



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Físicas

Escuela Profesional de Física

**Síntesis y caracterización de nanomaghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
funcionalizada con polímero PSS y efecto de
ecotoxicidad en el biomarcador *Daphnia magna* como
potencial propuesta de nanorremediación**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Física

AUTOR

Renzo RUEDA VELLASMIN

ASESOR

Juan Adrian RAMOS GUIVAR

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Rueda, R. (2023). *Síntesis y caracterización de nanomaghemita (γ -Fe₂O₃) funcionalizada con polímero PSS y efecto de ecotoxicidad en el biomarcador *Daphnia magna* como potencial propuesta de nanorremediación*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Escuela Profesional de Física]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Renzo Rueda Vellasmin
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	737106584
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-2438-9711
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Juan Adrián Ramos Guivar
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46209587
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3293-7255
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Erich Victor Manrique Castillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09608122
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Octavio Fashé Raymundo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10351868
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Sthy Warren Flores Daorta
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10532794
Datos de investigación	

Línea de investigación	A.2.1.3 Aplicaciones de la Física en Nanociencia y Nanotecnología de Materiales Magnéticos
Grupo de investigación	NANOTECH
Agencia de financiamiento	Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico e Innovación Tecnológica – FONDECYT/PROCIENCIA Proyecto N° 177-2020-FONDECYT, R.R. 009412-2021-R/UNMSM Código interno B21137354x
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Físicas País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Latitud: -12.05900567488733 Longitud: -77.0812051300185
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Marzo 2021 - diciembre 2022 2018 - 2020
URL de disciplinas OCDE	2.10.01 – Nano-materiales https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.10.01



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL
TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN FÍSICA**

Siendo las 10:00 horas del lunes 03 de abril del 2023, en el ambiente 304 de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Físicas, bajo la Presidencia del Mg. Erich Víctor Manrique Castillo (Presidente), Mg. Octavio Fashé Raymundo (Miembro), el Dr. Juan Adrian Ramos Guivar (Asesor) y el Dr. Sthy Warren Flores Daorta (Suplente), se dio inicio a la Sesión Pública de Sustentación de Tesis para la Licenciatura en Física, mediante la Modalidad M1, del Bachiller:

RENZO RUEDA VELLASMIN

Dando lectura al Resumen del Expediente, el Presidente del Jurado, invitó al Bachiller Renzo Rueda Vellasmin a realizar una exposición de Tesis titulada: "Síntesis y caracterización de nanomaghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) funcionalizada con polímero PSS y efecto de ecotoxicidad en el biomarcador *Daphnia magna* como potencial propuesta de nanorremediación"

Concluida la exposición del candidato y luego de las preguntas de rigor por parte del Jurado, el Presidente, invitó al Bachiller y al público a abandonar momentáneamente la Sala de Sesión, para dar paso a la deliberación y calificación por parte del Jurado.

Al término de la deliberación del Jurado, el Mg. Erich Víctor Manrique Castillo invitó al candidato y al público a pasar a la Sala de Sesión, para dar lectura al Acta de sustentación, en cuyo contenido se ha registrado la nota obtenida por el bachiller, la misma que ha sido de:

Aprobado con máximos honores 20 veinte
(MENCIÓN) (NÚMERO) (LETRAS)

Finalmente, el Presidente del Jurado, propone al consejo de la Facultad que se le declare Licenciado en Física al Bachiller Renzo Rueda Vellasmin. Siendo las... 12:40 ... Horas, se levanta la Sesión.

Ciudad Universitaria, 03 de abril de 2023


Mg. Erich Víctor Manrique Castillo
PRESIDENTE


Mg. Octavio Fashé Raymundo
MIEMBRO


Dr. Juan Adrian Ramos Guivar
ASESOR


Dr. Sthy Warren Flores Daorta
SUPLENTE



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

1. Facultad: Ciencias Físicas
2. Escuela Profesional: Física
3. Autoridad Académica que emite el informe de originalidad: Mg. Jiménez Tintaya, César Omar
4. Apellidos y nombres de la autoridad académica: Mg. Jiménez Tintaya, César Omar
5. Operador del programa Informático de similitudes: Mg. Jiménez Tintaya, César
6. Documento evaluado: Tesis para optar el Título profesional de Licenciado en Física: "Síntesis y caracterización de nanomaghemita (γ -Fe₂O₃) funcionalizada con polímero PSS y efecto de ecotoxicidad en el biomarcador Daphnia magna como potencial propuesta de nanorremediación"
7. Autor del documento: Renzo Rueda Vellasmin.
8. Fecha de recepción del documento: 07/02/23
9. Fecha de aplicación del programa informático de similitudes: 07/02/23
10. Software utilizado
 - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes
 - Excluye textos entrecomillados
 - Incluye Bibliografía
 - Excluye cadenas menores a 40 palabras
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 10% (diez por ciento)
13. Fuentes originales de las similitudes encontradas
 - cybertesis.unmsm.edu.pe < 8%
 - hdl.handle.net < 1%
 - eprints.uanl.mx < 1%
14. Observaciones: ninguna
15. Calificación de originalidad
 - Documento cumple criterios de originalidad, sin observaciones
16. Fecha del Informe: 08 de febrero del 2023



UNMSM

Firmado digitalmente por JIMENEZ
TINTAYA Cesar Omar FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.02.2023 12:00:58 -05:00

Firma del Evaluador

Dedicado a:

*A mi madre, por su guía y apoyo.
A mi hermana por su valiosa ayuda.
¡Muchas gracias!*

Agradecimientos

Agradezco a mi asesor, el profesor Dr. Juan Adrian Ramos Guivar por permitirme ser parte del Grupo de Investigación (GI)-NANOTECH y por el valioso conocimiento brindado de su parte.

Agradezco a El Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico e Innovación Tecnológica – FONDECYT/PROCIENCIA, que a través del proyecto N° 177-2020-FONDECYT, R.R. 009412-2021-R/UNMSM y con código interno B21137354x, permitió el desarrollo de este trabajo de investigación.

Agradezco al Prof. Dr. Edson Caetano Passamani de la Universidad Federal de Espirito Santo (UFES), Vitória, Brasil, por la colaboración científica que permitió las medidas de Difracción de rayos-X, ^{57}Fe Espectroscopía Mössbauer y de Magnetometría de Muestra Vibrante de las muestras estudiadas en este TI Bachiller. Y a la investigadora posdoctoral, Dra. Noemi Raquel Checca Huaman, por la colaboración en las medidas de Microscopía Electrónica de Transmisión y Espectroscopía de Infrarrojo.

Agradezco a la Mg. Blgo. Jacquelyne Yesenia Zarria Romero, tesista Doctoral del GI NANOTECH por su apoyo y enseñanza en el manejo de los ensayos de ecotoxicidad de la muestra discutida en la presente tesis de Licenciatura. Y al Prof. Blgo. Jose Luis Rafael Pino Gaviño del GI BIOTOXIC por permitir el uso de las instalaciones en la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM.

Agradezco sobremanera a mi madre Esmilda Vellasmin Mija por constituir la columna vertebral de mi formación y a mis hermanos Yuliano y Mileidy por ser la inspiración más cercana para enfrentar las dificultades.

Resumen

En la siguiente tesis de Licenciatura se utilizó la ruta de coprecipitación para sintetizar nanopartículas (NPs) de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y se funcionalizaron con el polímero poli (4 sodio- estireno sulfonato) para mejorar su estabilidad fisicoquímica. Entre los principales usos que se les confiere a los nanomateriales magnéticos se encuentra el de la remediación de cuerpos de agua. Para poder garantizar las propiedades físicas y químicas que poseen este tipo de nanomateriales se debe caracterizar la muestra sintetizada por diversas técnicas analíticas. Para la caracterización del nanohíbrido (RV1) se utilizó la Difracción de Rayos X, Microscopía Electrónica de Transmisión, Espectroscopía Raman, Espectroscopía de Radiación Infrarroja, Espectroscopía de Radiación UV-Visible, Magnetometría de Muestra Vibrante y ^{57}Fe Espectrometría Mössbauer. Cada una de las técnicas experimentales indican propiedades fisicoquímicas que van construyendo un historial importante sobre el potencial uso y la aplicación sobre cuerpos de agua contaminados, por ejemplo, con metales pesados, como el arsénico o el plomo. Sin embargo, es prioridad determinar las concentraciones (mg L^{-1}) que no generen un impacto tóxico en la biota acuática. Por lo cual, para este trabajo se realizaron las pruebas preliminares de ecotoxicidad que garanticen el bajo riesgo de este material. Para ello se utilizó el microcrustáceo *Daphnia magna*, el cual es un biomarcador con alta sensibilidad. Así, el objetivo principal fue determinar la concentración letal media (LC_{50}) y comparar con otros sistemas similares, para su posterior aplicación en la nanorremediación de cuerpos de agua.

Palabras clave: Maghemita, PSS, caracterización física, *D. magna*, LC_{50} .

Abstract

In the following thesis, maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanoparticles (NPs) were synthesized through the coprecipitation technique and functionalized with the polymer poly(4 sodium-styrene sulfonate) to increase their physicochemical stability. The cleanup of water bodies is one of the primary applications of magnetic NPs. The synthesized sample, using various analytical procedures, was characterized in order to ensure the physical and chemical characteristics of this sort of nanomaterial. X-ray Diffraction, Transmission Electron Microscopy, Raman Spectroscopy, Infrared Radiation Spectroscopy, UV-Visible Radiation Spectroscopy, Vibrating Sample Magnetometry, and ^{57}Fe Mössbauer Spectrometry were employed to characterize the nanohybrid (RV1). Each of the experimental procedures revealed physicochemical qualities that allow prospective usage and application on water bodies polluted with heavy metals such as arsenic or lead. However, determining the concentrations (mg L^{-1}) that do not have a harmful effect on aquatic biota is a top goal. As a result, preliminary ecotoxicity studies were performed for this work to ensure that this substance poses no harm. The microcrustacean *Daphnia magna*, a highly sensitive biomarker, was employed for this purpose. Thus, the primary goal was to estimate the mean lethal concentration (LC_{50}) and compare it to other similar systems for eventual use in water body nanoremediation.

Keywords: Maghemite, PSS, physical characterization, *D. magna*, LC_{50} .

