



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

II. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2017ko maiatzaren 10, 11 eta 12
Iruñea, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUN ZIENTZIAK

**Fe₃O₄ nanopartikulen
prestakuntza eta karakterizazioa,
hipertermia magnetikoan
aplikatzeko**

*Itziar Galarreta, Oihane Arriortua,
Idoia Ruiz de Larramendi,
Izaskun Gil de Muro eta
Maite Insausti*

120-127 or.
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.ii.04.16>

ANTOLATZAILEA:



ELKARLANEAN:



LAGUNTZAILEAK:



UDALBILTZA



Universidad
de Navarra

Fe_3O_4 nanopartikulen prestakuntza eta karakterizazioa, hipertermia magnetikoan aplikatzeko.

Itziar Galarreta¹, Oihane Kristine Arriortua², Izaskun Gil de Muro^{1,2}, Idoia Ruiz de Larramendi¹, Maite Insasuti^{1,2}

¹Kimika Ezorganikoa Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, UPV/EHU, 48940 Leioa.

²BC Materials, Basque Center for Materials, Applications & Nanostructures, 48610, Derio, itziar.galarreta@gmail.com

Laburpena

Morfologia, tamaina eta gainazal propietate desberdinak dituzten nanopartikula magnetikoen sintesiak arrakasta handia izan du azken urte hauetan, ez ordea euren erabilera medikuntza munduan. Nanosistema hauek gorputzarekin biobateragarritasun oso altua izan behar dute, prozesu kimikoen bidez lortzen zaila dena. Hori gutxi balitz, partikula-tamaina eta funtzionalizazioa nanosistemek aplikazio biomedikoan duten errendimenduarekin zuzenean lotuta dago, hipertermia magnetikoan batez ere. Hortaz, erronka hauen domeinuak nanopartikula magnetikokin erlazionatuta dagoen ezarpen eremu zabalean eragina izango luke. Lan honetan, hipertermia magnetikoan erabiliko diren nanopartikula magnetikoen sintesi eta karakterizazio bide desberdinak azalduko dira.

Hitz gakoak: nanopartikula magnetikoak, magnetita, sintesi metodoak, zitotoxizitatea, hipertermia.

Abstract

Although the improvements performed in producing magnetite nanoparticles by chemical methods with diverse morphologies, sizes and surface properties, the applications of these systems for clinical trials is not so developed. Additionally, the role of the particle size and its functionalization on the performance of some biomedical applications, in particular hyperthermia, requires additional studies from the experimental point of view. Moreover, the application of these systems in medicine demands a high degree of biocompatibility. The fulfillment of these challenges would provide key contributions in the application of magnetite nanoparticles. In this work the preparation and characterization of magnetic nanoparticles with different size and morphology, together with cytotoxicity assays, for their development in magnetic hyperthermia are presented.

Keywords: magnetic nanoparticles, magnetite, synthesis methods, cytotoxicity, hyperthermia.

1. Sarrera

Nanoteknologia nanoegitura eta nanomaterialen diseinu, fabrikatze eta aplikazioaz arduratzen den zientzia da. Eskala horretan kokatzen diren materialak zein egiturak aztertzeaz gain, materialen propietate fisikoak eta dimentsioak ere erlazionatzen ditu. Ikertzaileen ustez hurrengo iraultza industrialaren pizgarri nagusiak nanomaterialak izan daitezke (Roco, 2002). Interes berezi honen sortzaile nagusiak material hauen ezohiko propietateak dira (Gleiter, 1992; Henglein, 1989; Weller, 2003). Nanoegituratutako sistemen ezaugarri den partikulen dimentsioa, De Broglie-ren elektroien uhin-luzera, Frank-Reed dislokazioa sortzeko behar den distantzia, elektroien batezbesteko bide askea eta domeinu magnetikoaren tamaina bezalako fenomenoek neurri kritikoaren antzekoa edo txikiagoa da. Gertaera honek, material nanoegituratuen propietate elektriko, optiko eta magnetikoen berezitasunak azaltzen ditu (Stara *et al.*, 1996; Stara eta Klabunde 1996). Nanomaterialen propietateak direla eta, aplikazioak oso zabalak dira hainbat esparrutan, hala nola, elektronikan, katalisian, medikuntzan, etabarrean. Biomedikuntzan nanomaterialen arrakasta molekula biologikoekin elkarrekintzak sortzeko gaitasunean datza; nanopartikulek duten tamainaren ondorioz, material interesgarrienetarikoa nanopartikula magnetikoak direlarik. Izan ere, eremu magnetikoaren eraginez, gorputzean zehar garraiatu daitezke, farmakoak eramanez, irudi-analisiaren sentikortasuna handitzen da eta hipertermia magnetiko sortzeko gaitasuna dute (Lartigue *et al.*, 2011; Jiang *et al.*, 2013).

