



Síntesis y caracterización de nanopartículas de sílice mesoporosa mediante el método sol-gel

Laura Camila Franky Galindo
Valentina Solórzano Ospina

Universidad El Bosque
Facultad de ciencias- Programa de Química Farmacéutica
Bogotá DC- 06 octubre 2023

Síntesis y caracterización de nanopartículas de sílice mesoporosa mediante el método sol-gel

Laura Camila Franky Galindo
Valentina Solórzano Ospina

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de:

Químico Farmacéutico

Modalidad de trabajo de grado: Investigación

Ronald Andrés Jiménez Cruz
Tutor

Semillero ABC (Advanced Biomaterials Compounding)
Grupo de Investigación en Química Aplicada INQA

Universidad El Bosque
Facultad de ciencias- Programa de Química Farmacéutica
Bogotá DC- 06 octubre 2023

Hoja de identificación

Título:	Síntesis y caracterización de nanopartículas de sílice mesoporosa mediante el método sol-gel
Grupo de investigación	INQA
Línea de investigación:	Biotecnología y Bioprospección
Institución(es) participante (es):	Universidad El Bosque
Tipo de investigación:	Aplicada
Estudiantes	Laura Camila Franky Galindo Valentina Solórzano Ospina
Tutor	Ronald Andrés Jiménez Cruz

Dedicatoria

A nuestra amada familia.

Este trabajo de grado está dedicado a ustedes, y por eso siempre estaremos infinitamente agradecidas.

Familia, quienes siempre han estado a nuestro lado brindándonos amor incondicional, apoyo constante y comprensión a lo largo de este camino, su paciencia y aliento nos impulsaron a continuar en los momentos más difíciles y también a celebrar cada uno de nuestros logros.

Estimado docente Ronald, quién no solo ha sido nuestro guía académico, si no también nuestro mentor, la oportunidad de entrar a su semillero de investigación ha sido un regalo inestimable, adicionalmente sus enseñanzas, orientación y dedicación con este trabajo nos ha permitido crecer como profesionales y nos dio la confianza para afrontar este desafío académico día a día.

Agradecimientos

Queremos expresar nuestra sincera gratitud al docente Ronald A. Jiménez por su dedicación incansable e incondicional a lo largo de la realización de este trabajo de grado, ya que fue la persona que nos guió y transmitió su conocimiento desde el momento en que nos abrió las puertas de su semillero de investigación, lo cual para nosotras es un logro muy importante para la culminación de nuestra carrera como químicas farmacéuticas.

A la Universidad El Bosque y a cada uno de los docentes que nos acompañaron en este proceso formativo.

Finalmente, a nuestras familias por apoyarnos y creer en nosotras, ya que cada día fueron la motivación constante para poder llegar hasta este punto.

Por parte de Valentina Solórzano, quiero agradecer a mi padre John Solórzano, por creer en mí y brindarme todas las herramientas para cumplir con cada meta de mi vida, a mi madre Norma Ospina por ser mi guía espiritual y personal, sin todos tus consejos no sería la persona que soy ahora. A mi abuela Norma Cardona y mi abuelo Ferney Ospina, por ser los pilares fundamentales de mi familia y de mi persona, y por supuesto el aliento diario para continuar con cada meta propuesta. A mis tíos y primos por su motivación y compañía.

A Paula Fajardo, por ser mi apoyo y darme alientos en los momentos más difíciles de estos años, por motivarme a realizar este trabajo de grado y por brindarme su amor incondicional todos los días. A la familia de Paula, por ser mi segundo hogar y celebrar mis logros con tanto amor.

A mis amigas Andrea Carvajal y Valentina Triana por acompañarme a finalizar este camino tan importante y hacer que cada día en la universidad fuese único. También a mis amigos Santiago Pirela, Ana Romero y Juan Manuel porque a pesar de no terminar el camino juntos siguen apoyándome y deseándome lo mejor para culminar este proceso.

Por parte de Laura Franky, quiero agradecer a mi familia por acompañarme en todo este proceso y por ser parte fundamental de mi día a día. En especial le quiero agradecer a mi mamá Doris Galindo por acompañarme en cada paso que di durante este proceso sin ella no hubiese conseguido llegar hasta este punto y nada de esto sería posible. También le quiero agradecer a esa Laura de primer semestre que entró con muchas expectativas y sueños y se esforzó día a día, eso es lo que hoy me permite estar acá y esa disciplina y constancia se ven reflejadas a lo largo del camino.

Tabla de Contenido

1. Introducción.....	12
2. Marco teórico.....	13
<u>2.1 Nanopartículas.....</u>	<u>13</u>
<u>2.2 Dióxido de Silicio como nanomaterial.....</u>	<u>13</u>
<u>2.3 Síntesis de Nanopartículas de Sílice.....</u>	<u>14</u>
<u>2.4 Método Sol-gel.....</u>	<u>14</u>
<u>2.5 Parámetros críticos para la obtención de nanopartículas.....</u>	<u>15</u>
<u>2.5.1 Catálisis.....</u>	<u>15</u>
<u>2.5.2 Homogeneización.....</u>	<u>15</u>
<u>2.5.3 Solvente.....</u>	<u>15</u>
<u>2.5.4 Tensioactivo.....</u>	<u>16</u>
<u>2.5.5 Concentración micelar crítica.....</u>	<u>16</u>
<u>2.6 Caracterización de Nanopartículas.....</u>	<u>16</u>
<u>2.6.1 Métodos de caracterización de NP.....</u>	<u>17</u>
<u>2.6.1.1 Dispersión de luz dinámica (DLS).....</u>	<u>17</u>
<u>2.6.1.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....</u>	<u>17</u>
<u>2.6.1.3 Microscopía de fuerza atómica (AFM).....</u>	<u>17</u>
<u>2.6.1.4 Espectroscopia Infrarroja (FT-IR).....</u>	<u>18</u>
<u>2.6.1.5 Potencial Z.....</u>	<u>18</u>
<u>2.7 Reactividad biológica.....</u>	<u>18</u>
<u>2.7.1 Citotoxicidad celular.....</u>	<u>18</u>
<u>2.7.2 Ensayo de viabilidad celular mediante ensayo de MTT.....</u>	<u>18</u>
3. Planteamiento del problema.....	19
4. Justificación.....	20
5. Pregunta de investigación.....	20
6. Estado del arte.....	21
7. Objetivos.....	22
<u>7.1 Objetivo general.....</u>	<u>22</u>
<u>7.2 Objetivos específicos.....</u>	<u>22</u>
8. Metodología.....	22
<u>8.1 Metodología para dar cumplimiento al objetivo 1 “Síntetizar nanopartículas de sílice en diferentes condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor y tensioactivo.”.....</u>	<u>22</u>
<u>8.1.1 Método empleando agitación magnética.....</u>	<u>23</u>
<u>8.1.2 Método empleando cavitación ultrasónica.....</u>	<u>23</u>
<u>8.1.3 Purificación de las nanopartículas.....</u>	<u>24</u>
<u>8.2 Metodología para dar cumplimiento al objetivo 2 “Caracterizar las nanopartículas de sílice mediante espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, dispersión de luz dinámica y potencial z”.....</u>	<u>24</u>
<u>8.2.1 Espectroscopia infrarroja (FT-IR).....</u>	<u>24</u>
<u>8.2.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....</u>	<u>24</u>
<u>8.2.3 Microscopía de fuerza atómica (AFM).....</u>	<u>24</u>

8.2.4	Dispersión de luz dinámica (DLS).....	25
8.2.5	Potencial Z.....	25
8.3	Metodología para dar cumplimiento al objetivo 3 “Determinar la reactividad biológica in vitro de las nanopartículas de sílice”.....	25
8.3.1	Citotoxicidad celular.....	25
8.3.1.1	Viabilidad celular.....	26
9.	Resultados y discusión	26
9.1	Resultados.....	26
9.1.1	Objetivo 1 “Sintetizar nanopartículas de sílice en diferentes condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor y tensioactivo.”.....	26
9.1.2	Objetivo 2 “Caracterizar las nanopartículas de sílice mediante espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, dispersión de luz dinámica y potencial z”.....	30
9.1.2.1	Espectroscopia infrarroja (FT-IR).....	30
9.1.2.2	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	31
9.1.2.3	Microscopía de fuerza atómica (AFM).....	33
9.1.2.4	Dispersión de luz dinámica (DLS).....	34
9.1.2.5	Potencial Z.....	36
9.1.3	Objetivo 3 “Determinar la reactividad biológica in vitro de las nanopartículas de sílice”.....	36
10.	Conclusiones	40
11.	Anexos	40
12.	Referencias bibliográficas	54

Listado de Tablas

Tabla 1. Especificaciones de las condiciones de síntesis realizadas por el método Sol-gel.

Tabla 2. Porcentaje de viabilidad celular para el material a base de sílice obtenido con cada condición de síntesis.

Listado de Figuras

Figura 1. Tipos de nanopartículas. Autoría propia

Figura 2. Esquema general proceso de síntesis de nanopartículas de sílice. Autoría propia.

Figura 3. Reacciones químicas para la síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa por medio de Sol-gel.

Figura 4. Proceso de obtención de nanopartículas de sílice mesoporosa mediante la liofilización de una dispersión coloidal obtenida por el método Sol-gel. a) Dispersión coloidal (sol) b) Dispersión coloidal (gel) c) Liofilización d) Producto obtenido SiO₂ NP.

Figura 5. a) Gel de sílice catálisis básica vs b) gel de sílice catálisis ácida.

Figura 6. Mecanismo de reacción del TEOS por medio de a) hidrólisis ácida y b) condensación ácida en la síntesis de SiO₂ NP por el método Sol-gel. Autoría propia.

Figura 7. Mecanismo de reacción del TEOS por medio de a) hidrólisis básica y b) condensación básica en la síntesis de SiO₂ NP por el método Sol-gel. Autoría propia

Figura 8. Espectro infrarrojo obtenido de nueve ensayos realizados de la síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa por el método Sol-gel. 5-a) IR antes de reacciones de hidrólisis y condensación. 5-b) IR después del proceso de síntesis.

Figura 9. Imágenes SEM de a) fragmentos de sílice porosa, b) Nanopartículas y c) Nanopartículas de sílice mesoporosa obtenidas por el método Sol-gel.

Figura 10. Imágenes SEM de nanopartículas de sílice mesoporosa con tamaños entre 40 y 100 nm. De izquierda a derecha, Nanopartículas (Ensayo 3) 15000X; Nanopartículas (Ensayo 3) 50000X.

Figura 11. Imágenes SEM de porosidades en fragmentos de sílice obtenidos.

Figura 12. Imágenes AFM nanopartículas de sílice mesoporosa, de izquierda a derecha ensayo 5 (CTAB), ensayo 8 (Tween 80).

Figura 13. Reducción metabólica de MTT. Autoría propia

Listado de gráficas

Gráfica 1. Tamaño y distribución de tamaño de partícula por DLS de los ensayos realizados por el método sol-gel.

Gráfica 2. Índice de polidispersidad obtenido por DLS de los ensayos realizados por el método sol-gel.

Gráfica 3. Distribución de datos obtenidos para potencial z.

Gráfica 4. Porcentaje (%) de viabilidad celular obtenidos en fibroblastos L929 a las 24 horas de exposición.

Gráfica 5. Porcentaje (%) de viabilidad celular obtenidos en fibroblastos L929 a las 48 horas de exposición.

Gráfica 6. Porcentaje (%) de viabilidad celular obtenidos en fibroblastos L929 a las 72 horas de exposición.

Lista de símbolos y abreviaturas

NP: Nanopartículas

SiO₂ NP: Nanopartículas de Sílice

TEOS: Tetraetilortosilicato

CTAB: Bromuro de hexadeciltrimetilamonio

EtOH: Etanol

Tween 80: Polisorbato 80

CMC: Concentración micelar crítica

Rat: Ratas

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difeníl tetrazolio.

Resumen

La sílice (SiO_2) es una materia prima ampliamente estudiada y utilizada en nanomateriales y por esto es importante conocer cuáles son los métodos de obtención más adecuados para el campo farmacéutico, específicamente en el transporte y liberación de fármacos. La ruta planteada para la síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa, parte de la aplicación del método Sol-gel disponiendo como precursor un alcóxido de silicio, el tetraetilortosilicato (TEOS), y adicionalmente un tensioactivo, en este caso el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), sin embargo, se realizó un contraste frente a la influencia de la naturaleza del tensioactivo en donde se emplea Tween 80 y con ello se evaluaron qué condiciones permitieron una mejor formación del sistema nanoparticulado. Cabe resaltar que las reacciones involucradas en esta síntesis son dependientes de pH y por esto se llevó a cabo una catálisis ácida y básica para determinar cual genera mejores resultados.

El fin de este proyecto fue encontrar aquellas condiciones que optimizan el proceso de síntesis para así dar origen a nanopartículas de sílice que puedan ser funcionalizadas y con ello ser usadas como vehículo de fármacos. Las mejores condiciones que permitieron la síntesis de nanopartículas, con base en los ensayos de caracterización aquí empleados fueron: una alta concentración de TEOS y CTAB, pH básico, sin cavitación y en esas mismas condiciones, pero con cavitación ultrasónica, siendo este último ensayo de gran relevancia debido a que se logró una ampliación en lo que respecta al trabajo evidenciando de como la cavitación puede favorecer el proceso de síntesis y convertirse en un parámetro crítico del proceso.

En términos generales, se hallaron las condiciones de síntesis adecuadas para la obtención de nanopartículas de sílice, no citotóxicas en un rango de tamaños de 40 a 100 nm, gracias a la utilización de una técnica de síntesis y caracterización pertinente a la naturaleza de la materia prima utilizada.

Palabras clave

Nanotecnología, sílice, nanopartículas, síntesis, cavitación.

Abstract

Silica (SiO_2) is a widely studied raw material in the field of nanomaterials, and understanding the most suitable methods for its pharmaceutical applications, particularly drug transport and release, is crucial. The proposed route for synthesizing mesoporous silica nanoparticles involves the Sol-gel method, using tetraethylorthosilicate (TEOS) as the precursor and the surfactant hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB). However, a comparison was made to assess the influence of the surfactant's nature, including the use of Tween 80, to determine the conditions that best facilitated nanoparticle formation. It's important to note that the reactions involved in this synthesis are pH-dependent, so both acidic and basic catalysis were employed to determine which produced superior results.

The aim of this project was to identify the conditions that optimize the synthesis process, leading to functionalized silica nanoparticles suitable for drug delivery. The most favorable conditions, as determined through the characterization experiments, included a high concentration of TEOS and CTAB, basic pH, and a process with or without ultrasonic cavitation. The latter condition is particularly significant as it demonstrated the benefits of cavitation in enhancing the synthesis process, establishing it as a critical parameter.

In summary, suitable synthesis conditions were identified for producing non-cytotoxic silica nanoparticles in the range of 40 to 100 nm. This achievement was made possible by employing a synthesis and characterization technique tailored to the nature of the raw material used.

Keywords

Nanotechnology, silica, nanoparticles, synthesis, cavitation.

1. Introducción

Los nanotransportadores recientemente han tenido gran impacto en el tratamiento clínico de enfermedades y la administración exitosa de medicamentos. El creciente interés por innovar los sistemas de administración de fármacos ha incentivado a la investigación y desarrollo de nanopartículas los cuales son capaces de tener diversos principios activos con un blanco específico. Partiendo de la premisa anterior se pretende generar la síntesis y caracterización de nanopartículas de sílice que cumplan con características que las hagan funcionales para la vehiculización de fármacos como su tamaño y su carencia de citotoxicidad. Estas poseen ciertas ventajas dentro de las cuales se encuentran técnicas de fabricación relativamente sencillas, alta biocompatibilidad, tamaño ultra-bajo (<50 nm) y buena estabilidad dimensional (Celia et al., 2010).

Los nanopartículas inorgánicas presentan grandes ventajas comparados con sus equivalentes biológicos como las proteínas, péptidos o anticuerpos, entre estas se incluyen su elevada estabilidad térmica, química y mecánica en condiciones fisiológicas. Por otro lado, poseen alta biocompatibilidad, pero tienen relativamente baja proporción de degradación antes de ejercer su acción terapéutica (Arranz, S A 2016) por lo tanto, una propiedad importante de controlar es el tamaño de partícula al cual se desea llegar para así cumplir con lo mencionado anteriormente. Por consiguiente, es de interés científico estudiar los procesos de síntesis y caracterización de las nanopartículas de sílice para conocer los efectos a largo plazo que tiene la interacción entre nanopartículas, su exposición a los seres humanos y el medio ambiente para apuntar a sus posibles aplicaciones en el campo farmacéutico (Hincapié et al, 2020).

Para encontrar de manera experimental dichas características es necesario conocer a fondo el método de síntesis más adecuado para obtener un buen tamaño de partícula y forma de las nanopartículas, en este caso se busca llevar a cabo una síntesis por el método Sol-gel, este se usa para describir la síntesis de algunos óxidos inorgánicos. Es un proceso el cual tiene como objetivo dar origen a materiales poliméricos híbridos o inorgánicos no metálicos mediante dispersiones coloidales, las cuales se conocen con el nombre de soles. Los materiales de partida se conocen como precursores. Estos precursores son silicatos que contienen alcóxidos de silicio (Si-OR) y grupos silanol (Si-OH) los cuales al someterlos a este proceso de síntesis generará a diferentes condiciones la formación de compuestos de siloxano (Si-O-Si) con forma y tamaño diferenciados. Este método consta de dos etapas las cuales son dos reacciones, una de hidrólisis y otra de condensación.

Los alcóxidos metálicos, es decir los precursores, es este caso el tetraetilortosilicato, reaccionan con agua, un solvente específico y un tensioactivo hasta la obtención de un óxido metálico amorfo el cual debe ser caracterizado para así confirmar que las condiciones experimentales son las adecuadas para la obtención de las nanopartículas.

Las condiciones de síntesis de nanopartículas de sílice desarrolladas en este trabajo de grado por medio del método sol-gel más adelante descrito, permitirán en proyectos futuros del grupo de investigación, vehicular moléculas con actividad biológica por diferentes vías de administración. Finalmente, este proyecto permitió desarrollar habilidades y competencias propias del Químico Farmacéutico a las investigadoras lo cual es de suma importancia para su quehacer profesional.

2. Marco teórico

2.1 Nanopartículas

El término “nano-” se deriva del sustantivo griego nanos, y un nanómetro (nm) equivale a 10^{-9} m (Huang et al., 2017). Las NP son estructuras cuyo tamaño es inferior a los 100 nanómetros, y estas pueden ser sintetizadas a partir de diferentes materiales (Gómez-Garzón, 2018) lo que permitirá que sean utilizadas para distintos fines, existen varios tipos de nanopartículas (**Figura 1**) dependiendo de su naturaleza orgánica o inorgánica, gracias a las cuales se puede estudiar su estructura-función dependiendo de sus características fisicoquímicas.



Figura 1. Tipos de nanopartículas. Imágenes tomadas de Nadaroglu et al. (2017)

Existe una variedad de nanopartículas que se clasifican según el compuesto de partida, teniendo en cuenta que pueda ser mediante polímeros, lípidos, compuestos orgánicos, así mismo como compuestos inorgánicos, lo cual le va a conferir propiedades a cada uno de estos tipos de sistemas que permitirán una funcionalización específica (Mekuye et al, 2023) de acuerdo con la naturaleza del fármaco que busca ser cargado.

2.2 Dióxido de Silicio como nanomaterial

Las nanopartículas de sílice (SiO_2 NP) proporcionan sistemas de entrega robustos dado a que poseen facilidad en cuanto a la síntesis y el escalamiento de esta. Por otro lado, presentan una estabilidad ajustable, porosidad, área de superficie, tamaño y distribución de tamaño, eficiencia de atrapamiento de sustancias, composición central, densidad y la capacidad de funcionalización de la superficie (Hadipour Moghaddam et al., 2019).

Las SiO_2 NP pueden tener una estructura porosa, la sílice porosa se degrada en todos los fluidos corporales fundamentales, exceptuando los jugos gástricos, por lo que esta tiene la propiedad de ser biodegradable, la cual es crítica a la hora de hacer uso de nanopartículas de sílice debido a que el cuerpo no acumula este material y por el contrario los productos resultantes son excretados a través de los riñones. La degradación del silicio genera la liberación de ácido silícico, $\text{Si}(\text{OH})_4$, que se difunde libremente por los tejidos, siendo esta es la forma natural de silicio en la dieta diaria y en el organismo (Pastor E, 2008).

2.3 Síntesis de Nanopartículas de Sílice

A pesar de la existencia de diversos métodos para la síntesis de SiO₂ NP, dentro de las cuales se encuentra la vaporización térmica, la pirólisis de silano, el método de descomposición por plasma de microondas y la descomposición inducida por láser, estos métodos de síntesis no son compatibles con las aplicaciones biomédicas, debido a que hacen uso de disolventes orgánicos no polares y generan la producción de superficies hidrofóbicas (Jagannathan & Godin, 2012). Por consiguiente, para lograr la síntesis de estas nanopartículas se suele utilizar el método Sol-gel el cual es un proceso químico en fase húmeda ampliamente utilizado en la ciencia de los materiales. Se trata de una adaptación del método descrito por Stöber en 1968 para la obtención de nanopartículas de sílice, pero con la diferencia de que se le incorpora un tensioactivo catiónico (Llinas, M. et al. 2013).