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos.....	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Capítulo 1	3
Introducción	3
Capítulo 2	8
Conceptos Fundamentales	8
γ -Fe ₂ O ₃ y sus características estructurales.....	8
Estabilización de γ -Fe ₂ O ₃	10
Difracción de Rayos X (DRX).....	12
Análisis de muestras cristalinas por método de Rietveld.....	14
Espectroscopía Raman	18
Espectrometría Mössbauer.....	21
Metales pesados en cuerpos de agua.....	22
<i>D. magna</i> como un bioindicador ambiental.....	23
Morfología y ciclo reproductivo de <i>D. magna</i>	24
Capítulo 3	26
Técnicas experimentales	26
Síntesis de γ -Fe ₂ O ₃ @PSS	26
Caracterización	29
Difracción de Rayos X (DRX).....	29
Espectroscopía Raman	34
Espectroscopía UV – Visible	35
Microscopía Electrónica de Transmisión (MET).....	36
Espectrometría Mössbauer.....	37
Magnetometría de Muestra Vibrante (MMV)	38
Ecotoxicidad de RV1 en <i>D. magna</i>	40
Cultivo de <i>D. magna</i>	40
Tasa de mortalidad en <i>D. magna</i>	42
Capítulo 4	45

Resultados y discusiones.....	45
Análisis de difractograma	45
Medida de RV1 por TEM.....	47
Análisis de espectros Raman.....	48
Análisis FTIR de RV1.....	57
Análisis de espectro UV-Visible.....	60
Banda prohibida de RV1.....	61
Análisis magnético de la muestra RV1	62
Análisis de los espectros ⁵⁷ Fe Mössbauer a 300 K y 15 K.....	65
Mortalidad en <i>D. magna</i> y determinación de <i>LC</i> ₅₀ de RV1.....	68
Conclusiones	76
Bibliografía	80
ANEXOS.....	87
Apéndice A	87
Apéndice B.....	88
Apéndice C.....	89
Apéndice D	90
Apéndice E.....	91
Apéndice F.....	92

Capítulo 1

Introducción

El agua es el recurso natural más importante para la proliferación y desarrollo de la vida en nuestro planeta. De hecho, las primeras civilizaciones comenzaron actividades primarias como la agricultura y la ganadería con el aprovechamiento del agua para regar sus cultivos, dar de beber a sus animales y para el consumo de los mismos pobladores (Yevjevich, 1992; Vuorinen *et al.*, 2007; Govan, 2020). En otras palabras, el desarrollo de las ciudades ha dependido del control de este recurso hídrico y del aprovechamiento y desarrollo tecnológico en torno a ella. En la era moderna esto consiste en su preservación, obtención de energía limpia aprovechando la potencia de corrientes de agua, control de peligros relacionados a ella como, por ejemplo, materiales que la contaminen y la protección de los ambientes acuáticos donde se desarrolla la flora y fauna (Yevjevich, 1992). El problema aparece cuando el agua proveniente de las fuentes naturales resulta contaminada, ya sea por causas naturales, como la eutrofización, o antropogénicas, como los desechos industriales, mineros y agrícolas vertidos indiscriminadamente a las vertientes de agua y que se intensificaron con la industrialización (Govan, 2020; Kiliç 2021; Guadarrama-Tejas, 2016; Scharzenbach, 2010).

La contaminación del agua consiste en los cambios químicos, físicos o biológicos que producen un daño considerable a los seres vivos que consumen agua para subsistir. Los elementos contaminantes pueden clasificarse en tres categorías. Materiales inorgánicos como algunos metales pesados. Entre los que se encuentran el aluminio (Al), berilio (Be), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb) (Pabón *et al.*,

2020) y el arsénico (As) (Scharzenbach *et al.*, 2010). Tóxicos orgánicos, como algunos pesticidas, tintes y materiales farmacéuticos también contaminan el agua. Y, por último, microorganismos como bacterias o virus (Govan *et al.*, 2020; Guadarrama-Tejas *et al.*, 2016). Incluso a bajas concentraciones de estos contaminantes pueden afectar negativamente el crecimiento de plantas y algunos animales acuáticos, causando enfermedades virales o bacterianas en humanos y hasta tener efectos carcinogénicos y causar la muerte (Häder y Erzinger, 2017; Reyes *et al.*, 2016). Debido a diferencias en el mecanismo de interacción de estos contaminantes en los seres vivos es por lo que se debe mantener un nivel mínimo de concentración donde estos elementos no causen efectos letales o nocivos. En el Perú, el establecimiento de los límites permisibles de contaminantes en el aire, suelo y agua sucede con la aplicación de una normativa medioambiental denominada Estándar de Calidad Ambiental (ECA), según el DS N° 004-2017-MINAM promulgado por el estado peruano.

Con el fin de mantener estos niveles dentro del Límite Máximo Permitido (LMP), y centrándonos en la contaminación debido a los metales pesados, es que se han desarrollado y vienen mejorando, durante los últimos años, técnicas de remoción eficiente de metales pesados. Esto incluye técnicas como la precipitación química, intercambio de ion, adsorción, filtración por membrana y tecnologías electroquímicas (Hua *et al.*, 2012). Para esto, la nanociencia y nanotecnología contribuyen con un gran potencial de generar nanomateriales (NM) que cumplan con este objetivo de separar estos contaminantes del agua (Govan *et al.*, 2020). Para conseguirlo, la técnica de adsorción resulta ser una de las más eficientes en un medio acuoso, además de ser de fácil manejo (Hussain *et al.*, 2021; Song *et al.*, 2011). Entre los NMs con mayor impacto, en cuanto a remoción de metales pesados, son los que se basan en óxidos de hierro. Las fases del óxido de hierro son: la magnetita (Fe_3O_4), maghemita (γ -

Fe₂O₃) y hematita (α -Fe₂O₃). Estas pueden alcanzar tamaños muy pequeños, consiguiendo en conjunto, una mayor área superficial y sus propiedades magnéticas permiten una sencilla separación de los adsorbente permitiendo la posible reutilización. La presencia de grupos hidroxilos en esta superficie permite la funcionalización con diversos materiales, permitiendo la estabilización del “ferrofluido” coloidal sintetizado y mejorar la remoción en muchos casos (Dave *et al.*, 2014).

Todo esto es a lo que se denomina nanorremediación. El proceso de síntesis, diseño, caracterización, aplicación y manipulación de materiales a nanoescala (Gupta, 2021). En la industria textil, electrónica, construcción, alimentos y farmacéutica también se utilizan nanopartículas (NP). Sin un adecuado control y uso pueden representar un factor de contaminación adicional afectando el ecosistema y la salud humana (Schwarzenbach *et al.* 2010; Govan *et al.*, 2020, Zarria-Romero *et al.*, 2015; Renzi *et al.*, 2019). Naturalmente, los objetivos de este proyecto a largo plazo contemplan la potencial remoción de contaminantes y su potencial reutilización de los adsorbentes. Entonces, ***¿Cómo saber si los NMs sintetizados en este proyecto pueden constituir un peligro para la biota acuática antes de ser aplicados como nanorremediadores?*** Esta es la segunda parte de este trabajo que consiste en el empleo de bioindicadores como principal medio de identificación en los cambios que puedan producir los NMs en medio acuoso. El bioindicador empleado en este estudio es la *Daphnia magna* (*D. magna*), especie conocida también por su nombre común “pulga de agua”. Este crustáceo cladócero es de amplio uso en ensayos ecotoxicológicos acuáticos debido a la alta sensibilidad que presentan frente a los cambios físico o químicos que, los contaminantes que pueden ser origen natural o antropogénico, disueltos en el agua, podrían constituir una amenaza para su normal desarrollo. Por esta razón son de amplio uso alrededor

del mundo, debido a que constituyen parte del plancton lo que los ubica en la base de la cadena trófica. Otra de las razones de esta importante elección es su corto ciclo de vida, es decir, podemos observar in vivo efectos inmediatos del cumplimiento de este ciclo y con esto observar las dificultades que enfrenta cuando su entorno es modificado (Núñez y Hurtado, 2005). Al final los efectos que podamos observar sobre la interacción de nuestro nanosistema sobre esta especie constituirán un paso importante para pensar en la potencial aplicación sobre cuerpos de agua con metales pesados disueltos. Así que, podemos determinar la ecotoxicidad de estas sustancias mediante la determinación de la concentración letal media (LC_{50}) en ecosistemas acuáticos (Renzi et al., 2019).

La presente tesis está dividida en cuatro capítulos: durante el capítulo 1 se realiza una revisión de los antecedentes que nutren este trabajo. Se presenta la problemática y además se exponen los objetivos y señala la importancia que este trabajo representaría para las técnicas que tienen como objetivo final la remediación de cuerpos de agua contaminados. En el capítulo 2 se exponen los conceptos y principios físicos principales que sustentan la base científica de este trabajo la identificación estructural del nanosistema, los procedimientos empleados para la caracterización del mismo, la justificación de conseguir la funcionalización mediante una técnica de síntesis adecuada y los individuos que serán objeto de estudio al exponerlos a dosis controladas de nuestro nanomaterial son algunos de los conceptos tratados durante este capítulo. Las técnicas experimentales, como el proceso de síntesis, los instrumentos que son utilizados en la caracterización del nanomaterial son tratados en el capítulo 3, allí se da cuenta de los detalles experimentales de los equipos empleados en la caracterización estructural, vibracional y magnética de RV1. En ese capítulo se permite realizar una introducción del objetivo principal de cada una de las pruebas

experimentales. Los resultados y las discusiones principales de estos son presentados en el Capítulo 4. Para dar sentido a los resultados obtenidos se buscará contrastar con el vasto material bibliográfico de autores con experiencia en la producción de materiales funcionalizados, en la caracterización estructural vibracional y magnética de nanomateriales basados en óxido de hierro. Además, este capítulo muestra el LC_{50} sobre el microcrustáceo *D. magna*, para finalmente exponer las conclusiones de las diferentes pruebas físicas de caracterización y ensayo ecotoxicológico que se han obtenido.

Los anexos de esta tesis están compuestos por los certificados de los diversos talleres y conferencia a las que asistí durante el desarrollo de esta tesis y que fueron necesarios para enriquecer las discusiones de las diferentes técnicas físicas utilizadas.

Capítulo 2

Conceptos Fundamentales

$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y sus características estructurales

Los NMs son referidos a toda estructura o sistema que logra mantener dimensiones de tamaño menores a los 100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), de hecho, la palabra “nano”, que los define, proviene del vocablo griego que significa “enano”. Trabajar a esta escala significa que también involucra conceptos como: nanosuperficies, nanocapas, nanohilos, entre muchos otros. (Bayda *et al.* 2020). El particular interés por este tipo de materiales radica principalmente en las propiedades de estado sólido que desarrollan a esta escala, como, por ejemplo: punto de fusión y temperatura bajos, propiedades ópticas y mecánicas diferenciadas de materiales macroscópicos o másicos (del término en inglés *bulk*), estabilidad en medios

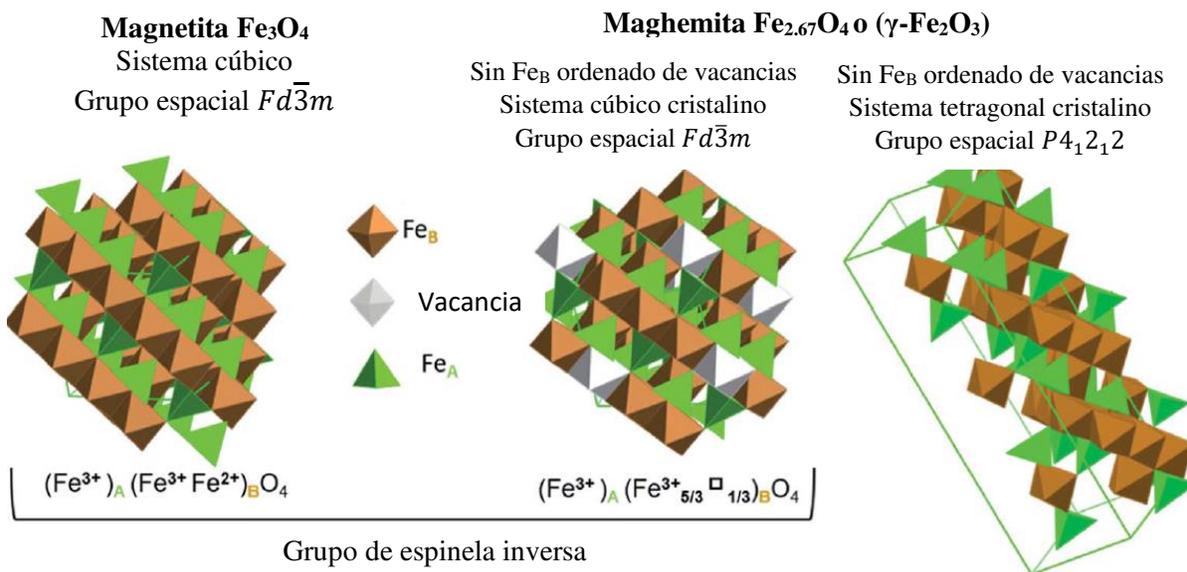


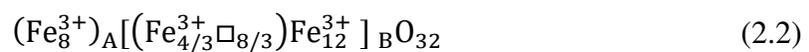
Fig. 2.1 Representación de la estructura de la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y la fórmula estequiométrica que le da origen a partir de la magnetita. Adaptado por el autor al español de Wu, *et al.*, 2015)

acuosos, biocompatibilidad en muchos casos y propiedades superparamagnéticas (Ramos, 2018, Malhotra *et al.* 2020, Wu *et al.*, 2015).