Lehenago aipatu den moduan, tamainak izaera magnetikoaren aldaketa eragiten die, izaera ferro/ferrimagnetikoa izatetik superparamagnetikoa izatera. Horren ondorioz, nanopartikulek monodomeinu magnetiko bezala jokatzeko dute, non momentu magnetikoak eremu magnetikoaren

eraginpean honen norabidean lerrokatzen diren. Gainera, eremu magnetiko hau ez aplikatzean nanopartikulen imanazioa zero bihurtzen da, nanopartikula bakoitzaren momentu magnetikoa zoriz biratuz (Cullity, 1972). Hortaz, nanopartikulei txandakako eremu magnetikoa aplikatzean, erlaxazio efektuen ondorioz ingurunera beroa askatzen dute. Sortutako beroa absortzio maila espezifikoaren (specific absorption rate, SAR) bidez neurtzen da.

Hau ikusita asko izan dira propietate honi aplikazioa bilatu nahi izan diotenak medikuntza arloan. Besteak beste, minbiziaren kontrako terapietan alternatiba modura hipertermia magnetikoa dugu. Hipertermia bidezko terapia zelula tumoralen termosentikortasunez baliatzen da: nanopartikula magnetikoak tumore aldean kokatuz eta txandakako eremu magnetikoa aplikatuz, zelula tumoralen nekrosia sortzen dute (Marszall, 2001). Teorikoki erraza dirudien arren, minbizia tratatzeko metodo berri honen garapen prozesua zaila eta mantsoa izaten ari da. Nanopartikula magnetikoak eragindako efektua nabaria izateko, nanopartikulen ezaugarriak, hala nola, tamaina, morfologia, egoera koloidala edo anisotropia magnetikoa kontrolatu behar dira (Jana *et al.*, 2004; Bautista *et al.*, 2005). Gainera, ezinbestekoa da tumoreak tratatzeko erabiltzen diren nanopartikulak biobateragarriak izatea.

Beraz, nanopartikulen propietatez baliatzeko bide bakarra, nanopartikulen sintesi prozesua optimizatzea da. Izan ere, kalitate oneko eta neurri zehatzeko nanopartikulen sintesia oraindik zailtasun handiz jositako prozesua da. Hortaz, ezinbestekoa da sintesi bide moldakorra eta sendoa hautatzea. Aintzindari organometalikoaren deskonposizio termikoan oinarritutako sintesi bideak oso eraginkorrak direla frogatu da (Hauser *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2012; Ding *et al.*, 2015), baina uretan sakabanatzeko arazoak ematen ohi dituzte eta uretan disolbagarriak izateko beste prozesu batzuk ezinbestekoak dira (Anbarasu *et al.*, 2014).

Hau guztia kontutan hartuta, garapen prozesuan dagoen hipertermia magnetikoan oinarritutako terapiaren hobekuntzan laguntzeko asmoz, lan honetan erabili diren gorputz jariakin magnetikoak osatuko ditzuzten nanopartikulen diseinu, sintesi eta karakterizazio teknika desberdinen inguruko ikerketa aurkezten da.

2. Ikerketaren helburuak

Ikerketa honen helburu nagusiak hipertermia magnetikoan erabiliko diren gorputz jariakin magnetikoak osatzen dituzten nanopartikula magnetikoen diseinua, sintesia eta karakterizazioa dira. Ondoko hauek, hain zuzen:

- Nanopartikula magnetikoen sintesi metodo bat baino gehiago ikertzea.
- Homogeneoak, kristalinoak eta momentu magnetiko handia duten nanopartikulak lortzea.
- Lortutako nanopartikulak biobateragarri bihurtzea.
- Nanopartikulen karakterizazio kimika, morfologikoa eta magnetikoa garatzea.
- Biobateragarritasun saiakuntzak aurrera eramatea.