2.4 Método Sol-gel

Para esta síntesis es necesario el uso de un precursor del óxido metálico a sintetizar, en este caso al hablar de sílice se suelen emplear alcóxidos de silicio como el TEOS, los cuales sufren varias reacciones de hidrólisis y condensación formando así una dispersión coloidal, que luego de una polimerización lenta forma un gel (Zanella, 2012) el cual finalmente se busca convertir en un polvo de sílice (**Figura 2**)

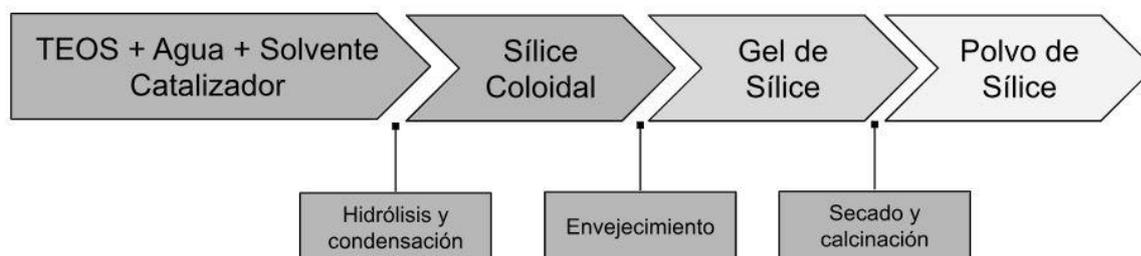


Figura 2. Esquema general proceso de síntesis de nanopartículas de sílice. Autoría propia

El principio químico básico del procesamiento sol-gel de materiales a base de sílice consiste en la transformación de las especies que poseen alcóxidos de silicio (Si-OR) y grupos silanol (Si-OH), en compuestos de siloxano (Si-O-Si) a través de reacciones que involucran la hidrólisis y la condensación. Comienza con un precursor de algún tipo de silano como el TEOS en una solución acuosa, a medida que se produce la reacción, los precursores forman una nanoestructura cristalina. Para dar origen a un gel estable, se debe maximizar el número de enlaces siloxano y, en consecuencia, se debe minimizar el número de grupos silanol y alcóxidos. Las reacciones químicas durante el proceso se pueden describir mediante tres ecuaciones (**Figura 3**), en un sistema como el de TEOS las reacciones de hidrólisis de los grupos Si-OR deben preceder a la condensación para generar los grupos Si-OH necesarios para la reacción (Hincapie et al, 2020).

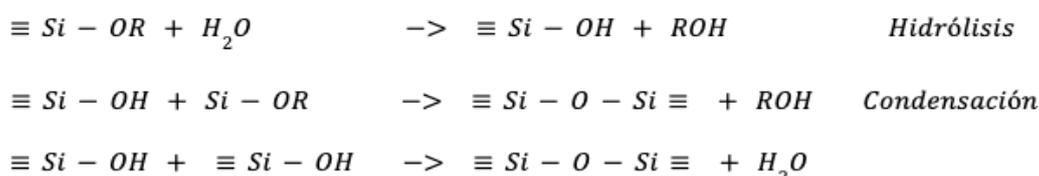


Figura 3. Reacciones químicas para la síntesis de nanopartículas de sílice por medio de Sol-gel

2.5 Parámetros críticos para la obtención de nanopartículas

2.5.1 Catálisis

Una mezcla de Si-OR en agua y alcohol reaccionan muy lentamente y, por lo tanto, es necesario la catálisis ácida o básica para iniciar las reacciones correspondientes al método.

En condiciones ácidas el átomo de oxígeno se protona en un primer paso rápido, creando un buen grupo saliente (Agua o alcohol). Además, la densidad de electrones se retira del átomo de silicio central lo que conlleva a que este se vuelva más electrofílico y, por lo tanto, este tenga mayor disposición al ataque del agua (en las reacciones de hidrólisis) o de los grupos silanol (en las reacciones de condensación). En contraste con lo anterior en condiciones básicas, la reacción se da mediante el ataque nucleofílico de un OH (Reacciones de hidrólisis) o de un ion Si-O (en reacciones de condensación) (Levy et al, 2015).

Entonces, los mecanismos de reacción para ambas catálisis son diferentes, lo que conlleva a que la velocidad de reacción tenga una dependencia del pH del medio. La velocidad necesaria para la reacción de hidrólisis es a partir de pH 7, y para la condensación de pH 4,5; cuando se tienen pH inferiores a 5 se ve favorecida la hidrólisis y la condensación pasa a determinar la velocidad, todo lo contrario, cuando el pH es mayor a 5 y en este caso la hidrólisis determina la velocidad (Levy et al, 2015) y por esta razón el control del pH en un proceso como el Sol-gel es muy importante ya que favorecerá o no la síntesis de las nanopartículas.

2.5.2 Homogeneización

Para llevar a cabo el método Sol-gel es necesario de un proceso de agitación el cual va a permitir la homogeneización de los materiales de partida, y así se logre facilitar la síntesis de las NP, en este caso en específico el proceso de agitación magnética tiene como fundamento la rotación de un campo magnético externo que induce a girar un imán introducido en la solución de reacción (Angurell, I et al 2014). Esto se lleva a cabo con ayuda de un agitador magnético el cual es un dispositivo que con la ayuda de un campo magnético logra mezclar de manera automatizada un solvente y uno o más solutos, mientras que al momento de homogeneizar líquidos por medio de ultrasonidos de sonda, se genera el principio de funcionamiento de la cavitación acústica el cual consiste en que las ondas sonoras que se propagan en el medio genera ciclos fluctuantes de alta y baja presión lo cual va a depender de su frecuencia, en los ciclos de baja presión las ondas crean pequeñas burbujas de vacío y cuando estas aumentan su tamaño hasta un volumen en donde ya no se absorba más energía donde por lo tanto estas colapsan durante el ciclo de alta presión, este fenómeno es comúnmente conocido como cavitación (Ultrasonics, 2023). Debido a estos efectos hidrodinámicos la cavitación es capaz de promover reacciones químicas con mayores rendimientos y una velocidad de reacción más alta, por estas razones la cavitación se utiliza ampliamente en la industria, para homogeneizar y dispersar eficientemente. Siendo estas dos técnicas de homogeneización las utilizadas en el presente trabajo donde se busca comprobar si por el método de cavitación resulta mucho más eficiente la síntesis de NP.

2.5.3 Solvente

Para la síntesis de NP es necesario el uso de un solvente para homogeneizar la mezcla de reacción, especialmente al inicio de la reacción. Los alcóxidos son muy sensibles a la humedad (se descomponen muy fácilmente ante la presencia de ésta), es por ello por lo que la hidrólisis

para la formación del gel es llevada a cabo usando alcoholes como un solvente común para los diferentes líquidos inmiscibles (Zanella, R 2012). El uso de etanol proporciona grandes ventajas, ya que su temperatura de ebullición de 78° C permite que la evaporación de este sea mucho más rápida de tal manera que pueda ser eliminado del sistema, lo que posteriormente disminuirá los grados de toxicidad de este.

2.5.4 Tensioactivo

Los tensioactivos se definen como moléculas anfífilas las cuales dentro de su estructura poseen un grupo polar y una o más cadenas apolares. Existen diversos tipos de tensioactivos según su naturaleza, ya sean aniónicos, catiónicos, o no iónicos. El catión amonio es comúnmente el grupo hidrófilo presente en la mayoría de los tensioactivos catiónicos. El comportamiento de fase de estos tensioactivos catiónicos se ve significativamente afectado por la presencia de enlaces de hidrógeno relacionados con el átomo de nitrógeno y la cantidad de grupos metilo en ese mismo átomo de nitrógeno en la región hidrófila (Miyake & Yamashita, 2017). Dentro de este grupo se encuentran las sales de aminas primarias, secundarias, terciarias y las sales de amonio cuaternario (Escamilla, 2015). Los tensioactivos pueden contribuir con la mejora de las propiedades y los comportamientos de las nanopartículas (Vatanparast et al., 2017). El CTAB o Bromuro de hexadeciltrimetilamonio es un tensioactivo perteneciente a la familia de los tensioactivos catiónicos, específicamente una sal de amonio cuaternario para este caso tiene una cadena de 16 átomos de carbono junto con un catión de amonio cuaternario, este puede ser utilizado en la síntesis de nanopartículas ya que su estructura química lo hace útil para la estabilización de ciertas sustancias en soluciones y para la modificación de propiedades superficiales de materiales (Mehta et al., 2008).

2.5.5 Concentración micelar crítica

Los tensioactivos en soluciones acuosas muy diluidas se encuentran de forma monomérica. Cuando ocurre un aumento en su concentración en la solución, las moléculas individuales inician un proceso de agregación el cual es reversible y contribuye con la formación de micelas.

Las micelas poseen una estructura que constituye un núcleo formado por residuos apolares en el que se minimiza la interacción con el medio acuoso pues los grupos polares, que son estos grupos los que interactúan predominantemente con agua, se orientan hacia el exterior (Escamilla, 2015). Al formarse las micelas existen cambios en las propiedades físicas del sistema a una concentración en específico, la cual es dependiente de la naturaleza del tensioactivo llamada concentración micelar crítica (CMC) o aquella concentración mínima de estas especies para la producción de micelas termodinámicamente estables en una disolución.

2.6 Caracterización de Nanopartículas

La caracterización de materiales es un proceso fundamental para conocer y estudiar aquellas propiedades fisicoquímicas del producto final, esta se basa en diversas pruebas a las cuales se puede someter el material para poder definir todas aquellas características de este, estas pueden ser pruebas mecánicas, técnicas de imagen, entre otras.

La caracterización de NP es un paso fundamental debido a que permite evaluar y garantizar la calidad y la uniformidad de tamaño de las NP producidas, también ayuda a optimizar procesos ya que con esto se logra identificar y corregir problemas que surgen al momento de sintetizarlas lo que puede dirigir el proceso a ser mucho más eficiente aportando así calidad desde el diseño, adicionalmente en aplicaciones médicas es esencial que estas sean seguras para el uso humano mejorando así la eficacia terapéutica en función de también reducir efectos secundarios.

2.6.1 Métodos de caracterización de NP

Dentro de los métodos más utilizados para caracterizar NP se encuentran:

2.6.1.1 Dispersión de luz dinámica (DLS): Es una técnica de caracterización que permite evidenciar el tamaño de las partículas en una escala nanométrica. El principio de esta se basa en que un haz de luz atraviesa la muestra en suspensión y gracias al movimiento Browniano la señal obtenida es una representación del comportamiento de difusión de las partículas en el medio, lo anterior se usa con el fin de determinar la distribución del tamaño de partícula de la muestra. Cabe resaltar que es una técnica no destructiva y por lo tanto no afecta la matriz a estudiar (Díaz Uribe et. al 2013)

2.6.1.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM):

La microscopía de barrido electrónico (SEM) es una técnica la cual permite la obtención de imágenes, esta es ampliamente utilizada en investigación de materiales debido a su alta resolución y capacidad de analizar características morfológicas, estructurales y químicas de las muestras bajo estudio. Dicha técnica tiene la capacidad de tomar una imagen de la muestra, sin embargo, lo que se detecta es la respuesta del material al impacto de un haz de electrones los cuales se conocen como electrones primarios. La muestra, al ser impactada por el haz de electrones los cuales poseen alta energía, produce una serie de señales las cuales son registradas por los detectores del equipo, lo que permitirá obtener información acerca de la topografía, composición y hasta conductividad eléctrica. (Penagos, J. I. C., 2013).

2.6.1.3 Microscopía de fuerza atómica (AFM): La principal aplicación de esta técnica consiste en la creación de imágenes de superficies en alta resolución. Consiste en una interacción entre sus partes, un fotodetector (4 cuadrantes), un voladizo o cantiléver con una punta, los posicionadores de materiales piezoeléctricos, el láser y la muestra. La manera de operar corresponde a una punta la cual está sujeta a una viga en voladizo; esta realiza un barrido sobre la superficie de la muestra que será evaluada, lo que permite que se tomen los datos respecto a las características morfológicas de las muestras. Con la configuración mencionada anteriormente, el voladizo aquellas fuerzas de interacción que surgen entre la punta ya la superficie de las muestras; aquellas son las fuerzas de van der Waals, electrostáticas y repulsiones electrónicas que surgen en distancias nanométricas (García, A et al 2020)

2.6.1.4 Espectroscopia Infrarroja (FT-IR): Esta técnica se basa en la interacción que existe entre la radiación infrarroja y las moléculas, cuando se expone una muestra a esta radiación sus moléculas absorben energía infrarroja cambiando así su nivel de energía y por consiguiente entran en ciertos estados vibracionales que van a ser identificados en el espectro obtenido (Bruker, 2019). Gracias a este ensayo se puede realizar un contraste de las especies al iniciar una reacción química en una síntesis, y al finalizar de tal manera que se logra un seguimiento a la reacción que se está llevando a cabo.

2.6.1.5 Potencial Z: Es un parámetro que mide el equilibrio electroquímico en la interfaz partícula-líquido. Este mide la repulsión/atracción electrostática entre partículas por lo que ha convertido en uno de los parámetros críticos para afectar estabilidad de las partículas coloidales (Pavan M et al. 2022) El factor que genera un mayor impacto en cuanto a la afección del potencial z es el pH del medio y por esta razón es de suma importancia la caracterización debido a que durante este proceso se realizaron reacciones tanto en medio ácido como básico.

2.7 Reactividad biológica in vitro

Estos ensayos están diseñados para determinar la reactividad biológica de materiales elastoméricos, plásticos y otros polímeros destinados a estar en contacto directo o indirecto con pacientes (*Pruebas de reactividad biológica USP 87, in vitro, s. f.*).

2.7.1 Citotoxicidad celular: Esta se define como aquella alteración de las funciones básicas de las células lo que conlleva a que los daños ocasionados en estas al momento de la exposición a las muestras sean detectados (Arrebola, D et al 2003). Por lo general, los parámetros que se tienen en cuenta para medir la salud de las células son la viabilidad celular, así como la proliferación celular.

2.7.2 Ensayo de viabilidad celular mediante ensayo de MTT: El MTT es un compuesto que pertenece a la familia de sales de tetrazolio. Este ensayo tiene como principio la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) la cual es llevada a cabo por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa que es compuesto de color azul (formazán), permitiendo determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas. Este método es de gran ayuda para medir la supervivencia y la proliferación celular (Cellculture, 2023).

Cabe recalcar que para la comprensión de esta técnica es importante conocer que la cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido, las células viables contienen enzimas oxidoreductasas dependientes del NAD(P)H que reducen el MTT a formazán. La formación de formazán tiene lugar principalmente en el citoplasma y en menor medida en las mitocondrias y en la membrana celular (Cellculture, 2023).

3. Planteamiento del problema

Actualmente a nivel mundial existe la comercialización de productos farmacéuticos basados en nanotransportadores, sin embargo, aún se considera que se necesita mucho más desarrollo en el ámbito nanotecnológico en Colombia, siendo esta una ciencia estratégica para el desarrollo científico en el país. En la actualidad existe un gran desarrollo en el área de la nanotecnología, el cual ha impulsado diferentes campos en la medicina. Las nanopartículas de sílice mesoporosa se definen como partículas que tienen al menos una de las dimensiones en el rango comprendido entre 1 y 100 nm, estas están conformadas por una matriz de sílice (SiO_2) con canales o cavidades más o menos regulares en su interior lo que les confiere una superficie específica grande (Hernandez & Salazar, 2018). La síntesis de estas se realiza mediante el método de sol-gel, este proceso consiste en la preparación de un sol, la gelación del mismo y finalmente la eliminación del solvente para lograr la formación de las respectivas nanopartículas. Un sol es una dispersión de partículas coloidales en fase líquida mientras que un gel es un sólido consistente de al menos dos fases: una fase sólida que forma una red que atrapa e inmoviliza a una fase líquida (González Hernández, J.; Pérez Robles, J. F.; Ruiz, F.; Martínez, J. R, 2000). El porqué del uso de este tipo de partículas las cuales son inorgánicas se deriva del hecho de que estas poseen grandes ventajas como la biocompatibilidad, son de pequeño tamaño lo que impide la acumulación en tejido y adicionalmente presentan una buena biodistribución.

Los nanosistemas en estudio en su mayoría están dirigidos a tratar enfermedades oncológicas o al diagnóstico de ciertas enfermedades, ya que están siendo consideradas como una de las herramientas más prometedoras en el tratamiento contra el cáncer (de Jesus et al 2021) y por ello es importante seguir ahondando en técnicas de síntesis de nanosistemas capaces de realizar estas funciones, no solo para estos blancos terapéuticos. En Colombia no existe gran interés por el estudio de nuevos sistemas de entrega de fármacos, lo que hace que la investigación en cuanto a esto esté muy limitada y del mismo modo la nanotecnología en el país no tenga un impacto significativo. En nuestro país el cáncer tiene una tasa de incidencia de 222,5 por 100.000 habitantes por lo que profundizar en este tipo de tecnología sería de gran importancia y contribuiría con la mejora de la calidad de vida de millones de personas en el territorio nacional (Ministerio de salud y protección social, 2015).

Por esto, las nanopartículas de sílice han demostrado ser muy prometedoras en el campo farmacéutico y biomédico, aportando diversas ventajas en el tratamiento de patologías, consiguiendo mayor eficacia con menos reacciones adversas, una mejora en el diagnóstico y obteniendo imágenes de contraste más definidas mediante técnicas poco invasivas, consiguiendo así un diagnóstico precoz que permita tratar las enfermedades en sus primeras etapas, disminuyendo así el grado de morbilidad y mortalidad de éstas (Mora R, 2016).

Lo que se quiere lograr a través de esta investigación es encontrar las condiciones óptimas que permitan llevar a cabo un proceso flexible y que tenga repetibilidad y reproducibilidad para así obtener como resultado nanopartículas de sílice mesoporosa con dimensiones entre los 50 y los 100 nm.

4. Justificación

Las nanopartículas de sílice presentan gran interés en distintas áreas, pero se ha enfocado su uso en la biomedicina. Lo anterior se debe a las diferentes ventajas que estas presentan partiendo de su geometría, la superficie específica que estas presentan, así como su biocompatibilidad y biodegradabilidad (Llinas, M. et al, D. 2013).

En la actualidad existen grandes avances en cuanto a las nanopartículas desarrolladas las cuales se pueden presentar en distintas formas y emplear para diferentes aplicaciones en el campo de la nanomedicina.

Este proyecto está enfocado en la síntesis de nanopartículas de sílice mediante el método sol-gel con la intención de ser empleadas de manera futura para la vehiculización de fármacos. En contraste con lo anterior, se realizarán ensayos de caracterización que nos permitirán corroborar la efectividad de síntesis de dichas nanopartículas para su futura aplicación en el tratamiento de distintas patologías. Por otra parte, se quiere evidenciar cómo el proceso de cavitación puede influir en la síntesis y convertirse en un parámetro crítico del proceso y así generar una optimización a la hora de la obtención de nanopartículas de sílice.

Este trabajo de grado surgió con el interés de innovar frente a los sistemas de entrega de fármacos convencionales que, si bien es cierto que funcionan, también presentan distintas desventajas que pueden ser mitigadas con un sistema de liberación controlada como lo son las nanopartículas de sílice. Otra de las motivaciones de este proyecto es el hecho de que el Colombia aún falta este interés por explorar el potencial de los nanomateriales teniendo en cuenta que estos presentan una amplia proyección en el sector de salud y que puede generar una gran contribución de la mejora de la salud de las personas, que finalmente este es el impacto que queremos generar como futuras químicas farmacéuticas.

5. Pregunta de investigación

¿Cuáles son las condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor (tetraetilortosilicato) y tensioactivo (bromuro de hexadeciltrimetilamonio) para obtener nanopartículas de sílice no citotóxicas, empleando el método Sol-gel?

6. Estado del arte

La nanotecnología es un área científica multidisciplinar que se fundamenta en el estudio, el diseño, la fabricación y la síntesis de sistemas o dispositivos a nivel molecular y que su forma y tamaño se encuentren en la escala nanométrica, es decir, deben presentar dimensiones entorno a los 100 nm o inferiores (Mora, 2016). En los múltiples años han sido motivo interés debido como centro de investigación debido a que presentan distintas características que permiten que puedan ser funcionalizadas para así ser utilizadas como vehículo de fármacos.

En los últimos años se ha mostrado un creciente interés por el estudio de las nanopartículas de silicio debido a que presentan diversas ventajas frente a los sistemas de entrega convencionales, lo que ha causado que sean el centro de múltiples investigaciones ya sea para el tratamiento de ciertas enfermedades, la prevención, el diagnóstico o incluso hasta en ingeniería de tejidos. Dentro de las anteriores se encuentran estudios para vacunas. Recientemente, se han desarrollado vacunas basadas en antígenos recombinantes purificados como pueden ser proteínas o péptidos los cuales son más estables y presentan mejores condiciones de seguridad frente a las vacunas convencionales sin embargo presentan un problema respecto a la inmunogenicidad por lo que con este tipo de vehiculización, estas características podrían ser mejoradas y tener en el mercado farmacéutico mejores opciones en cuanto a vacunas (Dumontel et al., 2023).

De los métodos más empleados para la síntesis de esto, son los bottom up los cuales permiten la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución, estos métodos son ventajosos porque permiten tener mayor control de las nanopartículas dando como resultado partículas más uniformes y con menos impurezas, uno de ellos es el proceso sol-gel (Hincapie et al, 2020).

El proceso Sol-gel es una ruta química que se produce a temperatura ambiente en condiciones tanto ácidas como básicas. La reacción tiene origen en un precursor de algún tipo de silano como el TEOS en una solución acuosa. La reacción se produce mediante una reacción de hidrólisis y condensación en presencia de un catalizador ácido o básico como el ácido clorhídrico (HCl) o el amoníaco (NH₃). El procedimiento estándar consiste en mezclar un precursor de silicato, con un surfactante catiónico, a una temperatura comprendida entre 30 y 60 °C en medio básico (pH = 11) (Llinas, M. et al. 2013). Lo descrito anteriormente permitirá un óptima síntesis de nanopartículas de sílice teniendo en cuenta que el tamaño, la forma y la regularidad de las nanopartículas dependen de los diferentes parámetros del proceso como son la temperatura, la velocidad de adición, la agitación y la cantidad de catalizador utilizado respecto a la de precursor. De todos estos factores se ha determinado que el que más afecta al tamaño de las SiO₂ NP es la proporción de base respecto a la cantidad de TEOS, seguido de la temperatura (Llinas, M. et al. 2013).

Luego de la síntesis, el propósito de la caracterización de las SiO₂NP es que sean funcionalizadas teniendo en cuenta que son buenos candidatos para su aplicación clínica como nanoplataformas multifuncionales para el diseño de nanodispositivos capaces de desempeñar una posible doble función de diagnóstico y terapia (teranóstica). De esta manera, se conseguiría aumentar la eficiencia de los diagnósticos y de los tratamientos de enfermedades que hoy en día presentan dificultades para la medicina convencional, como por ejemplo en la oncología.

