA copolymer chains made difficult the detection of this drug in prepared samples.

In this way, it should be necessary the use of other characterization technics to detect and quantify the presence of EM102 drug in prepared nanosystems.

3.4.3.3 Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP - AES).

The prepared samples were analysed by ICP - AES to detect the presence of the drugs in the synthesized nanosystems. The fact that the drugs contain selenium atoms, enables the quantification of the number of drug molecules per nanoparticle in prepared samples. Furthermore, this technique gave the opportunity to compare the two different functionalization protocols used for nanosystem preparation.

To perform this analysis for each sample, 20 μ L of functionalized nanoparticles were introduced in 2 mL eppendorf and 180 μ L of aqua regia were added obtaining a black-yellow colour solution. To provide the whole digestion of the nanosystems, the digestion solution was left at 70°C in a water bath for 30-60 minutes. Once the digestion of the solution took place an orange solution was obtained. Finally, this orange solution was dissolved in 25 mL of distilled water. Then, the samples were analysed in the Analysis Service of the UPV/EHU Service of General Central Analysis Service of the UPV/EHU located in Leioa, Bizkaia. Those sample analyses were carried out as is explained in Appendix A.1. The experimental results obtained by ICP - AES and calculated selenium-drug molecule per nanoparticle for nanosystems prepared using the first functionalization protocol are shown in Table 3.14.

As can be seen in the Table 3.14, all the prepared samples show selenium values. The detection limit of selenium used in this analysis was 200 ng_{Se} mL⁻¹, therefore, data below this value have not been considered. It should be notice that the results obtained for selenium compound functionalized Fe₃O₄_OL₃ nanoparticles are better than ones obtained for Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles. The nanosystems functionalized with EM102 drug have between 2 and 12 molecules per nanoparticle, while the functionalization performed with EM71 drug containing copolymers has not shown any evidence of the presence of the drug.

Table 3.14 ICP - AES results obtained for the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles functionalized with EM71 and EM102 drug linked copolymers.

Sample	ng _{Fe} /L	ng _{Se} /L	Molec/NP
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-DDA	368000	270	4
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG12.5%	661000	140	1
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM71	601000	130	1
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM71-PEG12.5%	728000	200	2
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM102	310000	680	12
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM102-PEG12.5%	556000	360	4
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-DDA	279000	80	1
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG25%	635000	100	1
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM71	600000	150	1
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM71-PEG25%	416000	70	1
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM102	568000	840	6
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM102-PEG25%	370000	170	2

Even it was tried to perform the second functionalization experiment of nanoparticles with both drug nanosystems, it must be pointed that the experiments carried out with EM71 linked copolymers were unsuccessful. In consequence, since EM71 appears not to have been correctly linked to the PMA-DDA copolymer, it was decided to repeat only the synthesis of the functionalized nanosystems with EM102 drug linked co-polymer. On this time, the protocol used for the functionalization was the second one described in previous 3.3.2.c section, where copolymer was directly dispersed in 5 mL of chloroform and nanoparticles were directly added to this solution.

In this case, the samples were analysed in the Analysis Service of the UPV/EHU located in Vitoria-Gasteiz with a higher detection limit (0.1 ng_{Se}mL⁻¹) ICP-AES. As could be seen in table 3.15, the obtained results for this experiment were better than ones obtained for the first one.

Table 3.15 ICP-AES results obtained for the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles functionalized with EM102 drug linked copolymer.

Sample	ngFe/mL	ngSe/mL	Molec/NP
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-DDA	3987	< 0.1	-
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-PEG12.5%	3505	< 0.1	-
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM102	4971	33	349
Fe ₃ O ₄ _OL ₃ -PMA-EM102-PEG12.5%	4613	10.8	123
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-DDA	3676	< 0.1	-
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-PEG25%	3835	< 0.1	-
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM102	4162	6.8	63
Fe ₃ O ₄ _OL ₄ -PMA-EM102-PEG25%	5084	20.5	154

Thus, samples synthesised with the Fe₃O₄_OL₃ nanoparticles have shown higher amount of drug molecules, 123 to 349 selenium molecules per nanoparticle, than previously prepared ones. The same behaviour was observed for the nanosystems prepared with Fe₃O₄_OL₃, which presented 63 to 154 selenium molecules per nanoparticle.

In view of the results obtained, it can be said that the smaller nanoparticles seem to have functionalised better than the larger nanoparticles. This difference in the presence of drug may be related to the lower number of organic ligands on the surface of the Fe₃O₄_OL₄ sample compared to the Fe₃O₄_OL₃ sample. In fact, a lower number of oleic acid ligands on the surface means that the possibility of creating multi-point bonds by hydrophobic interactions between aliphatic chains is lower, and consequently, the functionalisation has a lower number of polymeric ligands^[121,122].

3.4.3.4 Dynamic Light Diffusion (DLS)

After analysing the content of drugs in the prepared nanosystems, the change in size derived from the polymeric layer addition together with the stability of the samples in aqueous and saline medium was analysed. Indeed, the level of agglomeration of the systems and their stability are very important factors in nanosystems for their use in biological environments, as they can be toxic and non-biocompatible^[123,124]. Therefore, it is important to develop an individualised functionalisation of the nanoparticles, while their surface charge allows good stability in physiological media. It should be pointed out that, the samples presented in this section have been functionalized using the second functionalization protocol mentioned in section 3.3.2.c.

One of the consequences of the functionalisation of the surface by means of organic molecules is the increase in the effective diameter of the NPs, which would then include the thickness of the organic layers. This new diameter is defined as the hydrodynamic diameter and is characterised by specific techniques, such as Dynamic Light Scattering (DLS), which determines the diffusion of the particle in solution. The hydrodynamic radius of the aqueous dispersions was measured in the Zetasizer Nano S (Malvern) and the software used to collect the data was Zetasizer Software 7.11 (Malvern). The measurements were made at a controlled temperature of 25 °C after equilibrium duration of 3 min. For each sample, 10 runs of 10 s were performed, with three repetitions for all samples. The distribution of intensities that is the direct result of the

measurement was used. Samples with the drug EM71 were not measured because of the low content of the drug in the nanosystems.

According to literature the type of polymer coating carried out with the DDA-modified PMA should produce an increase of 10 nm in the initial particle diameter^[125]. The inorganic size obtained by TEM for the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ samples before coating are 13 ± 1 and 18 ± 2 nm, respectively and, the theoretical contribution of the added polymer can be estimated as 24 and 32 nm, respectively. Figure 3.25 shows the size distributions obtained for 0.05 mg_{Fe₃O₄}mL⁻¹ aqueous dispersion of Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ samples functionalized with PMA-DDA and PMA-DDA-PEG ligands in distilled water (pH 7) and in phosphate-buffered saline water solution (PBS 1:10 water volume) buffer.

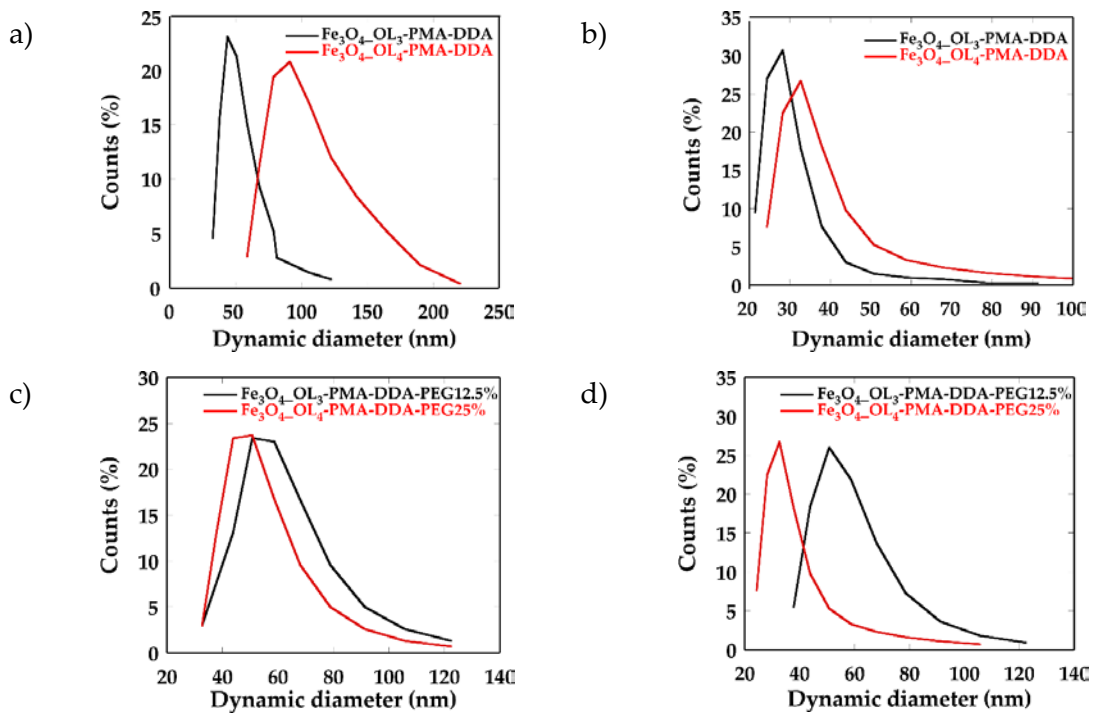


Figure 3.25. Distribution of the hydrodynamic diameter obtained by DLS for the Fe₃O₄_OL₃_PMA_DDA, Fe₃O₄_OL₄_PMA_DDA, Fe₃O₄_OL₃_PMA_DDA-PEG12.5% and Fe₃O₄_OL₄_PMA_DDA-PEG25% samples in (a and c) water and (b and d) PBS dispersion.

As could be seen in Figure 3.25, the different size obtained for the same samples dispersed in different media is evident due to the broadness of the illustrated peaks are narrower in PBS media. A summary of hydrodynamic diameters obtained for the analysed samples are shown in Table 3.16.

Table 3.16. Hydrodynamic diameters obtained for Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles functionalized with PMA-DDA, PMA-DDA-PEG, PMA-DDA-EM102 and PMA-DDA-EM102-PEG ligands in distilled water and PBS (1:10) water solution and Z potential (P_z) in water.

Co-polymer	Fe ₃ O ₄ _OL ₃			Fe ₃ O ₄ _OL ₄		
	D _{water} (nm)	P _z (mV)	D _{PBS} (nm)	D _{water} (nm)	P _z (mV)	D _{PBS} (nm)
PMA-DDA	52(19)	-49	36(6)	100(29)	-50	71(30)
PMA-DDA-PEG	54(6)	-41	58(1)	62(17)	-43	46(19)
PMA-DDA-EM102	34(14)	-50	32(7)	48(8)	-51	45(2)
PMA-DDA-EM102-PEG	55(8)	-45	49(12)	73(15)	-47	45(18)

Thus, the hydrodynamic size obtained for nanoparticles functionalized with the drug-free ligands have been generally superior to the theoretical ones. In the case of the Fe₃O₄_OL₃ nanoparticles, they have shown hydrodynamic sizes close to 50 nm in distilled water, while the results obtained for the Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles have been superior. This shows that the nanoparticles have been able to agglomerate in the coating process, several of them being functionalised at the same time. One of the principal reasons of the Fe₃O₄_OL₄ sample agglomeration could be derived to the lack of oleic acid coating. As was explained in the section 3.4.1.1, the Fe₃O₄_OL₄ nanoparticle sample have a 10% of organic matter content. In consequence, nanoparticles of the stock solution could have been agglomerated due to the possible dipolar interactions between nanoparticles. Nevertheless, the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA sample in PBS medium is the only sample among the all analysed samples that has shown similar size (36 nm) to that theoretically mentioned above (32 nm).

With the aim to determinate if the addition of the drug to the previously mentioned DDA-a modified PMA copolymer have a significant influence on the hydrodynamic diameter of the nanosystems, EM102 and amine-PEG modified PMA-DDA copolymer functionalized samples were analysed. Obtained results for those samples are shown in Figure 3.26.

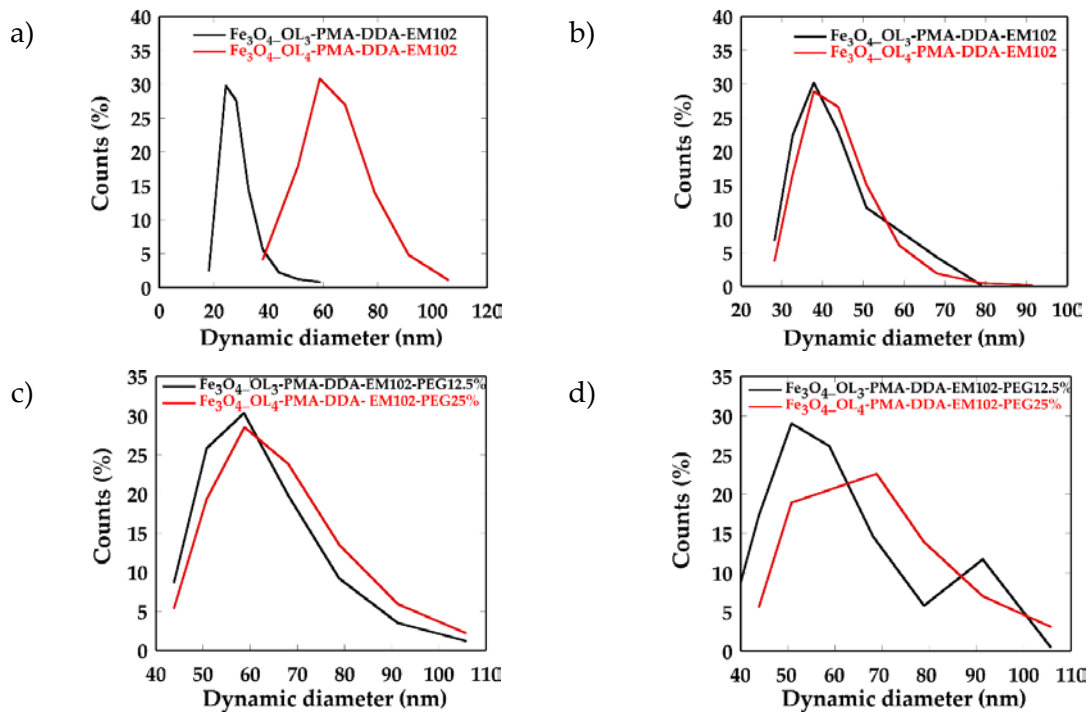


Figure 3.26 Distribution of the hydrodynamic diameter obtained by DLS for Fe₃O₄_OL₃_PMA_EM102-PEG12.5% and Fe₃O₄_OL₄_PMA_EM102-PEG25% samples.

On this time, nanoparticles functionalized with EM102 drug modified PMA-DDA copolymer with and without PEG showed smaller diameters of previously analysed samples. It seems that the incorporation of the EM102 molecule to the PMA-DDA ligand has allowed to obtain a more individualised coating of the nanoparticles. However, this incorporation in the ligands to which PEG has been added does not seem to have a great influence since the hydrodynamic diameters obtained for these samples are similar to the drug-free nanosystems.

In fact, the size difference between both media could be due to the ionic strength of PBS^[126,127]. As shown in Table 3.16, all the samples show potentials between -50 and -43 mV due to the excess of negative charges originated from the non-bonded acidic groups of the PMA. These values are in good agreement with those obtained for other carboxylated samples shown in literature^[128–130]. Thus, the presence of PEG or drug in functionalization co-polymers apparently not have a direct influence on the size and the zeta potential of samples. Thus, when the nanosystems are in a neutral medium (pH = 6-7) without the presence of ionic species as in PBS (pH = 7-8), the electrostatic repulsive forces between nanoparticles decrease and the samples seem to be more agglomerate^[131], especially in the case of the samples synthesised with Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles.

3.4.3.5 Magnetic Hyperthermia.

Considering the versatility of these magnetic systems to be applied in magnetic hyperthermia, in this section the heating power of the nanoparticles, also named as specific absorption rate (SAR) is addressed. In this sense, a measurement of the dynamic magnetization $M(t)$ was performed, and next equation was used to obtain the SAR value of the sample:

$$SAR \left(\frac{W}{g_{NP}} \right) = -\frac{f}{c} \mu_0 \oint M(t) \cdot dH \quad (3.4)$$

where f is the magnetic field frequency, c the nanoparticle mass concentration in the sample, μ_0 vacuum permeability and dH applied magnetic field strength. To standardize the results and compare them with others in bibliography, it is convenient to present the SAR in units of W/g_{NP}. This value is achieved directly by knowing the density (ρ) of the dispersed material and its concentration as could be seen in the previous equation 3.4.

In this way, the Fe₃O₄_OL₄ sample, with high magnetic saturation and preferentially ferromagnetic character, was measured to test for application in magnetic hyperthermia. Hyperthermia measurements have been performed by alternating magnetic field (AMF) magnetometry in a homemade device described by E. Garaio et al [REF]. This device consists of an air-core inductor part of a resonant circuit fed by a power amplifier. The dynamic magnetization, $M(t)$, is obtained by a pick-up coil system composed of two coils wound in opposite directions. These measurements have been carried out in PMA-DDA-PEG coated NPs dispersed in distilled water with a mass concentration $c \sim 1$ mg/mL in a solution volume of 0.15 mL. The dynamic hysteresis loops were measured at room temperature (25 °C) at selected frequencies of 133 and 305 kHz, and with an applied magnetic field ranging from 0 to 90 mT. Figure 3.27 shows the SAR values of the sample Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-PEG25% in water dispersion.

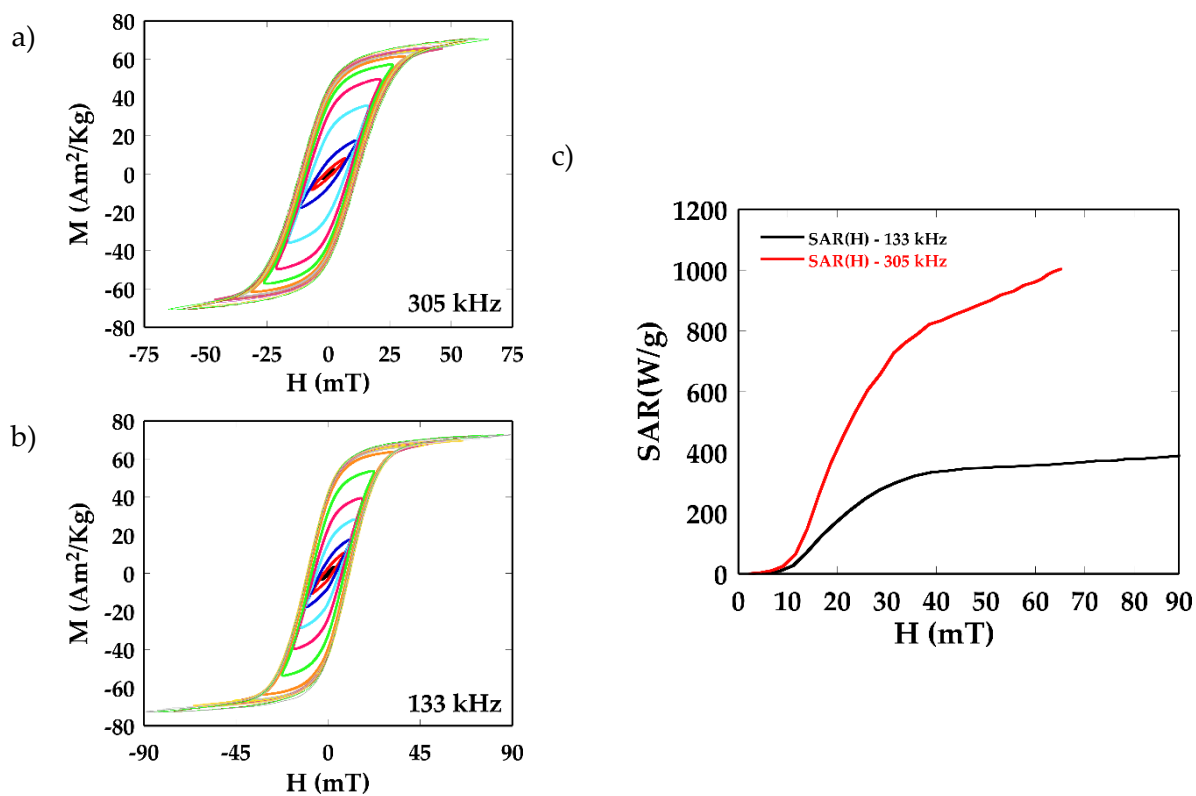


Figure 3.27 AC hysteresis loops at (a) 305 kHz and (b) 133 kHz and (c) experimental SAR versus field curves of sample Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-PEG-25%.

It is observed that the power absorption increases non-linearly with the magnetic field amplitude, being observed differences between both frequencies, from SAR values of approximately 386 W/g_{NP} at 133 kHz to a maximum of 1002 W/g_{NP} at 305 kHz. In the case of the sample measured at lower frequencies, a tendency towards saturation is observed from 40 mT fields onwards.

If obtained values are compared with those previously published by other authors measured in similar conditions, higher (1002 W/g_{NP} at 305 kHz) SAR values are obtained for nanoparticles with similar^[132] or larger^[50] sizes. In addition, polyvinylpyrrolidone functionalized nanoparticles analysed by P.J. Sugumaran et al., has presented lower SAR values, exactly 495 W/g_{NP} (34 mT and 400 kHz) ^[133]. The same occurred in the paper published by X. L. Liu et al., where different weight PEG molecules were used to functionalize 19 nm iron(III) oxide nanoparticles. On this time, the SAR value analysed for the different nanosystems decrease from 709 to 385 W/g_{NP} (34mT and 400 kHz) when the PEG weight increases from 2000 to 20000 kDa^[134]. In consequence, the functionalization shell could have direct effect on the heating capacity of samples. It was demonstrated by P. Seal et al., that studied the heat properties of PEG and amine

functionalized Fe₃O₄ nanoparticles decorated multiwall carbon nanotubes. In their study, they obtain better hyperthermia heating results for not functionalized Fe₃O₄ nanoparticles samples than for functionalized nanosystems at low magnetic fields (13 mT and 336 kHz)^[135]. In contrast, the sample measured at higher magnetic field (19 mT) using the same frequency, showed the opposite tendency. So, they obtain better SAR values for functionalized nanosystems. This behaviour could be related to the change of relaxation process (both Brownian and Néel relaxations) of the nanosystems, which could be improved by nanoparticle functionalization^[136]. In this way, the isolation of nanoparticles by functionalization strategies has been probed that improves SAR values of nanoparticles^[50,134,136].