3. Ikerketaren muina eta ondorioak

3.1 Arlo esperimental

Hipertermian erabili diren nanopartikula (NP) magnetikoen sintesia hiru metodo desberdinen bidez egin da: deskonposizio termikoa, metodo solbotermala eta koprezipitazio metodoa. Honekin, morfologiak nanomaterialen egituretan duen eragina aztertu da. Nanopartikulak X izpi difrakzioaren, mikroskopia elektronikoaren eta lagin bibrazio magnetometroarekin karakterizatu dira. Lortutako materialen artean, imanazio balio hoberenak aurkeztu dituzten nanopartikulak uretan disolbagarri bihurtu dira polimero batez inguratuz. Amaitzeko, biobateragarriak diren nanopartikulekin zitotoxizitatearen saiakuntzak burutu dira.

3.2 Nanopartikulen sintesia

3.2.1. Deskonposizio termikoa.

Nanopartikula handiak lortzeko asmoz, aurretik argitaratu den segidako adizoaren prozesuaren bidez sintetizatu dira (Castellanos-Rubio *et al.*, 2014; , Hufschmid *et al.*, 2015). Horretan, $\text{Fe}(\text{CO})_5$ (3 mmol), 1,2-hexadecanediol (5 mmol), azido oleiko (4 mmol), oleilamina (6 mmol) eta bentzil eter (25 ml) hiru lepodun baloi batean nahastu dira. Gero, irabiagailu mekaniko baten laguntzaz eta argonezko atmosferan, disoluzioa 140°C -ra igo da 30 minututan. Disoluzioa tenperatura honetan ordu erdi utzi eta gero, 280°C -ra igo da eta 120 minutuz utzi da errefluxupean. Bigarren, hirugarren eta laugarren adizioak, $\text{Fe}(\text{CO})_5$ (9, 10, 15 mmol), azido oleiko (5, 8, 9 mmol) eta oleilamina (6, 6, 6 mmol) gehituz egin dira (Zhang *et al.*, 2006; Herranz *et al.*, 2008). Amaitzeko disoluzioa hozten utzi da eta etanola eta toluenoarekin garbitu da nanopartikulez osatutako dispertsio koloidala lortu arte (DT nanopartikulak).

Bestalde, morfologiaren eragina aztertzearen nanokuboak sintetizatu dira, burdina(III) azetatozko deskonposizio termikoaren bidez (Yang *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2012). $\text{Fe}(\text{acac})_3$ (1 mmol), 1, 2-hexadecanediol (4 mmol), azido oleiko (8 mmol), oleilamina (2 mmol) eta bentzil eter (10 ml) hiru lepodun baloi batean nahastu dira. Gero, irabiagailu mekaniko baten laguntzaz eta argonezko atmosferan, disoluzioa 110°C -ra igo da 25 minututan. Disoluzioa tenperatura honetan 60 minutu utzi eta gero, 200°C -ra igo da. 30 minutu eta gero, 300°C -ra igo da, tenperatura horretan ordu bete mantenduz. Amaitzeko disoluzioa hozten utzi da eta etanol eta toluenoarekin garbitu da nanokuboz osatutako dispertsio koloidala lortu arte (DT nanokuboak).

3.2.2. Metodo solbotermala.

Metodo solbotermalak nanopartikulen tamaina eta morfologia modu zehatzagoan kontrolatzeko aukera ematen du (Yan *et al.*, 2010; Ou *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2006). Hasteko, 0.65 g (4.0 mmol) burdina(III) kloruro hexahidrato ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) etilenglikol 20 ml-tan disolbatuko dira irabiagailu mekaniko baten laguntzaz. Disoluzioak kolore hori homogeneoa izan bezain laster, 1.80 g sodio azetato gehituko zaizkio eta ordu eta erdi irabiatzen utziko da. Debora hau igarota, 0.25 g trisodio zitrato botako zaizkio eta astintze indarra konstante mantenduz giro tenperaturan 5 orduz irabiatzen da. Kasu honetan, disoluzioaren kolorea horitik marroira aldatuko da. Aipatutako denbora igaro ondoren, disoluzioa 25 mL-ko tefloi batean kokatzen da eta 200°C -tan 10 orduz labean sartzen da. Azkenik, tefloian sintetizatu berri diren nanopartikulak etanol eta ur-desionizatuarekin 5 aldiz garbitu dira. Azkenik, magnetita nanopartikulak, 12 orduz 60°C -an lehortu dira.