Objetivos

7.1 Objetivo general

Establecer las condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor (tetraetilortosilicato) y tensioactivo (bromuro de hexadeciltrimetilamonio) para sintetizar nanopartículas de sílice mesoporosa caracterizadas por diferentes ensayos fisicoquímicos y biológicos.

7.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de sílice mesoporosa con un tamaño de 50 a 100 nm en diferentes condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor y tensioactivo.
- Caracterizar las nanopartículas de sílice mesoporosa mediante espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, dispersión de luz dinámica, y potencial z.
- Determinar la reactividad biológica *in vitro* de las nanopartículas de sílice mesoporosa sintetizadas.

7. Metodología

A continuación, se describen las metodologías que se llevaron a cabo con el fin de dar cumplimiento al objetivo general

8.1 Metodología para dar cumplimiento al objetivo 1 “Sintetizar nanopartículas de sílice mesoporosa en diferentes condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor y tensioactivo.”

La síntesis de nanopartículas de sílice por el método Sol-gel descrita por Vásquez et al. Con algunas modificaciones fue llevada a cabo bajo las condiciones que se encuentran en la **tabla 1**, dando como resultado 12 sistemas a base de sílice.

Tabla 1. Especificaciones de las condiciones de síntesis realizadas por el método Sol-gel

Condición	Tensioactivo	Concentración de tensioactivo (M)		Concentración de precursor TEOS (%v/v)		pH		Tipo de homogeneización
		Límite bajo	Límite alto	Límite bajo	Límite alto	Básico	Ácido	
1	CTAB	2.19×10^{-4}		2.7		x		Magnética
2	CTAB	2.19×10^{-4}		2.7			x	Magnética
3	CTAB		2.74×10^{-2}		13.5	x		Magnética
4	CTAB		2.74×10^{-2}		13.5		x	Magnética
5	CTAB		2.74×10^{-2}		13.5	x		Cavitación

6	CTAB		$2.74 * 10^{-2}$		13.5		x	Cavitación
7	Tween 80	$1.52 * 10^{-5}$		2.7			x	Magnética
8	Tween 80	$1.52 * 10^{-5}$		2.7			x	Magnética
9	Tween 80		$7.63 * 10^{-3}$		13.5		x	Magnética
10	Tween 80		$7.63 * 10^{-3}$		13.5		x	Magnética
11	Tween 80		$7.63 * 10^{-3}$		13.5		x	Cavitación
12	Tween 80		$7.63 * 10^{-3}$		13.5		x	Cavitación

Dentro de ellos se evaluó la concentración de precursor (TEOS), el pH de la reacción tanto ácido como básico, la naturaleza del tensioactivo catiónico (CTAB) o no iónico (Tween 80) y tipo de agitación (cavitación o magnética).

8.1.1 Método empleando agitación magnética

Para aquellos ensayos donde la concentración de tensioactivo y precursor se dieron en el límite alto, se mezcló en un vaso de precipitado (Vaso 1) 28 mL de etanol al 70% junto con 37 mL de agua purificada, de manera paralela en otro vaso de precipitado (Vaso 2) se colocaron 100 mg de tensioactivo y se disolvieron con 10 mL de agua purificada mediante agitación constante por 10 minutos aproximadamente. El contenido del vaso 1 se agregó lentamente sobre el vaso 2, para llevarlo a agitación a 360 rpm por una hora en una plancha Thermo Scientific, allí se añadió 1 gota de hidróxido de amonio (NH_4OH) 25%v/v para condiciones de pH básicas, o 1 gota de ácido clorhídrico (HCl) 97% v/v para condiciones de pH ácidas, se midió el pH con un pH metro Ohaus y finalmente se añadió gota a gota 5 mL de precursor, cada uno de los ensayos se realizó por triplicado.

Mientras que para los ensayos con límite bajo de concentración de precursor y tensioactivo, se siguió el mismo procedimiento con la diferencia de que se colocaron 0.1 mg de tensioactivo y se disolvieron con 10 mL de agua purificada mediante agitación constante por 10 minutos aproximadamente y finalmente se añadió gota a gota 1 mL de precursor, y de igual manera cada uno de los ensayos se realizó por triplicado.

Después de una hora de agitación las mezclas se retiraron y se procedió a evaporar el etanol en un rango de temperatura de 100-130 °C durante 4 a 6 horas. Posteriormente, se congeló cada muestra a -80° C durante 24 horas y finalmente se liofilizaron durante 48 horas en un liofilizador Buchi Lyovapor L-200.

8.1.2 Método empleando cavitación ultrasónica

En los ensayos donde la concentración de tensioactivo y precursor se dieron en el límite alto, se mezcló en un vaso de precipitado (Vaso 1) 28 mL de etanol al 70% junto con 37 mL de agua purificada, de manera paralela en otro vaso de precipitado (Vaso 2) se colocaron 100 mg de tensioactivo y se disolvieron con 10 mL de agua purificada mediante agitación magnética constante por 10 minutos aproximadamente. El contenido del vaso 1 se agregó lentamente sobre el vaso 2, allí se añadió 1 gota de hidróxido de amonio (NH_4OH) 25%v/v para condiciones de pH básicas o 1 gota de ácido clorhídrico (HCl) 1M para condiciones de pH ácidas, se midió

el pH con un pH metro Ohaus el contenido del vaso se llevó a una sonda ultrasónica QSONICA sonicators a 70% de amplitud donde se le añadieron gota a gota 5 mL de precursor, cada uno de los ensayos se realizó por triplicado.

Para los ensayos con límite bajo de concentración de precursor y tensioactivo, se colocaron 0.1 mg de tensioactivo y se disolvieron con 10 mL de agua destilada, lo cual se colocó en agitación magnética constante por 10 minutos aproximadamente y se realizó el mismo procedimiento anterior, el contenido del vaso se llevó a una sonda ultrasónica QSONICA sonicators a 70% de amplitud donde se le añadieron gota a gota 1 mL de precursor, de igual manera cada uno de los ensayos se realizó por triplicado.

Pasados 10 minutos se detuvo la homogeneización, se tomó la temperatura a la muestra, se colocó en una plancha de calentamiento Thermo Scientific para evaporar el etanol en un rango de temperatura de 100-130 °C durante aproximadamente 4 a 6 horas, se congeló cada muestra a -80° C durante 24 horas y finalmente se liofilizan durante 48 horas en un liofilizador Buchi Lyovapor L-200.

8.1.3 Purificación de las nanopartículas

Para ello se tomaron cada una de las muestras previamente liofilizados, se realizaron lavados con agua purificada para eliminar trazas de tensioactivo, en primer lugar se añadieron 50 mL de agua purificada en cada tubo falcon con la muestra, agitación manual y finalmente se llevó a centrifuga SIRENA-AFI por 15 minutos a 3000 rpm para un lavado inicial, se repitió este procedimiento con 30 mL y 10 mL, al finalizar estos lavados nuevamente se llevó a congelación a -80° C por 24 horas y posteriormente su liofilización por 48h en un liofilizador Buchi Lyovapor L-200.

8.2 Metodología para dar cumplimiento al objetivo 2 “Caracterizar las nanopartículas de sílice mesoporosa mediante espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, dispersión de luz dinámica y potencial z”.

8.2.1 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Se utilizó un espectrómetro infrarrojo FTIR Bruker Alpha, en el cual se llevó a cabo el análisis de 12 ensayos con el Software Spectrum. En primer lugar, se estableció la línea base (barrido) en un rango de 400 a 4000 cm^{-1} , antes de realizar el análisis de cada muestra, es decir, para cada prototipo se realizó un barrido inicial.

8.2.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Para el análisis de SiO_2NP , se realizó una preparación de la muestra por medio de un metalizador Desk® IV generando un recubrimiento de grano fino (100Å) en un solo ciclo de revestimiento por medio de la técnica de evaporación con carbono confinado en vacío.

Posteriormente las muestras ya recubiertas se posicionaron en un microscopio de barrido de electrones y haz de iones focalizado FE-EMB LYRA3 de TESCAN, donde se manejaron electrones secundarios y retrodispersados, se tomaron imágenes a un voltaje de aceleración de 5.0 kV, en magnitudes de 200x, 6000x, 15000x y algunas que por resolución del equipo permitieron unas magnitudes mayores.

8.2.3 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Se ejecutó una preparación de muestra de cada ensayo, donde se re-suspendieron en agua purificada y se les aplicó sonicación durante 3 minutos para dispersar adecuadamente el

material, para el análisis de estas se empleó un microscopio de fuerza atómica Asylum research 3D MFP bio con una punta AC240ts para análisis topográfico en modo tapping y Z voltage para obtener imágenes de 2x2 micras.

Se ajustó la constante de resorte de la sonda y la velocidad de aproximación de la muestra, se alineó y se calibró la posición de la punta en el espacio de escaneo, después se eligió el modo de operación en este caso el modo de contacto intermitente.

Para la interpretación y medición de las partículas obtenidas en las imágenes se utilizó el software modular Gwyddion para la visualización y el análisis de datos provenientes de técnicas de microscopía de sonda de barrido.

8.2.4 Dispersión de luz dinámica (DLS).

Para este método se necesita una preparación de la muestra, donde el material sólido se dispersa en agua purificada. Se agregó una pequeña cantidad de esta al dispersante de tal modo que se sature durante un tiempo. Se usó un baño de ultrasonido para romper cualquier tipo de aglomeración. Cada prototipo se coloca en una celda la cual se ubica en un Zetasizer Nano ZS-Malvern®, se seleccionó el modo de medición de DLS o “Dynamic Light Scattering” a una temperatura de 25°C, se realizó la medición de un estándar de referencia a dicha temperatura para la corrección de los efectos de dispersión múltiple. Finalmente, se analizaron las muestras del material por triplicado para obtener un promedio de tamaño de partícula.

8.2.5 Potencial Z.

De igual manera que con el anterior, se necesita una preparación de la muestra, donde el material sólido se dispersa en agua purificada. Se agregó una pequeña cantidad de esta al dispersante de tal modo que se sature durante un tiempo. Se usó un baño de ultrasonido para romper cualquier tipo de aglomeración. Cada prototipo se coloca en una celda la cual se ubica en un Zetasizer Nano ZS-Malvern®, se ajustó una longitud de onda de 633 nm y el modo de electromovilidad para finalmente iniciar la medición. Este procedimiento se realizó por triplicado a cada muestra de material para de esta manera obtener un promedio de mV.

8.3 Metodología para dar cumplimiento al objetivo 3 “Determinar la reactividad biológica *in vitro* de las nanopartículas de sílice mesoporosa”

8.3.1 Citotoxicidad celular

La citotoxicidad celular de las SiO₂ NP fue determinada siguiendo la Norma ISO 10993-5 del 2009 (*Parte 5: Pruebas de citotoxicidad in vitro*) donde se empleó la línea celular de fibroblastos L929 (NCTC 929 American Type Culture Collection (ATCC-NCTC número: CCL-1™) derivado de cepa L, tejido conectivo de ratón) siendo estas las recomendadas por la norma para estudios *in vitro* en bio-compatibilidad de materiales (Organización internacional de normalización, 2009).

Para este ensayo, las células fueron cultivadas en recipientes T-75 hasta que alcanzaron un nivel de ocupación del 80% en Medio Esencial Mínimo de Dubelco (DMEM) complementado con: suero fetal bovino al 10%, penicilina (100 UI/mL), estreptomycinina (100 µg/mL), anfotericina B (0,5 µg/mL), vitaminas 1x (Gibco®) y piruvato de sodio 1x (Gibco®).

Los cultivos se mantuvieron en una atmósfera compuesta por un 95% de aire y un 5% de CO_2 a 37 °C. Se realizó un cambio de medio cada tercer día y se utilizaron células correspondientes al tercer pasaje para todos los experimentos.

8.3.1.1 Viabilidad celular

La viabilidad celular se determinó por reducción de MTT por células metabólicamente activas siguiendo el procedimiento descrito por Millán, D. donde el ensayo se inició con la línea celular L929 por triplicado en los 12 ensayos correspondientes a la **tabla 1**, más un control positivo por DMSO al 25% y un control negativo silicona de 0.2 g/mL.

Se incubaron células L929 y fibroblastos primarios en cajas de cultivo de 96 pozos, con una densidad de 1×10^4 y 1×10^3 células por pozo, respectivamente. Se empleó medio DMEM suplementado (100 μ l/pozo) y las cajas fueron incubadas durante 24 horas a 37 °C, 5 % de CO_2 y una humedad superior al 90 %.

Posteriormente, se retiró el medio de cultivo y las células se mantuvieron incubadas en las mismas condiciones mencionadas previamente, a lo largo de 24, 48 y 72 horas para cada muestra. Una vez realizado esto, se agregó MTT y se incubó durante 2 horas a 37 °C. Finalmente, el formazán precipitado se solubilizó con DMSO y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm (**DO-570nm**) o densidad óptica. La cantidad de formazán se correlacionó con el número de células vivas utilizando la siguiente fórmula:

$$Viabilidad\ celular\ (\%) = \frac{100 \times DO_{570nm} (1)}{DO_{570nm} (2)}$$

(1) Promedio de la DO de la muestra (Muestra de material a base de sílice)

(2) Promedio de la DO del blanco.

8. Resultados y discusión

9.1 Resultados

9.1.1 Objetivo 1 “Sintetizar nanopartículas de sílice mesoporosa en diferentes condiciones de pH, homogeneización, concentración de precursor y tensioactivo.”

En este trabajo se buscó determinar las condiciones de síntesis de nanopartículas de sílice por el método Sol-gel y para esto se empleó el uso del precursor TEOS y dos tensioactivos Tween 80 y CTAB, se realizaron ensayos a alta y baja concentración tanto de precursor como de tensioactivo, una catálisis ácida y básica y adicionalmente dos tipos de homogeneización, agitación magnética y mediante cavitación ultrasónica, dando como resultado a 12 condiciones diferentes (**Tabla 1**), cada una con sus respectivas réplicas (3 ensayos por cada condición de reacción).

En un principio, durante el proceso de síntesis al añadir el precursor al medio, se evidenció que la reacción presentó turbidez lo cual es una muestra fundamental para confirmar si se estaban llevando a cabo las reacciones de hidrólisis y condensación, lo cual sucedió en todos los ensayos, pero en los realizados con el tensioactivo Tween 80, esta era significativamente menor que a los ensayos realizados con CTAB. Este fenómeno fue independiente de si su concentración era baja o alta, pero en aquellos ensayos con tween 80 la turbidez desaparecía con el tiempo.

A esto se suma que, al momento de comparar aquellos realizados con agitación magnética, de igual manera su turbidez era mucho menor a comparación de los que se les aplicó cavitación ultrasónica, ya que en estos últimos la coloración era completamente blanca incluso después de la evaporación del etanol, por este motivo se pudo inferir en su momento que los ensayos con tween 80 y agitación magnética contenían una menor cantidad de material a base de sílice, en contraste con los demás ensayos de ambos tipos.

Tanto en la catálisis ácida como en la básica se logró obtener una dispersión coloidal (**Figura 4-a**) la cual a medida que se evaporó el etanol del medio iba obteniendo las características de un gel (**Figura 4-b**) y con el fin de obtener las nanopartículas en estado sólido, se realizó un proceso de liofilización (**Figura 4-c**) para así obtener un polvo fino (**figura 4-d**).

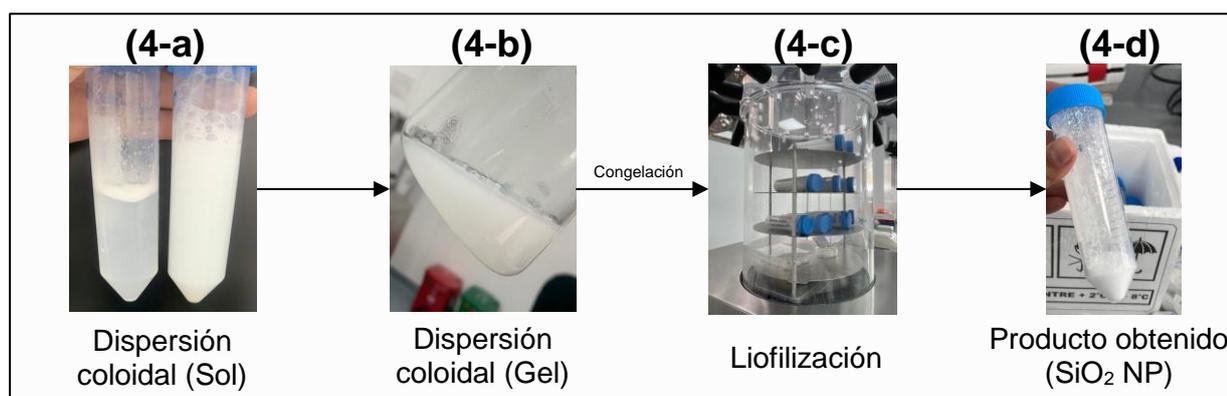


Figura 4. Proceso de obtención de nanopartículas de sílice mesoporosa mediante la liofilización de una dispersión coloidal obtenida por el método Sol-gel. a) Dispersión coloidal (Sol). B) Dispersión coloidal (Gel). c) Liofilización d) Producto obtenido ($SiO_2 NP$).

En cuanto a la obtención del gel, fue mucho más evidente su formación al realizar la catálisis ácida (**Figura 5-b**), ya que si el proceso es realizado en estas condiciones, la gelación se va a ver inducida por aglomeración gracias a la reducción del pH del medio, por lo tanto, el resultado es un gel mucho más compacto que el obtenido por catálisis básica (**Figura 5-a**), sumado a eso que la naturaleza del tensioactivo puede interactuar de manera compleja con los hidrogeniones en solución y así influir en la estructura del gel.

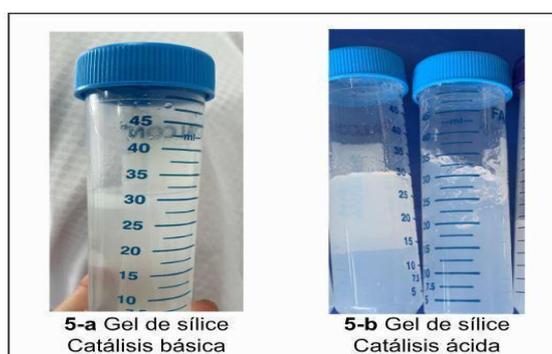


Figura 5. a) Gel de sílice catálisis básica vs b) gel de sílice catálisis ácida

Después de someter las muestras a liofilización, un proceso de secado basado en la sublimación del agua presente en la muestra, se logró preservar de manera óptima las cualidades de cada ejemplar inicial, obteniendo así un polvo blanco muy fino en la mayoría de los casos, siendo esta una característica principal de las nanopartículas de sílice. No obstante, en algunos prototipos se lograron ver aglomerados y lo que podríamos describir como fibras, que posteriormente se lograron caracterizar por medio de la técnica SEM para verificar su morfología.

Cabe resaltar que posterior a la liofilización, en los ensayos con baja concentración TEOS/Tensioactivo, se obtuvo una menor cantidad de material, por lo que para aquellos ejemplares en donde se veía involucrado el proceso de cavitación, la variable de concentración siempre fue alta y esta se mantuvo constante para todos los experimentos con el fin de dar lugar a una mayor formación de SiO_2NP .

En cuanto a la purificación de los sistemas, se pudo notar que al momento de centrifugar las muestras aun así quedaban partículas suspendidas en el sobrenadante retirado, por esto se asume que son pérdidas de material significativo y por tal motivo se debe tener riguroso cuidado al momento de sacar los tubos de la centrífuga, con el fin de no dispersar el sistema nuevamente y que así se pierda gran cantidad de material. Este proceso fue realmente valioso ya que permitió que los IR obtenidos y descritos en el numeral **9.1.2.1** tuviesen resultados positivos y el proceso de calcinación de NP no fuese necesario, sino que, únicamente con la etapa de liofilización el material quedase libre de tensioactivo.

A raíz de lo anterior, se observó que utilizar TEOS como precursor en el proceso Sol-gel, debido a su longitud en la cadena orgánica, no afectó la velocidad de la reacción de hidrólisis, gracias a la mitigación de los factores estéricos; este comportamiento contrasta con otros alcóxidos de silicio que poseen cadenas mucho más extensas (Ludeña, 2021), conjunto a esto, en el proceso de síntesis al momento de someter el sistema de reacción a la catálisis ácida (**Figura 6**) aquellos hidrogeniones que se ven atraídos por los átomos libres de oxígeno del TEOS van a generar una carga positiva, aumentando de este modo su naturaleza electrofílica y por lo tanto, convirtiéndolo en una especie susceptible al proceso de hidrólisis, lo cual va a ocurrir de la misma forma en la condensación.

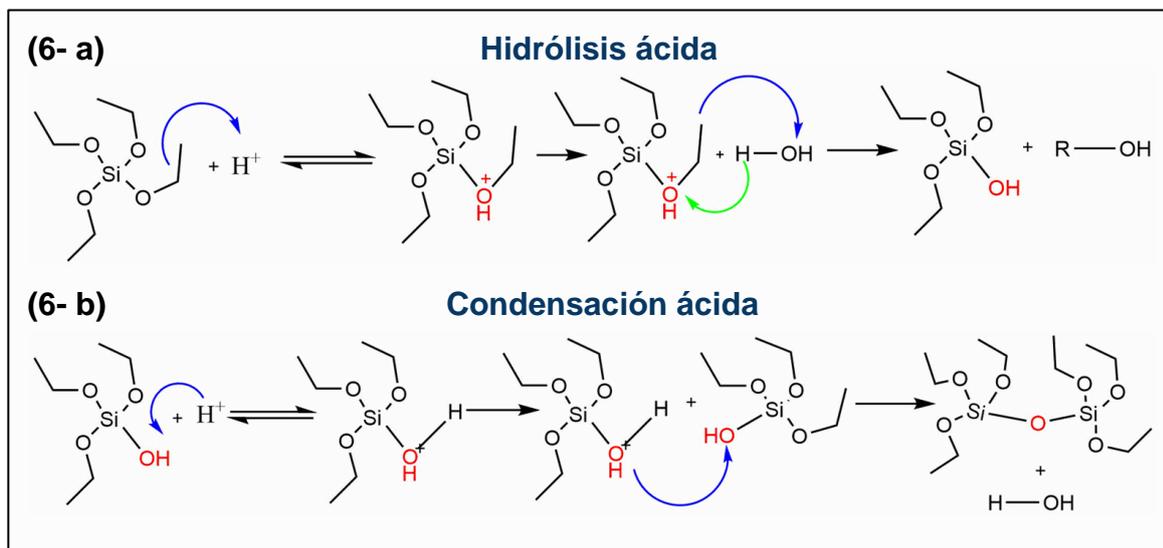


Figura 6. Mecanismo de reacción del TEOS por medio de a) hidrólisis ácida y b) condensación ácida en la síntesis de SiO_2 NP por el método Sol-gel. Autoría propia

Contrario al uso de la catálisis básica (**Figura 7**) donde los iones OH^- tienden a atacar directamente al silicio, haciendo que la reacción de condensación se dé mucho más rápido, en esta se va a ver favorecida la formación de estructuras ramificadas (Ludeña, 2021) y adicional a eso la velocidad de la reacción de hidrólisis se ralentice, formando más tarde los grupos silanol, los cuales son indispensables para la formación del gel, favoreciendo la gelificación cuando la composición del sistema sea la deseada y no antes como con la catálisis ácida, que como se mencionó anteriormente puede influir en negativamente por la agregación de las partículas. Por ello, la catálisis básica permite una estabilidad coloidal de las NP y un control del proceso,

evitando así su sedimentación y/o aglomeración lo cual es crucial para la formación de nanosistemas homogéneos y dispersos.