Even the size obtained in DSL measurements for the sample Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-PEG25% is larger than expected, the obtained SAR values shows good properties to be applied in magnetic hyperthermia experiments. Colloidal clusters composed of several magnetic nanoparticles show higher heating potential under magnetic hyperthermia than systems formed by isolated nanoparticles^[137,138]. Thus, it is concluded that dipolar interactions between cluster particles can enhance heating when creating structures with high anisotropy, such as chains^[139]. B. Mehdaoui et al. showed that dipolar interactions between magnetic nanoparticles can improve the heating performance due to the generation of additional uniaxial magnetic anisotropy. This heating improvement is derived from the structure between the nanoparticles, which is favoured by the lower individual anisotropy of the particles^[137]. Likewise, L.C Branquinho et al. explained that the optimal individual anisotropy could be shifted towards lower values when dipolar interactions increase the effective magnetic anisotropy of the chain clusters^[140]. Thus, it can be assumed that nanoparticles functionalised with the PMA-DDA-PEG25% polymer could give rise to clusters or small chains, which would improve the magnetic response and, in conclusion, the SAR value.

3.5 In vitro experiments of EM102 functionalized nanosystems.

After performing the characterization of the prepared nanosystems, their efficacy as drug carriers in colon cancer cells, specifically in HCT116 cell line (ATCC, American Type Culture Collection), was analyzed by means of the colorimetric MTT assay to assess the metabolic activity of cells. The assay relies on the reduction of the MTT tetrazolium salt (3-(4,5-dimethylthazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium), which is performed by

mitochondrial dehydrogenase from viable cells to produce a blue-colored product^[141]. The more intensity of the color observed, the better viability of the cells, suggesting that the metabolism mechanism of the cells is still active. Consequently, the percentage of cells that have survived during the assay is calculated as a function of the intensity of colorimetry measured by ultraviolet spectroscopy. Due to the relative accuracy, speed and simplicity of the MTT assay, this type of test is frequently used in cytotoxicity studies^[142-144]. Furthermore, due to the large number of tests that can be performed in each test time, it is very cost-effective.

To develop the MTT assay, 7000 cells were seeded using a standard 96-well plate. After 24 h of incubation in a humidified atmosphere containing 5% CO₂, the medium was replaced with new medium containing 5 different concentrations of 8 different samples (0 – 525 µg·mL⁻¹). After 24 h, the medium was replaced with fresh medium containing MTT dye solution to a final concentration of 0.5 mg·mL⁻¹ in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM). After 4 h of incubation at 37 °C and 5% CO₂, the medium was eliminated and water-insoluble formazan was dissolved in 100 µL of dimethyl sulfoxide (DMSO). The absorbance was read on a microplate reader (Thermo Scientific Multiskan GO UV/Vis Microplate) at 570 nm located in the Biochemistry and Molecular Biology department of Health Science Faculty of the Public University of Navarre. The relative cell viability (%) related to negative control wells containing cells without nanoparticles was calculated by the next equation:

$$\frac{[A]_{\text{test}}}{[A]_{\text{control}}} * 100 \quad (3.5)$$

The results obtained for performed MTT assay are presented in Figure 3.28.

In fact, both Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles do not show significant cytotoxicity up to concentrations of 175 µg_{NP} mL⁻¹ where the drug concentration in sample is 645 nM for the sample Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-EM102 and 700 nM for the sample Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-EM102-PEG.

On the one hand, in the Fe₃O₄_OL₃ derived samples, the Fe₃O₄_OL₃_PMA-DDA-EM102 sample starts to show a significant toxicity at the concentration of 175 µg_{NP} mL⁻¹. In this sense, the most concentrated samples (175 µg_{NP} mL⁻¹) have shown the highest toxicity. Thus, the Fe₃O₄_OL₃_PMA-DDA-EM102 sample shows a 9% lower cell proliferation than the Fe₃O₄_OL₃_PMA-DDA sample when the nanoparticle concentration used is 525 µg mL⁻¹. This toxicity is due to the presence of the drug and

not to the nanoparticle, since as can be seen in Figure 3.28 the nanoparticles only functionalised with the PMA-DDA copolymer show lower toxicity in the medium than PMA-DDA-EM102 functionalized sample.

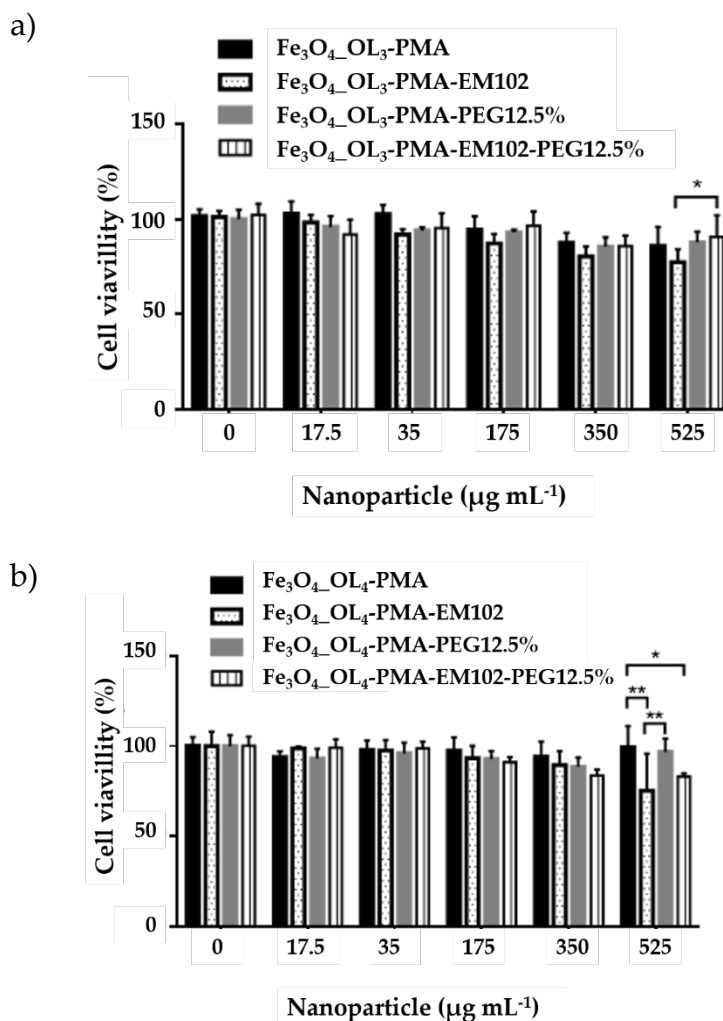


Figure 3.28. Cytotoxicity experiment for (a) Fe₃O₄_OL₃ and (b) Fe₃O₄_OL₄ samples functionalized with PMA-DDA, PMA-DDA-EM102, PMA-DDA-PEG% and PMA-DDA-EM102-PEG% co-polymers at different nanoparticle concentrations in HTC 116 cells.

At the same time, the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-PEG12.5% sample functionalised with polyethylene glycol (PEG) and the Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA-EM102-PEG12.5% sample with drug seem to show the same toxicity. Although the presence of PEG on the surface of a nanoparticle could mask the surface charge of the nanosystem creating a hydrophilic^[36], some authors think that the presence of PEG could also reduce the drug uptake by cells^[145,146]. In this sense, taking into account the aforementioned bibliography, it can be thought that the lower efficacy of the PEG-modified nanosystems is due to a lower contact of the drug with the cells derived to the presence of the PEG chains.

On the other hand, the Fe₃O₄_OL₄ samples have shown the same trend as the Fe₃O₄_OL₃ samples. It should be pointed that in the experiment performed with Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles, the EM102 drug concentration is higher than in the Fe₃O₄_OL₃ nanoparticle experiment, being 770 nM for Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-EM102 and 840 nM for Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-EM102-PEG25%. In this sense, the Fe₃O₄_OL₄ samples have also showed the highest toxicity at 525 µgNP mL⁻¹.

As in the experiment performed with Fe₃O₄_OL₃ nanosystems, the toxicity is derived from the presence of the EM102 drug in the coating, since the Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA and Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-PEG25% samples without drug did not show high cytotoxicity. In fact, a 28% lower cell proliferation has been observed for Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-EM102 sample in the assay performed with a concentration of 525 µg mL⁻¹.

However, unlike in the experiment performed with the Fe₃O₄_OL₃ PMA-DDA-EM102-PEG25% nanoparticles, the sample Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-EM102-PEG25% showed greater toxicity in the medium. In this case, the cytotoxicity is also attributed to the presence of the drug, because the Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-PEG25% sample without drug have shown lower toxicity values.

Similar studies for this type of drug in other cell lines have shown that selenium-based compounds can prevent the proliferation of cancer cells^[147-149]. For example, experiments performed by M. Etxebeste-Mitxeltoarena et al. showed that 12 drugs based on selenium compounds reduced the cell proliferation up to the 50% by using 10 µM concentrations of drugs for the HT29 colon cancer cell line^[2]. Similarly, L. Schröterová et al. based on the use of selenium compounds, demonstrated a 50% reduction in cell proliferation in colon lines (HT29) using drug concentrations between 64 µM and 256 µM^[150]. Thus, given the large difference in drug concentration between the two studies and taking into account the results of the present investigation, it can be concluded that the developed nanosystems show promising results for future application as drug release agents. Therefore, it is expected that, by increasing the amount of drug in the nanosystems, without reaching the previously mentioned concentrations such as 10 µM or 64 µM, the results could be improved, reaching a higher efficacy with a lower amount of drug.

3.7 In vivo experiments with nanoparticle functionalized microspheres.

The so-called '*in vivo*' or animal models are very useful experimental systems since they allow the application of analysis techniques that cannot be used in humans beings for ethical reasons^[151]. Furthermore, these models provide information that cannot be obtained by '*in vitro*' experiments, where the results barely reproduce processes taking place in the organism as a whole^[152]. The use of animals also allows the characterization of chemical risks and it is an essential step to comply with legal requirements. In pharmacological research, tests on laboratory animals are essential for the search and application of possible therapies aimed at both the prevention and treatment of diseases^[153,154]. These tests, once performed, allow measuring the efficacy and safety of a certain product, whether of synthetic or natural origin, in different pathologies.

Thus, the aim of this study is to analyse the efficacy of the microspheres to transport magnetic nanoparticles to the surrounding tissue of tumours implants in rats which previously developed colo-rectal cancer liver metastases. For this purpose, infusion of Embozene TANDEM™ microspheres superficially decorated with magnetic nanoparticles to different rats and subsequent exposure to a radiofrequency inductor have been performed.

3.5.1.1 Experimental procedure.

The study was carried out in male WAG rats, four months old and weighing approximately 300 grams, following the protocol approved by the Ethics Committee for Animal Welfare (CEEA) of the University of the Basque Country/Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU: ref. No. CEBA/407/2015 and M20/2016/023. To induce colo-rectal tumours in the liver of the animals, the animals were placed in supine position under isoflurane anaesthesia and 0.05 mL of Hank's solution containing syngeneic colon adenocarcinoma cells ($0.5 \cdot 10^6$ cells/mL) (cell line: CC-531) were inoculated into the left hepatic lobe by subcapsular injection with a 27G needle.

During tumour growth, areas of tissue necrosis appear within the implants; the size of which correlates directly with tumour volume. These foci of necrosis are indistinguishable from those induced by hyperthermia or any other treatment, so it is necessary to quantify the amount before treating the tumours. For this purpose, the ultrasound technique was used. Subsequently, nanoparticle solutions were infused in the animals that developed the tumours. In this sense, samples containing the Micro3

and Micro4 samples (Table 3.6) were dispersed in a 1/10 (v/v) solution of 10 mM PBS in distilled water until concentrations of around 1.5 mg/mL of iron.

The infusion of nanoparticles (Figure 3.33) into the liver was carried out in the Department of Surgery and Radiology and Physical Medicine of the Faculty of Medicine of the UPV/EHU. The injection was performed under diazepam (15mg/kg intraperitoneal), ketamine (80 mg/kg intraperitoneal) and medetomidine (0.5 mg/kg intraperitoneal) anaesthesia. Through a median laparotomy, a microcannula (0.014" OD) was inserted into the splenic artery through the hepatic artery (Figure 3.29), and a Yasargil microvascular clip was placed to stabilize it. Using an infusion pump, 1 mL of saline or magnetic fluid was infused. Once the microcannula was removed, a hemostatic gelatine sponge was firmly applied to the puncture site for five minutes. Without removing the hemostatic agent, the laparotomy was closed, and analgesics were administered: meloxicam (2 mg/kg subcutaneously) plus buprenorphine (0.05 mg/kg subcutaneously).

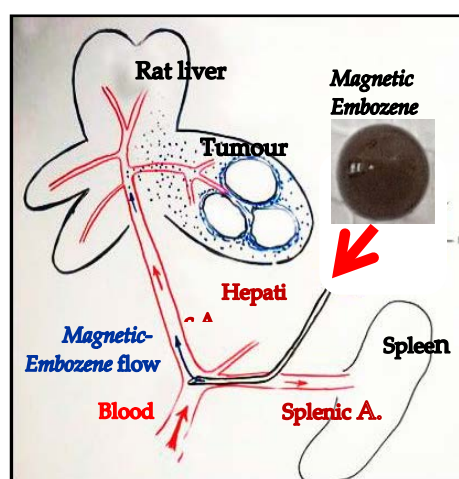


Figure 3.29. Scheme of the intra-arterial ferromagnetic fluid infusion process.

The different magnetic hyperthermia experiments were performed in an equipment specifically designed for small animals at the Department of Electricity and Electronics of the Faculty of Science and Technology of the UPV/EHU. Thus, under the same anaesthesia as indicated above, the animals were located into the radiofrequency inductor and a frequency of 606 kHz and an intensity of 14 kA/m for 21 minutes was applied. The temperature increase was recorded with three thermal probes: the first one was placed between the healthy liver lobes, the second one was placed within the tumour, and the last one was located in the rectum. A fourth probe checked the ambient

temperature into the inductor. In each of the experiments performed, two non-infused rats were used as controls.

Subsequently, 12 h after the magnetic hyperthermia experiment, the animals were scheduled for sacrifice. Liver and tumour samples were taken for the usual histological study and iron staining if necessary.

The main objective of this research was not to perform magnetic hyperthermia in tumours after direct infusion of the microspheres, but rather to transport these microspheres to the tumour area by intra-arterial injection. For the study of the distribution of the decorated Embozene TANDEM™ microspheres, histological studies were carried out by Perl's staining with Prussian blue, a pigment with a high content of potassium ferrocyanide. In this way, even in the organism iron can be found in both Fe(III) and Fe(II) forms, only the Fe(III) iron present in the tissue reacts with potassium ferrocyanide to give a bright blue ferric ferrocyanide complex. Thanks to that, it has been possible to detect the nanoparticle presence. Figure 3.30 shows histological sections with different iron deposits.

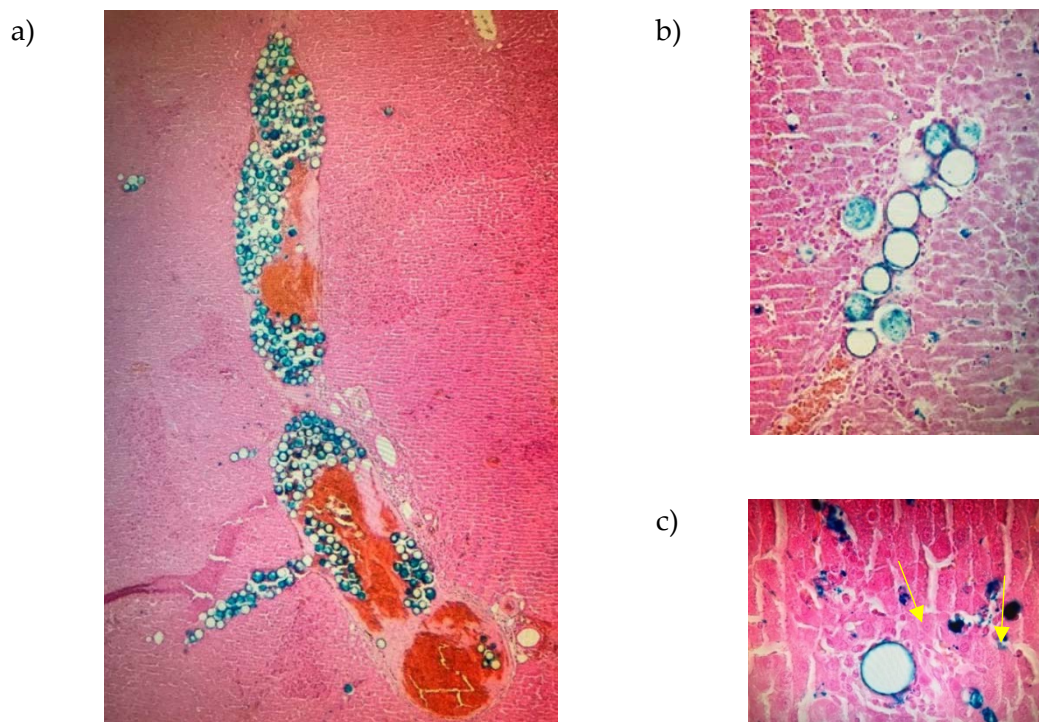


Figure 3.30. Distribution of magnetic nanoparticle functionalized Embozene TANDEM™ microspheres in hepatic tissue. (a, b) clusters of decorated microspheres in the hepatic artery and (c) iron(III) oxide nanoparticles in the sinusoids.

When analysing those animals non-receiving Embozene TANDEM™ microspheres, profuse homogeneous deposits of iron could be observed, as blue dots corresponding to Kupffer cells. However, as can be observed in Figure 3.30, in microspheres-receiving animals, clusters of microspheres appear in the hepatic arteries. Scattered deposits or iron(III) oxide nanoparticles (yellow arrows) are also observed in the sinusoids, around the vessels occluded by the spheres.

Among the results obtained, the rats used as controls had a temperature increase of 4 °C while the rats to which the ferrofluid formed by embolization microspheres and magnetic nanoparticles was introduced showed an increase of 8 °C what is shown the effectiveness of nanoparticles as inducers of hyperthermia

Concerning to the thermal changes observed after magnetic hyperthermia exposure, the temperature increase of ferrofluid-infused animals was two times higher than in the control group (saline-receiving animals) (8°C vs 4°C, respectively). These thermal changes are consistent with those observed in previous published papers on our research group^[54,155]. Although the presence of microspheres by themselves in the arterial system of the tumour could induce an apoptotic effect derived from the oxygen privatization, some studies have demonstrated that application of magnetic hyperthermia improves the obtained results^[156]. Furthermore, microspheres can be used as carrier for nanoparticles delivering without disturbing the thermal potential of the nanoparticles^[157-159]. This offers the possibility of using a combined therapy of thermal increase and pharmacological agents. Thus, the nanoparticle-decorated spheres, could, in an initial step, induce thermal increase in the tumour, sensing it to the chemotherapeutic agents that would be released from inside the microspheres at later stage.

Conclusions

In this chapter the synthesis, functionalisation, and characterisation of Fe₃O₄ nanoparticles have been performed to produce two new nanosystems for biomedical applications: arterial embolization hyperthermia agent and selenium-based drugs nanocarrier.

On the one hand, magnetite nanoparticles have been obtained by the seed-growth route. These nanoparticles have shown cuboctahedral morphology and sizes between 14 and 12 nm with high values (87-92 Am²/kg) of magnetic saturation. It has been observed that the morphology of the samples has a direct influence on the magnetic response of the samples, being related to the appearance of the Verwey transition in ZFC/FC measurements. Furthermore, it has been possible to functionalise these nanoparticles with CTAB positive ligands being necessary a minimal amount of 600 CTAB molecules per nm² to attach the nanoparticles to Embozene TANDEM™ microspheres. The resulting microsystems have been used in '*in vivo*' test. The main goal of this study was to analyse the stability of the prepared microsystems during the transport to the tumour area by intra-arterial injection. Furthermore, due to the magnetic properties of the nanoparticles deposited on the surface of the microsphere, it was possible to perform magnetic hyperthermia '*in vivo*' experiments. Thus, the temperature increment obtained in the hyperthermia assays puts in evidence the promising viability of assembled microsystems.

On the other hand, it has been possible to synthesise different nanoparticles through the thermal decomposition of iron(III) oleates, with sizes between 13 – 27 nm and cuboctahedral morphology. In this study, the direct influence of the benzyl ether and 1-octadecene solvents has been probed. Furthermore, the proportion of iron ions in the solution is directly related to the nanoparticle size obtained. In this sense, bigger nanoparticles have been obtained when the solvent quantity is lower. At the same time, it has been observed that the oleic acid concentration in the synthesis also has a direct influence on the size and shape of nanoparticles. Furthermore, although the synthesis temperature could also affect to the size and shape, the amount of oleic acid in the synthesis solution has a direct effect on nucleation and grow processes preventing the formation of specific morphology of nanoparticles.

In this context, high magnetic saturation values (92-68 Am²/Kg) have been obtained for most of the Fe₃O₄_OL_n samples. In this sense, the high saturation magnetization values obtained for Fe₃O₄_OL₁ and Fe₃O₄_OL₄ ferromagnetic samples are derived from the better stoichiometry of these nanoparticles since they have the highest Verwey transition temperature. The Fe₃O₄_OL₂ sample, even it has also presented this transition, the contribution of wüstite in the nanoparticle structure has derived to a lower magnetic saturation. At the same time, due to the surface effects present in small nanoparticles, the magnetic saturation value obtained for the sample Fe₃O₄_OL₃ has been lower than bulk magnetite. The heating power of Fe₃O₄_OL₄ was analysed and SAR values of 1002 W/g at 305 kHz have been recorded. Obtained values are a highly promising in the field of magnetic hyperthermia.