3.2.3. Koprezipitazio metodoa

Koprezipitazioak, nahiz eta solbotermala bezalako zehaztasunik ez duen, metodo sinple eta merkea da (Stara, J.V. eta Klabunde, K.J., 1996). Lehenik eta behin 10 g burdina(II) sulfato heptahidrato ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) eta 21.11 g burdina(III) kloruro (FeCl_3) 100 mL ur destilatuan disolbatu dira. Nahastura homogeneoa denean tantaka 25°C -an dagoen NH_4OH (8M) gehitu zaizkio pH 10 lortu arte. Disoluzioaren kolorea berdetik beltzera aldatu da eta prezipitatu bat sortu da. Momentu horretan disoluzioa 80°C -ra berotu da eta ordu erdiz tenperatura horretan mantendu da. Ondoren, iman baten laguntzaz nanopartikulak berreskuratu dira eta etanola eta ur destilatuarekin garbitu dira.

3.3. Materialen karakterizazioa

Fase guztien identifikazioa X izpien bidezko difrakzioaren bitartez egin dira. Horretarako Eukal Herriko Unibertsitatearen Zerbitzu Orokorretan (SGiKeR) dagoen Philips PW1710 difraktometroa erabili da. Horretan $\text{CuK}\alpha$ erradiazioa, 40 kV eta 40 mA-ko korrantea zehaztu da eta difraktogramaren

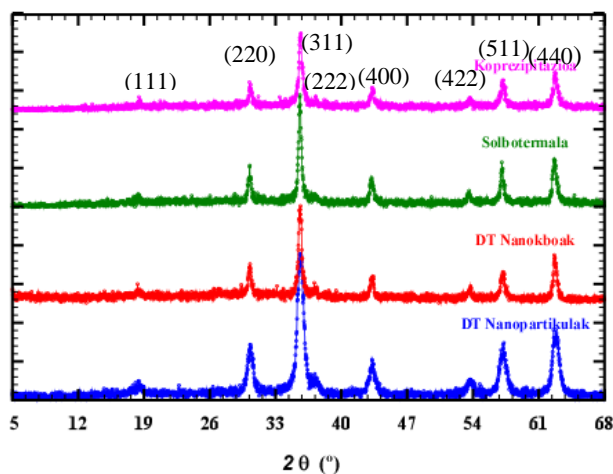
datuak 0.026° -ro jaso dira $5^\circ < 2\theta < 70^\circ$ tartean. Difrakzio datu guztiak FULLPROF programaren bitartez doitu dira (Rodriguez – Carval, 1993).

Analisi morfologikoa transmisiozko mikroskopia elektronikoaren bidez egin da. Honetan 200 kV-ko potentzialako Phillips CM200 mikroskopia erabili da, EDX mikroanalisi duena. Propietate magnetikoak Cryogenic Ltd. magnetometro baten bidez aztertu dira.

3.2.1. Egituraren inguruko karakterizazioa.

X izpien bidezko difrakzio teknikaren bitartez materiaren egitura kristalinoa aztertu da. Kasu honetan, nanopartikulak sintetizatu direnez, laginen tamaina txikiak difraktogramen difrakzio maximo zabalak izatea eragin du. Lagin bakoitzearen datuak FullProf programaren bidez doitu dira. 1 Irudian beha daitekeen bezala, kasu guztietan Fe_3O_4 fasea lortu da (Zhang *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2006). Izan ere, fase horren plano kristalografikoekin bat datozen maximoak behatzen dira: (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511) eta (440).

1. Irudia. Sintetizatutako laginen difraktogramak.



Magnetitak egitura kristalino kubikoa du, alderantzizko espinela motakoa. Metodo solbotermala eta koprezipitazioaren bidez sintetizatutako laginek 8.4 \AA -eko gelaxka unitate parametro aurkeztu dute. Deskonposizio termikoz sintetizatutako nanopartikulak eta nanokuboak 8.3 \AA .