Los sistemas basados en nanopartículas magnéticas (NPM) como, por ejemplo, los que se basan en óxidos de hierro han logrado un interés particular, sobre todo por la amplia variedad de aplicaciones y usos en diversas áreas. La mayoría de esas estructuras son cristalinas, por lo que las posiciones atómicas conformarán lo que se denomina una red cristalina. Y a la vez estas conformarán celdas unitarias donde se alojarán los átomos del sistema, como mínima representación estructural de un sistema cristalino. Así, considerando diferentes simetrías para el sistema se construyen las estructuras cristalinas. La γ -Fe₂O₃ es el segundo polimorfo más estable del óxido de hierro, su fórmula química es γ -Fe₂O₃ y es denominada de esta manera por poseer la misma estructura espacial de la Fe₃O₄ y la misma composición de la α -Fe₂O₃, entonces, al unir estos nombres resulta el de γ -Fe₂O₃ (Shokrollahi, 2017). Al respecto, la Fig. 2.1 compara la estructura de γ -Fe₂O₃ y Fe₃O₄, donde las posiciones ocupadas por estos iones logran diseñar estructuras tetraedrales y octaédricas. Cuando la Fe₃O₄ se oxida los cationes de Fe³⁺ son removidos de los sitios de coordinación octaédrica, dando paso a sitios vacantes (vacancias). Esta cantidad de vacancias produce la siguiente fórmula para la γ -Fe₂O₃ (Kinebuchi y Kyono 2021; Wu *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019, Belin *et al.*, 2002).



también escrita como:



donde () y [] designan respectivamente las coordenadas de los sitios tetraedrales y octaedrales y □ las vacancias catiónicas que compensan el balance de carga. Lo que quiere decir que, los cationes de Fe^{+3} por celda unitaria están distribuidos entre 8 sitios tetraedrales y 16 sitios octaedrales, mientras que las vacancias solo se ocupan sitios octaedrales. Entonces, cuando estas vacancias se distribuyen aleatoriamente, determinan el grupo espacial $Fd\bar{3}m$, al que pertenece también Fe_3O_4 (Li *et al.*, 2019). Si están parcialmente ordenados (también llamada $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ parcialmente ordenada) le corresponde el grupo espacial de la red cúbica primitiva $P4_132$ o $P4_332$. Y finalmente cuando están completamente ordenados conduce a la formación de la red tetragonal primitiva del grupo espacial $P4_12_12$ o $P4_32_12$. (Ibuki y Kyono, 2021; Grau-Crespo *et al.*, 2010).

Estabilización de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$

Teniendo en cuenta que las NPMs tienen aplicaciones biomédicas, en la elaboración de dispositivos electrónicos donde un ferrofluido puede ser usado para elaborar altavoces de audio, en resonancia magnética o como adsorbentes en el tratamiento de agua en remoción de contaminantes, es necesaria la preservación de sus propiedades por un largo tiempo (Carlos *et al.*, 2013). Las NPMs basadas en óxidos de hierro suelen presentar inestabilidad debido al proceso de síntesis, donde, la gran relación entre área superficial y volumen promueve la aglomeración de las moléculas en su etapa de ferrofluido, permitiendo así la reducción de la energía superficial (Alvear *et al.*, 2017).

Entonces, al emplear estabilizadores podemos incrementar su vida útil, evitando la aglomeración de los compuestos y mantener sus propiedades magnéticas, tamaño, superficie específica y forma en función del tiempo. Esto es importante debido a que al mantener estas

propiedades se puede pensar en el mejoramiento de la técnica que, por ejemplo, potencialmente remueva metales pesados de efluentes acuáticos y sean reutilizables (Wu *et al.*, 2015; Alvear *et al.*, 2017; Zanella 2012).

Las NPs magnéticas se aglomeran fuertemente debido a una fuerte atracción magnética dipolo-dipolo (de naturaleza intra y interpartícula). Entonces, para evitar la atracción (van der Waals y dipolo-dipolo) entre estas se puede recurrir al método de estabilización coloidal (interacción electrostática y estérica) (Fig. 2.2). Este es el proceso mediante el cual un componente surfactante, o también llamado tensioactivo, constituido por un polímero no iónico queda funcionalizado a la NPM, es decir, la cubre.

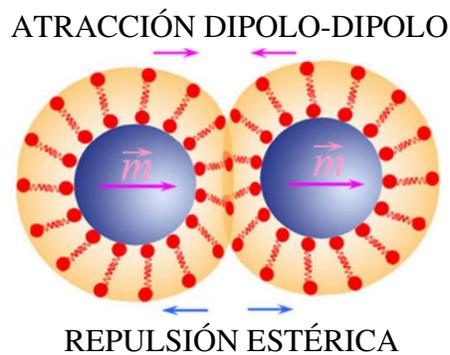


Fig. 2.2 Esquema de la atracción dipolar frente a la repulsión estérica en las NPM del ferrofluido.

Con esto logran una fuerte repulsión entre sus moléculas consiguiendo evitar de esta manera la aglomeración de estas (Tadros, 2013). Esta estabilidad también depende de la contribución térmica por lo que debe existir un balance entre la energía térmica y magnética, siendo que la interacción entre estas deba ser mayor que la interacción del dipolo unitaria (Genc y Derin, 2014). Ante esto las fuerzas que actúan sobre las NP tienen la forma siguiente:

$$E_{mag} = \mu_0 M_0 V H \quad (2.3)$$

$$E_{dip} = \left(\frac{\mu_0 M_0^2}{12} \right) V \quad (2.4)$$

$$E_{vdW} = -\frac{A}{6} \left[\frac{2}{I^2 + 4I} + \frac{2}{(I + 2)^2} + \ln \left(\frac{I^2 + 4}{(I + 2)^2} \right) \right] \quad (2.5)$$

donde, E_{mag} es la energía de campo magnético, $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} H/m$ es la permeabilidad en el vacío, M_0 es la magnetización inicial de la interacción dipolar, V el volumen, H el campo magnético, k la constante de Boltzmann ($1.38 \times 10^{-23} NmK^{-1}$), E_{dip} es la energía de contacto dipolo-dipolo, E_{vdW} representa la interacción de van der Waals, A es la constante de Hamker ($A = 10^{-19} Nm$) para una interacción entre dos cuerpos por van der Waals, I es la separación entre las partículas y D es el diámetro de la partícula. Entonces, para conseguir la estabilidad se deben cumplir los siguientes criterios:

$$\frac{kT}{\mu_0 MVH} \geq 1; D \leq \left(\frac{6kT}{\pi\mu_0 M} \right)^{1/3} \quad (2.6)$$

$$\frac{\Delta\rho VgL}{\mu_0 MH} \ll 1 \quad (2.7)$$

$$\frac{12kT}{\mu_0 M_0^2 V} \gg 1; D \leq \left(\frac{72kT}{\pi\mu_0 M^2} \right)^{1/3} \quad (2.8)$$

Estos criterios indican que para $D \leq 7.8 \text{ nm}$ existe aglomeración entre las NPM. Entonces a medida que el polímero es adsorbido el tamaño de la NP es disminuido consiguiendo la estabilidad, reduciendo las interacciones fisicoquímicas presentes.

Difracción de Rayos X (DRX)

El término *difracción*, como lo menciona Zolotoyabko (2014), nos sirve para explicar cualquier fenómeno relacionado con la desviación en la trayectoria de la luz por óptica

geométrica. En el caso de los rayos X, descubiertos por Wilhem Roegten en 1895, se estudia la difracción de estos rayos debido a la radiación electromagnética incidente producido por el calentamiento de un filamento de tungsteno dentro de un tubo sellado y al vacío. Este es usado como cátodo y es calentado con un potencial de entre 50 kV y 300 kV. Parte de la energía perdida por los electrones al impactar con el ánodo metálico se convierte en un rayo X. La otra parte de la energía producida es disipada en forma de calor en el ánodo enfriado por agua (Fig. 3.4). El fenómeno de los rayos X es estudiado en el rango de energías entre 200 eV a 1 MeV, ubicándolo entre los rayos γ y ultravioleta (UV) del espectro electromagnético. (Suryanarayana y Norton, 1998; Zolotoyabko, 2014).

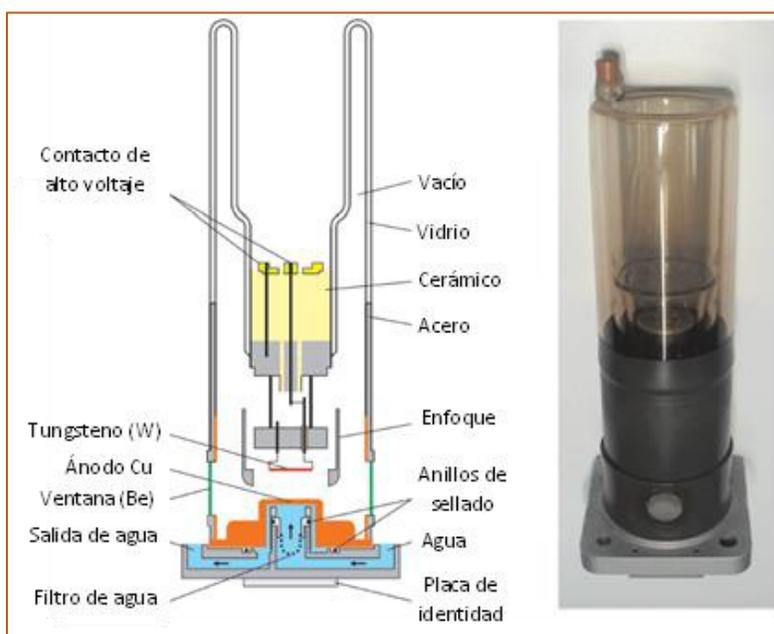


Fig. 2.3 Esquema de los componentes de un tubo sellado y al vacío (izquierda), fotografía del tubo (derecha). Imagen adaptada de Dinnebier *et al.* (2018) (Powder diffraction: Theory and practice).