It has also been possible to explore obtaining these samples (Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL₄) coated with selenium-containing drugs modified PMA co-polymers in order to use them as drug carriers. As they have been used in biological media, the optimization of PEG quantity for each nanoparticle sample has been performed. Thus, the smaller nanoparticles have needed a lower percentage of PEG than the larger nanoparticles. Likewise, the incorporation of the drugs selected for this study has been a complex process. In the case of the EM71 drug, it was not possible to isolate the nanosystems in sufficient quantity to be used in subsequent in-vitro assays due to the loss of the drug during the cleaning process of functionalized nanoparticles. However, in the case of the EM102 drug, it was possible to obtain higher contents of drug immobilised on the surface of the nanoparticles and, consequently, the *in-vitro* study was focused on the samples prepared with this drug. In this way, nanosystems with 6 – 273 molecules were obtained. The hydrodynamic diameters obtained for all samples have been superior to those theoretically expected. In this sense, except for sample Fe₃O₄_OL₃-PMA-DDA that has shown a size of 32 nm, a possible agglomeration of nanoparticles could have occurred during the functionalization process. This agglomeration in the functionalised samples may be due to the low organic coating of the Fe₃O₄_OL₃ and Fe₃O₄_OL_a samples (10-12%). Since magnetic nanoparticles can have dipolar interactions with each other, this lack of coating may have caused agglomeration of the oleic acid-coated nanoparticles. In this way, they may be agglomerated when functionalisation is carried out and, consequently, obtain larger hydrodynamic diameters than expected.

Finally, the results obtained for the in-vitro tests carried out with the nanosystems conjugated with the EM102 drug have shown to be effective for the treatment of the HTC-116 cell line, being more representative in the case of the nanosystems with the Fe₃O₄_OL₄ nanoparticles functionalised with the PMA-DDA-EM102 ligand. Thus, it can be concluded that the presence of the PEG in both cases creates a protective layer on the drug that prevents contact with the cell, and consequently, reduces its effectiveness.

BIBLIOGRAPHY

1. Tartaj, P., Del Puerto Morales, M., Veintemillas-Verdaguer, S., González-Carreño, T. & Serna, C. J. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics* vol. 36 R182 (2003).
2. Etxebeste-Mitxeltoarena, M. *et al.* New Amides and Phosphoramidates Containing Selenium: Studies on Their Cytotoxicity and Antioxidant Activities in Breast Cancer. *Antioxidants* 2021, Vol. 10, Page 590 **10**, 590 (2021).
3. Radomska, D., Czarnomysy, R., Radomski, D. & Bielawski, K. Selenium Compounds as Novel Potential Anticancer Agents. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, Vol. 22, Page 1009 **22**, 1009 (2021).
4. T, K. *et al.* Preclinical evaluation of a novel polyphosphazene surface modified stent. *Int. J. Cardiol.* **222**, 217–225 (2016).
5. Wáng, Y. X. J., De Baere, T., Idée, J. M. & Ballet, S. Transcatheter embolization therapy in liver cancer: An update of clinical evidences. *Chinese J. Cancer Res.* **27**, 96–121 (2015).
6. Shah, R. R., Davis, T. P., Glover, A. L., Nikles, D. E. & Brazel, C. S. Impact of magnetic field parameters and iron oxide nanoparticle properties on heat generation for use in magnetic hyperthermia. *J. Magn. Magn. Mater.* **387**, 96–106 (2015).
7. Dadfar, S. M. *et al.* Size-isolation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles improves MRI, MPI and hyperthermia performance. *J. Nanobiotechnology* **18**, 1–13 (2020).
8. Moroz, P. *et al.* Arterial embolization hyperthermia: hepatic iron particle distribution and its potential determination by magnetic resonance imaging INSTITUTE OF PHYSICS PUBLISHING PHYSICS IN MEDICINE Arterial embolization hyperthermia: hepatic iron particle distribution and its potential determination by magnetic resonance imaging. *Biol. Phys. Med. Biol* **47**, 1591–1602 (2002).
9. Mitsumori, M. *et al.* Targeted hyperthermia using dextran magnetite complex: A new treatment modality for liver tumors. *Hepatogastroenterology.* **43**, 1431–1437 (1996).
10. Lai, H. Y., Wu, K. T., Liu, Y., Zeng, Z. F. & Zhang, B. Angiography and transcatheter arterial embolization for non-variceal gastrointestinal bleeding. *Scand. J. Gastroenterol.* 931–940 (2020) doi:10.1080/00365521.2020.1790650.
11. Corvino, F. *et al.* Safety and effectiveness of transcatheter embolization in the treatment of internal mammary artery injuries. *Radiol. Medica* **123**, 369–377 (2018).
12. Kafrouni, L. & Savadogo, O. Recent progress on magnetic nanoparticles for magnetic hyperthermia. *Prog. Biomater.* 2016 53 **5**, 147–160 (2016).
13. Périgo, E. A. *et al.* Fundamentals and advances in magnetic hyperthermia. *Appl. Phys. Rev.* **2**, 041302 (2015).
14. Liu, X. *et al.* Long-term result of transcatheter arterial embolization for liver hemangioma. *Medicine (Baltimore).* **96**, (2017).
15. Chatani, S. *et al.* Transcatheter Arterial Embolization for Postoperative Bleeding Following Abdominal Surgery. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* **41**, 1346–1355 (2018).
16. Zhao, L.-Y. *et al.* Magnetic-mediated hyperthermia for cancer treatment: Research progress and clinical trials. *Chinese Phys. B* **22**, 108104 (2013).
17. Wang, L., Dong, J., Ouyang, W., Wang, X. & Tang, J. Anticancer effect and feasibility study of hyperthermia treatment of pancreatic cancer using magnetic nanoparticles. *Oncol. Rep.* **27**, 719–726 (2012).
18. Granov, A. M., Tarazov, P. G. & Granov, D. A. Hepatic arterial embolization in the treatment of primary and metastatic liver cancer. *Vestn. Rentgenol. Radiol.* 34–38 (1996).
19. Granov, A. M., Muratov, O. V. & Frolov, V. F. Problems in the Local Hyperthermia of Inductively Heated Embolized Tissues. *Theor. Found. Chem. Eng.* 2002 361 **36**, 63–66 (2002).
20. Moroz, P., Jones, S. K. & Gray, B. N. Tumor response to arterial embolization hyperthermia and direct injection hyperthermia in a rabbit liver tumor model. *J. Surg. Oncol.* **80**, 149–156 (2002).
21. Renard, P. E. Le *et al.* Local moderate magnetically induced hyperthermia using an implant

- formed in situ in a mouse tumor model. <http://dx.doi.org/10.1080/02656730802713557> **25**, 229–239 (2009).
22. Gullotti, E. & Yeo, Y. Extracellularly Activated Nanocarriers: A New Paradigm of Tumor Targeted Drug Delivery. *Mol. Pharm.* **6**, 1041–1051 (2009).
 23. Scicluna, M. C. & Vella-Zarb, L. Evolution of Nanocarrier Drug-Delivery Systems and Recent Advancements in Covalent Organic Framework–Drug Systems. *ACS Appl. Nano Mater.* **3**, 3097–3115 (2020).
 24. Awad, N. S. *et al.* Ultrasound-Responsive Nanocarriers in Cancer Treatment: A Review. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **4**, 589–612 (2021).
 25. de Mello, M. V. P. *et al.* A comprehensive review of chalcone derivatives as antileishmanial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **150**, 920–929 (2018).
 26. De Sanidad, M. & Consumo, Y. La situación del cáncer en España.
 27. Garnica, P. *et al.* Pre-clinical evidences of the antileishmanial effects of diselenides and selenocyanates. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **30**, 127371 (2020).
 28. Alcolea, V. *et al.* 3,5-Dimethyl-4-isoxazolyl selenocyanate as promising agent for the treatment of *Leishmania infantum*-infected mice. *Acta Trop.* **215**, 105801 (2021).
 29. Moreno, E. *et al.* Sulfur and selenium derivatives of quinazoline and pyrido[2,3-d]pyrimidine: Synthesis and study of their potential cytotoxic activity in vitro. *Eur. J. Med. Chem.* **47**, 283–298 (2012).
 30. Vaz, J. M. *et al.* Antibacterial properties of chitosan-based coatings are affected by spacer-length and molecular weight. *Appl. Surf. Sci.* **445**, 478–487 (2018).
 31. Johnbosco, C. *et al.* Bioresponsive starPEG-heparin hydrogel coatings on vascular stents for enhanced hemocompatibility. *Mater. Sci. Eng. C* **128**, 112268 (2021).
 32. Nagaraja, A., Jalageri, M. D., Puttaiahgowda, Y. M., Raghava Reddy, K. & Raghu, A. V. A review on various maleic anhydride antimicrobial polymers. *J. Microbiol. Methods* **163**, 105650 (2019).
 33. Jimenez De Aberasturi, D. *et al.* Surface Enhanced Raman Scattering Encoded Gold Nanostars for Multiplexed Cell Discrimination. *Chem. Mater.* **28**, 6779–6790 (2016).
 34. Song, J., Zhou, J. & Duan, H. Self-assembled plasmonic vesicles of SERS-encoded amphiphilic gold nanoparticles for cancer cell targeting and traceable intracellular drug delivery. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 13458–13469 (2012).
 35. Calvo, P. *et al.* Quantification and localization of PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles in brain and spinal cord during experimental allergic encephalomyelitis in the rat. *Eur. J. Neurosci.* **15**, 1317–1326 (2002).
 36. Suk, J. S., Xu, Q., Kim, N., Hanes, J. & Ensign, L. M. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery HHS Public Access Graphical abstract. *Adv Drug Deliv Rev* **99**, 28–51 (2016).
 37. Das, R. *et al.* Tunable High Aspect Ratio Iron Oxide Nanorods for Enhanced Hyperthermia. *J. Phys. Chem. C* **120**, 10086–10093 (2016).
 38. Nemati, Z. *et al.* Enhanced Magnetic Hyperthermia in Iron Oxide Nano-Octopods: Size and Anisotropy Effects. *J. Phys. Chem. C* **120**, 8370–8379 (2016).
 39. Nemati, Z. *et al.* Improving the Heating Efficiency of Iron Oxide Nanoparticles by Tuning Their Shape and Size. *J. Phys. Chem. C* **122**, 2367–2381 (2018).
 40. Roca, A. G. *et al.* Design strategies for shape-controlled magnetic iron oxide nanoparticles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **138**, 68–104 (2019).
 41. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Fe₃O₄ nanoparticles prepared by the seeded-growth route for hyperthermia: Electron magnetic resonance as a key tool to evaluate size distribution in magnetic nanoparticles. *Nanoscale* **6**, 7542–7552 (2014).
 42. Scarabelli, L., Coronado-Puchau, M., Giner-Casares, J. J., Langer, J. & Liz-Marzán, L. M. Monodisperse gold nanotriangles: Size control, large-scale self-assembly, and performance in surface-enhanced raman scattering. *ACS Nano* **8**, 5833–5842 (2014).
 43. Hähsler, M. *et al.* Magnetic Properties and Mössbauer Spectroscopy of Fe₃O₄/CoFe₂O₄

- Nanorods. *Inorg. Chem.* **59**, 3677–3685 (2020).
44. Zhang, L., He, R. & Gu, H. C. Synthesis and kinetic shape and size evolution of magnetite nanoparticles. *Mater. Res. Bull.* **41**, 260–267 (2006).
 45. Yu, H. *et al.* Dumbbell-like bifunctional Au-Fe₃O₄ nanoparticles. *Nano Lett.* **5**, 379–382 (2005).
 46. Benkovičová, M. *et al.* Control of interparticle distance of ordered iron-oxide nanoparticle assemblies by means of surfactant design. *AIP Conf. Proc.* **1996**, 020003 (2018).
 47. Castellanos-Rubio, I. *et al.* A Milestone in the Chemical Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles: Unreported Bulklike Properties Lead to a Remarkable Magnetic Hyperthermia. *Chem. Mater.* **33**, 8693–8704 (2021).
 48. Bronstein, L. M. *et al.* Influence of Iron Oleate Complex Structure on Iron Oxide Nanoparticle Formation. (2007) doi:10.1021/cm062948j.
 49. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Outstanding heat loss via nano-octahedra above 20 nm in size: From wustite-rich nanoparticles to magnetite single-crystals. *Nanoscale* **11**, 16635–16649 (2019).
 50. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Highly Reproducible Hyperthermia Response in Water, Agar, and Cellular Environment by Discretely PEGylated Magnetite Nanoparticles. *Cite This ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**, 27917–27929 (2020).
 51. Singh, G., Myasnichenko, V. S. & Glomm, W. R. New insights into size-controlled reproducible synthesis of anisotropic Fe₃O₄ nanoparticles: the importance of the reaction environment. *Mater. Adv.* **1**, 1077–1082 (2020).
 52. Qiao, L. *et al.* Standardizing Size- and Shape-Controlled Synthesis of Monodisperse Magnetite (Fe₃O₄) Nanocrystals by Identifying and Exploiting Effects of Organic Impurities. *ACS Nano* **11**, 6370–6381 (2017).
 53. Meffre, A. *et al.* A simple chemical route toward monodisperse iron carbide nanoparticles displaying tunable magnetic and unprecedented hyperthermia properties. *Nano Lett.* **12**, 4722–4728 (2012).
 54. Arriortua, O. K. *et al.* Antitumor magnetic hyperthermia induced by RGD-functionalized Fe₃O₄ nanoparticles, in an experimental model of colorectal liver metastases. *Beilstein J. Nanotechnol.* **7**, 1532–1542 (2016).
 55. Sun, S. & Zeng, H. Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 8204–8205 (2002).
 56. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Fe₃O₄ nanoparticles prepared by the seeded-growth route for hyperthermia: Electron magnetic resonance as a key tool to evaluate size distribution in magnetic nanoparticles. *Nanoscale* **6**, 7542–7552 (2014).
 57. Lin, C. A. J. *et al.* Design of an amphiphilic polymer for nanoparticle coating and functionalization. *Small* **4**, 334–341 (2008).
 58. Chen, R. *et al.* High-performance ferrite nanoparticles through nonaqueous redox phase tuning. *Nano Lett.* **16**, 1345–1351 (2016).
 59. Rajan, A., Sharma, M. & Sahu, N. K. Assessing magnetic and inductive thermal properties of various surfactants functionalised Fe₃O₄ nanoparticles for hyperthermia. *Sci. Rep.* **10**, 1–15 (2020).
 60. Ramos Guivar, J. A., Sanches, E. A., Magon, C. J. & Ramos Fernandes, E. G. Preparation and characterization of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)-stabilized Fe₃O₄ nanoparticles for electrochemistry detection of citric acid. *J. Electroanal. Chem.* **755**, 158–166 (2015).
 61. Pourmiri, S., Tzitzios, V., Hadjipanayis, G. C., Meneses Brassea, B. P. & El-Gendy, A. A. Magnetic properties and hyperthermia behavior of iron oxide nanoparticle clusters. *AIP Adv.* **9**, 125033 (2019).
 62. Lin, C. A. J. *et al.* Design of an amphiphilic polymer for nanoparticle coating and functionalization. *Small* **4**, 334–341 (2008).
 63. Valeur, E. & Bradley, M. Amide bond formation: Beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 606–631 (2009).
 64. Bernard, D., Eden, G., Archinti, M., Andreotti, G., Citro, V., Murphy, R.P., Cubellis, M.V., Furlan, F. *Advances in Medicine and Biology.* (2019).

65. Castellanos-Rubio, I. *et al.* Highly Reproducible Hyperthermia Response in Water, Agar, and Cellular Environment by Discretely PEGylated Magnetite Nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**, 27917–27929 (2020).
66. Khorsand Zak, A., Abd. Majid, W. H., Abrishami, M. E. & Yousefi, R. X-ray analysis of ZnO nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods. *Solid State Sci.* **13**, 251–256 (2011).
67. Patterson, A. L. The scherrer formula for X-ray particle size determination. *Phys. Rev.* **56**, 978–982 (1939).
68. Ghosh, S., Jiang, W., McClements, J. D. & Xing, B. Colloidal stability of magnetic iron oxide nanoparticles: Influence of natural organic matter and synthetic polyelectrolytes. *Langmuir* **27**, 8036–8043 (2011).
69. Zhang, L., He, R. & Gu, H. C. Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **253**, 2611–2617 (2006).
70. Sharifi Dehsari, H., Harris, R. A., Ribeiro, A. H., Tremel, W. & Asadi, K. Optimizing the Binding Energy of the Surfactant to Iron Oxide Yields Truly Monodisperse Nanoparticles. *Langmuir* **34**, 6582–6590 (2018).
71. Lenart, V. M., De Fátima Turchiello, R., Calatayud, M. P., Fabián Goya, G. & Gómez, S. L. Synthesis of Magnetite Nanoparticles of Different Size and Shape by Interplay of Two Different Surfactants. doi:10.1007/s13538-019-00714-0.
72. Eom, Y., Abbas, M., Noh, H. Y. & Kim, C. G. Morphology-controlled synthesis of highly crystalline Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ nanoparticles using a facile thermal decomposition method. *RSC Adv.* **6**, 15861–15867 (2016).
73. Ce, Y., Jiajia, W. & Yanglong, H. Fe₃O₄ nanostructures: Synthesis, growth mechanism, properties and applications. *Chem. Commun.* **47**, 5130–5141 (2011).
74. Zhou, G. *et al.* Controlled synthesis of high-quality PbS star-shaped dendrites, multipods, truncated nanocubes, and nanocubes and their shape evolution process. *J. Phys. Chem. B* **110**, 6543–6548 (2006).
75. Song, Q. & Zhang, Z. J. Shape Control and Associated Magnetic Properties of Spinel Cobalt Ferrite Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 6164–6168 (2004).
76. Ho, C. H. *et al.* Shape-controlled growth and shape-dependent cation site occupancy of monodisperse Fe₃O₄ nanoparticles. *Chem. Mater.* **23**, 1753–1760 (2011).
77. Polte, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. *CrystEngComm* **17**, 6809–6830 (2015).
78. Lassenberger, A. *et al.* Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles by Thermal Decomposition: Elucidating Particle Formation by Second-Resolved in Situ Small-Angle X-ray Scattering. *Chem. Mater.* **29**, 4511–4522 (2017).
79. Song, L. *et al.* Influence of Reaction Solvent on Crystallinity and Magnetic Properties of MnFe₂O₄ Nanoparticles Synthesized by Thermal Decomposition. (2016) doi:10.1155/2016/4878935.
80. Cullity, B. *Introduction to Magnetic Materials*. (Addison-Wesley, 1972).
81. Baaziz, W. *et al.* Magnetic iron oxide nanoparticles: Reproducible tuning of the size and nanosized-dependent composition, defects, and spin canting. *J. Phys. Chem. C* **118**, 3795–3810 (2014).
82. Unni, M. *et al.* Thermal Decomposition Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles with Diminished Magnetic Dead Layer by Controlled Addition of Oxygen. *ACS Nano* **11**, 2284–2303 (2017).
83. Lak, A., Disch, S. & Bender, P. Embracing Defects and Disorder in Magnetic Nanoparticles. *Adv. Sci.* **8**, (2021).
84. Daou, T. J. *et al.* Coupling Agent Effect on Magnetic Properties of Functionalized Magnetite-Based Nanoparticles. *Chem. Mater.* **20**, 5869–5875 (2008).
85. Eggeman, A. S., Majetich, S. A., Farrell, D. & Pankhurst, Q. A. Size and concentration effects on high frequency hysteresis of iron oxide nanoparticles. *IEEE Trans. Magn.* **43**, 2451–2453 (2007).

86. Roca, A. G., Marco, J. F., Del Puerto Morales, M. & Serna, C. J. Effect of Nature and Particle Size on Properties of Uniform Magnetite and Maghemite Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **111**, 18577–18584 (2007).
87. Batlle, X. *et al.* Magnetic nanoparticles with bulklike properties (invited). in *Journal of Applied Physics* vol. 109 07B524 (American Institute of Physics AIP, 2011).
88. Urian, Y. A., Atoche-Medrano, J. J., Quispe, L. T., León Félix, L. & Coaquira, J. A. H. Study of the surface properties and particle-particle interactions in oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **525**, 167686 (2021).
89. Shouheng Sun, *,† *et al.* Monodisperse MFe₂O₄ (M = Fe, Co, Mn) Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 273–279 (2003).
90. Dunlop, D. J. Superparamagnetic and single-domain threshold sizes in magnetite. *J. Geophys. Res.* **78**, 1780–1793 (1973).
91. Brown, W. F. Thermal fluctuations of a single-domain particle. *Phys. Rev.* **130**, 1677–1686 (1963).
92. Yusoff, A. H. M., Salimi, M. N. & Jamlos, M. F. A review: Synthetic strategy control of magnetite nanoparticles production. *Adv. Nano Res.* **6**, 1–19 (2018).
93. Nedelkoski, Z. *et al.* Origin of reduced magnetization and domain formation in small magnetite nanoparticles. *Sci. Reports* 2017 71 **7**, 1–8 (2017).
94. Hiemstra, T. Surface structure controlling nanoparticle behavior: magnetism of ferrihydrite, magnetite, and maghemite. *Environ. Sci. Nano* **5**, 752–764 (2018).
95. Lozano-Pedraza, C. *et al.* Assessing the parameters modulating optical losses of iron oxide nanoparticles under near infrared irradiation. *Nanoscale Adv.* **3**, 6490–6502 (2021).
96. Ayyappan, S. *et al.* Effect of initial particle size on phase transformation temperature of surfactant capped Fe₃O₄ nanoparticles. *J. Appl. Phys.* **109**, 084303 (2011).
97. Senn, M. S., Wright, J. P. & Attfield, J. P. Charge order and three-site distortions in the Verwey structure of magnetite. *Nature* **481**, 173–176 (2012).
98. Miyazaki, T. & Jin, H. The Physics of Ferromagnetism. **158**, (2012).
99. Bohra, M., Agarwal, N. & Singh, V. A Short Review on Verwey Transition in Nanostructured Fe₃O₄ Materials. (2019) doi:10.1155/2019/8457383.
100. Salado, J. *et al.* Preparation and characterization of monodisperse Fe₃O₄ nanoparticles: An electron magnetic resonance study. *Chem. Mater.* **23**, 2879–2885 (2011).
101. Zhang, Q. *et al.* Model Driven Optimization of Magnetic Anisotropy of Exchange-Coupled Core-Shell Ferrite Nanoparticles for Maximal Hysteretic Loss. *Chem. Mater.* **27**, 7380–7387 (2015).
102. Köseoğlu, Y., Yildiz, F., Kim, D. K., Muhammed, M. & Aktaş, B. EPR studies on Na-oleate coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Phys. Status Solidi C Conf.* **1**, 3511–3515 (2004).
103. Arriortua, O. K. *et al.* RGD-Functionalized Fe₃O₄ nanoparticles for magnetic hyperthermia. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **165**, 315–324 (2018).
104. Cai, W., Wang, W., Lu, L. & Chen, T. Coating sulfonated polystyrene microspheres with highly dense gold nanoparticle shell for SERS application. doi:10.1007/s00396-013-2928-7.
105. Wahajuddin & Arora, S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *Int. J. Nanomedicine* **7**, 3445 (2012).
106. Fatoyinbo, H. O. Microfluidic devices for cell manipulation. *Microfluid. Devices Biomed. Appl.* 283–350 (2013) doi:10.1533/9780857097040.3.283.
107. Hong, C. Y. *et al.* Magnetic susceptibility reduction method for magnetically labeled immunoassay. *Appl. Phys. Lett.* **88**, 212512 (2006).
108. Bleier, G. C., Watt, J., Simocko, C. K., Lavin, J. M. & Huber, D. L. Reversible Magnetic Agglomeration: A Mechanism for Thermodynamic Control over Nanoparticle Size. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **57**, 7678–7681 (2018).
109. Cotin, G. *et al.* Harnessing Composition of Iron Oxide Nanoparticle: Impact of Solvent-Mediated Ligand-Ligand Interaction and Competition between Oxidation and Growth Kinetics. *Chem. Mater.* **32**, 9245–9259 (2020).