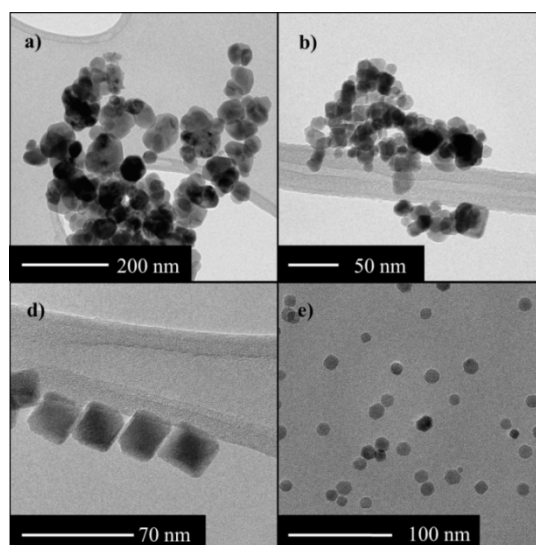
Honez gain, aipatu beharra dago magnetita (Fe_3O_4) eta maghemita ($\gamma - \text{Fe}_2\text{O}_3$) faseak oso antzekoak direla eta X izpien difrakzioen bidez oso zaila dela haien artean bereiztea. Hortaz, baliteke sintetizatutako laginetan maghemita fasearen kantitatearen bat agertzea baina difrakzio bidez ez ikustea. Fase honen agerpena propietate magnetikoen bidez hautematea errazagoa izan daiteke, izan ere magnetita baino momentu magnetiko txikiagoa dauka.

3.2.2. Transmisiozko mikroskopia elektronikoa.

Transmisiozko mikroskopia elektronikoaren (TME) bidez nanopartikulen morfologia aztertu da (2. irudia). Alde batetik, metodo solbotermalez (2.a irudia) eta koprezipitazio bidez (2.b irudia) sintetizatutako nanopartikulak ez-homogeneoak eta tamaina dispersio handikoak dira eta multzokatuta daude.

Bestalde, deskonposizio termikoaren bidez sintetizatutako nanokuboak (2.d irudia) eta nanopartikulak (2.e irudia) tamaina dispersio homogeneoa eta morfologia zehatza dute. Nanokuboei dagokienez, 15 nm -ko tamaina dute eta oso kristalikoak dira. Nanopartikulak, aldiz, $14 - 18 \text{ nm}$ bitarteko tamaina eta geometria oktaedrikoa aurkeztu dute.

2. irudia. Metodo desberdinen bidez sintetizatutako nanoegituren TME irudiak. (a) sintesi solbotermala; (b) koprezipitazioa; (c) DT nanokuboak; (d) DT nanopartikulak.



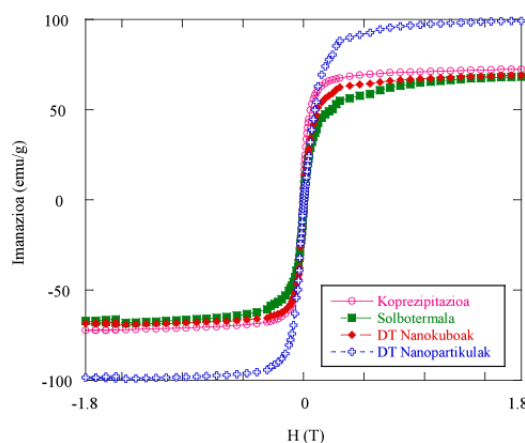
Lehenago aipatu den bezala, nahiz eta sintesi bide berdina izan eta metal aitzindari berdina erabili den, bi kasuetan erabili diren sintesi bolumena eta ligando erlazioa aldatu dira. Modu honetan, aldagai desberdin hauek material magnetiko nanometrikoen sintesian duten eragina aztertu nahi da, etorkizunean bestelako morfologia batzuk egin ahal izateko.

Mikroargazki hauetan behatu ez arren, nanopartikulak materia organikoz inguratutako daude, deskonposizioaren bidez sintetizatutakoak azido oleikoz eta sintesi solbotermalaren bidez zitratoz. Materia organikoaren kantitatea kalkulatu ahal izateko, analisi termograbitrikoak burutu dira materia organiko portzentailak % 8 – 20 tartekoak izanik (1. taula).