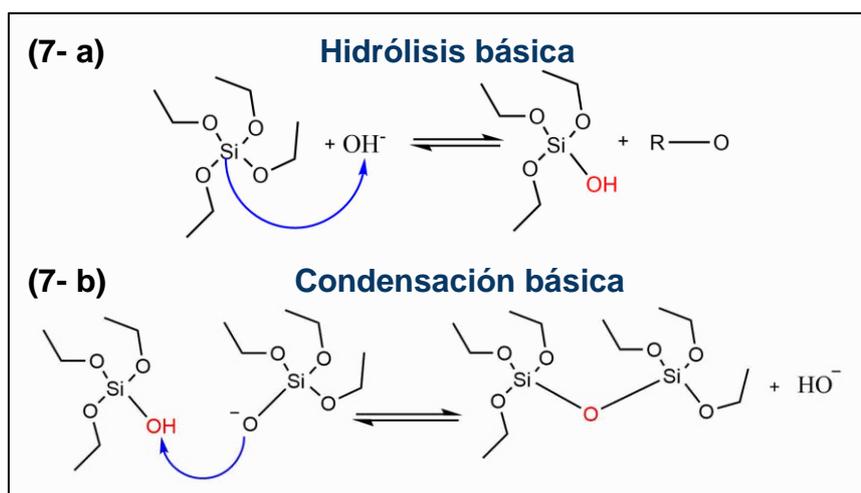


Figura 7. Mecanismo de reacción del TEOS por medio de a) hidrólisis básica y b) condensación básica en la síntesis de SiO_2 NP por el método Sol-gel. Autoría propia

En este contexto, la metodología mencionada se empleó para analizar las distintas variables que pueden ser ajustadas durante la reacción, con el propósito de identificar los parámetros críticos del proceso que generan resultados óptimos. Una de las observaciones destacadas se refiere al cambio en el tipo de catalizador, que, de acuerdo a los mecanismos previamente explicados y respaldados por la literatura, demostró ser considerablemente más eficaz cuando se utiliza un catalizador de naturaleza básica. Esto se tradujo en una solidificación rápida de las especies de sílice, gracias a la transición en la que el nucleófilo se acerca al átomo de silicio mientras que el grupo saliente HO^- se separa de él al mismo tiempo, en otras palabras, ambos procesos se llevan a cabo en una sola etapa.

En lo que concierne al tipo de homogeneización, normalmente en esta clase de síntesis se suele utilizar la agitación magnética por periodos de tiempo extensos (aproximadamente 1 hora o más), en comparación con el empleado en la variante con cavitación, que en este caso fue durante 10 minutos, generando nanopartículas de sílice en su mayoría con tamaños superiores a 50 nm e inferiores a 100 nm según se observó en los **ensayos 3 y 5**, siendo el último en condiciones de cavitación ultrasónica, por este motivo se infiere que el uso de la cavitación es mucho más efectivo para la formación de SiO_2 NP, no solamente disminuyendo los tiempos de reacción, sino también por la colisión de las partículas lo cual redujo la formación de aglomerados. Gracias a lo conocido sobre esta técnica de homogeneización, se deduce que puede mejorar la dispersión y homogeneidad del medio de reacción, así como la proporción de energía cinética de agitación (Tabares et al., 2014), de las moléculas en solución. Esto se traduce en una mayor tasa de reacción, que bajo condiciones básicas también influye en la distribución uniforme de la especie catalizadora. En consecuencia, mejora la eficacia de la catálisis, lo que se refleja en una aceleración de la reacción de condensación, en el caso de los ensayos realizados con catálisis básica.

En cuanto al uso de los tensioactivos Tween 80 y CTAB fue crucial conocer la concentración micelar crítica de cada uno, siendo estas $9.923 \times 10^{-6}\text{M}$ y $9.0 \times 10^{-4}\text{M}$, respectivamente, ya que a partir de este valor teórico (Li et al., 2006) se trabajó en cada uno de los ensayos (**Tabla 1**), para con ello lograr la síntesis de un nanomaterial con una estructura definida.

Adicionalmente, se buscó minimizar el efecto del proceso de calcinación de las NP ya que este puede disminuir sustancialmente la cantidad de material obtenido para las pruebas de

caracterización, por consiguiente se reemplazó este proceso por la evaporación del solvente utilizado (EtOH) en conjunto con la liofilización de las NP obtenidas en agua, con el que se obtuvo satisfactoriamente en los 12 ensayos material a base de sílice libre de tensioactivo, y específicamente en los **ensayos 3 y 5** nanopartículas de sílice con estas mismas características.

Sin embargo, al momento de purificar los sistemas obtenidos, el proceso de lavado afectó el reconocimiento de las NP que más adelante se caracterizaron, esto porque la mayoría de las partículas de tamaño nanométrico luego de realizar la centrifugación de los sistemas debió haber quedado en el sobrenadante contenido en los tubos Falcon, en consecuencia, la pérdida de material dificultó el proceso de caracterización por SEM, específicamente y por tal motivo se vio la necesidad de utilizar la técnica de AFM para lograr visualizar las nanopartículas; a pesar de esto se considera que el proceso de purificación usado en este trabajo fue efectivo en cuanto a la eliminación de tensioactivo y demás especies que pudiesen estar contenidas en la estructura de las NP, ya que esto era necesario para corroborar en los ensayos de FT-IR la presencia exclusiva de SiO_2 y que en los de citotoxicidad no se viesen afectados de manera significativa los resultados de % de viabilidad celular *in vitro*.

En esa perspectiva, la síntesis aquí descrita dio como resultado las condiciones necesarias para la obtención de material nanoparticulado potencialmente útil en la investigación de nuevos materiales para la futura vehiculización de fármacos, siendo hasta este punto los parámetros críticos del proceso: la naturaleza del precursor y el tensioactivo, el uso de una concentración considerable de ambos, el uso de una catálisis básica y una correcta purificación del material obtenido.

9.1.2 Objetivo 2 “Caracterizar las nanopartículas de sílice mesoporosa mediante espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, dispersión de luz dinámica y potencial z”

9.1.2.1 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Por medio de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) se buscó encontrar las bandas representativas (**Anexo 2**) a los grupos funcionales representativos de las SiO_2NP , en específico de las especies silanol y siloxano, correspondientes al antes y después de las especies en las muestras sometidas al proceso sol-gel, así como también la presencia del tensioactivo utilizado.

En un espectro inicial se pudo encontrar una banda a $3400-3500\text{ cm}^{-1}$ representativa de grupos -OH y estiramiento de los grupos hidroxilo del Sí-OH, a $2900-3000\text{ cm}^{-1}$, una pequeña banda para grupos C-H los cuales indicaron la presencia del tensioactivo en la muestra (**Figura 8-a**).

Luego de llevar a cabo todo el procedimiento de síntesis, y obtener el polvo de sílice, se tomaron IR a cada una de las muestras (**Anexo 3**) en donde se pudo corroborar la formación del modo de tensión asimétrica del grupo Si-O-Si (Espinoza, 2015) que corresponde a la banda ancha que se encuentra en $1063\text{ a }1072\text{ cm}^{-1}$ (**Figura 8-b**), adicionalmente se observó la desaparición de los grupos -OH en todas las muestras, mientras que en algunas aún se lograba observar presencia de tensioactivo por bandas de -C-H.

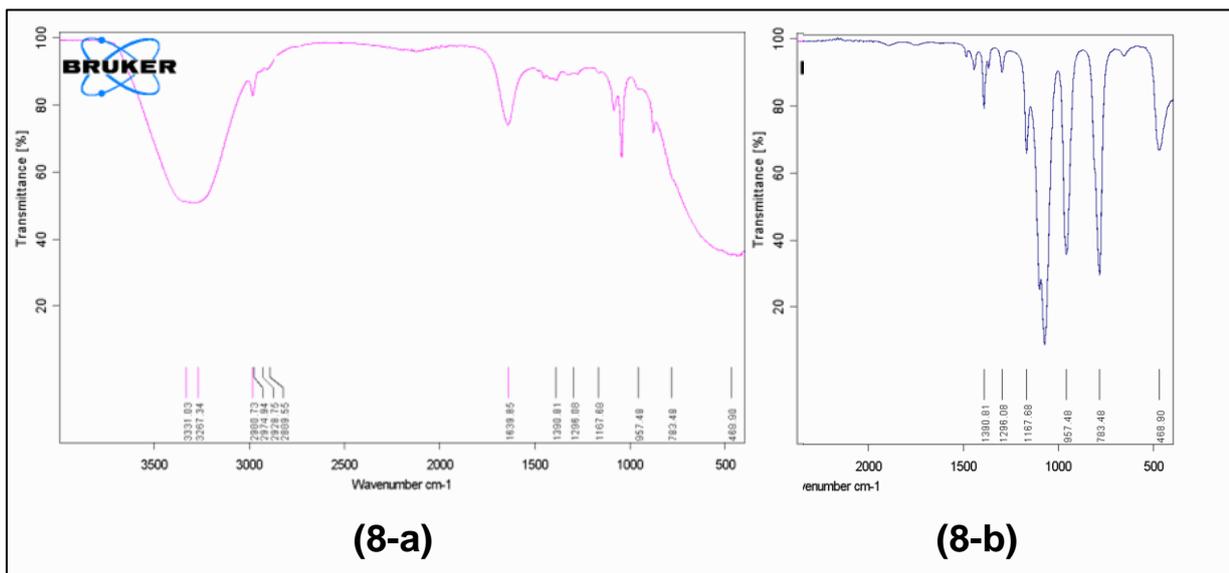


Figura 8. Espectro infrarrojo obtenido de nueve ensayos realizados de la síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa por el método Sol-gel. a) IR antes de reacciones de hidrólisis y condensación. b) IR después del proceso de síntesis. Autoría propia

Con esto, se pudo reafirmar la reproducibilidad del método para formar enlaces Si-O-Si, ya que en los 12 prototipos se obtuvieron espectros con alta similitud. Este hallazgo nos dejó inferir que las reacciones de síntesis tanto de hidrólisis, como de condensación fueron llevadas a cabo de manera satisfactoria reflejando que en las muestras obtenidas hay presencia de material a base de SiO_2 . Ahora bien, en los IR tomados antes del proceso de purificación se logró detectar trazas de tensioactivo, lo que finalmente pudo eliminarse con los correspondientes lavados de los sistemas y adquirir espectros IR con únicamente especies siloxano.

9.1.2.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Con esta prueba de caracterización se buscó reconocer visualmente la presencia de nanopartículas y adicionalmente comprobar el tamaño representativo de las muestras, de los cuales únicamente 2 ensayos mostraron efectividad en la síntesis de SiO_2NP .

Durante esta, se pudo observar que en la mayoría de los ensayos se obtuvieron fragmentos de sílice porosa (**Figura 9-a**) junto con nanopartículas de sílice (**Figura 9-b**), ya que sobre los fragmentos más grandes del material se encontraron pequeñas partículas posadas (**Figura 9-c**), sin embargo, en cantidad sobrepasaba los fragmentos a las nanopartículas, haciendo así muy difícil la observación bajo este tipo de microscopio, ya que las imágenes tomadas a 150000x o más, carecían de definición y por lo tanto no era posible evaluar el tamaño de las pocas nanopartículas presentes. Ahora bien, en algunos de estos fragmentos también se identificaron bastantes aglomerados de nanopartículas adheridos a la superficie, los cuales tampoco fueron posibles de maximizar para definir el tamaño de NP.

otros y en ese contexto la homogeneidad de la agitación pudiese no haber sido igual para todos los ensayos produciendo así fragmentos y aglomerados poco uniformes.

Tomando en consideración que en un principio las reacciones de hidrólisis y condensación se dieron a temperatura ambiente, pero la temperatura a la cual se evaporó el EtOH fue mucho mayor (100-130 °C), eso pudo afectar las especies de sílice que no habían reaccionado hasta ese punto, ya que como sabemos la temperatura puede influir en la cinética de las reacciones químicas, más específicamente por la viscosidad, ya que para la mayoría de dispersiones coloidales se disminuye su viscosidad conforme aumenta la temperatura (Talens et al., 2017) dando como resultado una aglomeración excesiva del material por la rápida difusión de los reactivos y por esa razón es necesario tener un control de la temperatura más riguroso para que la formación de las NP sea mucho más dispersa y uniforme. A esto se suma, que en el proceso de liofilización pudo haber una reestructuración de las partículas obtenidas en la dispersión, porque en el paso posterior de congelación del sistema, existe la formación de cristales de hielo que en función de su temperatura de congelación tendrán un tamaño y forma diferentes y la migración del agua presente en la muestra en el proceso de liofilización que sublima directamente los cristales de hielo (Flórez, s.f) puede afectar la morfología de las NP obtenidas, lo cual se pudo evidenciar en el **Anexo 1 - Ensayo 1** donde se nota la presencia de fibras, y en los demás ensayos a excepción del 3 y 5, fragmentos o láminas de sílice con tamaños muy diferentes entre sí. Por esto, es relevante tener en cuenta, que la temperatura de congelación de los sistemas coloidales siempre debe ser la misma para minimizar el cambio de la estructura cristalina del agua del sistema, tratando así de que la morfología sea lo más homogénea posible y con ello también las condiciones del equipo de liofilización.

Otro elemento importante en cuanto a SEM fue que en los fragmentos obtenidos se reconoció la presencia de poros (**Figura 11**) indicando que el uso de los tensioactivos por encima de la concentración micelar crítica dio origen a las cavidades, afectando la morfología interna de las NP.

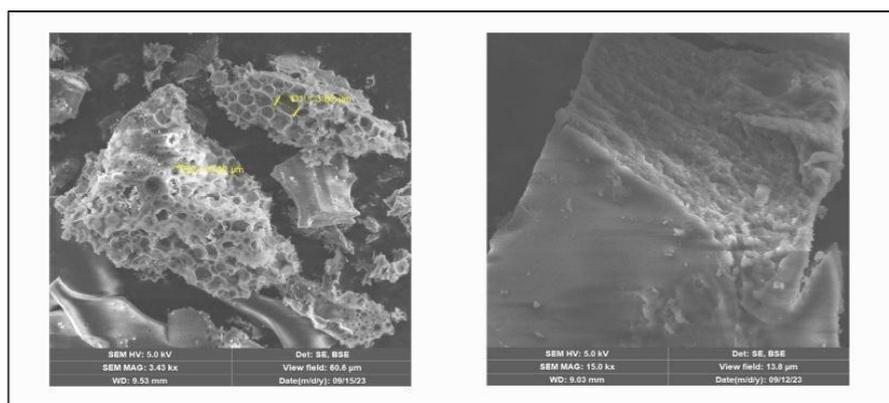


Figura 11. Imágenes SEM de porosidades en fragmentos de sílice obtenidos.

9.1.2.3 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Al realizar esta prueba de caracterización se lograron identificar las nanopartículas redispersas en agua purificada, con el fin de determinar el tamaño que se obtuvo, dado que esta técnica es normalmente utilizada para la caracterización del tamaño de nanopartículas (Ayala et al, 2019). Al tomar aquellas que se ubicaban en la parte más superficial de la dispersión, las imágenes analizadas en el software Gwyddion donde para ensayos con el tensioactivo CTAB (**1 a 6, Anexo 5**) se midieron tamaños entre 25 y 100 nm, mientras que con el tensioactivo Tween 80 (**7 a 12, Anexo 5**) se evidenciaron tamaños inferiores desde 15 a 70 nm.

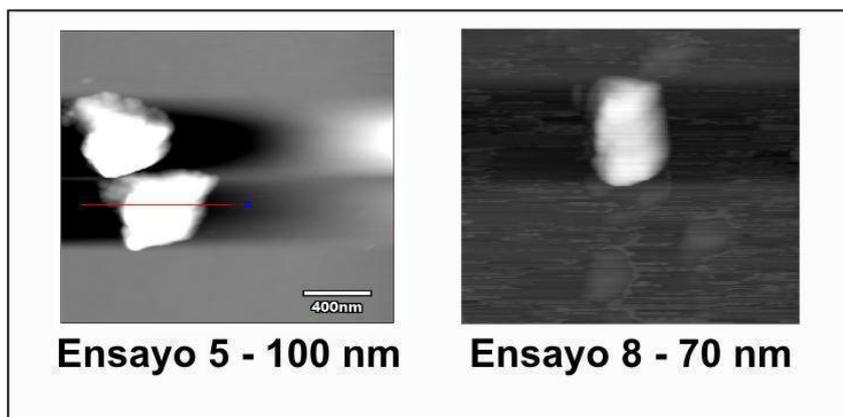


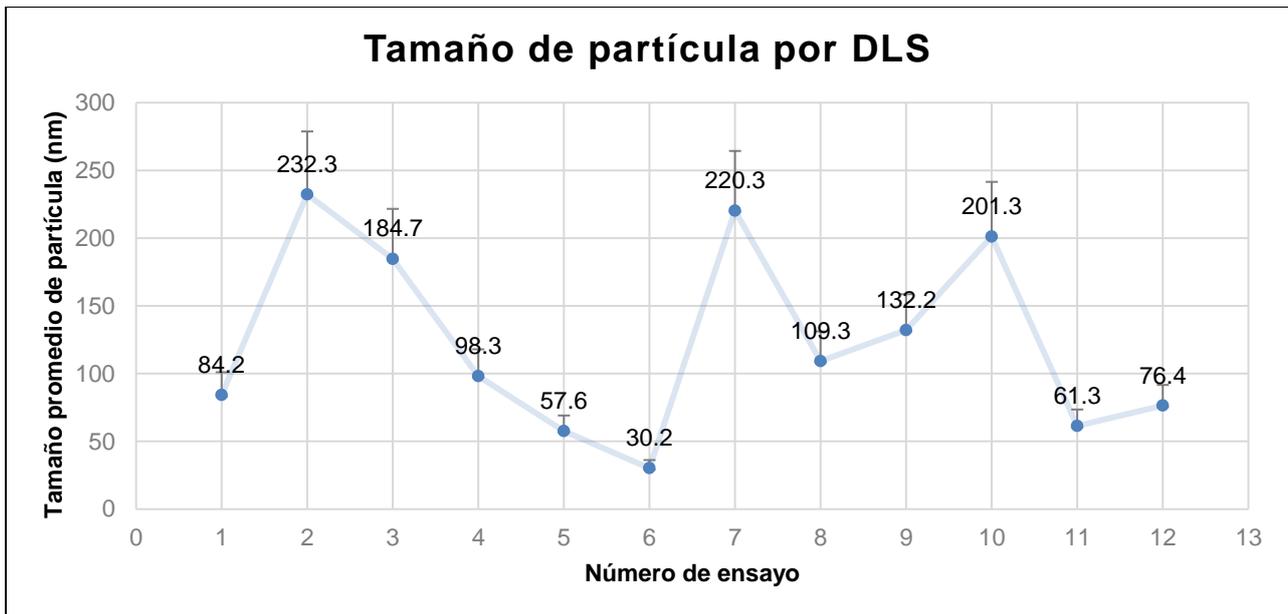
Figura 12. Imágenes AFM nanopartículas de sílice mesoporosa, de izquierda a derecha ensayo 5 (CTAB), ensayo 8 (Tween 80).

Cabe destacar que, con este método de microscopía de fuerza atómica se buscaba definir el tamaño de las nanopartículas presentes tanto en las muestras de ensayos donde la mayoría del material eran fragmentos de sílice, así como en ambos ensayos donde se pudo observar por SEM que en su totalidad eran nanopartículas (**Anexo 5**), en los ensayos con fragmentos grandes de sílice gracias a la dispersión del material de estudio, se pudo separar las partículas más pequeñas alojadas en el sobrenadante para así constatar que existe presencia de NP y que lo descrito anteriormente sobre el efecto de la temperatura, las condiciones de homogeneización y la liofilización realmente afectaron la síntesis. De hecho, los tamaños de las nanopartículas de sílice por AFM son congruentes con el análisis por SEM ya que en los ensayos donde no se pudo corroborar el tamaño, en AFM son tamaños inferiores a los 50 nm y el equipo SEM utilizado no lograba llegar hasta esa resolución.