110. Zhang, L., He, R. & Gu, H. C. Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **253**, 2611–2617 (2006).
111. Bronstein, L. M. *et al.* Influence of iron oleate complex structure on iron oxide nanoparticle formation. *Chem. Mater.* **19**, 3624–3632 (2007).
112. Soares, P. I. P. *et al.* Effects of surfactants on the magnetic properties of iron oxide colloids. *J. Colloid Interface Sci.* **419**, 46–51 (2014).
113. Ayyanaar, S. *et al.* Iron oxide nanoparticle core-shell magnetic microspheres: Applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **24**, 102134 (2020).
114. Jin, Z. *et al.* Modification of Poly(maleic anhydride)-Based Polymers with H 2 N-R Nucleophiles: Addition or Substitution Reaction? (2019) doi:10.1021/acs.bioconjchem.9b00008.
115. Korčušková, M., Petruš, J., Lepcio, P., Kučera, F. & Jančář, J. Novel approaches for functionalization of polypropylene by maleimides. *Polymer (Guildf)*. **238**, 124398 (2022).
116. Moosvi, S. K., Majid, K. & Ara, T. Studying the electrical, thermal, and photocatalytic activity of nanocomposite of polypyrrole with the photoadduct of K₃[Fe(CN)₆] and diethylenetriamine. *Mater. Res.* **19**, 983–990 (2016).
117. Ambrožič, G., Škapin, S. D., Žigon, M. & Orel, Z. C. The synthesis of zinc oxide nanoparticles from zinc acetylacetonate hydrate and 1-butanol or isobutanol. *J. Colloid Interface Sci.* **346**, 317–323 (2010).
118. Noor, S. A. M., Ahmad, A., Talib, I. A. & Rahman, M. Y. A. Effect of ZnO nanoparticles filler concentration on the properties of PEO-ENR50-LiCF 3 SO 3 solid polymeric electrolyte. doi:10.1007/s11581-011-0534-6.
119. Kim, G.-M. *et al.* One-Dimensional Arrangement of Gold Nanoparticles by Electrospinning. (2005) doi:10.1021/cm0508120.
120. Etxebeste-Mitxelorena, M. *et al.* New amides containing selenium as potent leishmanicidal agents targeting trypanothione reductase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **65**, (2021).
121. Jiang, S. *et al.* Surface-functionalized nanoparticles for biosensing and imaging-guided therapeutics. doi:10.1039/c3nr34005h.
122. Bohara, R. A., Thorat, N. D. & Pawar, S. H. Role of functionalization: strategies to explore potential nano-bio applications of magnetic nanoparticles. (2016) doi:10.1039/c6ra02129h.
123. Rivet, C. J., Yuan, Y., Borca-Tasciuc, D. A. & Gilbert, R. J. Altering Iron Oxide Nanoparticle Surface Properties Induce Cortical Neuron Cytotoxicity. *Chem. Res. Toxicol.* **25**, 153–161 (2011).
124. Ge, Y. *et al.* Effect of surface charge and agglomerate degree of magnetic iron oxide nanoparticles on KB cellular uptake in vitro. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **73**, 294–301 (2009).
125. Pardo, A. *et al.* Synthesis, Characterization, and Evaluation of Superparamagnetic Doped Ferrites as Potential Therapeutic Nanotools. *Chem. Mater.* **32**, 2220–2231 (2020).
126. Goff, J. D. *et al.* Novel Phosphonate-Functional Poly(ethylene oxide)-Magnetite Nanoparticles Form Stable Colloidal Dispersions in Phosphate-Buffered Saline. *Chem. Mater* **21**, 4784–4795 (2009).
127. Bihari, P. *et al.* Particle and Fibre Toxicology Optimized dispersion of nanoparticles for biological in vitro and in vivo studies. (2008) doi:10.1186/1743-8977-5-14.
128. Illés, E. *et al.* Novel carboxylated PEG-coating on magnetite nanoparticles designed for biomedical applications. *J. Magn. Magn. Mater.* **380**, 132–139 (2015).
129. Tombácz, E. *et al.* Adsorption of organic acids on magnetite nanoparticles, pH-dependent colloidal stability and salt tolerance. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **435**, 91–96 (2013).
130. Szekeres, M. *et al.* Chemical and Colloidal Stability of Carboxylated Core-Shell Magnetite Nanoparticles Designed for Biomedical Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2013, Vol. 14, Pages 14550-14574 **14**, 14550–14574 (2013).
131. Gyergyek, S. *et al.* Influence of synthesis method on structural and magnetic properties of cobalt ferrite nanoparticles. *J. Nanoparticle Res.* 2009 124 **12**, 1263–1273 (2009).
132. Linh, P. H. *et al.* Magnetic fluid based on Fe₃O₄ nanoparticles: Preparation and hyperthermia application. in *Journal of Physics: Conference Series* vol. 187 12069 (Institute of Physics

- Publishing, 2009).
133. Janani Sugumaran, P., Liu, X.-L., Seng Heng, T., Peng, E. & Ding, J. GO-Functionalized Large Magnetic Iron Oxide Nanoparticles with Enhanced Colloidal Stability and Hyperthermia Performance. (2019) doi:10.1021/acsami.9b04261.
 134. Liu, X. L. *et al.* Optimization of surface coating on Fe₃O₄ nanoparticles for high performance magnetic hyperthermia agents. *J. Mater. Chem.* **22**, 8235–8244 (2012).
 135. Seal, P. *et al.* Optimization of self heating properties of Fe₃O₄ using PEG and amine functionalized MWCNT. *J. Alloys Compd.* **882**, (2021).
 136. Thorat, N. D. *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanocargoes for combined cancer thermotherapy and MRI applications †. *Phys. Chem. Chem. Phys* **18**, 21331 (2016).
 137. Mehdaoui, B. *et al.* Increase of magnetic hyperthermia efficiency due to dipolar interactions in low-anisotropy magnetic nanoparticles: Theoretical and experimental results. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **87**, 174419 (2013).
 138. Casula, M. F. *et al.* Manganese doped-iron oxide nanoparticle clusters and their potential as agents for magnetic resonance imaging and hyperthermia. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 16848–16855 (2016).
 139. Saville, S. L. *et al.* The formation of linear aggregates in magnetic hyperthermia: Implications on specific absorption rate and magnetic anisotropy. *J. Colloid Interface Sci.* **424**, 141–151 (2014).
 140. Branquinho, L. C. *et al.* Effect of magnetic dipolar interactions on nanoparticle heating efficiency: Implications for cancer hyperthermia SUBJECT AREAS: COLLOIDS NANOTECHNOLOGY IN CANCER CANCER THERAPY MAGNETIC PROPERTIES AND MATERIALS. (2013) doi:10.1038/srep02887.
 141. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, 55–63 (1983).
 142. Tang, T. *et al.* Copper nanoparticles supported on polyethylene glycol-modified magnetic Fe₃O₄ nanoparticles: Its anti-human gastric cancer investigation. *Arab. J. Chem.* **15**, 103523 (2022).
 143. Fabrication of Nanoparticles based on Hesperidin-Loaded Chitosan-Functionalized Fe₃O₄: Evaluation of In vitro Antioxidant and Anticancer Properties. (2021) doi:10.1007/s13233-021-9091-7.
 144. Huang, S. *et al.* Magnetic Fe₃O₄@mesoporous silica composites for drug delivery and bioadsorption. *J. Colloid Interface Sci.* **376**, 312–321 (2012).
 145. Hossen, S. *et al.* Smart nanocarrier-based drug delivery systems for cancer therapy and toxicity studies: A review. *J. Adv. Res.* **15**, 1–18 (2019).
 146. Moghimi, S. M. & Szebeni, J. Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties. *Prog. Lipid Res.* **42**, 463–478 (2003).
 147. Fernandes, A. P. & Gandin, V. Selenium compounds as therapeutic agents in cancer. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1850**, 1642–1660 (2015).
 148. Collery, P. Strategies for the development of selenium-based anticancer drugs. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **50**, 498–507 (2018).
 149. Ali, W. *et al.* The Anticancer and Chemopreventive Activity of Selenocyanate-Containing Compounds. doi:10.1007/s40495-018-0160-3.
 150. L, S. *et al.* Antiproliferative effects of selenium compounds in colon cancer cells: comparison of different cytotoxicity assays. *Toxicol. In Vitro* **23**, 1406–1411 (2009).
 151. Kilkeny, C., Browne, W., Cuthill, I. C., Emerson, M. & Altman, D. G. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. *Br. J. Pharmacol.* **160**, 1577–1579 (2010).
 152. Saeidnia, S., Manayi, A. & Abdollahi, M. From in vitro Experiments to in vivo and Clinical Studies; Pros and Cons.
 153. Guda, K. *et al.* Carcinogen-induced colon tumors in mice are chromosomally stable and are characterized by low-level microsatellite instability. *Oncogene* 2004 2321 **23**, 3813–3821 (2004).
 154. DE, C. & F, P. Point: From animal models to prevention of colon cancer. Systematic review of

- chemoprevention in min mice and choice of the model system. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **12**, 391–400 (2003).
155. de la Parte, B. H. *et al.* Biochemical and Metabolomic Changes after Electromagnetic Hyperthermia Exposure to Treat Colorectal Cancer Liver Implants in Rats. *Nanomater. (Basel, Switzerland)* **11**, (2021).
156. Fang, K. *et al.* Magnetic field activated drug release system based on magnetic PLGA microspheres for chemo-thermal therapy. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **136**, 712–720 (2015).
157. Moros, M. *et al.* Triggering antitumoural drug release and gene expression by magnetic hyperthermia. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **138**, 326–343 (2019).
158. Liang, Y. J. *et al.* High-Performance Poly(lactic-co-glycolic acid)-Magnetic Microspheres Prepared by Rotating Membrane Emulsification for Transcatheter Arterial Embolization and Magnetic Ablation in VX2 Liver Tumors. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 43478–43489 (2017).
159. Yang, F. *et al.* Glucose and magnetic-responsive approach toward in situ nitric oxide bubbles controlled generation for hyperglycemia theranostics. *J. Control. Release* **228**, 87–95 (2016).

Conclusions

In the following points, the main conclusions obtained from the present work are summarized:

- The thermal decomposition of organometallic precursors is a method of preparing small diffusion in size and high crystallinity and purity. Moreover, the method of seed breeding allows nanoparticles to control growth. Iron (III) allows the acquisition of large size nanoparticles through thermal decomposition of the oleates.
- Using larger volumes of dissolvents used in synthesis, nanoparticles of small size are obtained. Together with this, by adjusting the relationships of binding and precursor organometallic nanoparticles with a limited size.
- In the case of cobalt ferrite preparation, reaction time affect to nanoparticles size and shape morphology. In this way, small nanoparticles with spherical morphology or cuboctahedral morphology have been obtained using time intervals of about 105-120 minutes (30 to 60 minutes), while cubes with larger size (90 minutes) have been obtained at medium times. Along with this, cobalt content used in the synthesis of cobalt ferrites has had a clear effect on the size, morphology, and magnetic properties of nanoparticles obtained.
- Most prepared cobalt ferrites have shown smaller cobalt content than they used in the preparation process. In this way, it has been observed to increase the cobalt concentration of cobalt ferrites prepared by long periods of reflux. However, higher concentrations of metallic cobalt precursor will have to be used to prepare ferrites with higher cobalt content.
- The magnetic data obtained for cobalt ferrites has been observed to be dependent on the cobalt content of nanoparticles. Thus, the highest saturation-magnetization value has been related to the longest time of reflux and the largest amount of cobalt in ferrite nanoparticles. At the same time, it has been shown that the cobalt has entered the ferrite structure because the cobalt content is increasing as the cobalt content rises.
- Tests carried out by XRD and XANES have shown the presence of Ga^{+1} ions in the ferrite structure. In particular, it is believed that in nanoparticles with very little

gallium content, the Ga⁺³ ions are located in tetrahedral sites, dispersing as the concentration rises into tetrahedral and octahedral sites.

- The introduction of gallium into the ferrite structure has a direct impact on the magnetic properties of the nanoparticles. In this sense, the least gallium concentration sample, Fe_{2.86}Ga_{0.14}O₄, has presented the highest saturation magnetization value (124.57 Am² kg⁻¹), which is higher than the magnetite's value in the vacuum state and at low temperatures.
- It has been possible to stabilize the hydrophobic nanoparticles obtained through thermal decomposition in water-soluble and physiological environments. In addition, the Fe_{2.42}Ga_{0.57}O₄ @PMAO sample used in cytotoxicity assay did not present a high level of toxicity.
- Fe_{2.86}Ga_{0.14}O₄ @PMAO and Fe_{2.42}Ga_{0.57}O₄ @PMAO systems produce strong negative contrasts in MRI and Fe_{2.73}Ga_{0.27}O₄ @PMAO systems with an average relaxation rate and can be used as a T₁ and T₂ contrast agent.
- Nanoparticles obtained through seed-growth method could be functionalized with a positive cofactor. In this way, positively charged nanoparticles can be placed on the surface of the microtubules used in embolization. He has revealed the results of the successful use of the microsystem in magnetic hyperthermia therapies.
- The volume adjustment of the different solvents used in different syntheses with iron(III) oleate has enabled the acquisition of nanoparticles of different sizes. In this way, nanoparticles with different magnetic properties have been obtained: ferromagnetic and superparamagnetic.
- The transition of Verwey into nanoparticles of magnetite shows the high purity of nanoparticles obtained.
- The PMA polymer's adaptability to conjugate with different molecules allows it to produce specific copolymers for leishmania and colon cancer. In this respect, it was possible to attach the PMA-DDA molecule of EM102 to the main chain of the copolymer.
- PMA-DDA-EM102 ligand to give longer life in biological environments, it is formed by the formation of the PEG molecule (5kDa). Thus, the optimal amount of the Fe₃O₄-OL₃ nanoparticles is 12.5%, and in the case of the Fe₃O₄-OL₄

nanoparticles, the presence of this polymer appears to have protected the presence of drugs.

- - Samples from Fe₃O₄-OL₄-PMA-DA-EM102 have shown promising results in cytotoxicity assay. In general, two samples prepared with PMA-DDA-EM102 ligand have represented the highest toxicity rate at 525 ugNP/mL concentration. This toxicity belongs to the presence of the drug, for the sample without the drug has not exhibited so much toxicity.

Ondorioak

Honako puntu hauetan laburbiltzen dira lan honetan lortutako ondorio nagusiak:

- Aitzindari organometalikoaren deskonposizio termikoa metodoa tamaina-dispersio txikia eta kristalinitate eta purutasun altuko ferritak prestatzeko metodo aproposa da. Gainera, hazien hazkuntza bidezko metodoak nanopartikula hazkuntza kontrolatzeko aukera eskaintzen du. Halaber, burdina(III) oleatoen deskonposizio termikoaren bidez tamaina handiko nanopartikulak eskuratzea ahalbidetzen du.
- Sintesian erabilitako disolbatzaile bolumen handiagoak erabiliz nanopartikula tamaina txikiko nanopartikulak lortzen dira. Honekin batera, estekatzaile eta aitzindari-organometalikoaren erlazioak doitu. tamaina mugatuko nanopartikulak lortu daitezke.
- Kobaltozko ferritaen prestaketaren kasuan, erreakzio-denborak nanopartikulen tamainan eta forman morfologian eragina duela baieztatu da. Modu honetan, denbora luze (105-120 minutu) zein laburrak (30-60 minutu) erabiliz morfologia esferikoa edo kuboktaedrikoa duten nanopartikula txikiak lortu dira, tarteko denborak erabiliz tamaina handiagoko (90 minutu) kuboak lortu diren bitartean. Honekin batera, kobalto ferriten sintesian erabilitako kobalto edukiak lortu diren nanopartikulen tamainan, morfologian eta propietate magnetikoetan efektu argia izan duela ikusi da.
- Prestatutako kobaltozko ferrita gehienek prestaketa prozesuan erabilitako baino kobalto aberastasun txikiagoa aurkeztu dute. Modu honetan, birfluxu-denbora luzeek prestatutako kobaltozko ferriten kobalto kontzentrazioa igotzea eragiten duela ikusi da. Dena den, kobalto aitzindari metaliko kontzentrazio altuagoak erabili beharko dira kobalto eduki handiagoa duten ferritak prestatu nahi badira.
- Kobalto-ferritetarako lortutako datu magnetikoek, nanopartikulen propietate magnetikoak nanopartikulen kobalto-edukiarekiko menpekotasuna dutela behatu da. Horrela, asetze-magnetizazio balio altuena errefluxu-denbora luzeenarekin erlazionatu da eta, ondorioz, ferritazko nanopartikuletan kobalto kantitate handienarekin. Aldi berean, kobaltoa ferritaren egituran sartu dela

- egiaztatu da prestatutako nanopartikulen eremu koertzitiboa gero eta zabalagoa delako kobalto edukia gora egiten duenean.
- XRD eta XANES tekniken bidez burututako analisiek ferritaren egituraren Ga^{+3} ioiak daudela frogatu dute. Zehazki, uste da galio aberastasun txikia duten nanopartikuletan Ga^{+3} ioiak hutsune tetraedrikoetan kokatzen dela, kontzentrazioa igo ahala hutsune tetraedriko eta oktaedrikoetan sakabanatuz.
 - Ferriten egituraren galioa sartzeak zuzeneko eragina du nanopartikularen propietate magnetikoetan. Zentzu honetan, galio kontzentrazio txikiaren duen laginak, $\text{Fe}_{2.86}\text{Ga}_{0.14}\text{O}_4$, asetze-magnetizazio balio altuena aurkeztu du ($124.57 \text{ Am}^2 \text{ kg}^{-1}$), magnetitak bulk egoeran eta tenperatura baxuetan duen balioa baino altuagoa dena.
 - Galioarekin dopatutako ferritak PMAO polimeroarekin funtzionalizatu izanak posible egin du deskonposizio termikoaren bidez lortutako nanopartikula hidrofoboak ingurune urtsuetan eta fisiologikoetan egonkortzea. Gainera, zیتotoxizitate entseguetan erabilitako $\text{Fe}_{2.42}\text{Ga}_{0.57}\text{O}_4@PMAO$ laginak ez du toxizitate maila altua aurkeztu.
 - $\text{Fe}_{2.86}\text{Ga}_{0.14}\text{O}_4@PMAO$ eta $\text{Fe}_{2.42}\text{Ga}_{0.57}\text{O}_4@PMAO$ sistemek kontraste negatibo indartsuak eragiten dituzte MRI-n, eta $\text{Fe}_{2.73}\text{Ga}_{0.27}\text{O}_4@PMAO$ sisteman, erlaxazio-tasa ertainarekin, eta T_1 eta T_2 kontraste-agente gisa erabil daiteke.
 - Hazien hazkuntza bidez lortutako nanopartikulak estekatzailer positibo batekin funtzionalizatzea posible izan da. Modu honetan, positiboki kargatutako nanopartikulak enbolizazioan erabiltzen diren mikrosferen gainazalean ipini ahal izan dira. Eraikitako mikrosistema hipertermia magnetikoko terapietan erabiltzeko emaitza oparoak azaldu ditu.
 - Burdina(III) oleatoarekin burututako sintesi desberdinetan erabilitako disolbatzaile desberdinen bolumen doiketak tamaina desberdineko nanopartikulak lortzea ahalbidetu du. Modu honetan, propietate magnetiko desberdinak dituzten nanopartikulak lortu dira: ferromagnetikoak eta superparamagnetikoak.
 - Verwey trantsizioa magnetitazko nanopartikuletan egoteak agerian uzten du lortutako magnetita nanopartikulen purutasun altuak.