La Difracción de Rayos X (DRX) emplea este tipo de radiación para identificar las fases cristalinas de la estructura sólida de una muestra, la cual puede ser monocristalina o policristalina (muestra en polvo). El fundamento de esta técnica debe cumplir con las

condiciones de la ley de Bragg, que relaciona la longitud de onda de estos rayos X producidos y la distancia entre planos atómicos con el ángulo de incidencia del haz del rayo difractado.

Análisis de muestras cristalinas por método de Rietveld

La técnica de DRX ha demostrado ser eficiente para obtener la información estructural de materiales cristalinos. Este análisis consiste en la determinación de los parámetros estructurales, posiciones atómicas, cristalinidad, tensiones de la red, etc., a partir del perfil de difracción obtenido del difractómetro. Históricamente, durante la primera mitad del siglo XX, el análisis de los materiales mediante esta técnica comenzó con el estudio de los monocristales, sin embargo, no todos los materiales lograban alcanzar la dimensión y calidad requeridas para el estudio, por lo que, se comenzó con el análisis de muestras en polvo, es decir, policristalinas (Will, 2006).

De acuerdo con el Dr. Hugo Rietveld, el análisis de las muestras policristalinas lleva a la pérdida de información debido a la orientación aleatoria de los cristalitos: “esto es el resultado de la superposición de los picos de difracción independientes del difractograma” (1969). La superposición producida por los picos fue superada con el método desarrollado por Rietveld, quien a partir de 1967 ideó una forma de refinar la estructura junto a los parámetros que describen las posiciones de los picos junto a los perfiles de difracción. El método computacional fue reportado por primera vez en el Séptimo Congreso de la UICr (del inglés Union International of Crystallography) de Moscú en 1966, y produjo un artículo en 1969 (Will, 2006; Hewat *et al.*, 2017). Es importante de mencionar que, el nombre de la técnica le fue otorgado con justicia debido a que permitió que el programa sea de dominio público (Young, 1993).

Con este método se realiza el ajuste por mínimos cuadrados hasta conseguir un buen ajuste entre el difractograma experimental y el calculado, basado en el refinamiento simultáneo del modelo de estructura cristalina, los efectos ópticos de difracción, la resolución instrumental, entre otros. Los parámetros escogidos se van ajustando en un proceso iterativo hasta conseguir la convergencia entre los valores teóricos y experimentales. La función de minimización está dada por:

$$S_y = \sum_i w_i (y_i - y_{cal})^2 \quad (2.9)$$

donde,

$$w_i = \frac{1}{y_i}$$

y_{cal} : Intensidad calculada

y_i : intensidad observada

El cálculo de las intensidades calculadas y_{cal} se realizan a partir del facto de estructura, $|F_K|^2$, calculados del modelo estructural, las reflexiones vecinas de Bragg y el fondo del difractograma. De esta manera la intensidad calculada contiene.

$$y_{cal} = s \sum_K L_K |F_K|^2 \phi(2\theta_i - 2\theta_K) P_K A + y_{bi} \quad (2.10)$$

aquí, s es el factor de escala que depende de la cantidad de la muestra irradiada, K identifica a los índices de Miller, (h,k,l) . L_K contiene al factor de Lorentz, polarización y los factores de multiplicidad (m_{hkl}) , $\phi(2\theta_i - 2\theta_K)$ es una función para el perfil de la reflexión, de entre las que se encuentra funciones gaussianas, lorentzianas o una combinación entre ambas (pseudo Voigt), P_K , es la función de la orientación preferencial, A , es un factor de

absorción, F_K , como ya se mencionó es el factor de estructura definido para la K-ésima reflexión de Bragg y finalmente y_{bi} es el fondo de la intensidad en el i-ésimo lugar (Young, 1993).

Algunas de las funciones que modelan los picos del perfil de difracción se describen a continuación:

a) Gauss (G)

$$\frac{C_0}{H_k \pi^{1/2}} \exp\left(-\frac{C_0(2\theta_i - 2\theta_K)^2}{H_K^2}\right) \quad (2.11)$$

b) Lorentz (L)

$$\frac{C_1}{H_k \pi} 1/\left[1 + C_1\left(\frac{(2\theta_i - 2\theta_K)^2}{H_K^2}\right)\right] \quad (2.12)$$

c) Pseudo Voigt (pV)

$$\eta L + (1 - \eta)G \quad (2.13)$$

donde, el parámetro η puede ser refinado como una función lineal, aquí las variables refinable son NA y NB:

$$\eta = NA + NB * (2\theta)$$

d) Modificación de la función pseudo Voigt, Thompson-Cox-Hastings (TCHZ)

$$TCHZ = \eta L + (1 - \eta)G \quad (2.14)$$

donde:

$$\eta = 1.336603q - 0.47719q^2 + 0.1116^3$$

$$q = \frac{\Gamma_L}{\Gamma}$$

$$\Gamma = (\Gamma_G^5 + A\Gamma_G^4\Gamma_L + B\Gamma_G^3\Gamma_L^2 + C\Gamma_G^2\Gamma_L^3 + D\Gamma_G\Gamma_L^4 + \Gamma_L^5)^{0.2} = H_K$$

$$A = 2.69269, B = 2.42843, C = 4.47163, D = 0.07842$$

$$\Gamma = (U \tan^2 \theta + V \tan \theta + W + Z / \cos^2 \theta)^{1/2} \quad (2.15)$$

$$\Gamma_L = X \tan \theta + Y / \cos \theta \quad (2.16)$$

aquí los parámetros refinables están representados por los coeficientes de Cagliotti U, V, W y Z, además también puede ser refinado el parámetro de forma X, Y. Donde es evidente que los parámetros U y X se relacionan con la microdeformación, mientras que Z e Y están relacionados al tamaño del dominio (Dinnebier *et al.*, 2018).

Es importante mencionar que los criterios para poder llevar un ajuste adecuado de las muestras consisten en la elección adecuada de la función del modelo de ajuste, además de la función que reducirá el fondo del difractograma. Esta puede estar constituida por una función polinómica de 6 coeficientes o la función de Chebyshev de 24 coeficientes, sin embargo, el usuario también podría decidir una interpolación lineal eligiendo manualmente los puntos del fondo que se reducirán en el difractograma. Además, una forma de verificar la calidad del ajuste, se recurren a la revisión de los factores R (Young, 1993). Estas están expresadas por:

El factor R_p del perfil residual que responde a pequeños cambios realizados al fondo del perfil de difracción:

$$R_p = \frac{\sum |y_i - y_{cal}|}{\sum y_i} \quad (2.17)$$

El factor R_{wp} del perfil ponderado, este número indica que los datos de la difracción son correctos (Toby, 2006):

$$R_{wp} = \left[\frac{\sum w_i (y_i - y_{cal})^2}{\sum w_i (y_i)^2} \right]^{1/2} \quad (2.18)$$

El factor esperado del perfil R_{exp} , es el cociente de los grados de libertad del sistema, donde N es la cantidad de observaciones mientras que P, la suma de las desviaciones estándar de las intensidades (Will, 2006).

$$R_{exp} = \left[\frac{(N - P)}{\sum (y_i)} \right]^{1/2} \quad (2.19)$$

El parámetro que verifica la bondad del ajuste (del inglés GOF: goodness of fit). Este valor tiende a 1 cuando el ajuste es bueno (Pecharsky and Zavalij, 2008).

$$\chi^2 = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} = \sqrt{\frac{\sum w_i (y_i - y_{cal})^2}{N - P}} \quad (2.20)$$

Es preciso indicar que no siempre un $\chi^2 = 1$ indica que los parámetros ajustados son los correctos. Siempre será obligatorio y necesario revisar antes de finalizar el refinamiento.

Espectroscopía Raman

Esta técnica proporciona información detallada acerca de la estructura química, permite diferenciar fases polimórficas, cristalinidad y analizar las interacciones moleculares de una muestra. La ventaja de utilizar esta técnica radica en el hecho de no necesitar una preparación previa, trabajar con muestras en estado sólido o líquido, muestras puras o sintéticas y no destruir o alterar la muestra cuando se emplean potencias mínimas en la muestra. Trabajar con esta técnica consiste en estudiar las vibraciones moleculares producidas tras hacer incidir un haz de luz monocromático sobre una muestra. El principio básico de este fenómeno es reconocido como el de la dispersión inelásticas de la luz y fue

observado por Chandrasekhara Venkata Raman y su estudiante Krishnan (1928) y publicado por primera vez en la revista *Nature* ese mismo año. Este logro es solo la culminación de un arduo trabajo de investigación que duró casi una década. En realidad, los aportes constantes a la teoría cuántica realizados por Smekal, Kramers y Heisenberg, Schrödinger y Dirac permiten la predicción de este efecto, el cual fue denominado posteriormente como efecto Raman (Adar, 2001; Graves y Gardiner, 1989).

Cuando la luz de un láser monocromático interactúa con la materia, los fotones que la componen pueden ser absorbidos, dispersados o atravesar directamente la muestra. Esta energía que incide sobre la muestra y es nuevamente irradiada con la misma frecuencia de la luz incidente, es dispersión elástica y se denomina dispersión Rayleigh. Solo una pequeña porción de esta radiación incidente consigue distorsionar (polarizar) la molécula, hasta llevar a sus electrones a un estado excitado denominado estado virtual.

Este estado de la molécula es inestable y decae rápidamente, luego, la luz es dispersada desde esta con una energía diferente al incidente. Ante esto ocurre que, el fotón del haz incidente pierde energía porque es absorbida por las moléculas del material, esta produce una ganancia en su energía vibracional, y entonces este tipo de dispersión Raman se denominará Stokes. Por el contrario, cuando la molécula pierde energía vibracional se denomina dispersión Raman anti-Stokes (Fig. 2.4). Precisamente de esto se encarga esta técnica, de analizar los modos vibracionales de la muestra y a partir de esta información estudiar el espectro característico, es decir, la “huella dactilar” dejada por los fotones dispersados (Smith y Dent, 2019). Esta es una técnica que puede complementar información con la espectroscopía infrarroja (IR), que también es del tipo de espectroscopía óptica y estudia los modos vibracionales en la molécula al igual que la técnica de Raman. Debido a

que a las bandas activas de algunos de los componentes de la molécula tiene modos activos de vibración en Raman y en IR no, puede observarse la expresión de los picos característicos de una determinada muestra (Larkin, 2011).