9.1.2.4 Dispersión de luz dinámica (DLS)

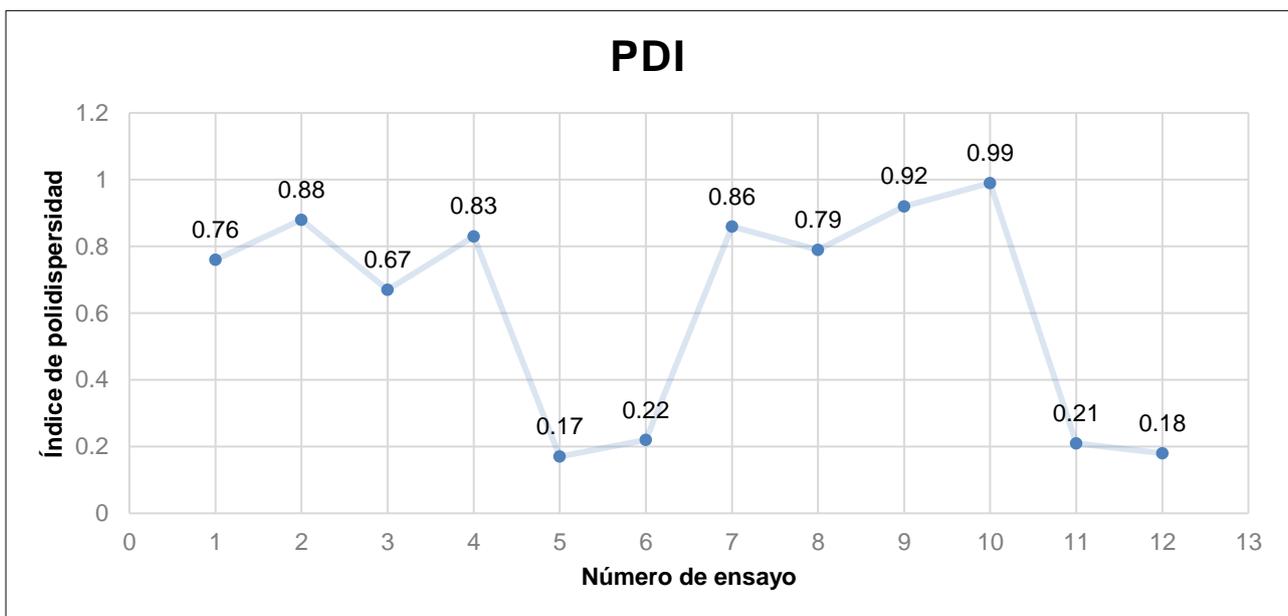
Respecto a la información consolidada de este método de caracterización, se encuentra que la media por muestra respecto al tamaño de partícula está en un rango entre 30,2 nm y 232,3 nm. La media de estos valores arroja un valor de 116 nm. Según los datos obtenidos se puede ver como la mayoría de los ensayos se encuentran dentro de los valores necesarios para que las nanopartículas cumplan con las especificaciones para que de manera futura puedan ser usadas como vehículo de fármacos.

A escalas generales se dieron resultados favorables, teniendo en cuenta que en la mitad de los ensayos este diámetro no superó los 100 nm (**Gráfica 1**). Aquí se puede apoyar la idea de cómo la cavitación contribuye de manera crucial con la reducción del tamaño de partícula, teniendo en cuenta que los valores con diámetro de menor valor corresponden a los **ensayos 5 y 6**, pero el primero entra específicamente en el rango esperado y con las condiciones de síntesis que se pensaban eran las más adecuadas para la obtención de este tipo de nanomaterial. Cabe resaltar que esta técnica permite estimar el tamaño de las nanopartículas tomándolas como un conjunto por lo cual, el valor obtenido es un promedio de toda la muestra, lo que se puede traducir como su polidispersidad.



Gráfica 1. Tamaño y distribución de tamaño de partícula por DLS de los ensayos realizados por el método sol-gel.

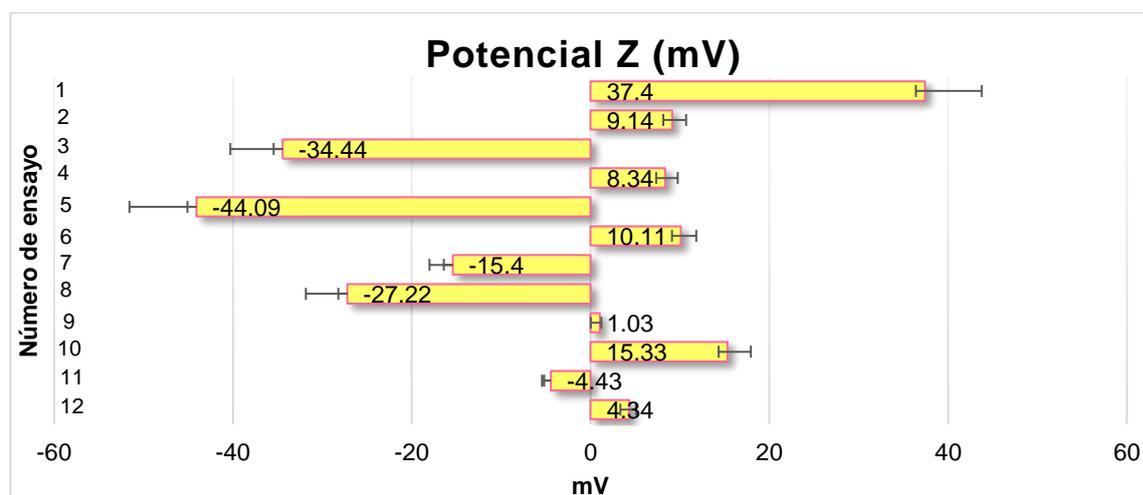
El índice de polidispersidad (PDI) es un parámetro obtenido de manera simultánea con el tamaño de partícula. Este nos da información sobre la muestra, valores de PDI cercanos a 0 indican que la muestra es monodispersa, así como valores cercanos a la unidad indican que la muestra presenta gran variedad de tamaños (Lancheros et al., 2014). Se pudo ver que los resultados con mejor homogeneidad respecto al tamaño de partícula corresponden a los **ensayos 5, 6, 11 y 12**, esto muestra nuevamente como la cavitación se convierte en un parámetro crítico dentro del proceso y permite la optimización de la síntesis debido a que proporciona mejores resultados en términos de la distribución del tamaño de partícula. Además, se debe mencionar que el **ensayo 5**, cuenta con el PDI más bajo de todos los prototipos indicando que el material obtenido cuenta con un tamaño de partícula muy similar entre sí, lo que es deseable en este proceso experimental ya que en la fabricación de materiales de uso farmacéutico es un elemento considerado crítico.



Gráfica 2. Índice de polidispersidad obtenido por DLS de los ensayos realizados por el método sol-gel.

9.1.2.5 Potencial Z

Los datos obtenidos para potencial Z evidencian la estabilidad que tienen las nanopartículas teniendo en cuenta que como se muestra en la **gráfica 3** se encuentran en un rango de -44.09mV y 37.4mV. Según lo reportado en literatura las nanopartículas de sílice se deben encontrar en valores entre los ± 30 mV. En este caso, cada muestra se hizo por triplicado con el fin de obtener la media del valor de potencial zeta (barras amarillas) y la desviación estándar (barras de error), que permiten demostrar la variabilidad en cuanto a la distribución de los datos, ya que el potencial z da a conocer la carga superficial de las nanopartículas, la estabilidad y el grado de agregación de estas. Su medición aporta información sobre las causas de dispersión, agregación o floculación, puesto que indica cambios en el potencial de la superficie y las fuerzas de repulsión entre los coloides (Ruiz, 2020). Las nanopartículas que se encuentran en un elevado valor absoluto de potencial z tienden a repelerse entre sí y no se floculan mientras que las nanopartículas que presentaron valores bajos de potencial z se tienden a flocular debido a que no existe ninguna fuerza que impida dicho fenómeno.



Gráfica 3. Distribución de datos obtenidos para potencial z

En este caso, se esperaban valores negativos debido a que estará controlada por el rompimiento de los enlaces Si-O o por la carga de la cadena estructural del silicato (Mantilla et al., 2007). Como se puede evidenciar en el la **gráfica 3** y el **anexo 6** las condiciones que mejores resultados proporcionaron corresponden al **ensayo 3 y 5** con valores de -34.44 mV y -44.09 mV respectivamente, o lo que sería igual a una carga superficial neta negativa, por consecuencia de que también la morfología tiene un impacto significativo en cuanto al valor del potencial debido a que las NP con una mayor área superficial, es decir, las de menor tamaño tienden a tener un mayor potencial z, lo anterior se debe a que hay mayores sitios en la superficie de la NP que pueden interactuar con los iones de la solución resultando en una mayor carga superficial (Chávez, 2016).

9.1.3 Objetivo 3 “Determinar la reactividad biológica in vitro de las nanopartículas de sílice mesoporosa”

La habilidad de las células para transformar el MTT en formazán (**Figura 13**) sirve como un marcador de la salud de las mitocondrias y su funcionalidad, y se considera un indicador de la viabilidad celular. Por ello, evaluar la capacidad de las células para convertir el MTT en formazán

luego de estar expuestas a un material como el SiO_2 proporciona datos sobre la toxicidad de dicho compuesto (Díaz J.D, 2013).

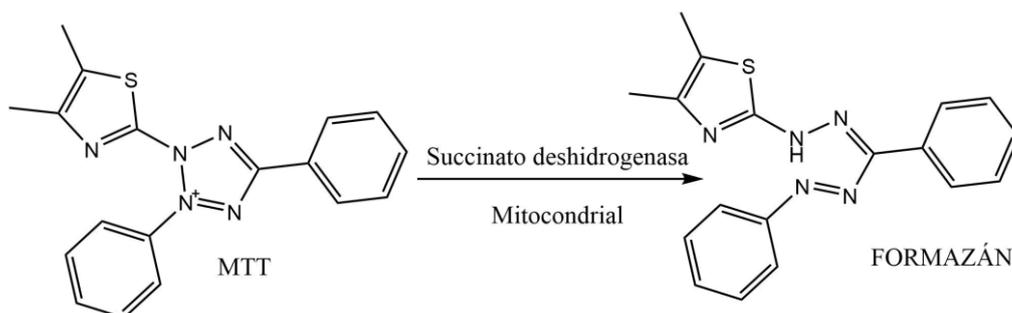


Figura 13. Reducción metabólica de MTT. Autoría propia

Después del periodo de incubación, las células L929 tratadas con MTT desarrollaron un cambio de color, donde las muestras que eran viables tomaron una coloración púrpura debido a la mencionada generación de formazán, mientras que las células no viables o dañadas no tuvieron ese cambio. Para cuantificar estos resultados, fue necesario medir la absorbancia de una solución a base de dichas células a una longitud de onda de 570 nm, esto se traduce a términos de la densidad óptica, resultando en la relación del control negativo con cada muestra.

Según los resultados obtenidos en el ensayo MTT (**Tabla 2**), se observa que las nanopartículas no presentan actividad citotóxica significativa teniendo en cuenta que presentan valores entre 78.7 a 108.3 % de viabilidad celular. Los datos anteriores, sugieren que las SiO_2NP no inducen respuestas biológicas adversas en ensayos *in vitro*, esto se debe a que según el estándar para dispositivos médicos *ISO 10993-5*, un material es considerado citotóxico cuando la exposición o el contacto directo de estos reduce la viabilidad celular por debajo del 70%. Se identificó una particularidad en cuanto a los tensioactivos utilizados ya que con el uso de CTAB existe una mayor reducción del % de viabilidad celular en comparación con el uso de Tween 80.

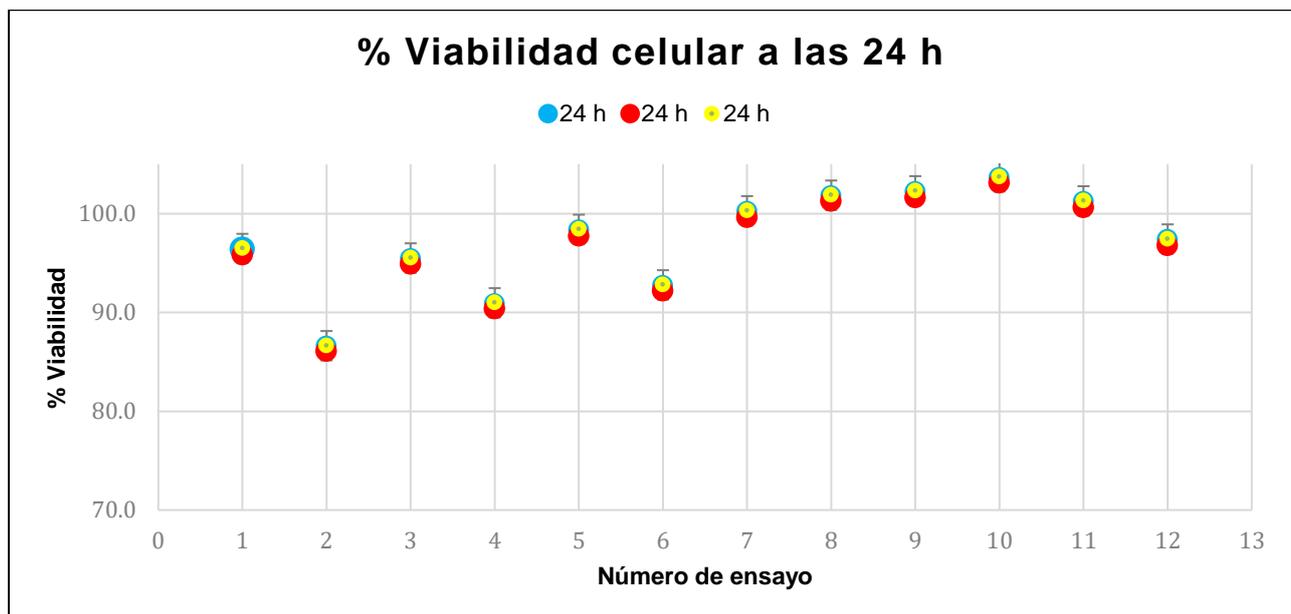
% VIABILIDAD CELULAR L929									
ENSAYO	24 h	24 h	24 h	48 h	48 h	48 h	72 h	72h	72h
1	96.4	95.8	96.5	92.7	92.1	92.8	87.6	87.1	87.7
2	86.6	86.0	86.6	93.5	92.9	93.6	78.7	78.2	78.8
3	95.4	94.9	95.5	103.1	102.5	103.2	86.8	86.2	86.8
4	90.9	90.3	91.0	98.2	97.6	98.3	82.6	82.1	82.7
5	98.3	97.7	98.4	94.5	94.0	94.6	89.4	88.9	89.5
6	92.7	92.2	92.8	89.2	88.6	89.2	84.3	83.8	84.4
7	100.2	99.6	100.3	108.2	107.6	108.3	91.1	90.6	91.2
8	101.8	101.2	101.9	88.3	87.7	88.4	83.5	83.0	83.5
9	102.2	101.6	102.3	98.3	97.7	98.4	92.9	92.4	93.0
10	103.6	103.1	103.7	99.0	99.5	97.1	95.1	94.6	95.2
11	101.2	100.6	101.3	97.3	96.7	97.4	92.0	91.5	92.1
12	97.4	96.8	97.4	93.6	93.0	93.7	98.5	98.0	98.6

Tabla 2. Porcentaje de viabilidad celular para el material a base de sílice obtenido con cada condición de síntesis.

Los datos obtenidos respecto a la disminución de la viabilidad celular son congruentes con los datos consignados en la literatura teniendo en cuenta que se reporta una muy baja toxicidad para el caso del Tween 80. Lo anterior se puede evidenciar según los datos de DL50 de los

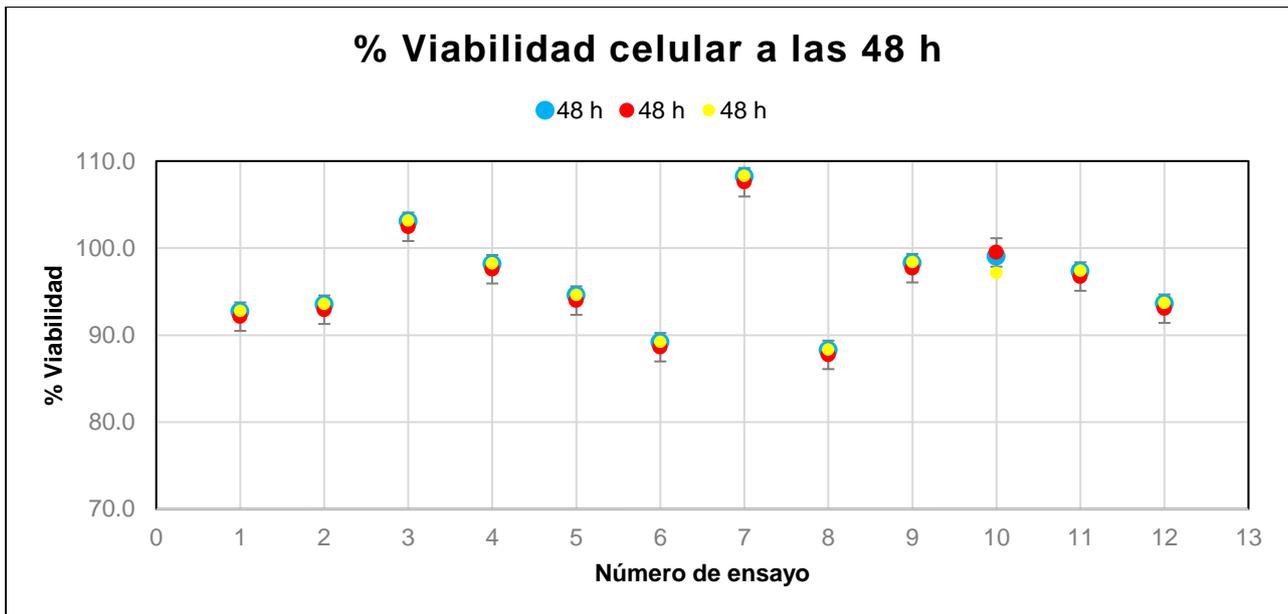
tensioactivos dado que para CTAB se reporta un valor de 410 mg/kg mientras que para Tween 80 un valor de 42200 mg/kg (Rat), esto deja ver que existe un gran rango entre estos valores lo que indicaría una mayor toxicidad del CTAB en contraste con el otro, lo anterior no quiere decir que la citotoxicidad de las NP solo sea vista en términos de tener trazas de tensioactivo en su interior, también influye el solvente, la especie utilizada para catalizar y por supuesto la composición química del material obtenido, y gracias a estos resultados se ratifica que los elementos de reacción se eliminaron correctamente, y que la toxicidad inducida en cada ensayo puede ser exclusiva del dióxido de silicio. A pesar de lo mencionado anteriormente, las nanopartículas formadas tanto con el uso de CTAB como con Tween 80 mostraron resultados que se encuentran dentro de la norma, permitiendo tener un indicativo acerca de la funcionalidad de las nanopartículas de sílice como vehículos de fármacos dado que refleja la bio-compatibilidad que estas podrían tener al tener contacto con el organismo.

Otra variable que influye en la citotoxicidad es el tiempo de exposición, debido a que algunas sustancias requieren un tiempo prolongado de exposición para lograr causar daño celular. Por esto es importante determinar cuánto tiempo se necesita para observar dicho efecto tóxico en los fibroblastos L929, en función de la sustancia de estudio. En resumen, el tiempo es un factor crítico en estos ensayos de citotoxicidad. Para este caso, la elección del tiempo de exposición se basó en los objetivos del estudio y la naturaleza de las muestras, esto también se puede relacionar con la posible acumulación de las NP en el organismo por ello es común que los estudios de MTT se evalúen en diferentes puntos temporales durante la exposición a las nanopartículas; para las NP obtenidas en este trabajo se tuvo en cuenta tiempos de 24 horas (**Gráfica 3**), 48 horas (**Gráfica 4**) y 72 horas (**Gráfica 5**) que mostró el impacto acumulativo de la exposición prolongada con el material, que en general se considera como una viabilidad alta para todos los casos.



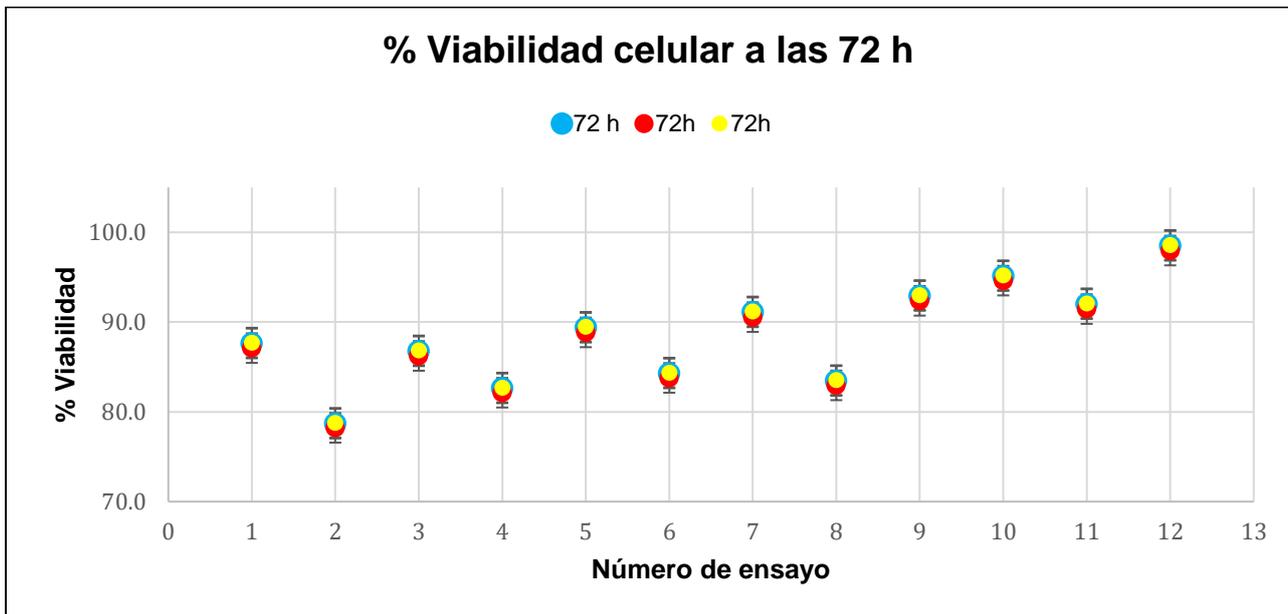
Gráfica 3. Porcentaje (%) de viabilidad celular obtenidos en fibroblastos L929 a las 24 horas de exposición.

Se puede notar que la viabilidad celular en todos los prototipos se mantuvo por encima del 70%, siendo los **ensayos 2, 4 y 6** los más citotóxicos en función del tiempo, y los **ensayos 3 y 5** correspondientes a los sistemas con material nanoparticulado, con menor citotoxicidad que los mencionados en un principio, pero no las menos citotóxicas de todos los prototipos.