3.2.3. Propietate magnetikoak.

Lagin mugikorrek magnetometria bidez, sintetizatutako nanomaterialen propietate magnetikoak aztertu dira. Propietate hauen ezagutza ezinbestekoa da: Izan ere, hipertermia magnetikoan aplikatu ahal izateko, gero eta imanazio-saturazio altuagoa, orduan eta bero ahalmen handiagoa izango dute eta eraginkorragoak izango dira zelulen nekrosia sortzen. 3. irudian nanopartikulen imanazioa eremu magnetikoarekiko agertzen da. Kurba hauetatik, 1. taulan dauden saturazio-magnetizazioa (M_s), eremu koertzitiboa (H_c) eta hondar-magnetizazioa (M_r) balioak lortu dira. Datuak materia organikoaren masa kontutan hartuta zuzenduta daude.

3. irudia. Sintetitutako nanomaterialen histeresi zikloak 300 K-ean.



1. taula. Nanoegituren masa galera eta datu magnetikoak

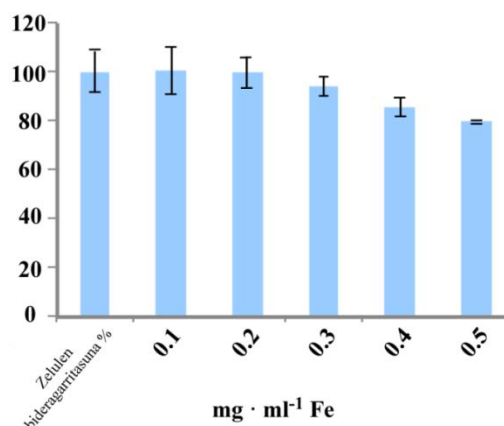
Lagina	Masa galera (%)	Saturazio-magnetizazioa (M_s) (emu/g)	Hondar-magnetizazioa (M_r) (emu/g)	Eremu koertzitiboa (H_c) (T)
Koprezipitazioa	-	69.29	0.65	0.004
Solbotermala	10	65.21	0.17	0.001
DT Nanokuboak	8	70.1	0.025	0.00009
DT Nanopartikulak	20	99.17	0.09	0.00006

3. irudian eta 1. taulan ikus daitekeen bezala, sintetizatutako lagin guztiak superparamagnetikoak dira euren eremu koertzitiboa oso baxua baita inguruko tenperaturan. DT nanopartikulen kasuan izan ezik, laginen imanazio-saturazio balioak ez dira hurbiltzen magnetitak egoera masikoan duen saturazio-magnetizaziora (92 emu/g) (Cullity, 1972). Desbideraketa hauek, maghemitaren agerpenari eragotzi dakiokete edo nanopartikulen gainezalean ager daitekeen desordenari (Batlle *et al.*, 2011). Izan ere, maghemitaren imanazio saturazio balioa 82 emu/g inguru dago eta magnetitarena 92 emu/g inguru.

3.2.4. Zitotoxizitatearen saikuntza.

Aurreko imanazio balioak ikusita, deskonposizio termikoz sintetizatutako nanopartikulak hautatu dira zitotoxizitate saiakerak egiteko. Horretarako PMAO (polimaleiko anhidrido-alt-1-oktadekano) polimeroz estali dira eta RGD (*Arg-Gly-Asp*) peptidoz funtzionalizatu dira biobateragarriak izan daitezten. PMAO - RGD ligandoz estalitako nanopartikulak “*Africangreen monkey*” giltzurrun epitelio Vero zeluletan frogatu dira kontzentrazio desberdinetan ($\text{Fe } 0.1 - 0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$), 4. irudian ikusten den bezala. Kasu guztietan 24 orduko inkubazioa egin da (Mosmann, 1983).

4. irudia. Vero zeluletan PMAO-RGD ligadoarekin estalikako nanopartikulen zitotoxizitate saikuntza.



Zelulen bideragarritasuna MTT frogaren bidez aztertu da, zeinak deshidrogenasa entzima mitokondrialaren ekintza metabolikoaren maila neurtzen duen. In vitro toxizitate azterketa honek PMAO - RGD ligandoz estalitako nanopartikulek zitotoxizitate maila handia aurkezten ez dutela zehaztu du (ikus 4. irudia). Dena den, honetan ere ikus daiteke, gero eta kontzentrazio altuagoa erabili orduan eta kalte handiago eragiten dutela nanopartikulek. Hortaz, kontzentrazio txikietan lan egin behar da, edo kontzentrazio altuetan lan egiteko bestelako ligando organiko biobateragarri bilatu behar da kalte txikiagoa eragin dezan.