Sobre la técnica, Socrates (2001) expone que entre las dificultades para aplicación de esta técnica se encontraba el costo excesivo que podían tener los espectrómetros Raman, menciona también que, las mejoras que había logrado hasta ese momento el análisis por espectroscopía IR la convertían en una técnica de mejor utilidad que la espectroscopía Raman. También menciona los problemas que la fluorescencia de la muestra podía generarse

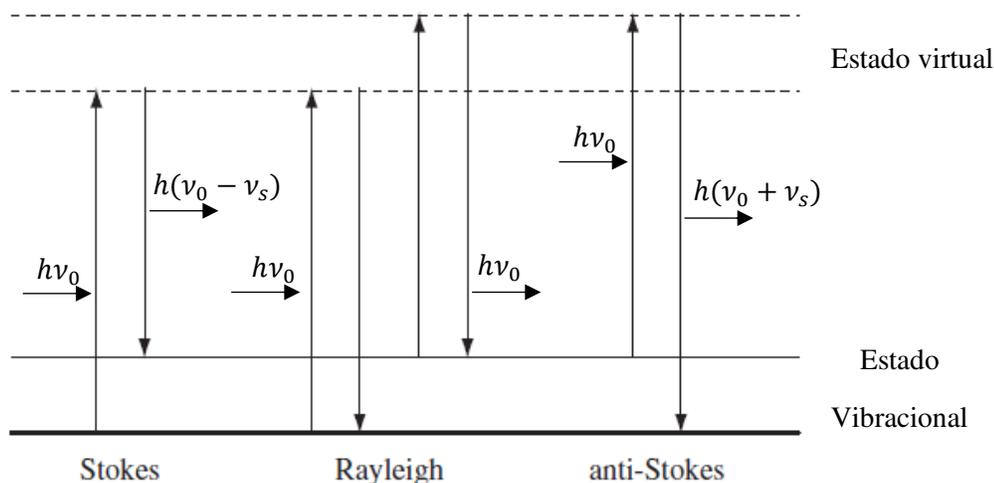


Fig. 2.4 Diagrama de la dispersión Rayleigh y Raman de tipo Stokes y Anti-Stokes.

en la identificación de las bandas vibracionales y complicar la lectura de estas, por lo que se optaba por la técnica IR. Al respecto, Mosca (2021) y Purcell (1990), refieren que la interferencia por fluorescencia puede ser minimizada empleando excitación roja o infrarroja cercana de 785 nm como fuente de luz para incidir sobre la muestra.

Espectrometría Mössbauer

Esta técnica experimental emplea la emisión y absorción resonante por los núcleos de rayos γ sin pérdida de energía por el retroceso. El objetivo de emplear esta técnica experimental se basa en el hecho de poder determinar el comportamiento magnético del hierro, a través de la información obtenida se conoce el estado electrónico de la muestra, la densidad de carga, el gradiente de campo eléctrico. Además, de establecer parámetros propios de la técnica como el corrimiento isomérico, el campo magnético hiperfino, el desdoblamiento cuadrupolar que permiten determinar el ordenamiento magnético de los dominios de iones de Fe, la densidad electrónica, el ancho del espectro y la intensidad relativa con asimetrías. Cuando se trata de NPM basadas en óxido de hierro, se buscará estudiar el isótopo ^{57}Fe . Esta técnica fue desarrollada principalmente por el físico alemán Rudolf Mössbauer en el año 1958, quién descubre el efecto de la absorción resonante en el isótopo para un estado excitado del ^{129}Ir con una energía de $E_\gamma=129 \text{ keV}$ y la baja energía de retroceso de $E_r=0.046 \text{ eV}$. Esta energía puede ser calculada con la siguiente expresión

$$E_r = \frac{E_\gamma^2}{2mc^2} \quad (2.21)$$

donde m representa la masa nuclear y c es la de la velocidad de la luz.

Como la energía de emisión sufre una pérdida debido al retroceso y en el absorbente esta energía depende directamente del estado eléctrico, magnético y químico de los átomos que componen el material, se corrige esta pérdida incluyendo el movimiento de la fuente radiactiva para producir efecto Doppler.

Metales pesados en cuerpos de agua

El deterioro en la calidad del agua ocurre debido a la presencia de agentes externos. Esto involucra a sustancias tóxicas o fácilmente solubles, microorganismos patógenos, sustancias que requieren de mucho oxígeno para su descomposición, que pueden alojarse en la superficie del agua de ríos, lagos y lagunas o depositarse en el fondo de estos interfiriendo con las condiciones naturales de estas fuentes de agua. La contaminación de estos cuerpos de agua puede ocurrir de forma natural; sin embargo, la presencia de estos contaminantes altera el curso natural de la biodegradación de algunos de estos contaminantes orgánicos. La Tabla 1 muestra como clasificar a este tipo de contaminantes y los efectos en el humano. Por ejemplo, con la eutrofización de los lagos o lagunas ocurre por el agotamiento del oxígeno debido al crecimiento excesivo de las algas que habitan, esto porque se nutren de los contaminantes disueltos en el medio (Verma y Dwivedi, 2013; Häder y Erzinger, 2017). Algunos de estos contaminantes son el plomo (Pb), arsénico (As), mercurio (Hg), cromo (Cr), níquel (Ni), bario (Ba), cadmio (Cd), cobalto (Co), selenio (Se) y vanadio (Va) además de algunos pesticidas, aceites o grasas que incluso siguen siendo tóxicos en bajas concentraciones de partes por millón (ppm) (Verma y Dwivedi, 2013).

Tabla 1.1 Clasificación de contaminantes sus fuentes y el efecto en los humanos. Tabla extraída y modificada de Govan (2020).

Categoría del contaminante	Subcategoría	Ejemplos selectos	Niveles permitidos (mg L ⁻¹)	Ejemplo de fuentes	Algunos efectos en la salud en humanos
Inorgánicos	Metales pesados	Cadmio	0.005	Minería e industria petrolera	Cáncer, diabetes y problemas cardiovasculares
		Plomo	0.015		
		cobre	0.05		
	Poliatómicos	Arsenato	0.05	Agricultura e industria del acero	Fallo renal, hipertensión, malformación ósea
		Cromato	0.05		
		Nitrato	50		

Orgánicos	Tintes	Metileno azul	0.01	Textiles e impresiones industriales	Mutagenicidad, genotoxicidad, cáncer
		Cristal violeta	20.8		
	Herbicidas	2,3-diclorofenol	0.01	Agricultura	
	Fármacos	ibuprofeno	NA	Industria farmacéutica	
Micro-organismos	Bacterias	Escherichia coli	1000+	Materia fecal en suelos	Enfermedades transmitidas por el agua, diarrea
	Virus	Virus de la polio-1	0++		

***D. magna* como un bioindicador ambiental**

El monitoreo de la calidad del agua ante una creciente población es necesario debido a que es el principal recurso que permite el desarrollo de las actividades cotidianas. Si bien el avance de la tecnología ha permitido que las técnicas de monitoreo y detección de contaminantes han mejorado, esto no sería suficiente debido a la demora en la entrega de resultados o los químicos que podrían llegar a afectar a los seres humanos. Como alternativa a la detección de los contaminantes presentes en el agua, se utilizan los bioensayos como procedimiento donde se emplean animales menores para dicho fin (Häder y Erzinger, 2017). En estos procedimientos se verifica la concentración o dosis que causa cambios morfológicos en individuos denominados “bioindicadores ambientales”. Esta clase comprende a toda fuente biótica o abiótica que reaccione significativamente ante los cambios ecológicos en su entorno (Parmar *et al.*, 2016).

Por definición los bioensayos proveen información acerca del contaminante químico y la relación con los cambios que presenta el bioindicador. Este nivel de toxicidad puede ser caracterizado cuantitativamente mediante la determinación del LC_{50} . Es decir, la

concentración que afecta al 50% de los individuos e inhiben ciertos aspectos de su desarrollo vital (Häder y Erzinger, 2017) o también conocida como la tasa de mortandad. Entre la ingente variedad de organismos que son altamente sensibles a los cambios físicos y químicos en su entorno. Entre los invertebrados, se encuentran algunos insectos (larvas o gusanos) y crustáceos (sobre todo especies marinas) que constituyen un importante grupo que define la regulación de algunos contaminantes ambientales de acuerdo con el daño causado sobre estos. En el empleo de crustáceos para la determinación de estos parámetros radica su importancia en que son útiles en tierra como en agua como la *D. magna*.

Morfología y ciclo reproductivo de *D. magna*

El entorno ecológico en un ecosistema está determinado principalmente por los organismos biológicos. Es decir, un ecosistema queda definido por las especies que encontremos en este entorno. Precisamente el desarrollo de las capacidades que le ayuden a destacar y permanecer en este entorno hace que una determinada especie consiga posicionarse en un nivel de la cadena trófica. Para las *D. magna* esto ocurre en los cuerpos de agua como pequeños lagos o lagunas donde desarrollan su ciclo de vida.

El ciclo de vida para *D. magna*, cuando las condiciones de temperatura y comida son adecuadas para su normal desarrollo, normalmente se encuentra alrededor de 56 días de vida, con etapas muy marcadas, las cuales la llevan a estar en forma de huevo, en el saco embrionario, las neonatas, que llegan a un tamaño de algunas micras, en la etapa juvenil, donde su organismo se va preparando para la procreación, y la etapa adulta, en la que se pueden producir un máximo de 6 a 10 huevos con clones hembra, cuando se producen cambios en el entorno de esta especie, pueden ser cambios físicos o químicos, se producen

sacos con huevecos aploides, que contienen machos, esto se indica en el esquema de la Fig. 2.5. Cuando están en etapa adulta estas *D. magna* machos fecundarán a las hembras generando variabilidad entre la población (Rosenkranz, 2010).

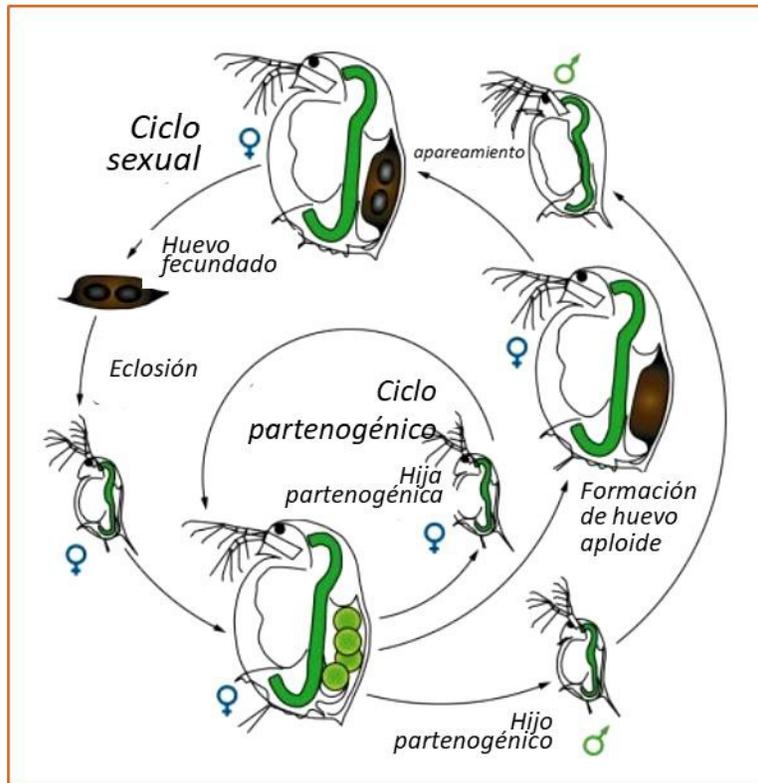


Fig. 2.5 Ciclo de vida de la especie de crustáceo *D. magna*, el tipo de reproducción es asexual desde hembras adultas, debido a los cambios en su entorno pueden producir huevos con individuos macho. Estos posteriormente fecundarán a las hembras en etapa reproductiva (esta imagen se adaptó al español del trabajo de Rosenkranz, 2010).