Gráfica 4. Porcentaje (%) de viabilidad celular obtenidos en fibroblastos L929 a las 48 horas de exposición.

Lo anterior se sustenta con el principio que establece la norma a ISO 10993-5 en donde se refiere que si las células presentan una viabilidad mayor al 70% el producto es considerado como no-citotóxico (Millán,2014).



Gráfica 5. Porcentaje (%) de viabilidad celular obtenidos en fibroblastos L929 a las 72 horas de exposición.

9. Conclusiones

De manera global, y teniendo en cuenta la síntesis y los ensayos de caracterización de las nanopartículas los mejores resultados corresponden a los ensayos **3 y 5**, se establece que el **ensayo 5** obtuvo resultados significativamente mejores en todos los procesos de caracterización, en vista de eso podemos concluir que:

El uso del precursor TEOS en conjunto con el tensioactivo CTAB a una alta concentración determinada en este trabajo, con un proceso de homogeneización de cavitación ultrasónica en medio básico, generó nanopartículas de sílice, en un rango de tamaño de partícula esperado de 50 a 100 nm, con baja toxicidad. Lo anterior representa que llevando a cabo estos parámetros se obtienen nanopartículas de sílice las cuales cumplen con las condiciones necesarias para que de manera futura sean usadas como vehículo de fármacos y puedan implementarse como un sistema de entrega que permita la optimización de los tratamientos farmacológicos y contribuya con la mejora de la calidad de vida la personas. Así mismo, se logró identificar que el uso del tensioactivo CTAB tuvo una gran influencia en la morfología interna del material obtenido ya que se notaron porosidades en algunas de las imágenes obtenidas por SEM, esto puede ser de crucial ayuda al momento de lograr vehiculizar fármacos permitiendo una mejor funcionalización de las NP sintetizadas, no obstante se necesita realizar una prueba de caracterización suficientemente eficaz para la medición de tamaño de poro en estudios consecutivos a este.

Luego de la implementación del método sol-gel para la obtención de nanopartículas de sílice se da lugar a la formación de un nanomaterial que posee una estructura estable, biocompatible y con baja toxicidad. Por tanto, estos parámetros son críticos a la hora llevar a cabo a este tipo de síntesis, sin embargo, a través de esta investigación se logró demostrar cómo la cavitación durante la reacción proporciona mejores resultados en cuanto a la obtención de NP lo que hace que de manera futura sea un proceso importante para investigar y de ese mismo modo contribuya con una optimización del método sol-gel descrito en este trabajo.

Finalmente, se comprobó la baja toxicidad de los materiales de silicio, tal como se reporta en la literatura, lo que hace que sean ideales para proporcionar nuevos sistemas de entrega de fármacos que permitan una mejora en los tratamientos farmacológicos.

10. Anexos

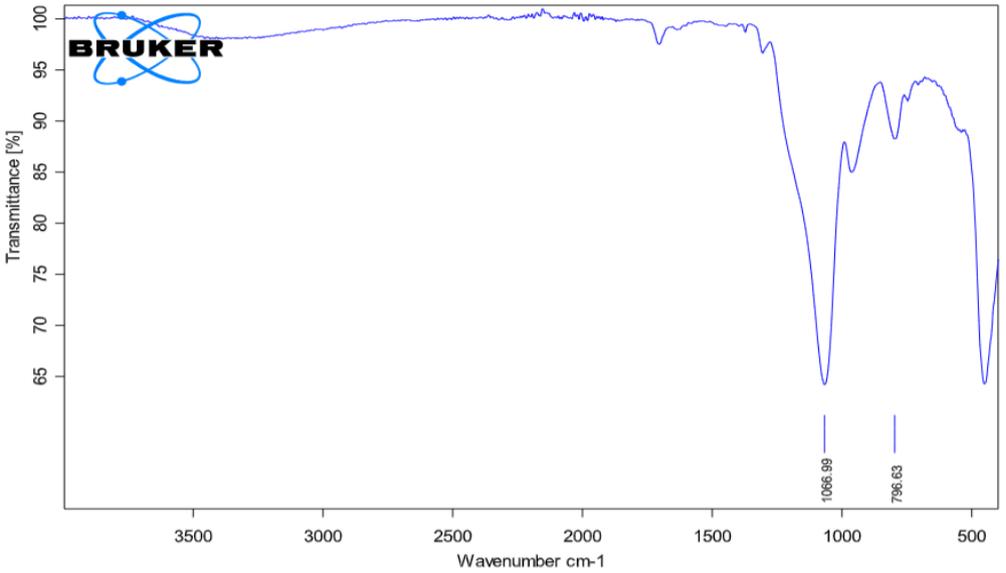
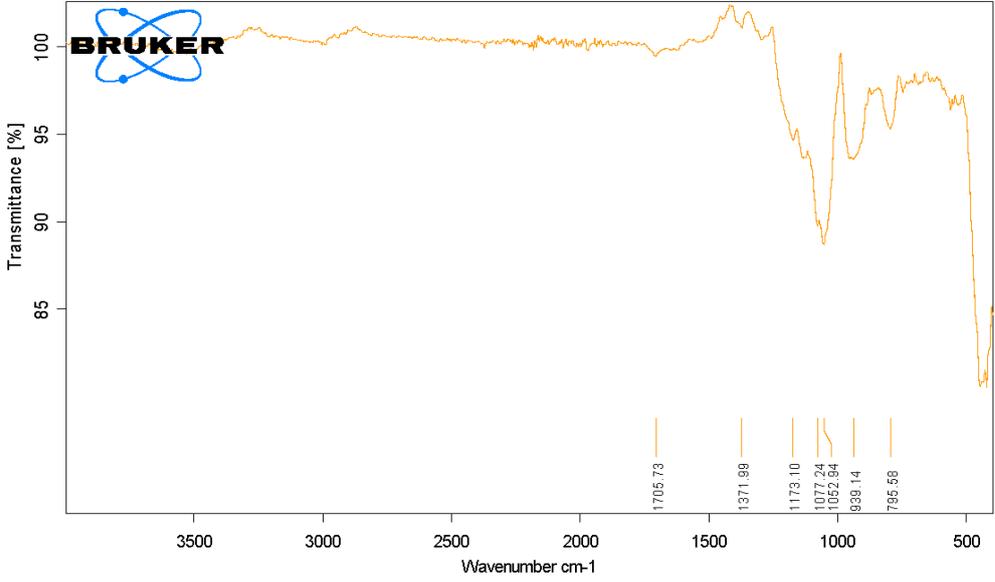
Anexo 1. Tabla de asignación de vibraciones fundamentales de SiO₂ en la región de 4000-550cm⁻¹

Frecuencia cm^{-1}	Vibraciones- No todas las señales no son vibraciones, son señales
600-680	Vibraciones del Si-O
750-810	Flexión del Si-O
900-1403	Grupos silanol y estiramiento Si-O-Si
1050-1115	Estiramientos asimétricos Si-O
1510-1680	Deformación de H del alcohol
3400-3500	Presencia de alcohol y estiramiento de grupos hidroxilo de Si-OH

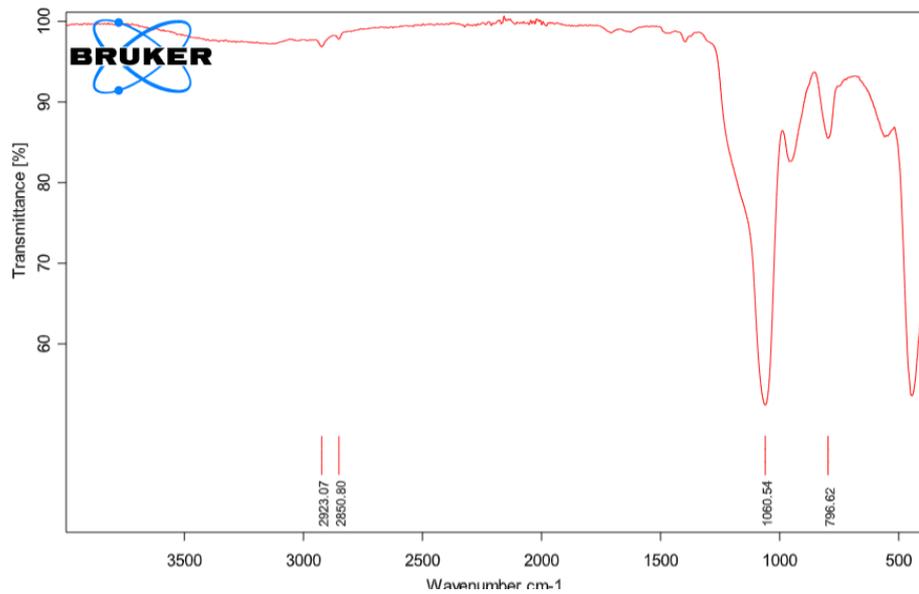
3540	Silanoles ligados a alcohol por puentes de Hidrógeno
3660	Pares de Si y OH ligados por puentes de H y silanoles
3750	Silanoles libres en la superficie

Tomado de: (Jaramillo et al., 2011)

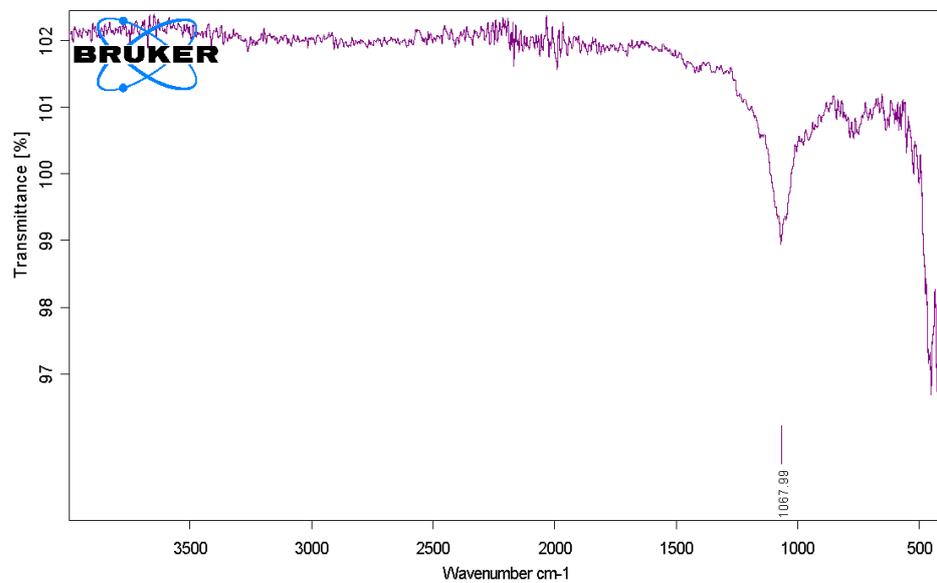
Anexo 2. Espectros de infrarrojo obtenidos de las diferentes condiciones de síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa por el método Sol-gel.

Condición	Espectro IR
<p>1 CTAB –Baja concentración – pH básico– Agitación magnética</p>	
<p>2 CTAB – Baja concentración –pH ácido- Agitación magnética</p>	

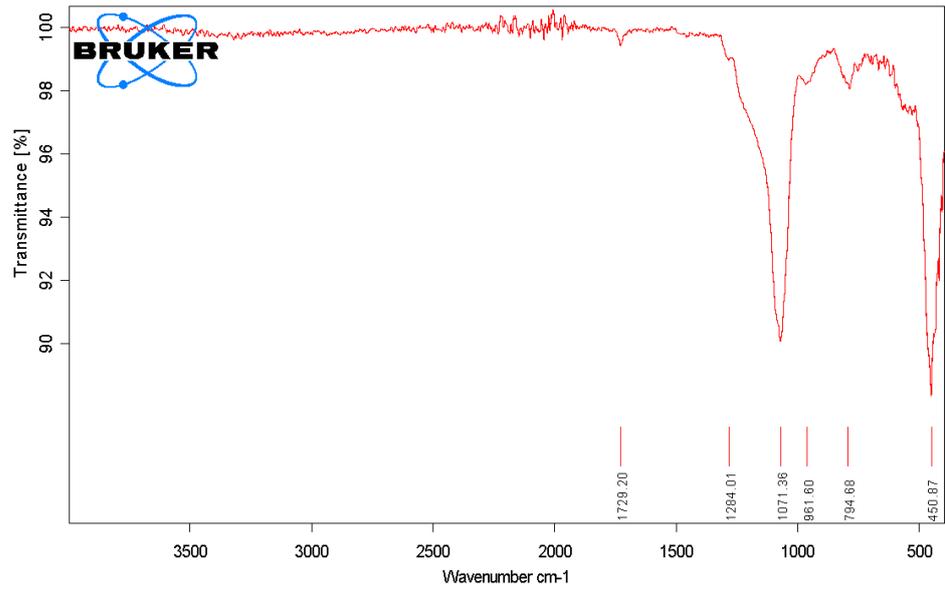
3
CTAB – Alta
concentración –pH
básico- Agitación
magnética



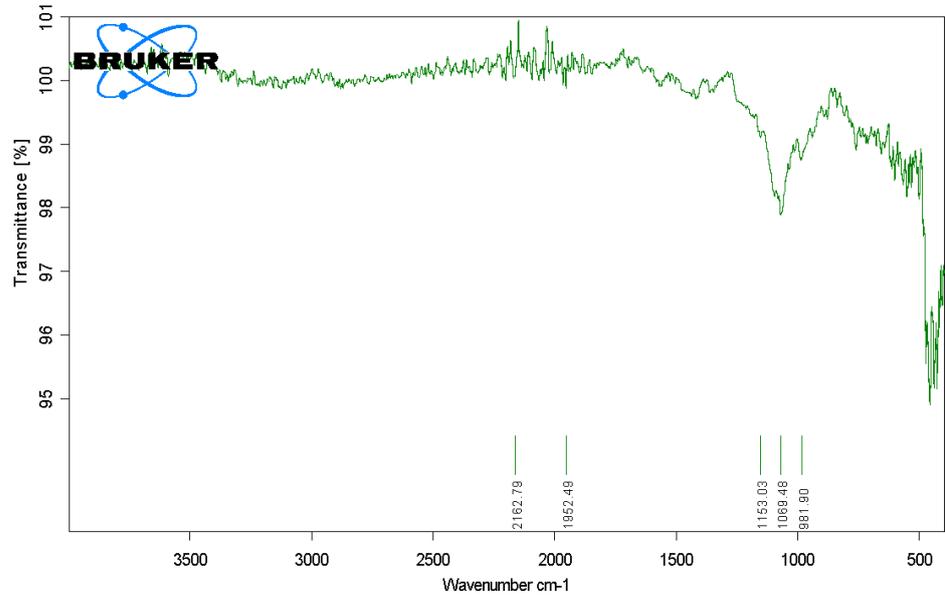
4
CTAB – Alta
concentración- pH
ácido- Agitación
magnética



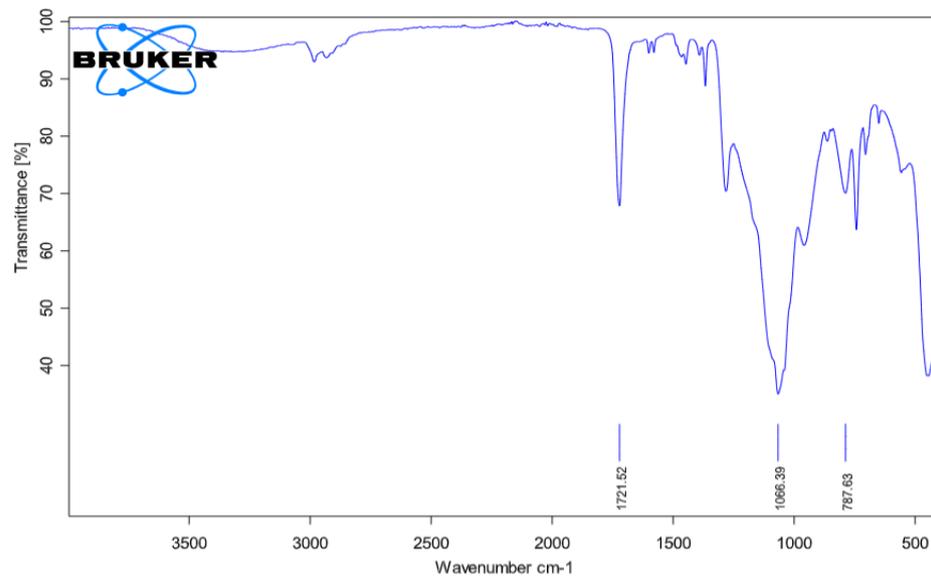
5
CTAB – Alta
concentración- pH
básico -Cavitación



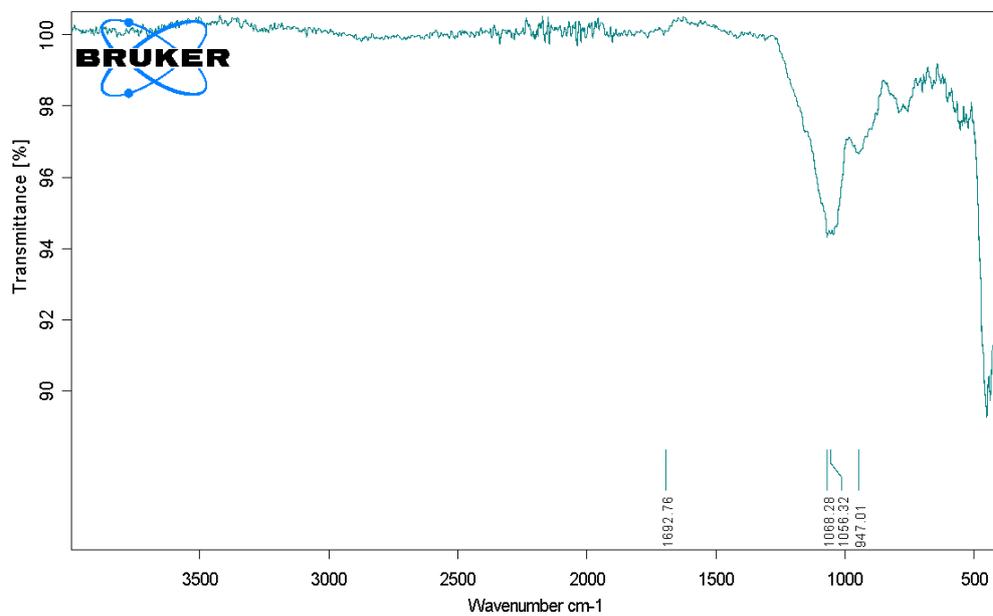
6
CTAB- Alta
concentración – pH
ácido - Cavitación



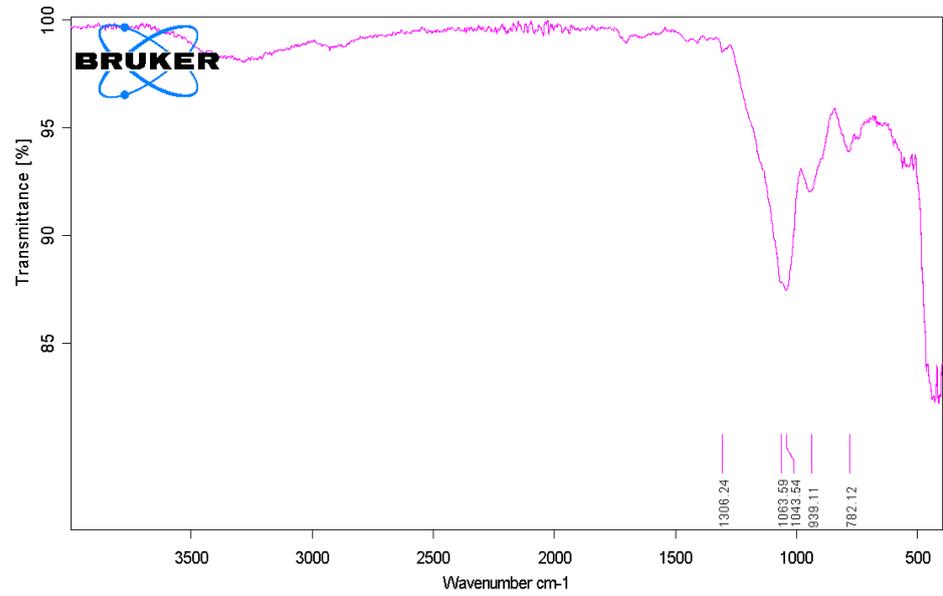
7
Tween 80 –Baja
concentración – pH
básico- Agitación
magnética



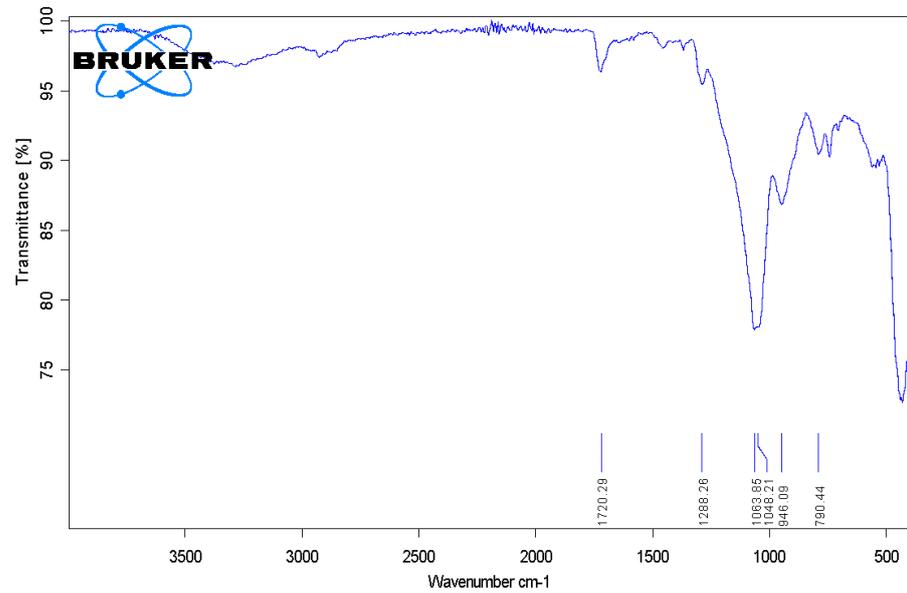
8
Tween 80 –Baja
concentración – pH
ácido- Agitación
magnética