- PMA polimeroak molekula desberdinekin konjugatzeko duen moldakortasunak leishmania eta koloneko minbizia tratatzeko kopolimero espezifikoak sortzea ahalbidetu du. Alde horretatik, posible izan zen EM102 botikaren molekula PMA-DDA kopolimeroaren kate nagusira atxikitzea.
- PMA-DDA-EM102 ligandoarekin prestatutako nanosistemei ingurumen biologikoetan bizitza luzeagoa emateko, PEG molekula (5kDa) gorpuztu da. Honela, Fe₃O₄_OL₃ nanopartikularen kopuru optimoa % 12,5 da, eta Fe₃O₄_OL₄ nanopartikularen kasuan, berriz, % 25. Badirudi polimero hau Fe₃O₄_OL₄ nanopartikularen kasuan egoteak drogen presentzia babestu duela.
- Fe₃O₄_OL₄-PMA-DDA-EM102 laginak etorkizun handiko emaitzak aurkeztu ditu zitotoxizitate entseguetan. Orokorrean, PMA-DDA-EM102 ligandoarekin prestatutako bi laginek toxizitate maila altuena 525 ugNP/mL-ko kontzentrazioan aurkeztu dute toxizitate altuena. Toxizitate hau farmakoaren presentziari dagokio, farmakorik gabeko laginak ez baitu horrenbesteko toxikotasunik aurkeztu.

ERASKINA

TEKNIKA ESPERIMENTALAK

Eranskin honetan, aurkeztu den ikerketan erabilitako teknika esperimentalen neurketa-baldintzak eta deskribapen teorikoa jasotzen dira. Hasteko, sintetizatutako materialen karakterizazioan gehien erabiltzen diren teknikak azalduko dira:

A.1 Emisio atomikoko espektrometria, induktiboki akoplatutako plasmaduna (*Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, ICP-AES*).

A.2 X Izpien bidezko Difrakzioa (*X-ray diffraction, XRD*).

A.3 Analisi Termograbitmetrikoa (*Thermogravimetric analysis, TGA*).

A.4 Transmisiozko Mikroskopia Elektronikoa (*Transmission Electron Microscopy, TEM*).

A.5 Magnetometria: Lagin Dardarkariko Magnetometroa (*Vibrating Sample Magnetometer, VSM*) eta Interferentzia kuantikoko gailu supereroaleak (*Superconducting Quantum Interference Device, SQUID*).

A.6 Erresonantzia Maramagnetiko Elektronikoa (*Electron Maramagnetic Resonance, EPR*)

A.7 X-izpien espektroskopia fotoelektronikoa (*X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS*)

A.8 Ertz hurbileko X-izpien xurgapen espektroskopia (*X-ray Absorption Near Edge Structure, XANES*).

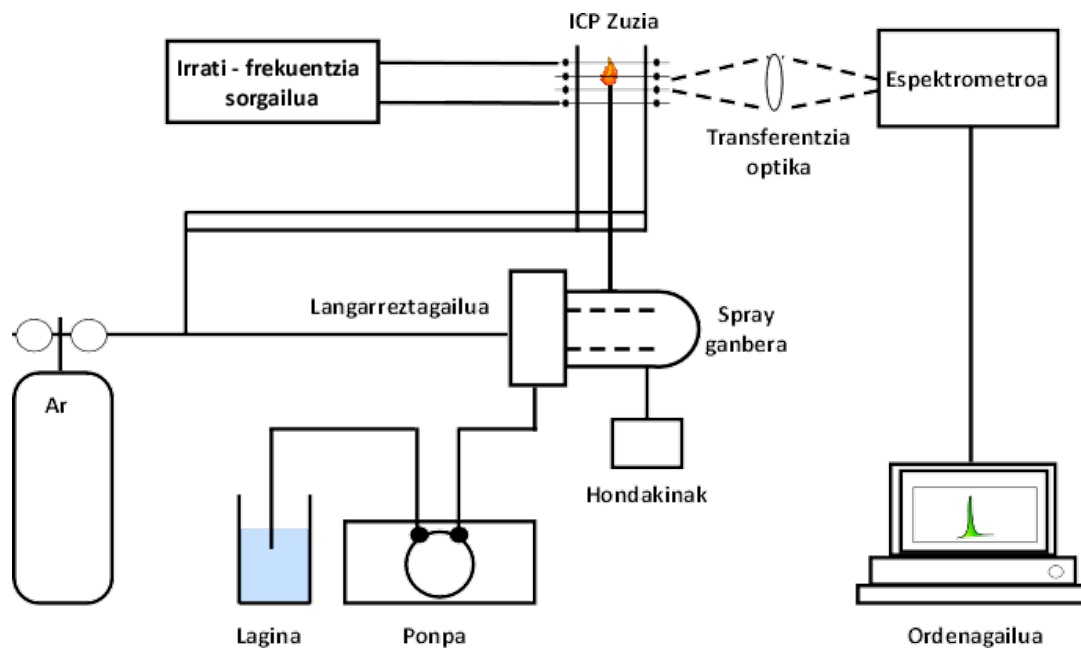
A.9 Argiaren Dispertsio dinamikoa (*Dynamic Light Scattering, DLS*).

A.10 Espektroskopia Infragorria (*Infrared Spectroscopy, IR*)

A.1 Emisio atomikoko espektrometroa, induktiboki akoplatutako plasmaduna (ICP-AES).

Nanopartikulen Fe, Co eta Ga metalen edukia eta farmako funtzionalizazioen Se edukia induktiboki akoplatutako plasma duen emisio atomikoko espektroskopiaren bidez neurtu da (Inductively Coupled Plasma-Atomic emission Spectroscopy, ICPAES). Analsiak Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) Analsi Zerbitzu Orokorren Horiba Yobin Yvon Activa-espektrofotometroa erabiliz egin dira.

Teknika 104 K - ko tenperaturan dagoen argoizko – plasma batean aztergai diren atomo kitzikatuen eta ioien emisioa detektatzean oinarritzen da. Lehenik eta behin, ICP – AES neurketak disoluzioan bakarrik burutu daitekeenez, neurtu diren laginak digestio azidoaren bidez ur – ingurunean disolbatu dira. Gero, disoluzio hau espektrometrora konektatzen da eta ponpa baten bidez gailuan sartzen da. Jarraian, A.1. irudian ikusten den bezala, langarreztagailu baten bidez aerosol bihurtu da, tanta handienak deuseztatzen dituen ganbara batera igorritz. Ondoren, 1 eta 10 μm arteko diametroa duten tantak argoizko korrante baten bidez 7000 – 10000 K bitarteko tenperatura duen argoizko plasma-zuzi baterantz garraiatu dira. Plasma lortzeko, indukzio metalikoko bobina elektriko batetik irrati-maiztasuneko korrante elektrikoa igaro da. Korrante elektriko honi eremu magnetikoa bat lotzen zaio, bobinaren barnean (zuzia) kokatutako kuartzozko hodi baten ardatzean zehar indar lerroak dituen (A.1. irudia). Hodi honen barnean, elektroiak azkartzen dira eremu magnetikoaren ondorioz orbita zirkularretan aurrera eginez. Disoluzioaren tanta txikiak tenperatura altuen eraginez gatz-partikula bihurtuko dira (desolbatazio-prozesua), eta pixkanaka-pixkanaka plasman apurtzen dira atomo eta ioiez osatutako nahasketa eratu arte.



A.1. iruida. ICP – AES gailu baten eskema, moldatua^[1].

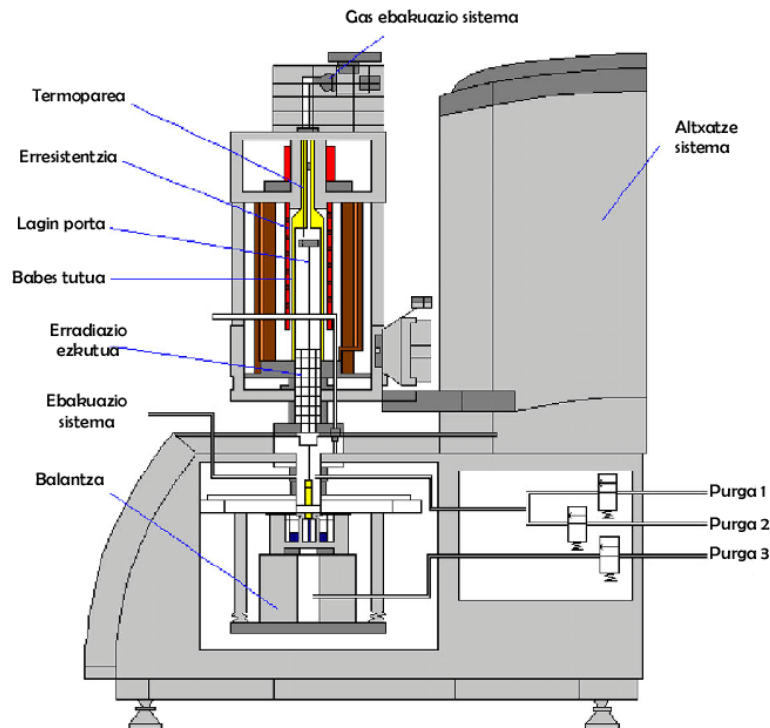
Prozesu honetan zehar atomo zein ioiei transferitutako energiak egoera kitzikatu baterantz heltzera eragiten du. Egoera honetatik oinarrizko egoerara itzultzeko, UV-ikuskorrari dagokion tartearen barruan dagoen erradiazioa igortzen dute. Horrela, intentsitatea uhin-luzerarekiko irudikatzen den emisio-espektoa lortzen da. Elementu bakoitzak uhin-emisio bereizgarria duela kontuan hartuta, lagina osatzen duten elementuen identifikazioa patroi estandar batekin alderatuz egiten da.

Honekin batera, elementu bakoitzaren kontzentrazioa lortzen da. Izan ere, elementu bakoitzaren kontzentrazioa identifikatutako seinalearen intentsitatearekiko proportzionala izango da. Emisio-gailuek eskaintzen duten abantaila handienetako bat, hainbat elementu aldi berean aztertzeko aukera da, lagina bera emisio-iturria baita.

A.2 Analisi Termograbitrikoa (TGA)

Analisi termograbitrikoak produktuaren egonkortasuna eta nanopartikulen sistemetan dagoen estekatzaila kopurua ezagutzeko erabiltzen dira. Horretarako, Kimika Organikoa eta Ez Organikoa sailean kokatutako NETZSCH STA 449C (A.2. Irudia) tresna erabili da. Gailuak dituen sentso-re mota desberdinei esker, analisi malgutasun handia eskaintzen du. Ondorioz, neurketa egiteko erabil daitezkeen arragoak eta hauetan erabil daitezkeen tenperatura programak anitzak dira. Hurrengo A.2 irudian neurketak egiteko erabili den gailuaren eskema ageri da. A.2 irudian ikus

daitekeen bezala, aparatu honek zutabe motako labea du, aldi berean lagina eta zuri bezala erabiltzen den erreferentzia neurtzen dituen.



A.2 Irudia. NETZSCH STA 449C termobalantza osagaien eskema, produktuaren katalogotik modatua.

Analisi Termikoaren (TA) terminoa lagin baten portaera deskribatzen duten beroketa-programa bati lotua dauden teknika esperimentalen multzoa izendatzeko erabiltzen da. TA tekniken barruan, analisi termodiferentziala (DTA), ekorketa bidezko kalorimetria diferentziala (DSC) eta analisi termograbitrikoa (TGA) dira gehien erabiltzen direnak^[2]. Lan honetan TGA neurketak laginetan dagoen materia organikoaren kantitatea zehazteko erabili dira.

Memoria honetan jasotzen diren neurketak modu dinamikoan egin dira. Hau da, lagina aurretik zehaztutako programa bat jarraituz berotu da, normalean lineala eta temperatura aldakorra duena. Lortutako emaitzetan hurrengo faktoreek eragina izan dezaketela kontuan hartu behar da^[3]:

- *Faktore instrumentalak:* labearen berotze-abiadura, atmosfera-mota, arragoa eta labearen geometria, arragoaren materiala, datuak eskuratzeko abiadura eta sentikortasuna.

- *Laginaren berezko faktoreak*: lagin-kantitatea, laginaren disolbagarritasuna askatutako gasetan, partikularen tamaina, erreazio-beroa, paketatze-maila, laginaren izaera eta eroankortasun termikoa.
- *Teknikaren errore-iturri espezifikoak*: flotazio-efektua, labearen efektua (konbekzioa, turbulentsia) eta temperaturaren neurketan sortu daitezkeenak.

Orokorrean lagin guztien 5-10 mg bitarte termobalantzan kokatu dira eta argoizko atmosfera baten pean 25 °C-tik 800 °C-ra berotu dira 10 °C min⁻¹-ko beroketa abiadura erabiliz.

A.3 X-izpien difrakzioa.

Lan honetan egindako difraktogramak UPV/EHUko SGiker X Izpien Zerbitzu Orokorretako PANalytical X'Pert PRO difraktometroan egin dira, zeinek Bragg-Brentano geometria eta Cu-zko antikatodoa dituen. Sorgailuan aplikatu diren neurketabaldintzak 40 kV eta 40 mA izan dira, eta lortutako difraktogramak 0° - 70° - ko tartean erregistratu dira 0.026° bakoitzeko, 60 segunduko igarotze-denborarekin.

X izpiak erradiazio elektromagnetikoa dira eta kristalen gelaxka-parametroen (Å gutxi batzuk dituztenak) magnitude-orden bereko uhin-luzera (λ) dute^[4]. Erradiazio horrek sare kristalino baten atomo hodei elektronikoarekin talka egiten duenean, atomo horiek erradiazio horren igorle puntual bihurtzen dira. Atomo bakoitzak igorritako erradiazioa uhin esferiko baten moduan hedatzen da, inguruneke atomoek sortutakoekin interferentziak sortuz. Gauzatutako interferentzia hauek suntsitzaileak edo eraikitzaileak izan daitezke. Interferentzia eraikitzailearen den norabideek bat egingo dute eragindako erradiazioaren norabidearekin egitura kristalinoa osatzen duten plano atomiko desberdinetan isolatzen direnean. Islapen-printzipio hori Braggen lege ezagunean (A. 1. ekuazioa) jasotzen da:

$$\lambda = 2 d_{hkl} \sin \theta \quad (\text{A.1})$$

non θ erradiazio erasotzailearen angelua eta d_{hkl} hkl osagaiak dituen bektore batek definitutako ondoz ondoko bi planoren arteko distantzia diren.

Lagin polikristalino baten difraktograma baldintza egokienetan neurtzen denean, X izpien difrakzioak, difrakzio beste mota batzuekin alderatuta, duen abantailatako bat d_{hkl} - en bereizmen handia da. Hala ere, teknika honek eragozpen garrantzitsua ere badu: X izpiek atomoekin duten interakzioaren magnitudea, horien zenbaki

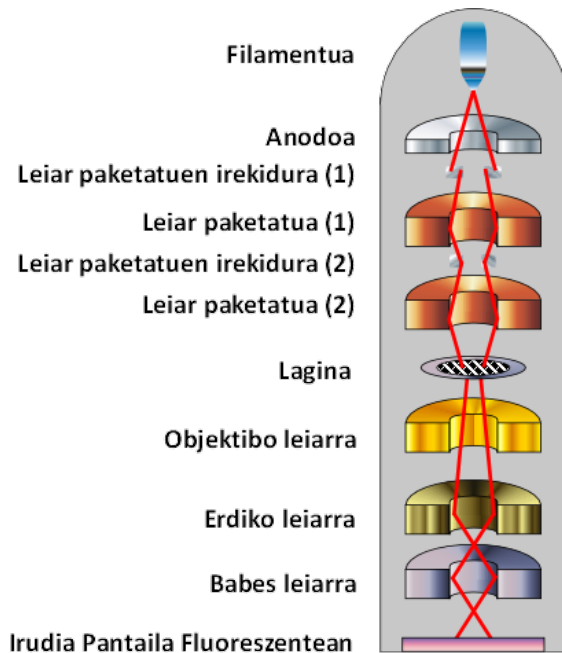
atomikoarekiko (Z) proportzionala da. Ondorioz, lagin bat taula periodikoan oso hurbil dauden atomo desberdinez osatuta badago, teknika honen bidez bi atomo hauek bereiztea ezinezkoa izango da. Izan ere, elementu bakoitzaren elektroikopuruaren aldea oso txikia da. Efektu hau konposatu batetan zenbaki atomiko oso desberdinak dituzten atomoak daudenean errepikatu egiten da: kasu horretan, Z txikia duten atomoek eragindako x izpien dispertsioa estalita geratzen da zenbaki atomiko altuak dituztenekin. Era berean, X izpien difrakzioa ere dispertsio angeluaren (θ) menpekotasuna aurkezten du. Ondorioz, $\sin(\theta/\lambda)$ -aren balioa zenbat eta handiagoa izan, orduan eta txikiagoa da dispertsio ahalmena.

A.4 Transmisio – mikroskopia elektronikoa

Transmisioko mikroskopia elektronikoa laginen egitura eta morfologia aztertzeko erabili da. Azterketa horri esker, nanopartikulen homogeneousutasuna zehaztu da, baita nanopartikulen tamainen banaketa eta sakabanaketa ere. Datu hauek materialek bere propietateekiko dituzten menpekotasuna adierazteko erabili dira.

Memoria honetan aurkeztutako TEM irudiak UPV/EHUko Mikroskopia Elektronikoaren eta Mikroanalisiaren Zerbitzu Orokorretan dagoen EDX eta WDX mikroanalisiarekin hornitutako Philips CM200 mikroskopiorekin egin dira. Lagin guztiak 200 kV-ko potentzialean eskuratu egin dira, eta horretarako, inklinazio arrunteko lagin-porta erabili da, bai irudirako, bai difrakziorako.

Edozein laginek transmisio-mikroskopia baten bidez behatua izateko ezinbesteko baldintza bat bete behar du: elektronikoki gardena izatea. Honekin batera, jasoko duen elektroikopuruaren (ikus A.3 irudia) esposizioaren aurrean egonkor mantendu behar da, hau da: ezin da deskonposatu, ezin du egituraz erraz aldatu eta jatorrizko laginarekiko adierazgarria izan behar du.

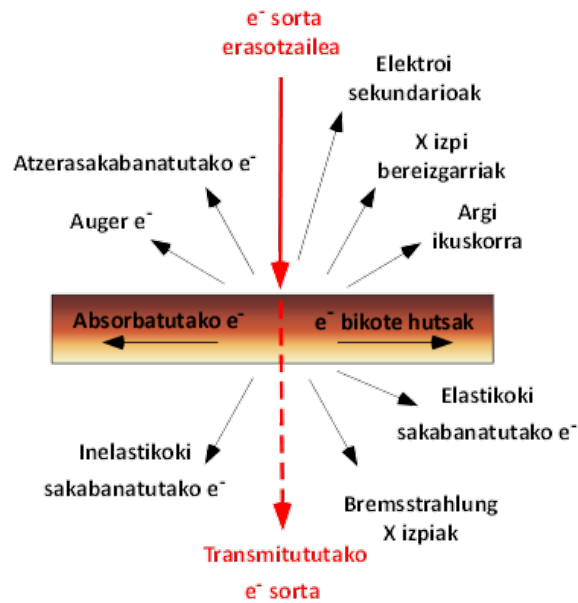


A. 3. Irudia. Trasmisiozko Mikroskopia baten zutabea osatzen duten atalen eskema sinplea.

Ikerketa honetako nanopartikulak TEM-erako ohikoak diren eskakizunetara egokitzeko asmoz, partikulak eutsiko dituzten kobrezko saretxoen konposizioa aldatuko ez duten disolbatzaileetan sakabanatu ziren. Hau da, nanopartikulen izaera polarraren arabera tolueno edo uretan sakabanatu ziren. Jarraian, dispersioaren tanta batzuk karbonozko substratua duen kobrezko sare baten gainean jarri ziren, partikulak gainazal horretan estaliz. Disolbatzailea lurrundu ondoren, sarea lagin-portan sartu eta mikroskopiaan aztertu dira.

Mikroskopia elektronikoko teknika desberdinak sustantzia batean elektroiek eragiten dituzten elkarrekintzen efektuetan eta elektroiek sustantzia berarekin dituzten elkarrekintzetan oinarritzen dira. Efektu horien eskema A.4. irudian agertzen da. Prozesu bakoitzean erabilitako detekzio-sistema egokiek igortzen duten laginari buruzko informazioa lortzeko aukera ematen dute^[5].

Azterketatik lortzen den irudian ikusten diren kontrasteak laginarekin elkar eragiten duten uhin elektronikoen faseen arteko interferentzien ondorioz sortzen dira. Ondorioz, irudiak eskuratzeko erabiltzen den metodoari *faseen arteko kontraste* deritzo. Hori dela eta, lortutako irudiak intentsitate-aldaketa lokalik ez izateko, laginak mehea izan behar du (elektronika/gardentasuna baldintza).



A.4. Irudia. Elektroi sorta batek erasotzearen ondorioz sortzen diren erantzun motak.

Laginean sartzen diren elektroi gehienak igortzen dira (A.4. irudia), baina lagineko atomoekin dituzten energia-trukearen arabera, hiru kasu bereiz daitezke:

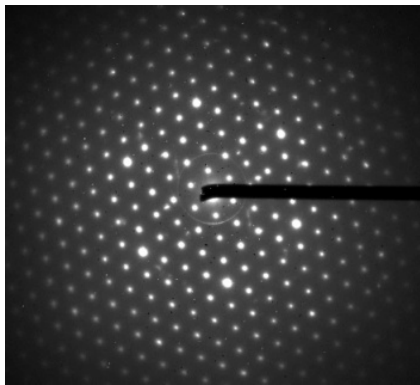
- I. Elektroiak elkar ez eragitea eta lagina ez zeharkatzea galera energetikorik gabe.
- II. Elkar eragitean zehar energia-galerarik ez egotea (scattering-prozesua edo uhin-izaerako dispersio elastikoa)
- III. Partikula azpiatomikoekin talka egitea, X izpien edo elektroi sekundarioen (scattering edo dispersio inelastiko korpuskularra) bidez adieraziko den energia-galera egon dadin.

Elektroien %95etik gora lagina zeharkatzen dute, eta gutxieneko frakzio bat atzera barreiatzen da. Hau da, elektroiak 90° baino gehiagoko angeluarekin sakabanatuko dira eta gainazaletik aterako dira^[6].