Capítulo 3

Técnicas experimentales

Síntesis de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@PSS}$

En el presente trabajo de tesis se empleó la ruta de síntesis de coprecipitación química, donde el agente estabilizador es añadido durante el proceso de síntesis. Con esta técnica aseguramos la formación de las NPM con la mezcla estequiométrica de sales de hierro Fe^{2+} y Fe^{3+} en un medio acuoso (Carlos *et al.*, 2013). El agente estabilizador consistió en el

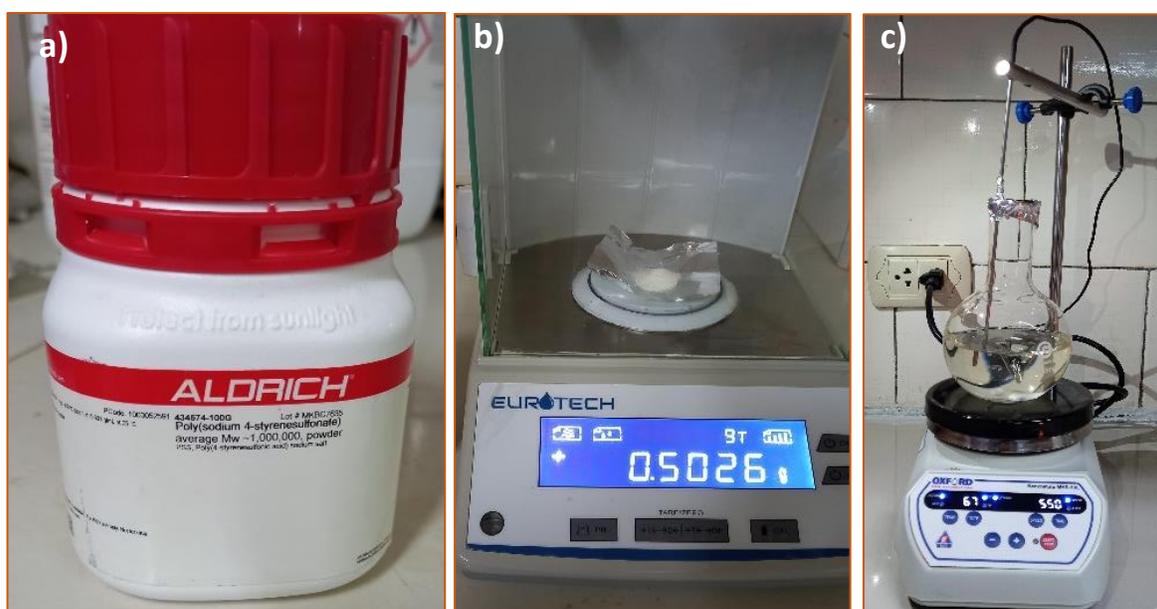


Fig. 3.1 a) PSS b) cantidad medida del polímero c) agitación de la solución del polímero en agua destilada. Este polímero no produjo grumos.

polímero Poli(sodio 4-estireno sulfonato) (PSS) adquirido de Sigma Aldrich. En este proceso se emplearán una cantidad de 500 mg de este polímero. Este polvo color blanco es añadido a una bomba de fondo plano que contiene 250 mL de agua destilada, la cual se precalentó a una temperatura aproximada de 80 °C en el agitador magnético (Fig. 3.1). Se mantuvo en

agitación vigorosa (550 rpm) a una temperatura aproximada de 70 °C por el espacio de 30 minutos aproximadamente hasta continuar con el siguiente paso. Si la mezcla hubiera ido formando grumos se aumentaban las revoluciones de agitación a 600 rpm. En este caso no se observaron la formación de grumos por lo que no fue necesario el aumento de las revoluciones.

La cantidad de las sales de hierro deben ser cuidadosamente medidas para conservación la relación molar de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+} \sim 0.5$. El ion Fe^{2+} proviene del sulfato de hierro (II) heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), donde se empleó una cantidad de 5.20 g. El ión Fe^{3+} se obtiene de la sal cloruro de hierro (III) (FeCl_3) y se usa una cantidad de 6.01 g, estos reactivos son adquiridos de Sigma Aldrich. En el proceso de la síntesis, se añadió estas sales a la solución de PSS y agua destilada. Rápidamente se observó el cambio de fase tan solo con el cambio de color a rojizo (Fig. 3.2). En este punto es importante mantener la agitación (550 rpm) y la temperatura aproximada de 80 °C de la solución. El agente precipitador es hidróxido de amonio (NH_4OH) a una concentración de 0.5 M, del cual se añaden 25 mL

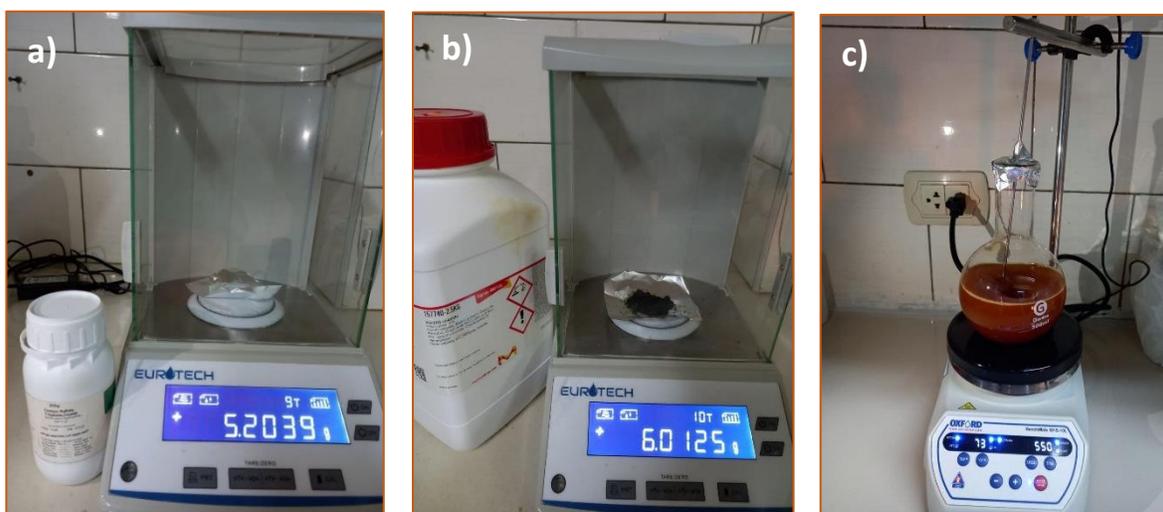


Fig. 3.2 a) Masa medida de $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ b) Masa medida de FeCl_3 c) sustancia rojiza, producto de la combinación de las sales de hierro con el polímero disuelto.

usando una micropipeta. En este punto es de extrema importancia mantener la máscara de doble filtro colocada y la campana de extracción encendida para evitar la inhalación de los gases emanados por la solución. De inmediato la solución cambió a un color negro, con esto estamos evidenciando la formación del óxido de hierro (Fig. 3.3). La muestra obtenida se etiquetó como RV1.



Fig. 3.3 a) La solución rojiza se torna oscura al agregar el NH_4OH b) se mantiene la agitación y la temperatura en el agitador magnético c) tras media hora de agitación dejamos reposar la solución d) realizamos la decantación con ayuda de un imán de neodimio y enrasamos con agua destilada, esto se debe realizar hasta verificar que el agua retirada tenga un pH neutro e) vertemos el contenido en *beakers* después de limpiar al menos cinco veces con el imán entre los *beakers* f) retiramos el agua sobrante y en este paso aprovechamos para retirar 2 mL de esta muestra en tubos portamuestra para el análisis micro-Raman g) dejamos en calefacción por un espacio de 2 horas a 80 °C h) finalizado el proceso trituramos con un mortero de borosilicato y medimos la masa del resultado sobre trozos de papel de aluminio y i) finalmente colocamos una cantidad en tubos portamuestra para su caracterización posterior por DRX.

Caracterización

Esta sección comprende los aspectos teóricos de las técnicas empleadas para la caracterización de la muestra sintetizada. Se empleó las técnicas de difracción de rayos X (DRX), donde se realizó el análisis del difractograma a través del refinamiento por el método Rietveld para conseguir la información microestructural de la muestra. La espectrometría Raman es útil en la identificación de nanocompositos, nanocristales, polímeros, en palabras sencillas, a través de los modos vibracionales con la dispersión inelásticas de un haz de luz (Vašková, 2011).

Difracción de Rayos X (DRX)

Los datos obtenidos fueron proporcionados por el difractómetro que se muestra en la Fig. 3.4, de marca Empyrean (Malvern Panalytical, Malvern, UK) del Centro Brasileño de Investigaciones Físicas. La operación se llevó a cabo con una radiación CuK_α ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$), 45 kV y 40 mA. La recolección de los datos se realizó en el rango de $2\theta = 10^\circ - 80^\circ$, empleando un paso de 0.026° y resolución a 2000 s por paso. La configuración utilizada para esta muestra en polvo fue la de Bragg-Brentano. El software empleado para la identificación de las fases y de los picos, es decir, la indexación de los picos principales del perfil de difracción y la búsqueda de la información cristalográfica en una base de datos para llevar a cabo el refinamiento de la muestra por método Rietveld, fue realizado con el software Match V3 de Crystal Impact. El refinamiento de la muestra se llevó a cabo con la herramienta de edición de PCR, EdPCR, del software de uso libre Fullprof Suite y el gráfico de la muestra refinada se realizó con la ayuda del programa OriginPro 9. Además, se empleó el software libre VESTA para poder observar la estructura la red primitiva que constituye la muestra y

la distribución atómica. Estos programas utilizados para el análisis físico de RV1 se muestra en la Fig. 3.5.

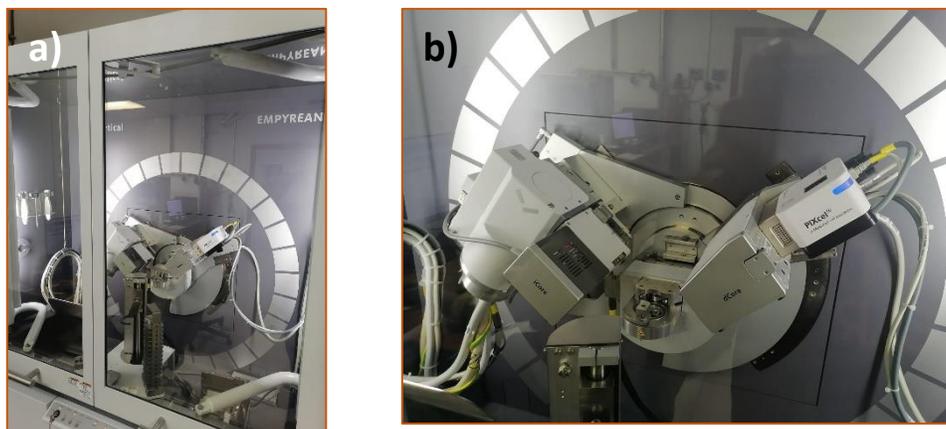


Fig. 3.4 a) Parte frontal del difractograma Empyrean del Centro Brasileño de Investigaciones Físicas. b) La configuración geométrica de la medición RV1 fue la de Bragg – Brentano.