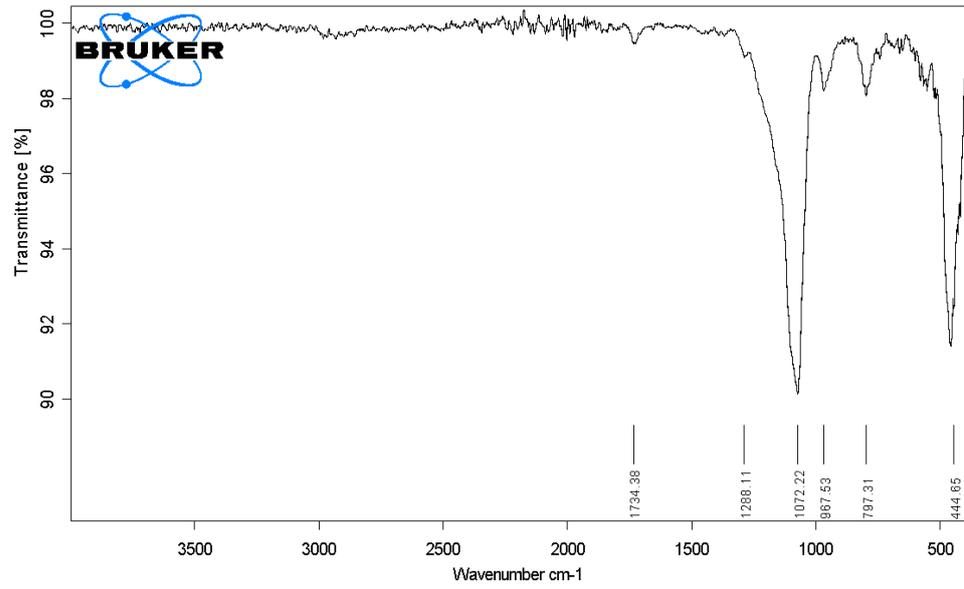
9
Tween 80 –Alta
concentración – pH
básico- Agitación
magnética



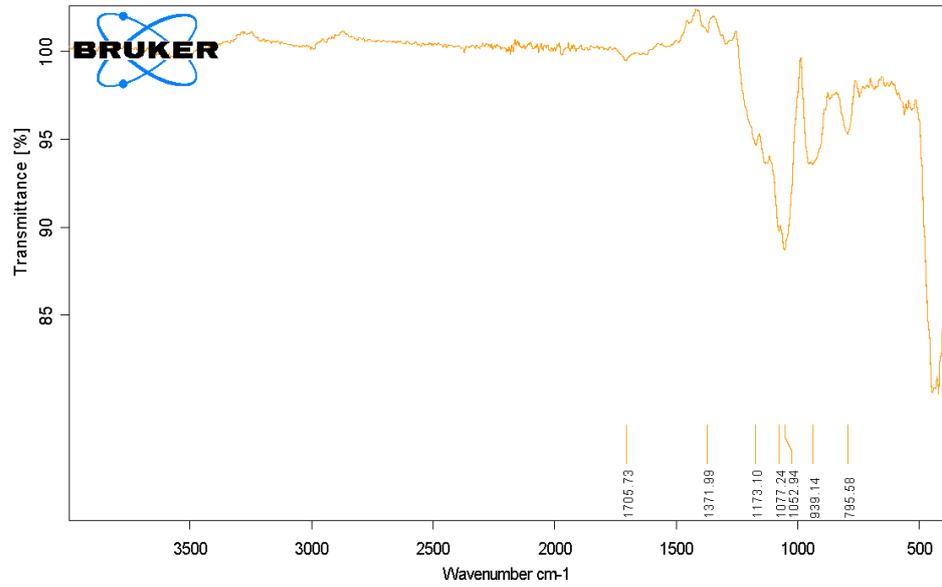
10
Tween 80 –Alta
concentración – pH
ácido- Agitación
magnética



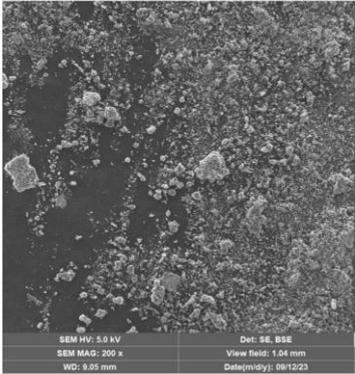
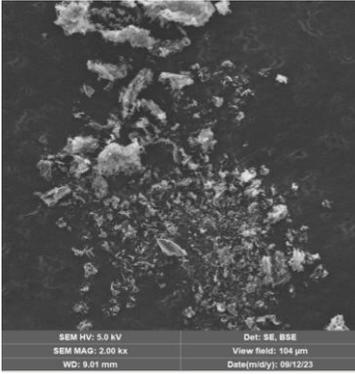
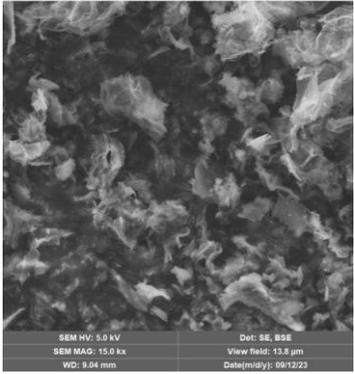
11
Tween 80 –Alta
concentración – pH
básico- Cavitación



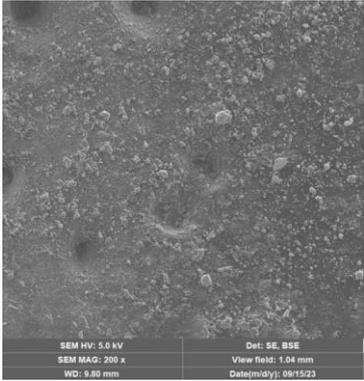
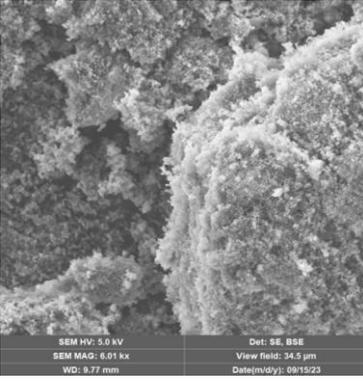
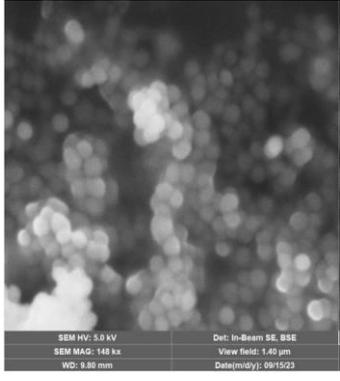
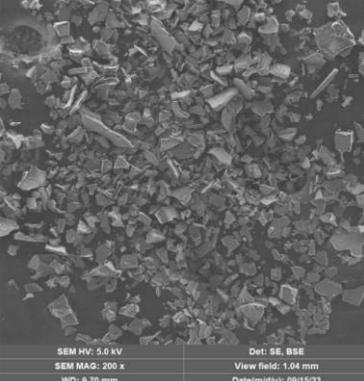
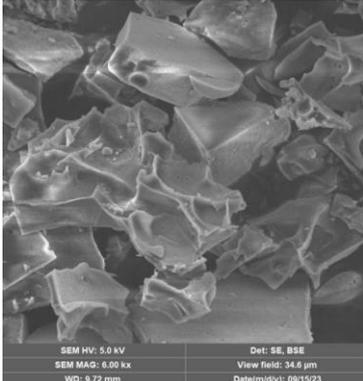
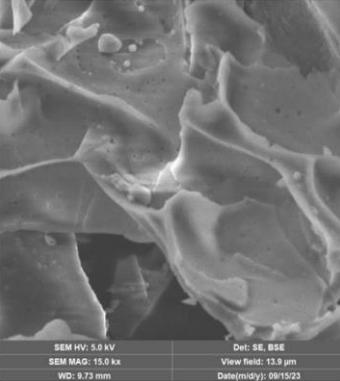
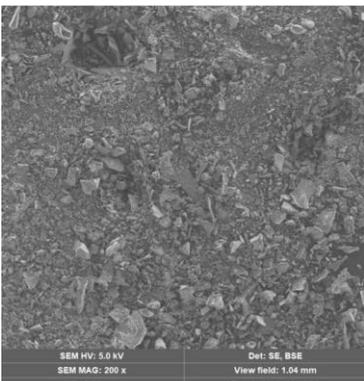
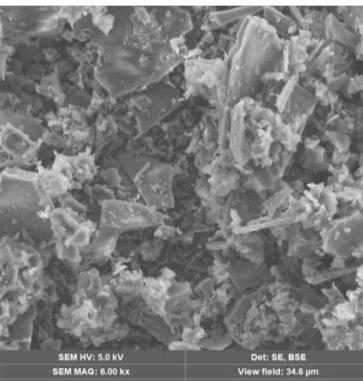
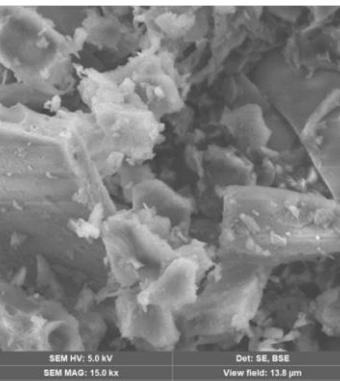
12
Tween 80 –Alta
concentración – pH
ácido- Cavitación

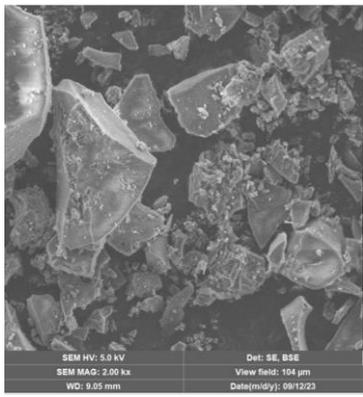
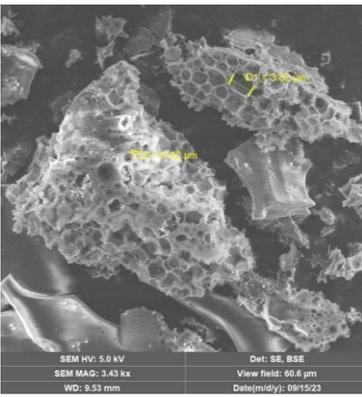
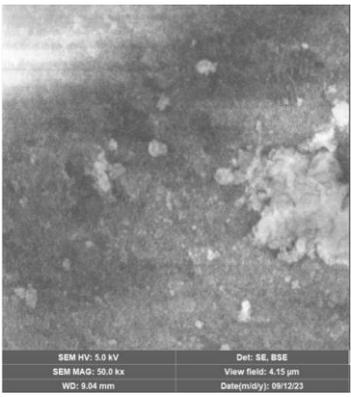
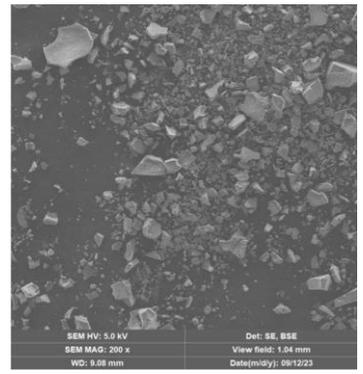
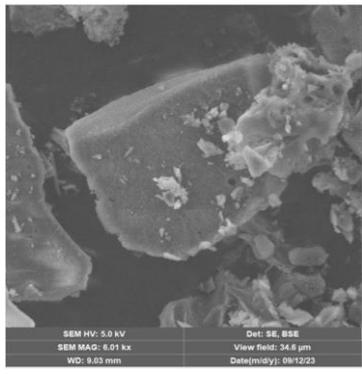
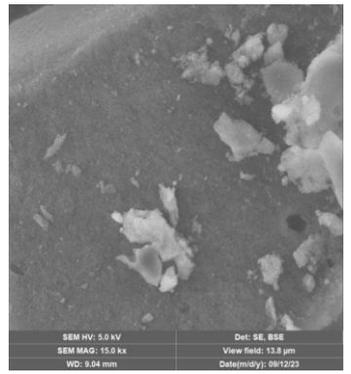
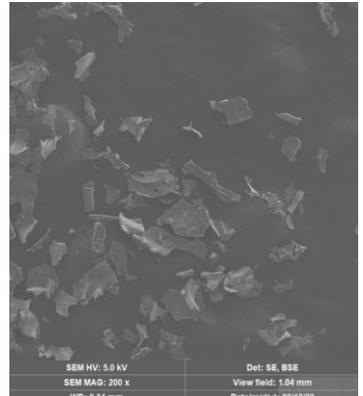
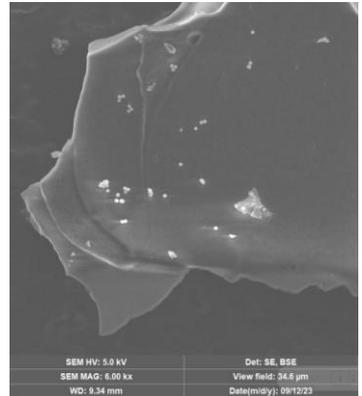


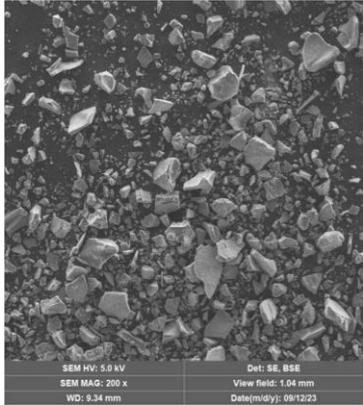
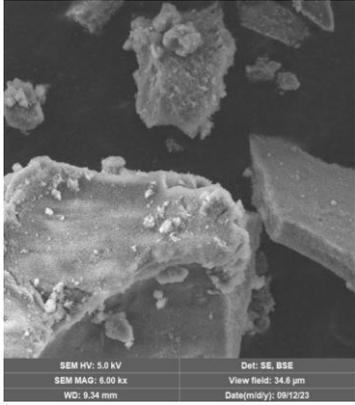
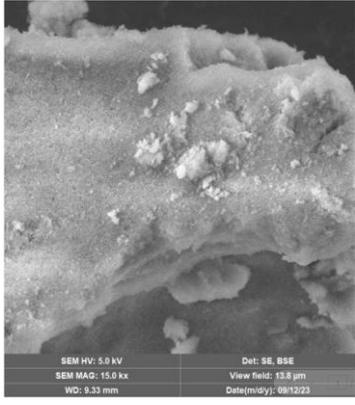
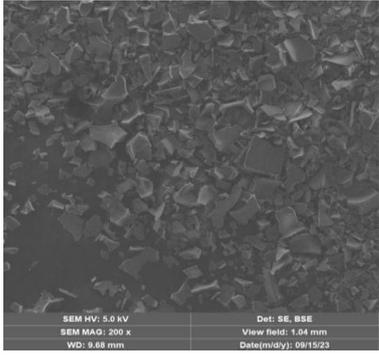
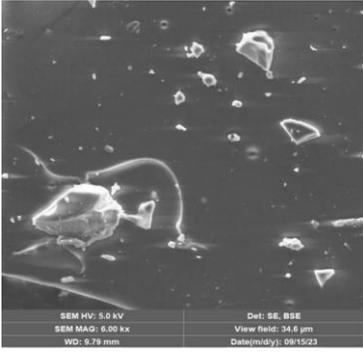
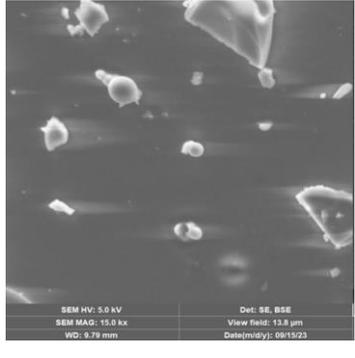
Anexo 3. Imágenes SEM ensayos de síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa por el método Sol-gel.

	Imagen SEM	Imagen SEM	Imagen SEM
CONDICIÓN	1 CTAB –Baja concentración – pH básico– Agitación magnética		
AMPLITUD	200x	2000x	15000x
	 <p>SEM HV: 5.0 kV SEM MAG: 200 x WD: 9.05 mm Det: SE, BSE View field: 1.04 mm Date(m/d/y): 09/12/23</p>	 <p>SEM HV: 5.0 kV SEM MAG: 2.00 kx WD: 9.61 mm Det: SE, BSE View field: 104 µm Date(m/d/y): 09/12/23</p>	 <p>SEM HV: 5.0 kV SEM MAG: 15.0 kx WD: 9.04 mm Det: SE, BSE View field: 13.8 µm Date(m/d/y): 09/12/23</p>
CONDICIÓN	2 CTAB – Baja concentración –pH ácido- Agitación magnética		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x

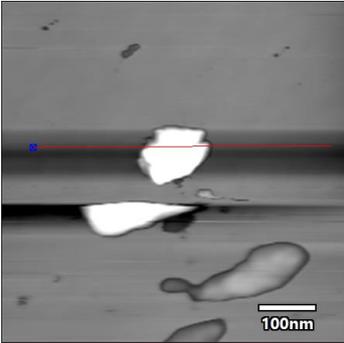
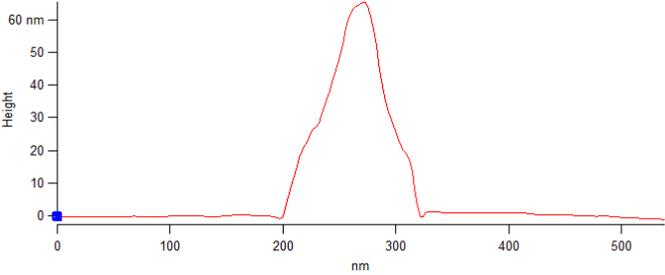
CONDICIÓN	3 CTAB – Alta concentración –pH básico- Agitación magnética		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x
CONDICIÓN	3 CTAB – Alta concentración – pH básico- Agitación magnética	4 CTAB – Alta concentración- pH ácido- Agitación magnética	
AMPLITUD	50000x	200x	15000x
CONDICIÓN	5 CTAB – Alta concentración- pH básico -Cavitación		
AMPLITUD	200x	6000x	150000x

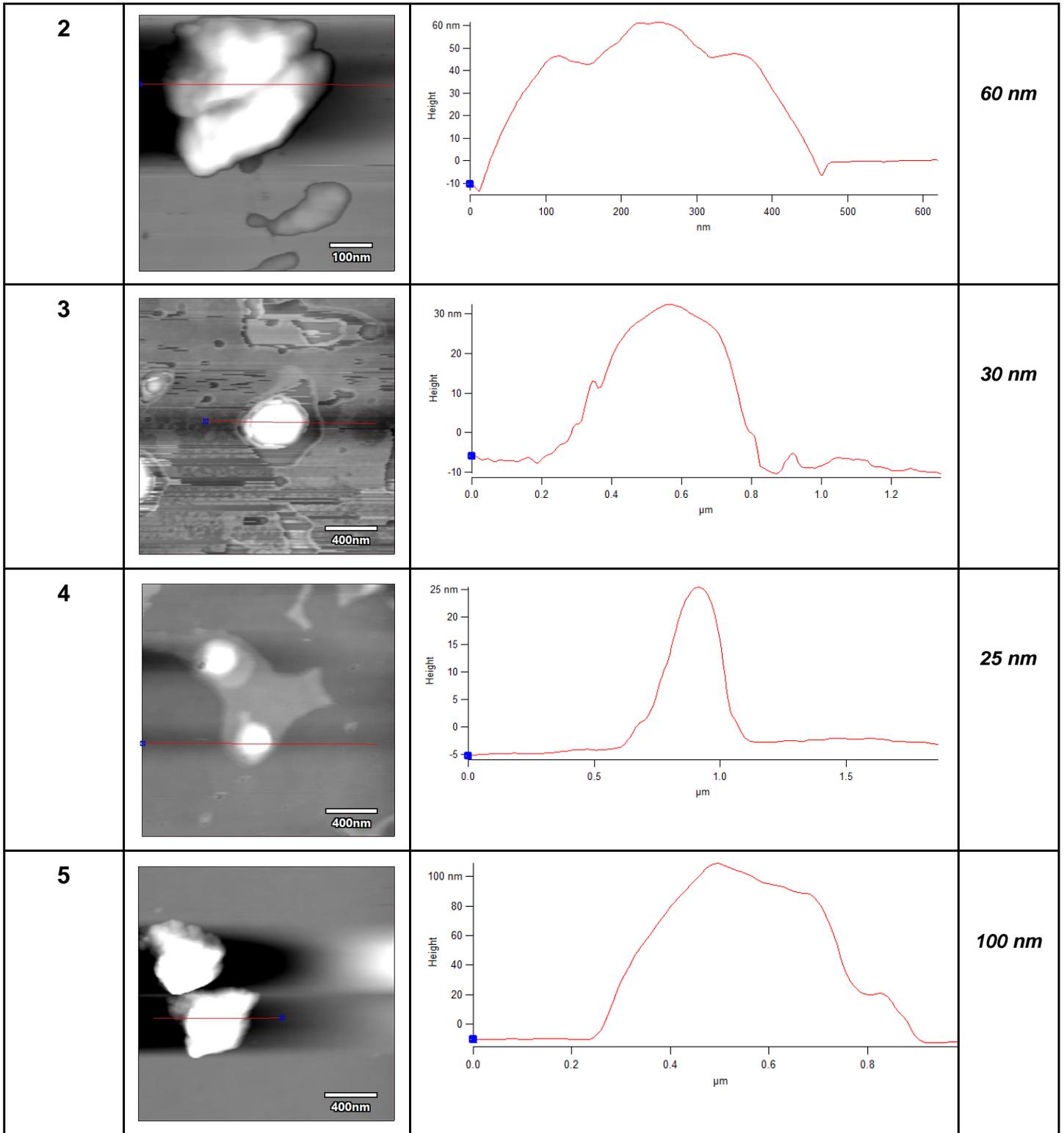
			
CONDICIÓN	6 CTAB- Alta concentración – pH ácido - Cavitación		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x
			
CONDICIÓN	7 Tween 80 –Baja concentración – pH básico- Agitación magnética		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x
			
CONDICIÓN	8 Tween 80 –Baja concentración – pH ácido- Agitación magnética		
AMPLITUD	2000x	3000x	50000x