4. Ondorioak

Ikusitakoaren arabera esan daiteke hipertermia magnetikoan aplikatzeko nanopartikularik egokienak deskonposizio termikoz sintetizatutakoak direla. Sintesi honetan erabiltzen diren oleilamina (OA) eta azido oleiko (AO) ligandoen erlazioek morfologia mota bat edo beste lortzea baimentzen du. Kasu honetan, nanopartikula esferikoak lortzeko 3:1 (OA : AO) erlazioa erabili da eta bestalde, 1:4 (OA : AO) nanokuboak lortzeko. Nahiz eta sintetizatutako material guztiak magnetita (Fe_3O_4) fasea diruditen, baliteke sintesiren batean maghemitaren ($\gamma - \text{Fe}_2\text{O}_3$) agerpena egotea. Honek imanazio balioen jaitsiera azalduko luke. Hortaz, deskonposizio termikoa ez diren beste sintesiak baztertuta geratuko dira minbizi tratamendu honetan aplikatu nahi diren nanopartikulen sintesia egiteko. Gainera teknika honen bidez dispersio tamaina txikia eta kristalinitate maila altua lortzen da. Nanokuboak nahiko interesgarriak dirudite, baina imanazio balio jaitsiera horren zergatia aztertzen jarraitu beharko da. Zitotoxizitate entseguaren aldetik esan daiteke nanopartikulak kontzentrazioa igo ahala gero eta toxikoak direla, hortaz, ahalik eta kalte gutxien eragingo duen kontzentrazioarekin lan egingo da.

5. Etorkizunerako planteatutako norabidea

Etorkizunean hipertermia magnetikoa eragingo duten nukleo magnetikoen hobekuntza egin nahi da. Hau da, bero handiagoa eragingo lukeen nanoegituraren sintesia egin. Honetarako beste metal batzuen ferritak egingo dira: kobaltoa, manganesoa, zinka... Honekin batera, nanoegitura biobateragarria bihurtzeko beste ligando estalki batzuk aztertu nahi dira hauetara funtzio desberdinak izan ditzaketen bestelako ligando batzuk jartzeko, hala nola, "lokalizazio molekular".

6. Erreferentziak

- Battle, X., Pérez, N., Guardia, P., Iglesias, O., Labarta, A., Bartolomé, F., Garca, L. M., Bartolomé, J., Roca, A. G., Morales, M. P., eta Serna, C. J. (2011) "Magnetic nanoparticles with bulklike properties", *Journal of Applied Physics*, 109, 07B524-6
- Castellanos-Rubio, I.; Insausti, M.; Garaio, E.; Gil de Muro, I.; Plazaola, F.; Rojo, T.; Lezama, L. (2014), "Fe₃O₄ nanoparticles prepared by the seeded-growth route for hyperthermia: electron magnetic resonance as a key tool to evaluate size distribution in magnetic nanoparticles", *Nanoscale*, 6, 7542 – 7552.
- Cullity B. D. (1972), *Introduction to magnetic materials*, Addison-Wesley, Massachusetts.
- Gleiter, H. (1992), "Nanostructured Materials", *Advanced Materials*, 4, 474 - 481.
- Henglein, A. (1989), "Small-particle research: physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles". *Chemical Reviews*, 89, 1861 -1873.
- Herranz, F., Morales, M., Roca, A. G., Desco, M. eta Ruiz-Cabello, J. (2008), "A new method for the rapid synthesis of water stable superparamagnetic nanoparticles", *Chemistry a European Journal*, 14, 9126 – 9130.
- Hufschmid, R., Arami, H., Ferguson, R. M., Gonzales, M., Teeman, E., Brush, L. N., Browning, N. D., Krishnan, K. M.(2015), "Synthesis of phase-pure and monodisperse iron oxide nanoparticles by thermal decomposition", *Nanoscale*, 7, 11142 – 11154.
- Jiang, S., Eltoukhy, A. A., Love, K. T., Langer R. eta Anderson, D. G (2013) "Lipidoid-coated iron oxide nanoparticles for efficient dna and sirna delivery", *Nano Letters*, 13, 1059- 1064.
- Koper, O.B. eta Klabunde, K.J. (1997), "Destructive adsorption of chlorinated hydrocarbons on ultrafine (nanoscale) particles of calcium oxide 3 chloroform, trichloroethene and tetrachloroethene". *Chemistry of Materials*, 9, 2481 - 2485.
- Lartigue, L., Innocenti, C., Kalaivani, T., Awwad, A., Sanchez M. D. M., Guari, Y., Larionova, J., Guérin, C., Montero, J. L. G., Barragan-Montero, V., Arosio, P., Lascialfari, A., Gatteschi D. eta Sangregorio, C. (2011) "Water-dispersible sugar-coated iron oxide nanoparticles. an evaluation of