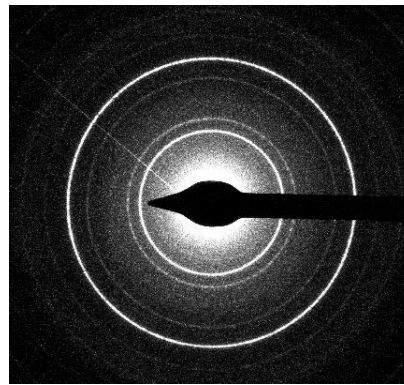
A.6. irudian ikus daitekeen moduan, elektroiak materiala zeharkatzerakoan X izpiak sortzen dituzte. Hauek aztertzen ari den laginaren bereizgarriak izango dira eta duten uhin – luzeraren (*Wavelength-dispersive X-ray, WDX*) arabera azter daitezke. Horrela, lortutako uhinen intentsitateak estandar batzuen intentsitateekin alderatzean, elementu kimikoen kontzentrazioen analisi kuantitatiboa burutzen da. Ekipoak duen beste aukera bat X Izpien Energiaren Dispersioaren (*Energy Dispersive X-Ray Analysis, EDX*) bidezko analisiak egin daitezke. Kasu honetan, energia kuantifikatzen da. Honek, laginean dauden elementuak aldi berean zehaztea ahalbidetzen du. Izan ere, X izpien igorpenak

elementu bakoitzari dagokion frekuentzia espezifikoean espektro lerroak sortzen ditu. Dena den, nahiz eta energiaren dispersioaren bidezko analisia uhin-luzeren neurketan oinarritutakoa (WDX) baino azkarragoa den, ez da hain zehatza.

Bestalde, elektroi erasotzaileen difrakzioa laginaren plano atomiko multzo batean gauzatu daiteke, laginaren difrakzio-diagrama elektronikoa lortuz. Braggen legea betetzen duten islapenek, puntu anitzez osatutako diagrama sortuko dute (A. 5. a irudia). Lagina polikristalinoa denean, difrakzio-eraztunak lortzen dira (A. 5. b irudia). Izan ere, kristalen ausazko antolamenduak Braggen eraikuntza-interferentzia baldintza neurri handiagoan betetzea eragingo du. Eraztunen arteko zabalerak, diametroak eta hurbiltasunak materialaren egiturari buruzko informazioa ematen dute, eraztun bakoitzak plano familia zehatz baten difrakzioa irudikatuz.



a)



b)

A. 5. Irudia. Transmisiozko mikroskopio elektronikoaren bidez (a) lagin monokristalinoen kasuan eta (b) polikristalinoen kasuan lortzen diren elektroi difrakzioen patroiak

Patroi horien azterketatik plano arteko tartekak eta plano kristalografikoen artean eratutako angelua lor daitezke. Horri esker, kasu gehienetan, eragindako elektroi sortarekiko laginak duen orientazio erlatiboa ezagutu ahal izango da, bai eta irudian dauden faseak identifikatu ere.

A. 5 Magnetometria

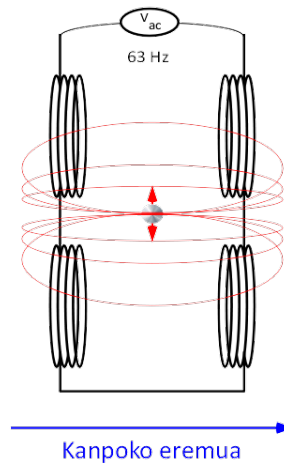
Ingurune tenperaturan neurtutako hautsezko laginak, kloroformoan sakabanutako laginak eta uretara transferitutako laginen (uretara sakabanututa) histeresi – zikloak ezkomertziala den VSM batean neurtu dira. Hau, 1.8 T-ko eremua sortzen duen elektroiman batekin hornitua dago. Eskaintzen duen erabilgarritasun erraza dela eta, magnetometro hau laginen magnetizazio-kurbak neurtzeko eta laginen kontzentrazioa kalkulatzeko erabili da.

Tenperatura aldakorreen (5 eta 300K artean) baina eremu magnetiko konstantean neurtutako laginak (ZFC – FC), Quantum Design-en SQUID magnetometro komertzial (MPMS- 7t) batean egin dira. Gailu hau 7 T-raino iristen den iman supereroale batekin eta 2 – 400 K bitarteko kriostato batez hornituta dago. Neurri horiek lagin diluituekin gauzatu dira, hau da, sintetizatu berri diren nanopartikulak zein polimeroarekin funtzionalizatutako laginen dispersioak iragazki-paperean sakabanatu dira neurketak burutzeko. Magnetometro mota honen egonkortasuna, neurrien errepikakortasuna eta bereizmenak eremu konstanteko neurketetan, 10^{-8} Am² kg⁻¹ inguruko sentikortasuna ziurtatzen du. SQUID magnetometro sentikortasuna aplikatutako eremuarekin murrizten denez, oro haz, aplikatutako eremuarekiko magnetizazio-kurbak lortzeko VSMak eraginkorragoak eta fidagarriagoak dira. SQUID magnetometroa eta lagin dardarkariko magnetometro ez komertziala Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) Zientzia eta Teknologia Fakultateko Neurri Magnetikoen Zerbitzu Orokorretan (SGiker) daude.

A.5.1 Lagin Dardarkariko Magnetometroa (Vibrating Sample Magnetometer, VSM).

VSM magnetometroa Faraday-ren indukzio klasikoan oinarrituta dago. Honen arabera, denborarekin aldakorra den eremu magnetiko batek tentsio edo potentzial-diferentzia bat sortu dezake. VSM batean, gailuaren arabera, aztertu beharreko lagina 1 mm-ko anplitudearen maiztasun finkoan oszilatu egiten da (lan honetan erabilitako magnetometroen kasuan 19.5 eta 63 Hz). Horrela, imanaturako laginak sortutako eremu magnetiko dipolarrak bigarren mailako haril multzoan (pick-up coils) boltaje bat eragiten du. A.6 irudian ikus daitekeen bezala, haril multzo horrek geometria desberdinak izan ditzake. Gure kasuan, laginaren bibrazioarekiko eta dipolo magnetikoarekiko bi haril ardazkide eta bibrazioarekiko perpendikularrak diren lau haril, elektroimanez hornitutako VSMren kasuan.

1.8 T - ko Elektroimana

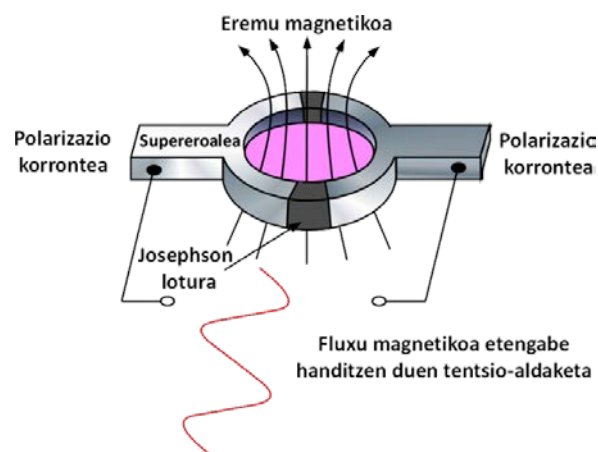


A.6 Irudia. Erabilitako VSM magnetometroen haril sekundarioak.

Neurketa oztopa dezakeen hondoko zarata ezabatzeko, seinale elektrikoa amplifikatu eta zuzendu egiten da laginaren bibrazioaren maiztasunara doitutako lock – in motako amplifikadore batekin. Seinale honen doiketa egokiaren bidez, laginaren momentu magnetikoaren neurketa azkar eta zuzena lortzen da.

3.3.1.1 A.5.2 Interferentzia kuantikoko gailu supereroale (SQUID, Superconducting Quantum Interference Device) motako magnetometroa.

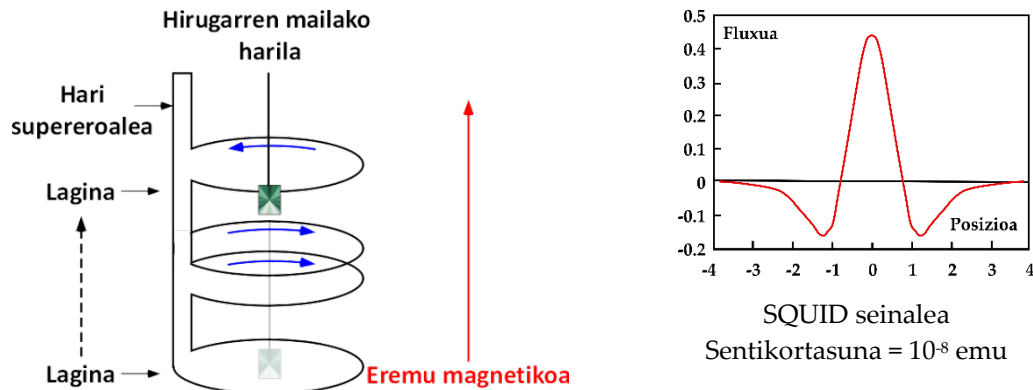
SQUID magnetometroaren funtsezko elementua magnetizazio neurketetan erabilitako Josephson (*weak link*) lotura isolatzaile batek eteten duen eraztun supereroale bat da, tunel efektuaren bidez Cooper pareak bertatik igarotzea ahalbidetzen duena (A. 7 irudia):



A.7. irudia. SQUID magnetometroaren funtzionamendu eskema, moldatua.

Tamaina txikiko (< 2 mm-ko diametroa) eraztun hau, zirkuitu oszilatzaile batera induktiboki akoplatua dago. Honen oszilazioaren maiztasuna SQUID eraztunetik doan korrontearen araberakoa da eta $2 \cdot 10^{-21}$ WB/s arteko fluxu aldaketak detektatzeko gai da. Neurketa-prozesuan, lagina SQUID sentsoreari modu induktiboan akoplatutako

simetria axiala duten bigarren mailako bobina supereroaleen multzo batetik igarotzen da. Laginaren momentu magnetikoa DC (*direct current*, edo euskaraz korrante zuzenean) neurtzeko prozedura moduan, 30 s-ko denbora behar du gutxi gora behera. Izan ere, momentu magnetikoaren balioa A. 8. irudian aurkezten den kurba teorikoarekin doituaz lortzen da. Eredu hori, bigarren mailako bobinetan zehar mugitzen den norabide axialean orientatutako dipolo magnetiko baten mugimenduarekin bat dator.



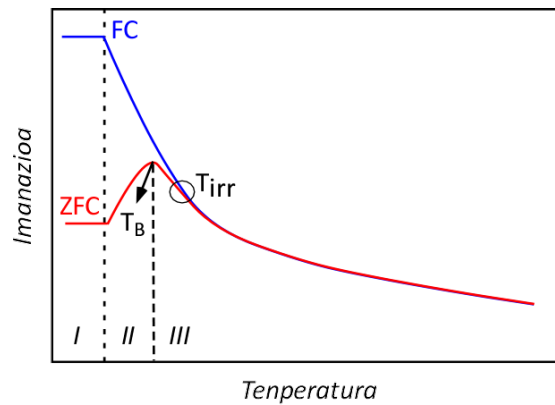
A.8. Irudia. Hirugarren mailako bobina batean egiten den neurketaren eskema.

Horien konfigurazio geometrikoa A.8 irudian agertzen den bezalako hirugarren mailako bobina batena da, eremu magnetikoaren gradiente uniformeez ez sentikorra dena. Neurketak zehatzak izan daitezten guztiz orekatuta dauden bigarren mailako bobinak fabrikatzea funtsezkoa da. Laginari egindako neurketaren balioa eta laginak duen momentu magnetiko erreala gailua kalibratzerakoan erabilitako momentu magnetiko ezaguneko patroiarekin konparatuz burutzen da.

3.5.1.2 A.5.2.1 ZFC/FC Kurbak.

Nanopartikula superparamagnetiko multzo baten ZFC/FC (Zero Field Cooling-Field Cooling) kurbetan adierazten diren fenomenoak ulertzeko, neurketa prozesu esperimentalaz aztertzea ezinbestekoa da (A. 9 irudia).

Anisotropia uniaxiala duten partikula superparamagnetikoez osatutako multzo bat eremu magnetiko baten eraginpean ez dagoenean eta blokeo-tenperatura baino tenperatura altuagoetan (T_B) aurkitzen denean, nanopartikula bakoitzaren momentu magnetikoak magnetizazio errazeko ardatzaren noranzko batetik bestera biratzen ari dira. Ondorioz, nanopartikula bakoitzaren magnetizazio garbia nulua da. Hortaz, esaten ohi da nanopartikularen momentu magnetikoa energia-langa batez bereiztutako noranzko batetan edo bestean aurkitzeko probabilitatea berdina dela.



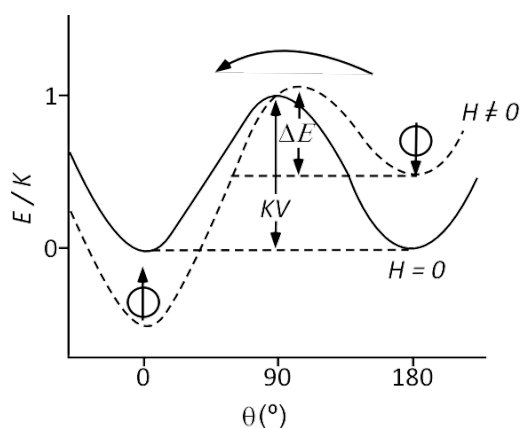
A.9 Irudia. ZFC (gorria) eta FC (urdina) kurben eskema. Honekin batera, blokeo – temperatura (T_B) eta itzulezintasun-temperatura (T_{irr}) adierazten dira, kurben atal desberdinekin (I, II eta III) batera.

Hala ere, laginaren temperatura eremu magnetikorik gabe T_B baino temperatura baxuagoetan jaisterakoan (Zero Field Cooling, ZFC), partikula bakoitzaren momentu magnetikoa magnetizazio errazeko ardatzaren bi zentzuetako batetan (magnetizazio errazeko ardatzaren bi zentzuak berdin faboratuta daude) geldituko da. Hoztutakoan ardatz errazaren orientazioa erabat ausazkoa bada, sistemaren momentu garbia ere baliogabea izango da. Baina, nanopartikula bakoitzaren momentu magnetikoa eremuaren noranzkoan biratzen dela kontuan izanda, $T = 0 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatura inguruan eremu magnetiko baxua aplikatzen bada ($< 100 \text{ Oe}$) momentu magnetiko neto txikia egongo da. Momentu garbi honen balioa Stoner – Wohlfart^[7] ereduaren (magnetizazio errazarako ardatza ausaz ordenatuta duten monodomeinu nanopartikulen taldearen magnetizazioa) bidez zehaztua izango da. Temperatura igo ahala eta II. atalera heltzen den heinean, T_B txikia duten nanoartikulak desblokeatzen hasiko dira eragindako eremuarekiko orientatuz. Horrela, sistemaren magnetizazioak gora egingo du nanopartikulak desblokeatu ahala, txikietatik handienetara (A.9. irudia, II atala)

ZFC kurbaren maximoak nanopartikula multzoaren batez besteko blokeo temperatura adierazten du (T_B). Horrela, temperaturaren igoerak eragindako energia termikoaren ondorioz, bi potentzial putzuen populazioak parekatzen hasiko dira. Horregatik, sistemaren magnetizazioa jaisten da (A.9 irudia, III. tartea). Alde batetik, ZFC eta FC atalek bat egiten duten puntuari itzulezintasun-temperatura deritza, T_{irr} , eta partikula handienaren desblokeoari dagokio. Maximoaren zabalera eta T_B eta T_{irr} – ren arteko distantzia gero eta handiagoa direnean, orduan eta handiagoa izango da sistema osatzen duten nanopartikulen tamaina banaketa.

Bestetik, FC kurbaren kasuan, sistema eremu magnetiko baten eraginpean hozten da. Modu honetan, partikula bakoitzaren momentu magnetikoa magnetizazio errazeko ardatzaren noratzen geratzen da. Gainera, nanopartikulen momentu magnetikoa eremuaren alde arinki biratuko da (10 edo 100 Oe-ra egoteagatik dagokiona). Hortaz, FC kurbaren lehen atalean (A.9 irudia), nanopartikula txikien aktibazio energia termikora iritsi arte, magnetizazioa konstantea eta tenperaturarekiko independentea da. Une horretatik aurrera, magnetizazioak behera egiten du, bi potentzial-putzuen populazioak parekatzen hasten dira eta partikula handiena desblokeatu den tenperaturan ZFC kurbarekin bat egiten du.

Elkarrekintzarik gabeko eredu superparamagnetikoan, aplikatutako eremu magnetikoak eragiten duen blokeo-tenperaturaren (T_B) itxurazko desplazamendua, sisteman eremuak sortzen duen pertubazioarekin erlazionatutako efektu txikia da.



A. 10 irudia. Nanopartikularen energia-linga kanpoko eremu magnetikoarekiko duen dependentzia.

Efektu hau ardatz errazeko norabidean eragindako eremu magnetiko baten eraginpean dagoen nanopartikula uniaxial baten energia mailak irudikatuz adierazten da (A.10 irudia). Aplikatutako eremu magnetikoak A.10 eskeman adierazitako nanopartikulen E_B oinarritzko energia-egoera (eta ondorioz, T_B) eraldatzen du, A.2 ekuazioak adierazten duen moduan:

$$E_B = \Delta E = KV \left(1 - \frac{MH}{2K}\right)^2 \quad (\text{A.2})$$

100 eta 10 Oe-ko neurketetan lortutako T_B oso altuak izatea, partikulek kontaktu zuzenik ez duten sistemetan interakzio dipolarrek daudela adierazten du. Frogatu da interakzio ahulak dituzten laginetan eremu dipolarrek energia hesiak (E_B) aldatzen dituztela. Propietate magnetiko kolektiboak dituzten nanopartikuletan elkarrekintza

dipolarrek dituzten eraginak deskribatzeko, elkarren kontrakoak diren bi eredu proposatu dira. Dorman eta lagunek^[8,9], interakzio dipolarrek blokeo-tenperatura handitzen dutela baieztatu zuten. Morupek eta Troncek aldiz, elkarrekintza dipolar ahulek blokeo-tenperatura jaitsi egiten zutela ondorioztatu zuten^[10].

Interakzio dipolarrek nanopartikula metalikoen (Fe^[11], Ni^[12], CoPt₃^[13]) blokeo-tenperaturaren duten eragina aztertzeko hainbat ikerketa burutu dira eta orokorrean tenperaturaren igoera dute emaitzat. Gainera, gertaera hori ferrofluido diluituetan, geruza finean mihizatutako nanopartikuletan^[14] eta Monte – Carlo kalkuluetan^[15] ere ikusi da. Profil Gaussiar batek nanopartikula sistema baten tamaina-banaketa deskribatzen badu, sistemaren nanopartikula txikiak nanopartikula handien eragin dipolarren eraginez ainguratuta geldituko dira, ZFC kurbaren maximoaren balioa tenperatura handietara mugituz. Desplazamendu hori eremu nuluan maximoa da, izan ere, eremua handitu ahala, energia magnetikoa elkarrekintza dipolarrek baino handiagoak izaten hasten dira. Hori dela eta, elkarrekintza dipolarren ondorioz eremu desberdinetan neurtutako laginen blokeo-tenperaturak oso desberdinak dira. Kokapen eta distantzia berdinean kokatutako nanopartikulen elkarrekintza dipolarrek nanopartikulen tamainarekin gora egiten dute^[14]. Hortaz, orduan eta nanopartikula handiagoak izan, eremu desberdinetan neurtutako blokeo-tenperaturen desberdintasuna handiagoa izango da.

Elkarrekintza dipolarren efektua FC kurban batz besteko blokeo-tenperatura azpitik ikusten da. Eredu superparamagnetikoak, magnetizazioaren hazkundera hoztearekin batera iragartzen du, partikula txikien blokeo-tenperaturara iritsi arte^[16,17]. Baina, partikula handiek blokeatzean, interakzio dipolarren bidez partikula txikiak oztopatzen badituzte, nanopartikula txikiak behar zutenean, baino lehenago blokeatuko lirakeke, momentu magnetikoa aplikatutako eremuarekiko antiparaleloki kokatua izanda. Hau horrela, nanopartikula sistema trinkoen bereizgarri diren *blokeo* edo *freezing* deituriko efektu kolektiboak sortuko lirakeke^[18]. Honen ondorioz, FC kurban maximoak ager daitezke, *spin beira* edo *spin glass* deituriko efektuen agerpenaren ondorioz sortuak. Horregatik, FC kurba eredu superparamagnetiko ideal batetan izango lukeen itxuratik asko aldentzen da. Kasu hauetan, interakziorik gabeko nanopartikulen eredu superparamagnetikoa ZFC kurbak bakarrik irudika dezake.

A.5.2.2 Monodomeinu Nanopartikulen Sistemetako Magnetizazioa

Domeinu bakarreko partikulen ereduan, magnetizazioaren kalkuluak oinarritzko bi premisa ditu abiapuntu:

- Nanopartikulen populazioak, anisotropia uniaxiala duten monodomeinu magnetikoz osatua, ausaz orientatuta ditu magnetizazio errazeko ardatzak.
- Nanopartikulen arteko interakzio dipolarrak ez dira existitzen. Hortaz, aske sakabanatuta dauden nanopartikula multzoarekin lan egiten da.

Azken premisa hau oso zaila da errealitatean egiaztatzea. Hortaz, ahalik eta neurketa errealea burutzeko, neurtutako sistema ahalik eta diluituen egon behar du. Horrela nanopartikulen propietateak (momentu magnetikoa, tamaina eta anisotropia-konstantea) modu indibidualagoan ezagutu ahalko dira.

A.6 Erresonantzia Magnetiko Elektronikoa (EMR)

Erresonantzia magnetiko elektronikoa (*Electron Magnetic Resonance*, EMR) erabiliz lortutako espektroak X eta Q bandetan lan egiten duen Bruker ELESYS espektrometro batetan erregistratu dira. Gailu honek, Bruker BNM 200 Gaussometro batekin, Hewlett-Packard 5352B mikrouhin frekuentziometro batekin eta fluxu jarraituko nitrogeno eta Helio kriostato batekin hornitua dago eta UPV/EHUko Ikerketako Zerbitzu Orokorretan (SGIKER) kokatuta dago. Espektroak eremu magnetikoa frekuentzia jarraian aldatuz lortu ziren.