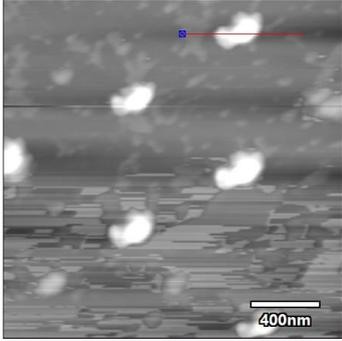
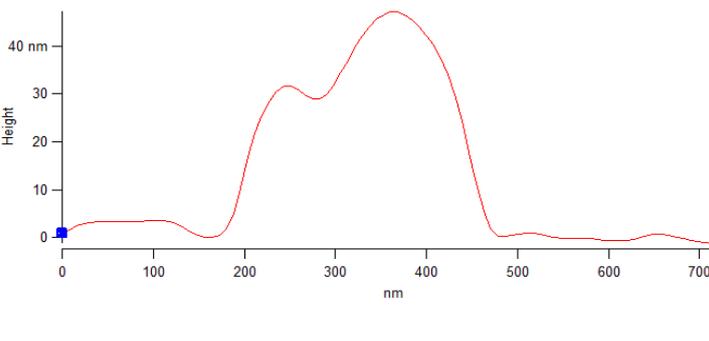
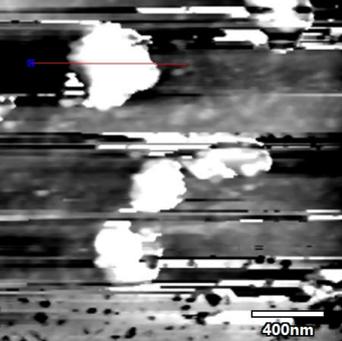
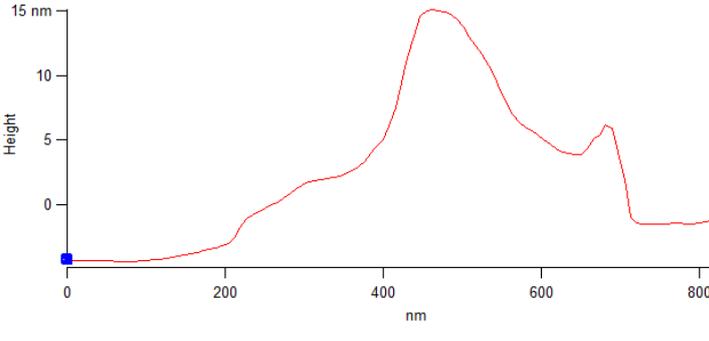
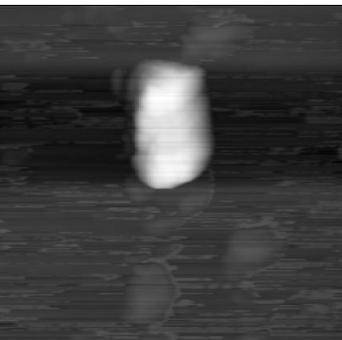
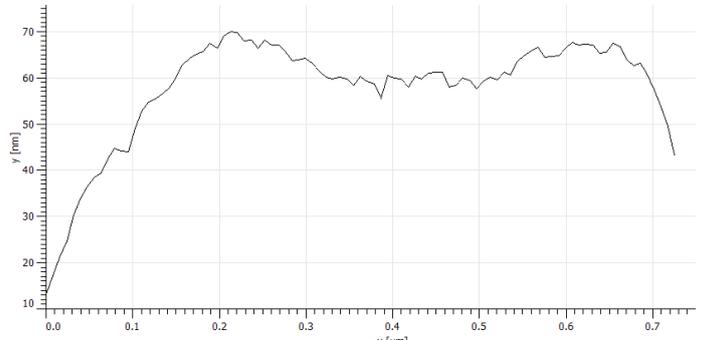
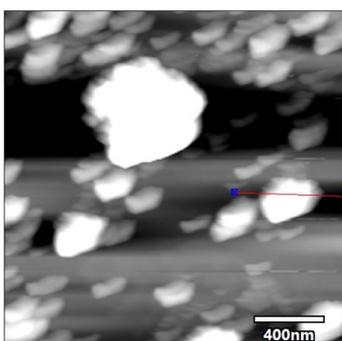
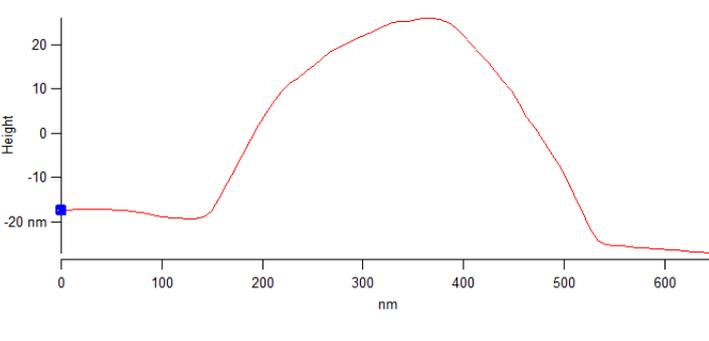
			
CONDICIÓN	9 Tween 80 –Alta concentración – pH básico- Agitación magnética		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x
			
CONDICIÓN	10 Tween 80 –Alta concentración – pH ácido- Agitación magnética		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x
			
CONDICIÓN	11 Tween 80 –Alta concentración – pH básico- Cavitación		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x

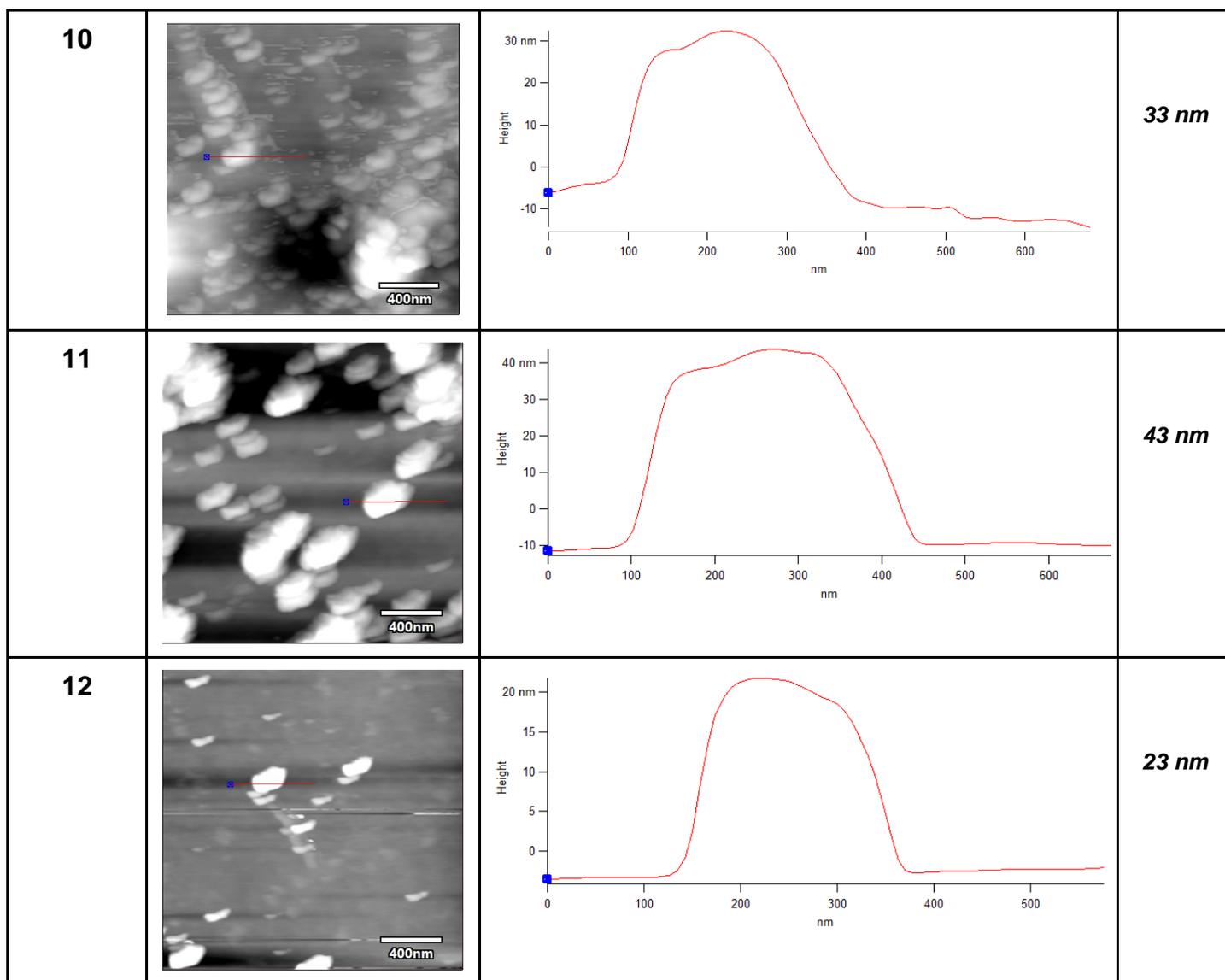
			
CONDICIÓN	12 Tween 80 –Alta concentración – pH ácido- Cavitación		
AMPLITUD	200x	6000x	15000x
			

Anexo 4. Imágenes AFM ensayos de síntesis de nanopartículas de sílice por el método Sol-gel.

Ensayo	Imagen AFM 2x2	GRÁFICA	Tamaño
1			70 nm



<p>6</p>			<p>50 nm</p>
<p>7</p>			<p>15 nm</p>
<p>8</p>			<p>70 nm</p>
<p>9</p>			<p>20 - 64 nm</p>



Anexo 5. Tamaño y distribución de tamaño de las nanopartículas obtenidas por el método Sol-gel.

TAMAÑO Y DISTRIBUCIÓN (DLS)			
ENSAYO	Media (nm)	SD (nm)	PDI
1	84.2	16.84	0.76
2	232.3	46.46	0.88
3	184.7	36.94	0.67
4	98.3	19.66	0.83
5	57.6	11.52	0.17
6	30.2	6.04	0.22
7	220.3	44.06	0.86
8	109.3	21.86	0.79
9	132.2	26.44	0.92
10	201.3	40.26	0.99
11	61.3	12.26	0.21
12	76.4	15.28	0.18

Anexo 6. Valores de potencial z para los nanosistemas obtenidos por el método Sol-gel.

POTENCIAL Z		
Ensayo	Potencial Z (mV)	SD (mV)
1	37.4	6.358
2	9.14	1.5538
3	-34.44	-5.8548
4	8.34	1.4178
5	-44.09	-7.4953
6	10.11	1.7187
7	-15.4	-2.618
8	-27.22	-4.6274
9	1.03	0.1751
10	15.33	2.6061
11	-4.43	-0.7531
12	4.34	0.7378

11. Referencias bibliográficas

Angurell, I; Casamitjana, N; Caubet, A; Dináres, I; Llor, N; Muñoz-Torrero, D; Pérez L; Pujol D. M; Rosell, G; Seco, M; & Velasco, D. (2014). Agitación magnética. Técnicas y operaciones avanzadas en el Laboratorio químico (TALQ). Universitat de Barcelona. Retomado de: <https://www.ub.edu/talq/es/node/288#:~:text=Se%20basa%20en%20la%20rotaci%C3%b3n,soluci%C3%b3n%20del%20matraz%20de%20reacci%C3%b3n>.

Arranz, S A. (2016) Nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas para aplicaciones biomédicas. Universidad Complutense. Retomado de: <https://core.ac.uk/download/pdf/163093513.pdf>

Arrebola, D. F. A., Fernández, L. A. R., Sánchez, D. L. C. (2003). Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. Revista toxicológica en línea, 40-53.

Ayala Patarroyo, I. A., & Suárez Sandoval, M. (2019). Metodología para la caracterización de nanopartículas en aplicaciones de estimulación de pozos de petróleo. Universidad Industrial de Santander. <https://noesis.uis.edu.co/server/api/core/bitstreams/ddde1b8b-7785-472f-9017-dfee3243b3a9/content>

Bruker. (2019). Guía sobre espectroscopía infrarroja. <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>

Carvalho, G. C., Marena, G. D., Karnopp, J. C. F., Jorge, J., Sábio, R. M., Martines, M. A. U., Bauab, T. M., & Chorilli, M. (2022). Cetyltrimethylammonium bromide in the synthesis of mesoporous silica nanoparticles: general aspects and in vitro toxicity. *Advances in Colloid and Interface Science*, 307, 102746. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102746>

Celia, C., Cosco, D., Paolino, D. & Fresta, M. (2010). Nanoparticulate devices for brain drug delivery. *Medicinal Research Reviews*, 31(5), 716-756. <https://doi.org/10.1002/med.20201>.

Cellculture. (2023). The MTT assay for cell viability. Cultivo de células. https://cellculture.altervista.org/cell-viability-assay-mtt/?lang=es&doing_wp_cron=1695696511.4239790439605712890625

Chavez, A. (2016). Citotoxicidad y mecanismos de toxicidad de nanopartículas inorgánicas emergentes. Recuperado 1 de octubre de 2023, de <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2135/1/TESIS%20ADRIAN%20CHAVEZ%20C.pdf>

Díaz Uribe, C, Vallejo, W & Puello Polo, E. (2013). Distribución del tamaño de partícula por dispersión dinámica de luz de la tetracarboxifenilporfirina de cobre (II) anclada al dióxido de titanio. *Iteckne*, 10 (2), 224-228. de http://www.scielo.org.co/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1692-17982013000200010&lng=en&tlng=es.

Díaz, J.P. (2013). Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de dióxido de silicio (SiO₂) y polietil cianocrilato (PECA) in vitro. Universidad Nacional Autónoma de México. <http://132.248.9.195/ptd2013/mayo/0693821/0693821.pdf>

Dumontel, B., Borregón, D., Vallet, M., & Manzano, M. (2023). Vehiculización de vacunas mediante partículas de sílice. Recuperado 3 de septiembre de 2023, de <https://www.newmedicaleconomics.es/wp-content/uploads/2023/07/6.pdf>

Espinoza, C. V. (2015). Síntesis de nanopartículas de SiO₂ como potenciales vehículos para administración de fármacos. Instituto potosino de investigación científica y tecnológica, retomado de: <https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/1529/1/TMIPICYTE8S52015.pdf>

Escamilla, P, A. (2015). Concentración micelar crítica de bromuros de octiltrimetilamonio y deciltrimetilamonio en agua y soluciones acuosas de 1,2-propanodiol a 298,15 [Tesis Magíster en Ciencias- Química]. Universidad Nacional de Colombia.

Flórez, E. P. (1990). Principios básicos de la criocentración y la liofilización. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/713/28/28%20Principios%20criocentraci%C3%B3n%20liofilizaci%C3%B3n.pdf>

García, A., & Kikut Cruz, K. (2020). Microscopía de fuerza atómica como herramienta en la investigación de asfaltos. *Infraestructura Vial*, 22(40), 20-27.

Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 27(2). <https://doi.org/10.31260/repertmedcir.v27.n2.2018.191>

Hadipour Moghaddam, S. P., Mohammadpour, R. & Ghandehari, H. (2019). In vitro and in vivo evaluation of degradation, toxicity, biodistribution, and clearance of silica nanoparticles as a function of size, porosity, density, and composition. *Journal of Controlled Release*, 311–312, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.08.028>

Huaman, M. A. L. (2021). Proceso Sol-Gel en la síntesis de dióxido de silicio (SiO₂). *Revista Bases de la Ciencia*, 6(2), 1. https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v6i2.2548

Huang Y, Fan CQ, Dong H, Wang SM, Yang XC, Yang SM. Current applications and future prospects of nanomaterials in tumor therapy. *Int J Nanomedicine*. 2017 Mar 7;12:1815-1825. Doi: 10.2147/IJN.S127349. PMID: 28331307; PMCID: PMC5348070.

Jaganathan, H. & Godin, B. (2012). Biocompatibility assessment of Si-based nano- and micro-particles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(15), 1800-1819. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.05.008>

Jaramillo, N., Paucar, C., & García, C. (2011). NANOPARTÍCULAS DE SÍLICE: ENCAPSULACIÓN DE FÁRMACOS Y TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES. https://Users/zatefarm/Downloads/locampoayala,+19345-Texto+del+articulo-69216-1-10-20140519_compressed.pdf

Lancheros, R., Beleño, J., & Godoy, R. (2014). Producción de nanopartículas de PLGA por el método de emulsión y evaporación para encapsular N-Acetilcisteína (NAC).

Mehta, S., Chaudhary, S., & Bhasin, K. K. (2008). Understanding the role of hexadecyltrimethylammonium bromide in the preparation of selenium nanoparticles: a spectroscopic approach. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(7), 1759-1766. <https://doi.org/10.1007/s11051-008-9542-5>

Miyake, M., & Yamashita, Y. (2017). Molecular structure and phase behavior of surfactants. En *Elsevier eBooks* (pp. 389-414). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802005-0.00024-0>

Nadaroglu, H., Alayli, A., & Ince, S. (2017). Synthesis of nanoparticles by Green Synthesis Method. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/326782336_Synthesis_of_Nanoparticles_by_Green_Synthesis_Method
Scientiarum. Recuperado 16 de septiembre de 2023, de <http://www.scielo.org.co/pdf/unsc/v19n2/v19n2a09.pdf>

Levy, D. & Zayat, M. (2015). *The Sol-Gel Handbook: Synthesis, Characterization, and Applications*. Wiley.

Li, W., Zhang, M., Zhang, J., & Yongcai, H. (2006). Self-assembly of cetyl trimethylammonium bromide in ethanol-water mixtures. *Frontiers of Chemistry in China*, 1(4), 438–442. <https://doi.org/10.1007/s11458-006-0069-y>

Ludeña, M. (2021). Proceso sol-gel en la síntesis de dióxido de silicio (sio₂). *Revista bases de la ciencia*, 6. <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/Basedelaciencia/article/view/2548/3790>

Llinas, M. & Sanchez, D. (2013). Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. <https://core.ac.uk/download/pdf/39152365.pdf>.

Mantilla, C., Pedraza, J., & Laverde, D. (2007, 16 marzo). Utilización de estudios de potencial zeta en el desarrollo de un proceso alternativo de flotación de mineral feldespático. *scielo*. Recuperado 26 de septiembre de 2023, de <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v75n154/a07v75n154.pdf>

Mekuye, B., & Abera, B. (2023). Nanomaterials: An Overview of synthesis, classification, characterization, and applications. *Nano select*. <https://doi.org/10.1002/nano.202300038>

Millán Cortés, D.M. (2014). Evaluación de la biocompatibilidad y eficiencia como sustituto artificial de soportes de colágeno tipo I asociados con extractos de caléndula (*Calendula officinalis*) en heridas cutáneas en un modelo animal lagomorfo. Grupo de trabajo en ingeniería de tejidos.

Ministerio de salud y protección social 2015. Carga de enfermedad por enfermedades crónicas no transmisibles y discapacidad en Colombia. Ministerio de salud. Recuperado 25 de septiembre de 2023, de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/informe-ons-5.pdf>

Organización internacional de normalización (2009) Evaluación biológica de dispositivos médicos. Parte 5: Pruebas de citotoxicidad in vitro. ISO 10993-5:2009. <https://www.iso.org/standard/36406.html>

Pastor, E. (2008). Contribución al Estudio del Comportamiento de Silicio Poroso Nanoestructurado en Fluidos Corporales Simulados para el Desarrollo de Nuevos Materiales Biocompatibles y Biodegradables. Departamento de física aplicada universidad politécnica de valencia.

Pavan M.V; Barron A.R (2022) Análisis del potencial Z. Libretext. [https://batch.libretexts.org/print/url=https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%admica_Anal%C3%adtica/M%C3%a9todos_F%C3%adsicos_en_Qu%C3%admica_y_Nano_Ciencia_\(Barron\)/02%3A_An%C3%a1lisis_f%C3%adsico_y_t%C3%a9rmico/2.05%3A_An%C3%a1lisis_de_Potencial_Zeta.pdf](https://batch.libretexts.org/print/url=https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%admica_Anal%C3%adtica/M%C3%a9todos_F%C3%adsicos_en_Qu%C3%admica_y_Nano_Ciencia_(Barron)/02%3A_An%C3%a1lisis_f%C3%adsico_y_t%C3%a9rmico/2.05%3A_An%C3%a1lisis_de_Potencial_Zeta.pdf)

Penagos, J. I. C. (2013). Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM). *Elementos*, 3(3), 133-146.

Ruiz, D. (2020). Evaluación del efecto de las nanopartículas de alúmina y sílice presentes en el filtrado del lodo para la inhibición de finos y la preservación de la humectabilidad al agua en un campo de los Llanos Orientales. Universidad Nacional De Colombia. Recuperado 26 de septiembre de 2023, de <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78453/52532072.2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

SEM. (s. F.). [Http://www.pucv.cl](http://www.pucv.cl). Recuperado 3 de noviembre de 2022, de <https://www.pucv.cl/uuaa/asistencia-tecnica-y-capacitacion-instituto-de-quimica/sem>

Tabares, I., Grigioni, L., Marini, S., & Oliva, A. (2014). PRIMER PRINCIPIO DE LA TERMODINÁMICA. Intituto politéctinco Universidad Nacional de Rosario. <https://rehip.unr.edu.ar/bitstream/handle/2133/3287/7404-14%20FISICA%20-%20Primer%20Principio%20de%20la%20termodin%C3%A1mica.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Talens, P., Oliag, Cortés, V. López, Fuentes, A., López. (2017). Efecto de la temperatura en el comportamiento reológico de un alimento fluido. *Universitat Politècnica de València*. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/83406/Talens%3BCort%3%A9s%3BFuentes%20%20Efecto%20de%20la%20temperatura%20en%20el%20comportamiento%20reol%C3%B3gico%20de%20un%20alimento%20fl.pdf?sequence=1#:~:text=La%20viscosidad%20de%20un%20fluido,una%20disminuci%C3%B3n%20de%20la%20viscosidad.>

Ultrasonics, H. (2023). Ultrasonic cavitation in liquids. Hielscher Ultrasonics. <https://www.hielscher.com/es/ultrasonic-cavitation-in-liquids->