- their relaxometric and magnetic hyperthermia properties”, *Journal of American Chemical Society*, 133, 10459 - 10472.
- Marszall, M.P (2001), “Application of magnetic nanoparticles in pharmaceutical science. *Pharmaceutical Research*, 28, 480 – 483.
- Mosmann, T. (1983), “Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays”, *Journal of Immunological Methods* , 65, 55–63.
- Ou P., Xu G., Xu C., Zhang Y., Hou X., Han G. (2010) “Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles by a simple solvothermal method”, *Material Science – Poland*, 28(4), 817 - 822.
- Roco, M.C. (2002), “Government nanotechnology funding:An international outlook”. *Journal of The Minerals, Metals & Materials Society*, 54, 22 - 23.
- Rodriguez – Carval, J. (1993) “Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction” *Physica B: Condensed Matter*, 192, 55 – 69.
- Stara, J.V. eta Klabunde, K.J. (1996), “Nanoscale metal oxide particles/clusters as chemical reagents. adsorption of hydrogen halides, nitric oxide, and sulfur trioxide on magnesium oxide nanocrystals ans compared with microcrystals». *Chemistry of Materials*, 8, 1913 - 1918.
- Stara, J.V., Park, D.G., Lagadie, I. eta Klabunde, K.J. (1996), “Nanoscale metal oxide particles/clusters as chemical reagents. unique surface chemistry on magnesium oxide as pressure dependence” *Chemistry of Materials*, 8, 1904-1912
- Sun J, Zhou S, Hou P, Yang Y, Weng J, Li X. (2006), “Synthesis and characterization of biocompatible Fe₃O₄ nanoparticles”, *Journal of Biomedical Material Research Part A*. 80(2), 335 - 341.
- Sun, Y. eta Xia, Y. (2002), “Shape-Controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science*, 298, 2176 - 2179.
- Wang T., Wang X, Lamontagne D., Wang Z., Wang Z. eta Cao Y.C. (2012) Shape-controlled synthesis of colloidal superparticles from nanocubes”, *Journal of American Chemical Society*, 134, 18225 – 18228.
- Weller, H. (2003), “Colloidal semiconductor q-particles: chemistry in the transition region between solid state and molecules”. *Angewandte Chemie International Edition*, 32, 41 - 53.
- Yan H., Liping Z., Weiwei H., Xiaojuan L., Xiangnong L., Yuxiang Y. (2010) “A study on synthesis and properties of Fe₃O₄ nanoparticles by solvothermal method”, *Glass Physical Chemistry*, 36(3), 325 - 331.
- Yang H., Ogawa T., Hasegawa D. eta Takashi M. (2008), “Synthesis and magnetic properties of monodisperse magnetite nanocubes”, *Journal of Applied Physics*. 103, 07D526
- Yong-Mei H., Mana C., Zhong-Bo H. (2010), “Effective removal of Cu (II) ions from aqueous solution by amino-functionalized magnetic nanoparticles”, *Journal Hazardous Materials*, 184, 392 – 399
- Zhang, L., He, R. eta Gu, H.-C. (2006) “Synthesis and kinetic shape and size evolution of magnetite nanoparticles”, *Materials Research Bulletin* , 41, 260 – 267.

7. Esker onak

Eskerrak eman nahi dizkiogu Eusko Jaurlaritzari GIC-IT-570-13 erreferentziadun Ikerketa Taldearen laguntzagatik eta Ekonomia eta Lehiakortasun Espaniako Ministerioari MAT2016-78266-P proiektuagatik. Era berean, eskertu beharrekoak ditugu Euskal Herriko Unibertsitateko SGIKER zerbitzu orokorrak, neurketa guztiak han burutu baitira.