Spin Elektronikoaren Erresonantzia (edo Erresonantzia Magnetiko Elektronikoa) gaur egun material askoren egitura eta propietateei buruzko ikerketetan erabiltzen den teknika espektroskopikoa da. Bere printzipio teorikoak Erresonantzia Magnetiko Nuklearrarenaren berdinak dira, spin nuklearrak ikertu ordez spin elektronikoak detektatuz eta aztertuz. Esan daiteke EMR-a, funtsean, kanpoko eremu magnetiko baten eraginpean dauden spin desparekatuak dituzten sistemak uhin elektromagnetikoak (mikrouhinak) xurgatzean datza. Berez, spin elektronikoaren momentu garbia duen edozein material, espektroskopia honen bidez aztertua izan daiteke. Horregatik, hainbat materialen maila mikroskopikoan gertatzen diren spinen arteko elkarrekintzak ikertzeko tresna interesgarria izan daiteke, hala nola: material ferro- eta antiferromagnetikoak eta spin-beirak (*spin-glass*). Gainera, egoera magnetikoarekiko eta

ezaugarri morfologikoekiko sentikortasun handia du, nanopartikula magnetikoen propietate fisikoak aztertzeo aukera emanez^[19].

Garrantzitsua da kontuan hartzea, trantsizio optikoekin ez bezala, erradiazio erasotzailearen osagai magnetikoa, eta ez elektrikoa, sistemarekin elkar eragiten duena dela. Erresonantzia-baldintza, eta, beraz, xurgapena, energia erasotzailea elektroaren momentu magnetikoaren orientazioa aldatzeko behar den energiaren berdina-dena denean lortzen da (A. 3 ekuazio). Hau da, M_s balioan 1 unitatearen aldaketa lortzeko (hautapen-araua, $\Delta M_s = \pm 1$). Bestalde, espektrometro optikoekin alderatuz, EMR gailuek maiztasun konstantean lan egiten dute, eta espektroa eremu magnetiko estatikoa linealki aldatuz ekortzen dute. Xurgapena spin elektronikoaren bi mailen bereizpen energia erradiazio-energiaren berdina denean gertatzen da, erresonantzia eremua (H_r) deritzon aplikatutako eremuaren balioa lortzen den egoera.

$$\Delta E = h\nu = g \mu_B H_r \quad (\text{A.3})$$

non g elektroari dagokion arrazoi giromagnetikoa den (elektroaren momentu angularraren eta honek sortzen duen momentu magnetikoaren arteko proportzionaltasun konstantea dena; elektro askearen kasuan, momentu angularrak spinaren ekarpena baino ez duena, $g_e = 2.0023$), H_r eremu erresonantea da eta μ_B Bohren magnetoia ($9.27 \cdot 10^{-21}$ erg/G) da.

Erresonantzia Paramagnetiko Elektronikoan seinalearen posizioa g balioaren (edo erresonantzia eremuaren) baliokidea da, sistemaren karakterizazioan funtsezkoa dena. Haatik, Erresonantzia *Ferromagnetiko* Elektronikoan, g posizioa ez dago soilik spin-orbita akoplamenduaren eta laginak kanpoko eremuarekiko duen orientazioaren mende, sistemaren berezko eremuaren, H_i , (edo, beste era batera esanda, anisotropia-eremua, H_a) eta bi eremuen (kanpoko eta barnekoa) orientazioaren mende ere badago.

Sistema superparamagnetikoetan erresonantzia magnetikoa deskribatzeko erabilitako eredua, Raikher eta Stepanov^[20] garatua, momentu magnetikoaren tratamendu klasikoan oinarritua dago, H eta H_i kanpo- eta barne-eremuen eraginpean dagoena. Izan ere, momentu magnetikoak aplikatutako eremutik eratortzen den indarra behatzeaz gain, beste indar mota batzuk ere jarduten dutela nabaritzen du, anisotropiaren ondorioz sortutakoak adibidez. Horrela, sistemaren energia honela adieraz liteke:

$$E = \vec{\mu} (\vec{H} \pm \vec{H}_l) \quad (\text{A.4})$$

Non μ asetze-magnetizazioaren (M_s) eta partikularen bolumenaren (V) biderkaketaren produktua ($M_s V$) den. Horrela, anisotropia uniaxialeko nanopartikula superparamagnetikoez osatutako sistema batean, kanpotik aplikatutako eremu batekiko anisotropia-ardatza norabide jakin batetan finkatuta duen partikula bakoitzaren erresonantzia eremua, A. 5 ekuazioaren bidez adieraz daiteke.

$$H_r = \frac{h\nu}{g\mu_B} - \frac{H_a}{2} \frac{1}{L(x)} \left[1 - \frac{3L(x)}{x} \right] (3 - \cos^2\theta - 1) \quad (\text{A.5})$$

non H_a barneko anisotropia-eremua den, 2K/Ms-ren baliokidea dena, $L(x)$ Langevin funtzioa den, $x = \frac{\mu H}{k_B T}$ eta θ aplikatutako eremuaren eta anisotropia-ardatzaren arteko angelua den. A.5 ekuazioak fluktuazio termikoez anisotropia efektiboaren eremuan duten eragina deskribatzen du eta ia arbuigarria da tenperatura altuetan, erresonantzia-eremua $H_r \cong h\nu/g\mu_B$ baliora luzatuz.

Temperatura jakin batetan, erresonantziaren eremurik altuena anisotropia-eremua ahal den txikiena denean lortzen da, hau da, $\theta = 90^\circ$ baino altuagoa duten partikuletan (anisotropia-konstantea zero baino handiagoa denean, $K > 0$). Aldiz, erresonantzia-eremu baxuena anisotropia ardatza aplikatutako eremuarekiko paraleloa denean lortzen da.

$K < 0$ ematen den kasuan, egoera alderantzikatu egiten da bi orientazioetarako. Tenperatura handitzen den heinean, muturreko erresonantzia-eremu horien arteko aldeak laburtu egiten dira, erresonantzia-eremu $h\nu/g\mu_B$ -ra joz. Horren ondorioz, orientazio posible guztien gaineko batez bestekoa egitean, hau da, ausaz banatutako partikulen sistema baten kasuan (sistema superparamagnetiko baten egoera bereizgarria), lerro-zabalera tenperaturaren igoerarekin murriztu egiten da gutxieneko bat lortu arte, hortik aurrera berriz handituz. Azken igoera hori lasaikuntza-denborarekin lotuta dago, tenperatura igotzean murrizten doana.

Sistema superparamagnetiko batetan, nanopartikulen tamainaren sakabanaketa txikia denean, erresonantzia-seinalea lagina osatzen duten eta aplikatutako eremuarekiko ausaz ordenatuta dauden nanopartikula ezberdinen kontribuzioen gainjartzearen emaitza da. Hortaz, sistema errealek ez dute partikula sakabanaketa perfekturik aurkezten, beraz, emaitzak interpretatzerakoan tamainen banaketa kontuan hartu behar da.

Aipatu bezala, absortzio-maximoa eremu magnetikoak eragindako energi diferentzia erradiazio elektromagnetikoak sortutako energiarekin bat datorrenean gertatzen da. Xurgapen hori definitzen duen kurba, Lorentziarra edo Gaussiarra izan daitezke eta definitzen dituzten ekuazioak A.1 taulan jasotzen dira:

A.1. Taula. Lorentziar edo Gaussiar motako xurgapen kurben ezaugarriak.

KURBA PROFILA	LORENTZIARRA MOTAKOA	GAUSSIARRA MOTAKOA
Erresonantzia lerroa	$Y = Y_{max} \frac{I^2}{I^2 + (H - H_r)}$	$Y = Y_{max} \exp \frac{(-\ln 2)(H - H_r)^2}{I^2}$
Lerro- anplitudea	$Y_{max} = \frac{1}{\pi \Gamma}$	$Y_{max} = \frac{\ln 2^{1/2}}{\pi} \frac{1}{\Gamma}$
Altuera erdiko lerro zabalera	Γ	Γ
Lehenengo deribatua	$Y' = Y_{max} \frac{2\Gamma^2(H - H_r)}{ I^2 + (H - H_r) ^2}$	$Y' = -Y_{max} \frac{2(\ln 2)(H - H_r)}{\Gamma^2} \exp \frac{(-\ln 2)(H - H_r)^2}{I^2}$
Tontorretik tontorrerako lerroaren anplitudea	$2Y'_{max} = \frac{3\sqrt{3}}{4\pi\Gamma^2}$	$2Y'_{max} = 2 \left(\frac{2}{\pi e}\right)^{1/2} \frac{\ln 2}{\Gamma^2}$
Tontorretik tontorrerako lerroaren zabalera	$\Delta H_{pp} = \left(\frac{2\Gamma}{\sqrt{3}}\right)$	$\Delta H_{pp} = \left(\frac{2}{\ln 2}\right)^{1/2}$
Kurbaren alde positiboaren tontorreko lerroaren anplitudea	$A = Y_{max} \left(\frac{1}{2\Gamma^2}\right)$	$A = Y_{max} \left(\frac{4e^{-3/2} \ln 2}{\Gamma^2}\right)$
Kurbaren alde negatiboaren tontorreko lerroaren anplitudea	$B = -Y_{max} \left(\frac{2}{\Gamma^2}\right)$	$B = -Y_{max} \left(\frac{2\ln 2}{\Gamma^2}\right)$

Tontorretik tontorrerako lerro-zabalera, (ΔH_{pp}), aldagai garrantzitsu bat da. Izan ere, hortik abiatuta, hurbileko ioi paramagnetikoen arteko elkartrukaketa-elkarrekintzak ezagut daitezke, baita oinarritzko egoeratik hurbil dauden kitzikatutako energia-egoeren existentzia. Era berean, absortzio-kurbaren integrala ezagutzea interesgarria da, hau da, haren azalera (A_{EPR}), zeina laginean erresonantzian dauden spin-kopuruarekiko proportzionala den.

EMR esperimentu batetan, H_r eremu erresonantearen inguruan seinalea hedatzea ziurgabetasun-printzipioaren ondorioa da (A. 6). Honek, egoera baten batez besteko bizitza-denbora oso txikia bada, trantsizio baten energia guztiz ebaztea ezinezkoa dela ziurtatzen du:

$$\Delta E \Delta t \approx \frac{h}{2\pi} \quad (\text{A.6})$$

Energian dagoen zehaztugabetasun batek, erresonantziarako beharrezkoa den erradiazioaren maiztasunaren zehaztugabetasuna dakarrela kontuan hartuta, $\Delta E = h\Delta\nu$, RME espektro baten lerro-zabalera adierazteko adierazpen kualitatiboa lortu daiteke:

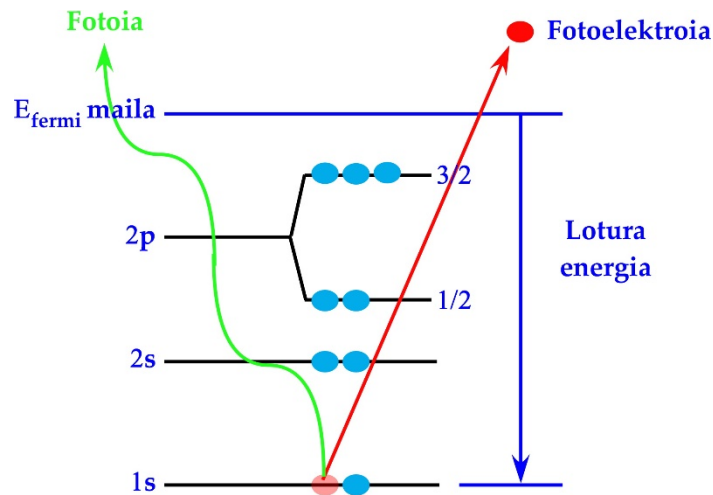
$$\Delta\nu = \frac{\Delta E}{h} \approx \frac{1}{\Delta t} \quad (\text{A.7})$$

Baldintza hauetan, energia-egoera baten bizitza-denbora zenbat eta txikiagoa izan, erresonantzia zabalagoa izango da. Honekin batera, kitzikatutako ioien artean gauzatzen den energia transferentzien ondorioz, ioi magnetikoek bere inguruarekin elkarrekintzak dituzte (dipolo-dipolo elkarrekintzak edo kanje-magnetikoko elkarrekintzak) eta erresonantzia-lerroa zabalduko da.

A.7 X izpien bidezko espektroskopia fotoelektronikoa (XPS)

X izpien bidezko espektroskopia fotoelektronikoa (XPS) materialen gainazaleko konposizioa aztertzeke azaleko teknika analitiko kualitatiboa zein kuantitatiboa da. Gainera, material baten gainazala osatzen duten elementu kimikoen egoera kimikoa zehaztea ahalbidetzen du. Lan honetan burutako neurketak Euskal Herriko Unibertsitateko X izpien bidezko espektroskopia fotoelektroniko Zerbitzu Orokorretan egin ziren. Horretarako Phoibos 150 1D-DLD analizatzaileaz eta Al $K\alpha$ (1486 eV) erradiazio iturri monokromatikoaz hornituta dagoen SPECS (Berlin, alimania) ekipamendua erabili zen. Analisia egin aurretik, espektrofotometroa zilarralerekin kalibratua izan zen, gero bi analisi mota burutu ziren: alde batetik, elementuak detektatzeko analisia eta bestetik, elementu bakoitza aztertzeke analisiak. Azkenik, lortutako espektroak CasaXPS 2.3.16 softwarea erabiliz doitu ziren.

X izpien bidezko espektroskopia fotoelektronikoa efektu fotoelektrikoan oinarritzen da, ikusi A.11. irudia.



A.11. irudia. Efektu fotoelektrikoaren eskema.

Fotoi batek laginaren gainazalean eragiten duenean, bere energia laginean dauden atomoen hodei elektronikoak erabat adsorbatua izan daiteke. Eragindako fotoiaren energia nahikoa altua bada, laginaren ionizazioa eta fotoelektroi baten kanporatzea eragin dezake. Fotoelektroi honek, energia zinetiko jakin batekin aterako da, kanporatutako elektroien elektro energia-lotura eta fotoien energiaren araberakoa izango dena (A.8 ekuazioa)^[21]:

$$E_{\text{zinetikoa}} = h\nu - E_{\text{lotura}} \quad (\text{A.8})$$

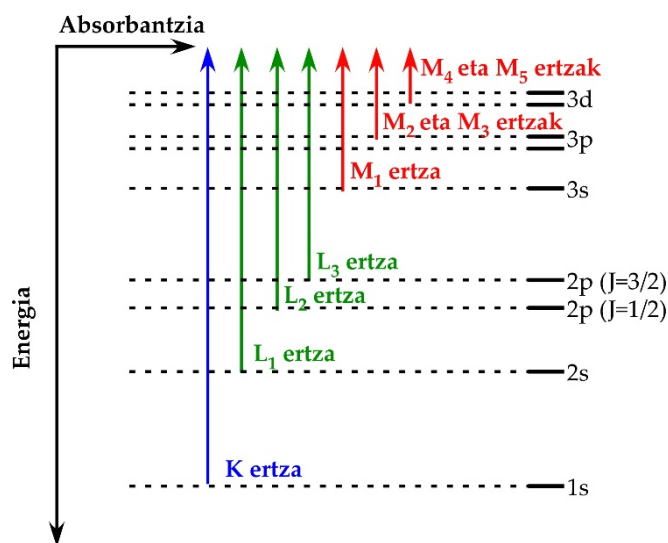
Energi-sorta $h\nu$ denez, fotoelektroia energia zinetiko ($E_{\text{zinetikoa}}$) batekin ateratzen bada, bien arteko aldeak atomoaren lotura-energia (E_{lotura}) ematen digu, elementu bakoitzaren ezaugarria dena. Horretarako, huts ultra altuko baldintzetan lan egin behar da. Hori lortzeko, ponpa turbo-molekularrak eta ponpa ionikoak erabiltzen dira, olioeko ponpa birakarien bidez lortutako aldeaz aurreko hutsuneekin bermatuak.

Balentzia-bandako elektroien lotura-energia, oinarrizko konposizioaren araberakoa ez ezik, materialaren ezaugarrien araberakoa ere bada, hala nola, materialaren egitura kristalinoa. Aldiz, barne-elektroien kasuan, lotura-energia atomoen iturriaren eta maila elektronikoaren ezaugarri bat da. Beraz, printzipio honen arabera, XPS teknikak energia altuko x izpien fotoiak erabiltzen ditu elementu kimiko igorlearen berariazko energia zinetiko batekin ihes egiten duten elektroien zentralen fotoemisioa eragiteko^[22].

A.8. X izpien xurgapena ertzetik gertuko egitura (XANES)

X izpien xurgapena ertzetik gertuko egitura (XANES), materiaren tokiko egitura geometrikoa eta elektronikoa zehazteko erabiltzen den X izpien xurgapen espektroskopia mota bat da. Zehazki, fotoxurgapenaren zeharkako sekzioan dauden trantsizio elektronikoen bitartez materia kondentsatuaren 50 eta 100 eV bitarteko energia eremuan atomo batetan X izpien xurgapenak eragiten dituen espektroen ezaugarriak aztertzen ditu.

X izpiak erradiazio elektromagnetiko ionizatzailea dira, atomo baten nukleoko elektroi bat egoera eszitonikoa deritzon ionizazio-atariaren azpitik hutsune bateraino edo ionizazio-atariaren gainetik dagoen egoeraraino kitzikatzeko adina energia duena. Elektroi zentralak, lotura-energia desberdinak dituztenez, elementu espezifiko baten X izpien absorbantzia energiaren arabera irudikatzen bada, ateratzen den espektroa A.12 irudiaren antzekoa izango da.



A.12. irudia. X izpien absortzioan gerta daitezkeen elektroien trantsizioak.

X izpien erradiazioaren energia erdiko geruza baten lotura-energia erregimenaren bidez eskaneatzen den heinean, xurgapenaren bat-bateko hazkundea agertzen da, nukleoko elektroi mota espezifiko batek X izpien fotoia xurgatzeari dagokiona. Horrek X izpien absortzio espektroan xurgatze-ertzak deritzona sortzen du. Xurgapen-ertzak kitzikatutako elektroien n zenbaki kuantiko nagusiaren arabera izendatzen dira (A.2. taula).

A.2.Taula. Absortzio ertzak eta bakoitzari dagozkien elektroiak

Absortzio-ertzak				
K ertza	1 s			
L ertza	2 s	2p		
M ertza	3 s	3p	3d	
N ertza	4s	4p	4d	4f

X izpien xurgapen-espektroetako xurgapen-ertzetako energiek elementu bakoitzaren identitatea adierazten dute. Hala ere, xurgapen-ertz baten azterketa zehatzago baten bidez informazio erabilgarriagoa lor daiteke, adibidez: oxidazio egoera. Dena den, xurgapen-ertza, askotan, A.12. irudian islatutako xurgapena baino askoz konplexuagoa da.

XANESek okupaturik ez dauden egoera elektronikoen momentu angeluarrak aztertzen ditu batez ere. Horiek, lotutako egoerak, ez lotutako egoerak, diskretuak, zabalak, atomikoak edo molekularrak izan daitezke. Hortaz, trantsizioa zehazteko, dipoloak hautatzeko erabiltzen den araua honako hau da: $\Delta L = \pm 1$, $\Delta J = \pm 1$, edo $\Delta s = 0$ ^[23]. Ondorioz, trantsizio baimenduak A.3 taulan adierazi dira.

A. 3.taula. XANES espektroskopian elektroiek baimendutako elektro-trantsizioak.

Jatorrizko egoera	Egoera finala
s	p
p	s, d
d	p, f
f	d, g

XANES espektro batzuetan, goranzko xurgapen-ertzak "lerro zuria" izeneko tontor bizi eta zorrotz bat izan dezake. Izendapen horren arrazoi nagusia iraganean X izpien xurgapen espektroak argazki plakak erabiliz erregistratzen zirela da. Izan ere, uhin luzera baten xurgapen indartsuak, ondoren negatiboan garatzen den argazki plaketan agertzen ez den banda batetara eramaten du, zerrenda bertikal zuri bat bezala agertzen dena, hortik, "Lerro zuria" hitza.

Xanes espektroak (X izpien xurgapena ertzaren egituratik gertu) giro-tenperaturan eta baldintza atmosferikoetan erregistratu ziren Elettra Sincrotroneko (Trieste, Italia) XAFS (11.1R) argi-lerroan. Argi-lerroak 2,4 - 27 keV tarteko X izpien energiak ematen ditu, Si (111) kristal bikoitzeko monokromadore bat erabiliz. Fe K-ertzaren (7112 eV) eta Ga K-ertzaren (10377 eV) xurgapen-espektroak transmisio moduan bildu ziren, detektagailu gisa ionizazio-kamerak erabiliz. Baldintza horietan, ertzaren posizioa 0,2

eVko zehaztasunez zehaztu daiteke. Lagin bakoitzerako energia-ertza kalibratu zen laginaren hondoan jarritako Fe edo Ga xaflazko XANES espektro bat aldi berean erregistratuz. Neurketak burutzeko, nanopartikula hauts lehorra polibinilpirrolidonarekin nahastu zen eta 10 mm-ko pastillak prestatu ziren. $Ga_xFe_{3-x}O_4$ laginaz a parte, burdin estandar serie bat (Fe_3O_4 (magnetita) eta Fe_2GaO_4 (galiozko ferrita)) galio oxidoa ($\beta-Ga_2O_3$) ere neurtu zirenan. Espektroak burdinaren $A = 14 \text{ \AA}^{-1}$ eta galioaren $A = 12 \text{ \AA}^{-1}$ ertzak arte erregistratu ziren zarata altuko seinale ratioarekin. Hori dela eta, neurtutako lagin bakoitzeko bi espektro egin ziren hondoko zarata leuntzeko helburuarekin. Azkenik, espektroak Iffefit erraminta paketeko Athena softwarea erabiliz doitu ziren^[25].

A.9 Argi-Dinamikoaren Barreiatuta (Dinamic Light Scatering, DLS)

Uretan dispersatutako Fe_3O_4 nanopartikulen erradio hidrodinamiko eta Zeta potentziala Zetasizer (Zetasizer Nano s, Malvern) batekin neurtu ziren.