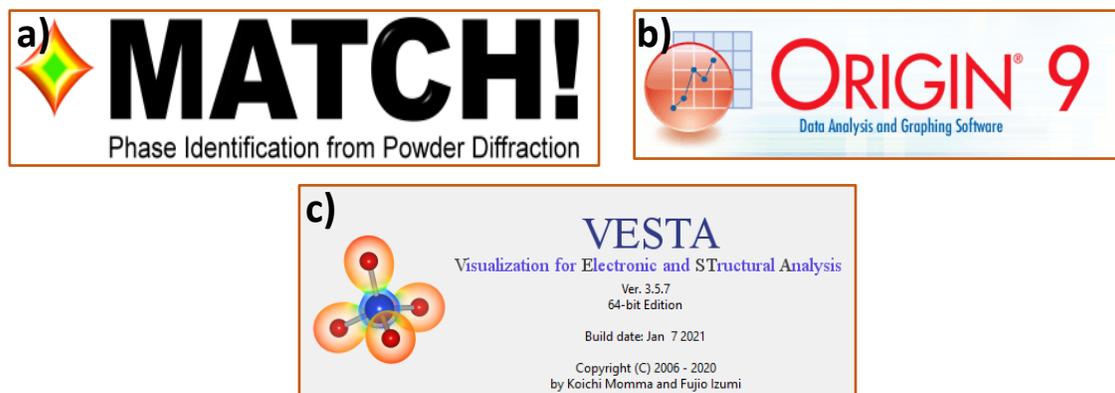


Fig. 3.5 a) Match! Versión 3 de los desarrolladores de software Crystal Impact. b) Origin Pro 9 de la corporación OriginLab. c) Software libre VESTA desarrollado por R. A. Dilanian y F. Izumi durante 2001 – 2004.

Determinación del grupo espacial para RV1

Este proceso comienza con la identificación de la fase cristalográfica adecuada con el software Match v3. De este software se descargó el archivo con extensión *.cif (del inglés Crystallographic Information File) que mejor coincide con el perfil de RV1. El grupo espacial de este archivo es $Fd\bar{3}m$, cúbico con carta cristalográfica número #9006316 de la base de datos COD (del inglés Crystallography Open Database) y parámetro de celda inicial de 8.33 Å. La resolución de 2000 s por paso permitió que el difractograma se muestre con una resolución óptima, mejorando significativamente en el procedimiento del refinamiento de la muestra por el método de Rietveld. Debido a que, la expresión cristalina del polímero es despreciable en este difractograma, solo se empleó la información cristalográfica de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ para la identificación de la fase cristalográfica. Teniendo en cuenta que la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ puede pertenecer a los grupos espaciales $P4_132$ y $Fd\bar{3}m$ se descartó a la primera de estas debido a que no existe la presencia de un pico en los ángulos iniciales del difractograma. Además, los planos cristalográficos (111), (202) y (311) son representativos del grupo espacial $Fd\bar{3}m$.

Procedimiento para el refinamiento por método Rietveld de RV1

Desde la interfaz de usuario de Fullprof Suite se elige la herramienta EdPCR (editor de archivo PCR), mostrados en la Fig. 3.6, del cual se genera un archivo con extensión *.pcr (archivo de control de entrada) que contiene la información cristalográfica de la muestra, así como los parámetros refinados, también se genera un archivo con extensión *.sum y .out que contienen el resumen del último refinamiento y la información estadística respectivamente. La información cristalográfica de los parámetros iniciales para $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ son el punto de

partida para el proceso del refinamiento. Esta se inserta y se coloca el título del documento refinado en la información general. La información de la hoja de datos del difractograma, así como el formato del documento, se encuentran en formato XY de dos columnas. Luego, se añade el rango de difracción y el paso de la muestra, además del tipo de función que modelará los picos de RV1. Para esta muestra se empleó la función TCHZ. La información del fondo del perfil fue trabajada con un polinomio de 6 coeficientes. La geometría de difracción se mantuvo seleccionada en Bragg-Brentano. La información de la función de resolución del instrumento (archivo con extensión *.irf) se añade al conseguir una bondad de ajuste cercana a 1. En este refinamiento no se variaron los parámetros de asimetría y el valor para el parámetro cero del refinamiento instrumental determinado fue de 0.207.

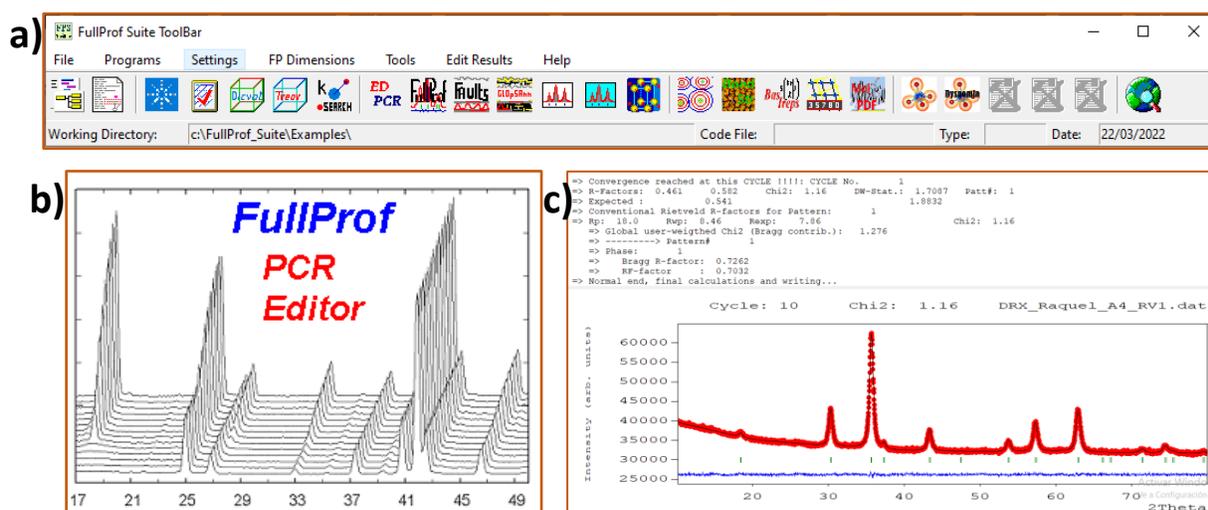


Fig. 3.6 a) Interfaz de usuario del software libre FullProf Suite. b) Herramienta de edición de archivos de control de entrada PCR. c) Resultado obtenido luego de ejecutar el programa FullProf Suite donde se muestra el ajuste del perfil y la información estadística del refinamiento.

El orden de los parámetros refinados se basó en las recomendaciones y observaciones de Rodríguez-Carvajal (2001) y Flores *et al.* (2021). Además, se definió parámetros iniciales para los coeficientes de Cagliotti con $U = 0.003$, $V = -0.003$ y $W = 0.003$. La primera parte de este proceso consiste en refinar el parámetro de escala y luego el parámetro de la red. Por

separado, se fueron refinando cada uno de los 6 coeficientes de la información del fondo del perfil, agregando el punto cero del instrumento. Teniendo desactivadas las casillas del fondo, se prosiguió con el refinamiento de los coeficientes de Cagliotti primero W, luego U y finalmente V. Como está indicado en el apartado teórico, los valores correspondientes a X y Z corresponden a la deformación microestructural y el tamaño del cristalito respectivamente por lo que estos se refinaron junto a los coeficientes de Cagliotti. Es importante que el parámetro de tamaño isotrópico gaussiano (IG) se encuentre refinado, es decir con un valor diferente de cero, para poder obtener el tamaño del cristalito. La segunda parte de este proceso consiste en refinar las posiciones atómicas, las ocupancias y los factores térmicos. Las ocupancias se fijaron en 1 y se fueron refinando una por una. En este punto se debe mantener un documento con el resultado del refinamiento anterior que sirve como respaldo en caso no consigamos los resultados adecuados para evitar repetir todo el procedimiento. Luego, se refinan los factores térmicos cuidando que los valores no resulten negativos debido a que físicamente representan las distancias en que los átomos pueden vibrar. Tras conseguir que la bondad del ajuste sea cercana a 1 se deben repetir los pasos del refinamiento, en esta ocasión se pueden mantener activa todas las casillas del fondo del perfil junto a 2 parámetros de Cagliotti y los parámetros de forma X o Z. Repetir nuevamente el proceso, hasta conseguir un $\chi^2 \sim 1$. Para el refinamiento de RV1 se consiguió un valor de $\chi^2 = 1.16$. La información del tamaño del cristalito y el estrés cristalográfico se obtiene del archivo *.mic, el mismo que se genera desde la opción 'Output' de la ventana principal del editor de EdPCR añadiendo el archivo *.irf que, para este caso, se empleó el patrón de difracción de Al₂O₃.

Espectroscopía Raman

El espectrómetro utilizado se muestra en la Fig. 3.7, el cual está conformado por microscopio Raman inVia-Renishaw Raman y el conjunto de fuentes con diferentes longitudes de onda del Centro de Caracterización de Materiales de la Pontificia Universidad Católica – CAMPUCP. Se realizó una medición extendida en todo el rango hasta 3200 cm^{-1} . El láser usado para la medición del polímero PSS fue de una longitud de onda de 633 nm adicionalmente se empleó la fuente 785 nm sobre el mismo. Las medidas se realizaron con acumulaciones de 10 s . La fuente utilizada para la medición de RV1 antes y después del recocido fue de 633 nm . La potencia inicial utilizada fue de 7.17 mW y se empleó un objetivo de $50\times$. El tiempo de exposición para cada muestra fue de 10 s usando 2 acumulaciones dando un tiempo total de exposición de 20 s para cada potencia usada sobre la muestra. Para estas medidas se empleó porcentajes de la potencia inicial de 0.05% , 0.1% , 0.5% , 1% , 5% , 10% y 50% .



Fig. 3.7 a) Microscopio confocal Raman inVia – Renishaw. b) Vista superior de las Fuentes de rayos láser usados en el Centro de Caracterización de Materiales de la PUCP.

Espectroscopía UV – Visible

Esta técnica aprovecha la absorción o transmisión de la radiación electromagnética que puede realizar un material al ser incidido por una fuente de luz determinada, en una región específica del espectro electromagnético. Esto se realiza para promover electrones desde un estado fundamental hacia uno excitado. La energía necesaria para poder promover a estos electrones, que conforman los enlaces intermoleculares, está relacionada con la frecuencia de la radiación electromagnética a través de:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu \quad (3.1)$$

donde, E_i es la energía molecular, h es la constante de Planck, ($6.626 \times 10^{-34} J \cdot s$) y ν es la frecuencia de la radiación electromagnética. Sin embargo, es común utilizar el valor del número de onda $\tilde{\nu} = c/\lambda$, por lo que el cambio de energía del sistema cuantificado resultaría en

$$\Delta E = hc\tilde{\nu} \quad (3.2)$$

Cuando los fotones de luz incidente entran en contacto con la molécula, ésta captura la energía del haz incidente donde la cantidad de energía absorbida depende de la longitud de onda de la luz incidente. Este fenómeno se denomina absorbancia y ocurre porque la frecuencia de la luz incidente se adapta a la frecuencia de las vibraciones moleculares de la muestra. La absorbancia depende la concentración de la solución, esto puede ser explicado a través de la ley de Beer-Lambert.

El espectrofotómetro, que se muestra en la Fig. 3.8, es de tipo modular compacto de la marca AVANTES. Con una fuente de Deuterio halógena y la medición empleó una rendija de 25 μm , el cable de transmisión es de fibra de vidrio. La cubeta utilizada fue de cuarzo donde la muestra fue disuelta en agua destilada. El rango de estudio es de 250 – 550 nm.