Argi sorta batek partikula txiki bat erasotzen duenean, argia norabide guztietan sakabanatuko da baldin eta bere tamaina argi erasotzailearen uhin luzera baino askoz txikiagoa bada (250 nm-tik behera). Argi-iturria laser bat bada, hau da, argia monokromatikoa eta koherentea, uretan sakabanatuta dauden partikulen mugimendu Browniarraren ondorioz barreiatutako argiaren intentsitatearen gorabeherak ikusiko dira. Argiaren intentsitatearen mendekotasun hori, ingurune likidoan partikulen arteko distantziak aldatzearekin zuzenki erlazionatuta dago, eraikitze eta sunsitzeko interferentziak sortzen dituena. Intentsitate-fluktuazio horien azterketari esker, argi barreiatzen duten zentroen mugimenduari buruzko informazioa lor daiteke, hau da, nanopartikulei buruzkoa.

Analisi horrek nanopartikulen tamainari buruzko informazio fidagarria eman dezan, aztertutako disoluzioak ez du agregatu handirik izan behar. Beraz, disoluzio hori aztertu aurretik iragazi eta/edo zentrifugatu egin ohi da. Partikulen informazio dinamiko, esperimentuan detektatutako argi intentsitatearen autokorrelazio funtziotik lortzen da. Bigarren mailako autokorrelazio-funtzioa (A.9. ekuazioa) honela sortzen da:

$$g^2(q; t) = \frac{\langle I(t) I(t + \tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (A.9)$$

Non $g^2(q; t)$ bigarren ordeneko autokorrelazio funtzioa den q uhin bektorearen balio jakin baten kasuan, τ atzerapena eta I argi intentsitatea. Sakabanatutako nukleoen

mugimendua dela eta, funtzio horrek denborarekin beheraldi esponentziala erakusten du. Beheraldi honek, denbora berezi baten buruan, hasierako eta amaierako egoeren artean sakabanatutako intentsitatearen korrelazioa erabat deuseztatuko du. Lehen ordeneko $g^1(q; t)$ autokorrelazio-funtzioa bigarren ordenako autokorrelazio-funtziotik ateratzen da, Siegerten ekuazioaren (A.10. ekuazio) bidez:

$$g^2(q; t) = 1 + \beta [g^1(q; t)]^2 \quad (\text{A.10})$$

non β parametroa saiakuntzaren geometria bereizgarriaren mende dagoen korrelazio-faktorea den. Korrelazio-funtzioaren datuen tratamendua oso sinplea da monodispersitate altua (Polidispersitatearen Indizea, PI, 0.05 eta 0.08 artean) aurkezten duten sistemen kasuan. Horrela, funtzio hori funtzio esponentzial bakar baten bidez doitu daiteke, hurrengo A.11. ekuazioan irudikatzen den bezala:

$$g^1(q; t) = \exp(-\Gamma t) \quad (\text{A.11})$$

Hortik Γ lortzen da, hau da, gainbehera-abiadura (*decay rate*). Translazio-hedapenaren koefizientea (D_t) A.12 ekuazioaren bidez gainbehera-abiadurarekin (Γ) erlazionatuta dago argi erasotzailearen eta sakabanatuaren artean eratzen den angelu baterako edo angelu-tarte baterako (A.12 ekuazioa):

$$\Gamma = q^2 D_t \quad \text{non} \quad q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (\text{A.12})$$

non λ argi erasotzailearen uhin-luzera den, n_0 laginaren errefrakzio-indizea eta θ detektagailuak neurketa-gelaxkarekiko osatzen duen angelua. Horrela, Γ/q^2 vs q^2 irudikapena, D_t hedapen koefizientea kalkulatzeko erabiltzen da eta Stokes-Einsteinen ekuazioa (A.13 ekuazioa) erabiliz, r_h balioa lortzeko erabiltzen da.

$$D_t = \frac{k_B T}{6\pi\eta r_h} \quad (\text{A.13})$$

non η biskositatea den eta r_h batez besteko erradioa hidrodinamikoa (*z average*), partikula esferikoak direla suposatuz. Tamaina desberdineko partikulen banaketaz osatutako esekidura baten kasu orokorrean, 0,08 eta 0,7 arteko I.P. batekin, autokorrelazio-funtzioa funtzio multiesponentzial batera egokitzen da. Horrela, autokorrelazio-funtzioa partikulen populazioan dauden tamaina bakoitzari dagozkion gainbehera-prozesuen batura da (A.14 ekuazioa).

$$g^1(q; t) = \sum_{i=1}^n G_i \Gamma_i \exp(-\Gamma_i t) = \int G(\Gamma) \exp(-\Gamma t) d\Gamma \quad (\text{A.14})$$

Modu honetan, sakabanaketa koloidalean dauden partikulen tamainen banaketari buruzko informazioa lortzen da. Neurriaren emaitza argi intentsitateen banaketa da,

partikulen tamaina-banaketarekin zuzenean lotuta dagoena. Hala ere, partikula handiek eragindako intentsitatea partikula txiekiek eragindakoa baino askoz handiagoa denez, banaketa asimetriko edo multimodalen kasuan, ohikoa da intentsitateen banaketa bolumenen banaketa eta/edo partikula kantitate bihurtzea. Horretarako esfera batek erradiazio elektromagnetikoa barreiatzeko Mieren Teoria edo Maxwel ekuazioen Lorentz-Mie ebazpen ekuazioa erabiltzen dira. Horretarako ingurune koloidalaren propietate optikoak ezagutzea ezinbestekoa izango da.

A.10 Espektroskopia Infragorria

Espektroskopia infragorria nanopartikulak funtzionalizatzeko sintetizatutako kopolimeroen baitan dauden hainbat lotura mota eta talde funtzional desberdinak identifikatzeko erabili da. Aztertutako laginen espektro infragorriak FTIR-8400S Shimadzu espektrofotometro batean egin dira, 4000-400 cm^{-1} tartean. Neurketak burutzeko, potasio bromuroz eta karakterizatu beharreko konposatuz osatutako pastillak prestatu dira. Horretarako 100 mg bromuro potasiko eta konposatuaren 1 mg inguru erabili dira.

Espektroskopia infragorria bibrazio molekularretan oinarritzen da. Molekula baten infragorri-espektroa xurgatutako (edo transmititutako) kanpo-erradiazio baten intentsitatea neurtzearen ondorioz lortzen da, uhin-luzera bakoitzarako, bi bibrazio-maila ezberdinen arteko trantsizioa ahalbidetzen duena. Modu honetan, energiaren xurgapen bereizgarri horietako bakoitza molekula baten atomoen mugimendu bibrazional zehatzekin bat dator.

Hautapen-arauek, trantsizio bibrazionala elkarren ondoan dauden bi maila energetikoren artean gertatzen denean baimenduta dagoela adierazten dute. Hau da, honako bi maila hauetan gertatzen denean: $\Delta v = \pm 1$. Hautaketa-erregela hau osziladore harmonikoaren ereduari dagokio. Baina anarmonikotasuna kontuan hartzen bada, aurrez aipatutako hautapen-arauek ez da horren murriztailea, $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \pm 3 \dots$ (hala ere, azken terminoei dagozkien trantsizioen probabilitatea murrizten doa).

Aldi berean, bibrazio-trantsizio bat infragorrian aktiboa izateko molekularen (edo loturaren) momentu dipolarrak ere trantsizioan aldatu behar du. Hau da, espektro infragorrian ezin dira atomo berak eratutako molekula diatomikoen bibrazio-moduak erregistratu, adibidez H_2 eta N_2 . Bibrazio bakoitza agertzen den maiztasuna, berau

osetzen duten atomoen masa murriztuarekiko alderantziz proportzionala da, eta loturaren indarrarekiko zuzenki proportzionala da.

BIBLIOGRAFIA

1. Sneddon, J.; Vincent, M. D. ICP-OES and ICP-MS for the determination of metals: application to oysters. *Analytical letters*, 2008, 41(8), 1291 – 1303.
2. Brown, M. E. Introduction to thermal analysis: techniques and applications (Vol. 1). Springer Science & Business Media, 2001.
3. West, Anthony R. Solid state chemistry and its applications. John Wiley & Sons, 2014.
4. Schulman, S. G. Fluorescence and phosphorescence spectroscopy: physicochemical principles and practice. Elsevier, 2017.
5. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. Principles of instrumental analysis. Cengage learning, 2017.
6. Jenkins, R.; Snyder, R. L. Introduction to X-ray powder diffractometry (Vol. 138, pp. 1-202). New York: Wiley, 1996.
7. Goldstein, J. I.; Yakowitz, H.; Lifshin, E.; Colby, J. W.; Coleman, J. R. Practical Scanning Electron Microscopy (New York, New Jersey: Plenum Press, 1975).
8. Williams, D. B.; Carter, B. C. *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science* (New York and London: Plenum Press, 1996)
9. Gubin, S. P. (Ed.). Magnetic nanoparticles. John Wiley & Sons, 2009.
10. Raikher, Y. L.; Stepanov, V. I. Ferromagnetic resonance in a suspension of single-domain particles. *Physical Review B*, 1994, 50(9), 6250.
11. Stoner, E. C.; Wohlfarth, E. P. A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 1948, 240(826), 599 – 642.
12. Saifi, A.; Dormann, J. L.; Fiorani, D.; Renaudin, P.; Jove, J. A Mossbauer study of the $\text{ZnCr}_2\text{Ga}_{2-2x}\text{O}_4$ spinel system: evidence of a regime of progressive freezing of magnetic clusters. *Journal of Physics C: Solid State Physics*, 1988, 21(30), 5295.
13. Collective glass state in a magnetic nanoparticle system. *Nanostructured Materials*, 1999, 12(5-8), 757 – 762.
14. Mørup, S.; Tronc, E. Superparamagnetic relaxation of weakly interacting particles. *Physical Review Letters*, 1994, 72(20), 3278.
15. Joyez, P.; Lafarge, P.; Filipe, A.; Esteve, D.; Devoret, M. H. Observation of parity-induced suppression of Josephson tunneling in the superconducting single electron transistor. *Physical review letters*, 1194, 72(15), 2458.
16. Farrell, D.; Cheng, Y.; Mccallum, R W.; Schan, M.; Majetich, S. A. Magnetic Interactions of Iron Nanoparticles in Arrays and Dilute Dispersions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2005, 109, 13409 – 13419.
17. Masunaga, S. H.; Jardim, R. F.; Fichtner, P. F. P. Role of dipolar interactions in a system of Ni nanoparticles studied by magnetic susceptibility measurements. *Physical Review B*, 80(18), 184428.
18. Wiekhorst, F.; Shevchenko, E.; Weller, H.; Kötzler, J. (2003). Anisotropic superparamagnetism of monodisperse cobalt-platinum nanocrystals. *Physical Review B*, 2003, 67(22), 224416.
19. Bae, C. J.; Angappane, S.; Park, J. G.; Lee, Y.; Lee, J.; An, K.; Hyeon, T. Experimental studies of strong dipolar interparticle interaction in monodisperse Fe_3O_4 nanoparticles. *Applied Physics Letters*, 91(10), 102502.
20. Urtizberea, A.; Natividad, E.; Arizaga, A.; Castro, M.; Mediano, A. Specific absorption rates and magnetic properties of ferrofluids with interaction effects at low concentrations. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114(11), 4916 – 4922.
21. Failey, N. CasaXPS Version 2.2.19, copyright 1999-2003.
22. Figueiredo, W.; Schwarzacher, W. Magnetic properties of interacting nanoparticles in a triangular lattice: Monte Carlo simulations. *Physical Review B*, 2008, 77(10), 104419.

23. Serantes, D.; Pereiro, M.; Baldomir, D. A Two-Population Analysis of the Magnetic Dipolar Interaction in Superparamagnetic Systems: A Monte Carlo Study. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2012, 12(9), 7416 – 7421.
24. Pichon, B. P.; Demortière, A.; Pauly, M.; Mougin, K.; Derory, A.; Bégin-Colin, S. 2D assembling of magnetic iron oxide nanoparticles promoted by SAMs used as well-addressed surfaces. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114(19), 9041 – 9048.
25. Parker, D.; Dupuis, V.; Ladiou, F.; Bouchaud, J. P.; Dubois, E.; Perzynski, R.; Vincent, E. Spin-glass behavior in an interacting γ -Fe₂O₃ nanoparticle system. *Physical Review B*, 2008, 77(10), 104428.
26. Zysler, R. D.; Fiorani, D.; Testa, A. M Investigation of magnetic properties of interacting Fe₂O₃ nanoparticles. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 2001, 224(1), 5 – 11.
27. Fiorani, D.; Testa, A. M.; Lucari, F.; D'Orazio, F.; Romero, H. Magnetic properties of maghemite nanoparticle systems: surface anisotropy and interparticle interaction effects. *Physica B: Condensed Matter*, 2002, 320(1 – 4), 122 – 126.
28. Pankhurst, Q. A.; Connolly, J.; Jones, S. K.; Dobson, J. J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 2003, 36(13), R167.
29. Laurent, S.; Dutz, S.; Häfeli, U. O.; Mahmoudi, M. Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, 2011, 166(1-2), 8 – 23.
30. Stoner, E. C.; Wohlfarth, E. P. A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 1948, 240(826), 599 – 642.
31. Fidler, J., & Schrefl, T. Micromagnetic modelling – the current state of the art. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2000, 33(15), R135.
32. Aharoni, A. Some recent developments in micromagnetics at the Weizmann Institute of Science. *Journal of Applied Physics*, 1959, 30(4), S70-S78.
33. Brown, W. F. Thermal fluctuations of a single-domain particle. *Physical Review*, 1963, 130(5), 1677.
34. Laurent, S.; Dutz, S.; Häfeli, U.; Mahmoudi, M. Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, 2011, 166 (1-2), 8 – 23.

B. ERASKINA

B1. Banaketa Gaussiarra eta banaketa logaritmiko normala (log-normal): nanopartikulen batz-besteko tamainaren doiketa.

Zenbakizko haztapena duten tamaina-banaketak banaketa *Gaussiarretan* eta banaketa logaritmiko normaletan (*log-normal*) oinarritutako modeloaren dispersio-funtzioak aplikatuz zehaztu ziren.

Alde batetik, banaketa *Gaussiarra* duten nanopartikulen tamaina hurrengo ekuazioaren bidez zehazten da:

$$f(D) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{D-D_0}{2\sigma^2}\right) \quad (\text{B.1})$$

non D_0 eta σ aldagaiaren batz bestekoa eta desbiderapen estandarra dira, kasu honetan diametroa.

Bestalde, *log-normal* duten nanopartikulen tamaina hurrengo B.2 ekuazioak zehazten du:

$$f(D) = \frac{1}{D\beta\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{\ln D - \ln \alpha}{2\beta^2}\right) \quad (\text{B.2})$$

non α batz besteko erradioa den eta β dispersio-indizea. Modu honetan, batz besteko diametroa B.3 ekuazioaren bidez kalkulatzen da:

$$\bar{D} = \alpha \exp\left(\frac{\beta^2}{2}\right) \quad (\text{B.3})$$

eta desbiderapen estandarra, σ , hurrengo B.4 ekuazioaren bidez:

$$\sigma^2 = \bar{D}^2 \left(\frac{\beta^2}{\alpha^2} - 1\right) \quad (\text{B.4})$$

Bi banaketa moten arteko alderik nabarmenena honako hau da: grafikoan kurben simetria D_0 -rekiko. Horrela, banaketa *Gaussiarra* D_0 definitzen duen bertikalarekiko simetrikoa den bitartean, *log-normal* banaketaren malda $r > D_0$ balioetara txikitzen da. Normalean, nanopartikulen tamaina-banaketa *log-normal* motako kurbarekin hobeto definitzen da, baina partikulak handiagoak diren kasuetan, banaketaren profila funtzio Gaussiar bati hobeto egokitzen zaio.

B2. Anisotropia eraginkorraren konstantearen, K_{eff} , kalkulua ZFC/FC kurbetatik abiatuta: batez besteko blokeo-tenperaturaren zehaztapena.

Zorira ordenatutako D tamainako domeinu magnetiko uniaxial bakarrek multzo batean, elkarrekintza dipolarrek alde batera utzita, anisotropia eraginkorraren konstantea blokeo – tenperaturekiko proportzionala da (T_B):

$$K_{eff} = \frac{k_B \ln(\frac{\tau_m}{\tau_0})}{V} T_B \quad (B.5)$$

T_B partikularen momentu magnetikoaren (KV) "goian" eta "behean" funtsezko bi egoeren arteko energia – barreraren neurri esperimental zuzena bihurtzen da. B.5 ekuazioan, τ_m esperimentuaren denbora bereizgarria da (denbora-leihoa) eta τ_0 partikulen unemomentu magnetikoaren fluktuazio-abiadura naturalaren alderantzizkoa da.

DC imanazio – neurri batean $\ln(\frac{\tau_m}{\tau_0}) \approx 25$, beraz, tamaina berdineko partikulen multzoa dela suposatuz, anisotropia eraginkorraren konstantea blokeo tenperaturatik zuzenean lortu daitekeela ondorioztatzen da:

$$K_{eff} = \left(\frac{25 k_B}{V}\right) T_B \quad (B.6)$$

Sistema ideal batean T_B ZFC kurbaren maximoarekin bat dator. Tamainen sakabanaketa kontuan hartuta, aurreko ekuazioa (C. 5) honako honetan bihurtzen da:

$$K_{eff} = \left(\frac{25 k_B}{V}\right) \langle T_B \rangle \quad (B.7)$$

non $\langle T_B \rangle$ nanopartikula multzoaren blokeo tenperaturen batez bestekoa den, ezarritako nanopartikula tamainaren arabera. Nabarmentzekoa da, sakabanatuta samar dagoen partikula multzo batean, $\langle T_B \rangle$ ez du ZFC kurbaren maximoarekin bat egingo.

Orduan, batez besteko blokeo – tenperatura kalkulatzeko $f(T_B)$ beharrezkoa da, energia – barrera desberdinen banaketarekiko proportzionala dena. Energia – barreren banaketa FC eta ZFC kurbak bata bestearekiko kenketa zuzena eginez lor daiteke. Emaitza blokeatutako partikula kopuruarekiko proportzionala da, eta horrek tenperaturekin behera egiten du. Izan ere, energia termikoa pixkanaka anisotropiaren energia gainditzen ari baita. Populazio horren aldaketa – abiadura da tenperatura jakin batean aktibazio termikoko prozesu bat aurkitzeko probabilitatearekiko proportzionala, eta beraz, blokeo – tenperaturen banaketarekiko. Horrela, honako hau ondorioztatzen da:

$$f(T_B) \approx \frac{d}{dT} (M_{FC} - M_{ZFC}) \quad (B.8)$$

Horrela, eta $f(T_B)dT_B$ baldintzarekin ZFC eta FC – ren arteko aldearen deribatua normalizatu ondoren, blokeoaren batez besteko tenperatura honako hau da:

$$\langle T_B \rangle = \int_0^{\infty} T f(T_B) dT_B \quad (\text{B.9})$$

B.3 Anisotropia konstantearen zehaztapena. ZFC/FC kurben doikuntza.

Doikuntzarako interakziorik ez duen eredu simple bat erabili da, non nanopartikula magnetikoen populazioa ($f(d)$) tamainako banaketa baten bidez emandakoa), bere tamaina partikularren arabera, temperatura bakoitzean bat-batean bi taldetan banatzen da: nanopartikula magnetikoei dagokien egoera superparamagnetiko ideal batean dagoen frakzioa, bolumen kritiko jakin baten azpian dagoena, eta horien mugaren gainetik daudenak:

$$M_{ZFC}(T) = \int_0^{V_c} M_s L\left(\frac{MV\mu_0 H}{k_B T}\right) f(D) dV + M_s \left(\frac{M\mu_0 H}{3k_{u,c} T}\right) f(V) dV \quad (B.10)$$

Lehenengo terminoan, energia baxuko hesiaren hurbilketa erabiltzen da, non energia hesia ($K_{eff}V$ bezala definitua, V partikulen bolumena delarik) energia termikoa baino askoz txikiagoa den ($k_B T$ non k_B Boltzmannen konstantea den) eta, beraz, mesprezatu daiteke. Ondorioz, imanazioak eremu magnetikoaren edo temperaturaren (H edo T) aurrean aurkezten dituen aldaerak Langevinen funtzio bat jarraitzen du, non M partikulen magnetizazio den (A/m S.I.) eta M_s magnetizazio saturazio esperimentalak (masa ez-magnetikoaren ekarpena barne, oro har). Bai magnetizazio esperimentalak bai partikulen magnetizazioa temperaturarekin murriztea biraketa-uhin baten antzeko portaera (Bloch motako legea) baten ondoren baimenduta dago, hala nola:

$$M(T) = M(0)e^{-BT^{3/2}} \quad (B.11)$$

non Bloch (B) konstantea temperatura araberako magnetizazio – neurketen bidez lortu den, gehienez ere 7 T – ko eremu magnetikoa aplikatuz. Kasu guztietan 2 eta 4×10^{-5} balioen artean egonda.

Bigarren terminoaren osagaia uniaxialarekin (K_u) edo anisotropia kubikoarekin (K_c) ausaz orientatutako domeinu magnetiko baten hasierako suszeptibilitatetik ondorioztatzen da, betiere $K_c > 0$ bada. K_c hori lehen anisotropia kubikoa da eta $4K_{eff}$ – ren berdina $K_c > 0$ Co ferritan bezala. Bi populazioen arteko atalasea (bi integralak mugatzen ari dira) diametro edo bolumen kritiko batek (D_c/D) ematen du, honelaxe:

$$V_c(T) = \frac{25k_B T}{K_{eff}(T)} \quad (B.12)$$

Eredu honetan, ZFCren maximoaren posizioa eta forma anisotropiaren mende dago, bolumen kritiko honen bidez, esplizituki temperaturaren araberakoa dena, eta inplizituki, eredu ezberdinek ematen duten $K_{eff}(t)$ funtzioaren bidez, eskuizkribuan adierazten den bezala, Co ferritaren eduki erlatiboaren arabera.