Fig. 3.8 Esquema de trabajo empleado en el análisis de la muestra RV1 por UV-Vis marca AVANTES disponible en el Laboratorio NANOTECH de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

El equipamiento empleado para la obtención de las imágenes de MET indican el promedio del tamaño de las partículas, su distribución y la morfología se utilizó un microscopio JEOL 2100FX (Tokyo, Japón) de 200 kV, el instrumento de microscopía de imágenes fue utilizado en modos de transmisión y con alta resolución. La estimación de la Distribución del Tamaño de la Partícula (DTP) se realizó de entre 800 a 1000 partículas

contadas en 30 – 35 imágenes. El ajuste estadístico de DTP se consiguió con el software Imagen J.

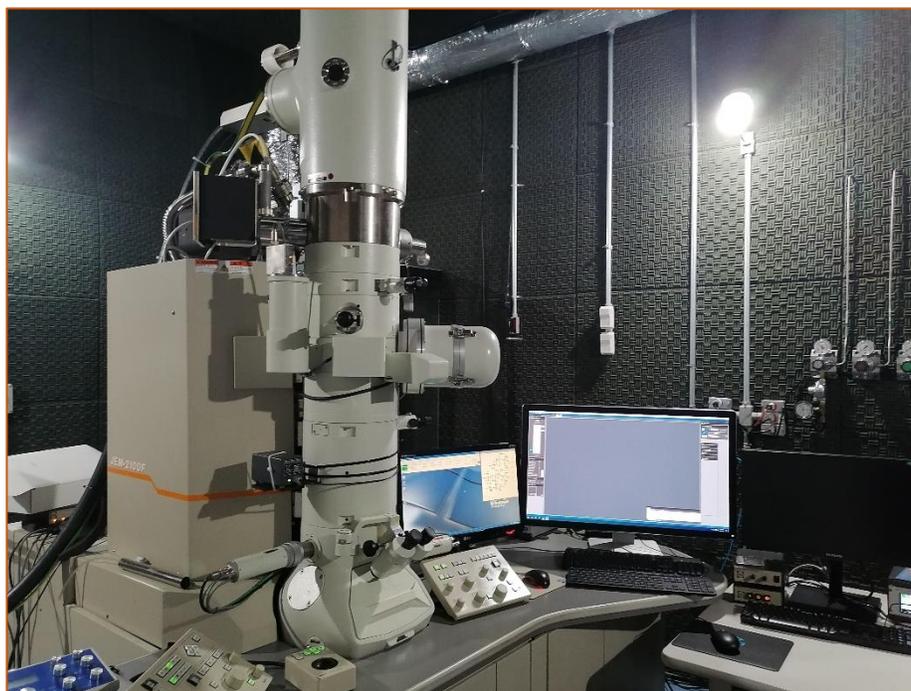


Fig. 3.9 Microscopio Electrónico de Transmisión del Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) en Río de Janeiro.

Espectrometría Mössbauer

La configuración experimental para la obtención de los espectros Mössbauer se realizó con un espectrómetro convencional (Fig. 3.10). Una fuente de ^{57}Co de 25 mCi inmerso en una matriz de Rh, el barrido de la muestra se llevó a cabo con una velocidad sinusoidal. La toma de muestra se realizó a una temperatura ambiente de 300 K y a baja temperatura de 15 K. para este caso es importante mencionar que la temperatura se mantuvo a 300 K, posteriormente se redujo la temperatura del absorbedor hasta los 15 K, usando la configuración de ciclo cerrado de Janis. El portamuestra empleado fue uno circular de material de Nylon con un espesor de efecto equivalente a 0.1 mg de ^{57}Fe por cada cm^2 .

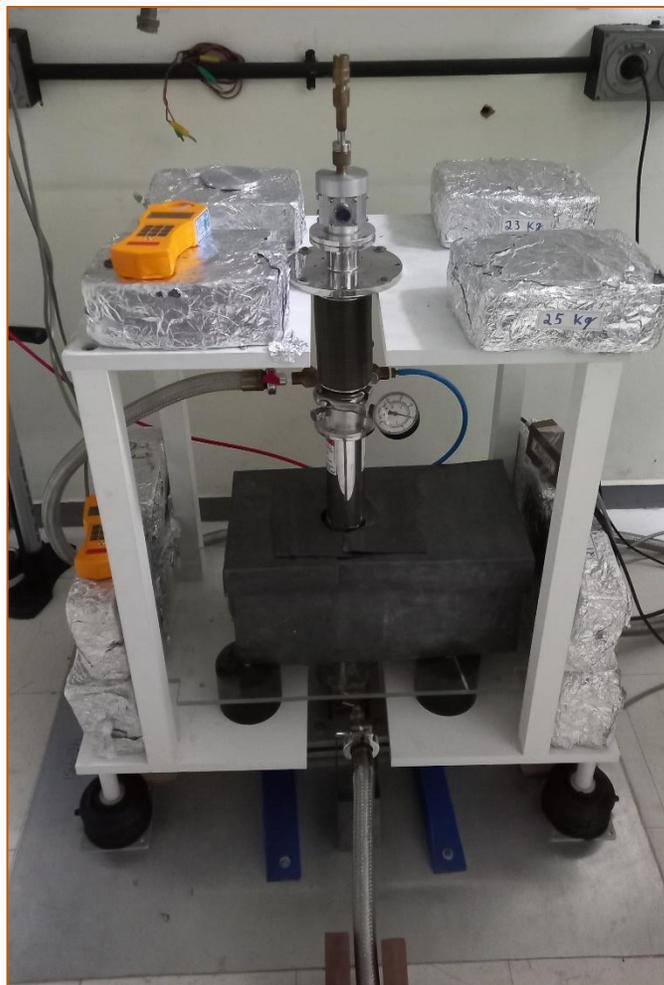


Fig. 3.10 Espectrómetro Mössbauer del Laboratorio de Espectroscopía Mössbauer y Magnetometría del Departamento de Física de la Universidade Federal do Espírito Santo (LEMAG/UFES).

Magnetometría de Muestra Vibrante (MMV)

Los datos de la información magnética, como el ciclo de histéresis $M(H)$, fueron colectados por el Sistema de Mediciones de Propiedades Físicas (PPMS del inglés Physical Properties Measurement System) Dynacool de Quantum Design, del cual se empleó el módulo de MMS a un campo máximo y mínimo de ± 7 T. El intervalo del campo en que las medidas fueron realizadas se encontró oscilando entre la temperatura ambiente (300 K) y a

la baja temperatura de 5 K. La masa medida para poder realizar la prueba experimental fue de 6.09 mg.



Fig. 3.11 Equipo PPMS del LEMAG/UFES con el cual se realizó la prueba experimental de MMV.

Ecotoxicidad de RV1 en *D. magna*

Cultivo de *D. magna*

La Fig. 3.10 muestra el entorno para el cultivo de *D. magna*, en el laboratorio de Reproducción y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), se acondicionó de tal manera que se asegurara una gran cantidad de individuos y la permanencia de la fase reproductiva asexual. La temperatura promedio de cultivo fue de 21 °C aproximadamente, para la alimentación se emplearon microalgas de variada especie.

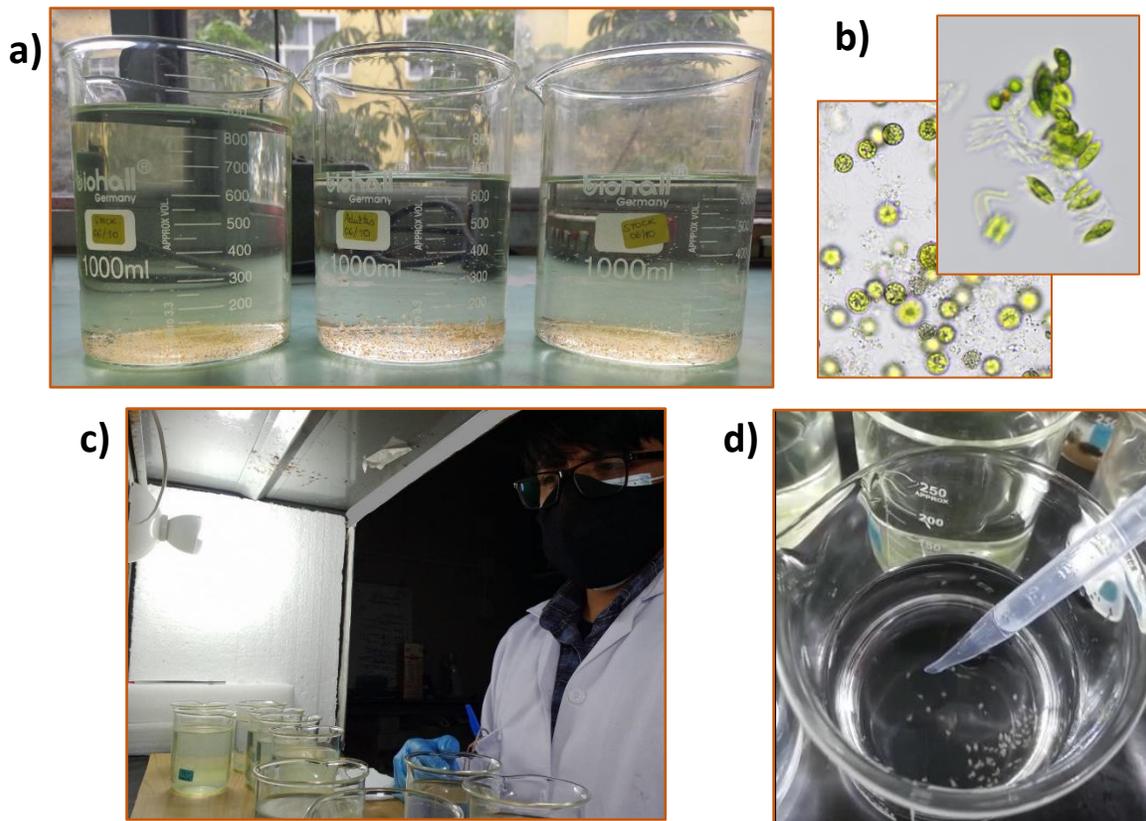


Fig. 3.10 a) Envases de 1 L que constituye la reserva principal de *D. magna*. Cada envase contiene la fecha en la que se separaron para realizar un control más riguroso de la reproducción de los individuos b) Microalgas observadas en un microscopio óptico Eclipse e100. c) Área de trabajo donde se realiza la selección y separación de las *D. magna*. d) Para realizar la selección de los individuos se debe emplear una pipeta Pasteur.

Cabe destacar que el agua empleada para simular el entorno acuático estuvo constituida exclusivamente por agua marca CIELO. La limpieza de los recipientes de vidrio de 1 L que las contiene fue diaria retirando cuidadosamente algunos desechos dejados en el proceso de muda o las excretas producidas por *D. magna*.

Para asegurar la homogeneidad de la población, es decir que solo se trate de individuos femeninos como se indica en la Fig. 3.11a), se revisó diariamente los envases y retiraron los individuos machos que pueden producir reproducción sexual, como se muestra en la Fig. 3.11b), debido a que la descendencia generaría variabilidad en los individuos y el objetivo de este trabajo es emplear individuos idénticos. Para tal efecto se debe considerar que, la población de *D. magna* por lo general solo está constituido por hembras que se reproducen por partenogénesis y solo producen descendientes machos cuando son sometidas a condiciones de estrés ambiental, como los cambios de temperatura y concentración de

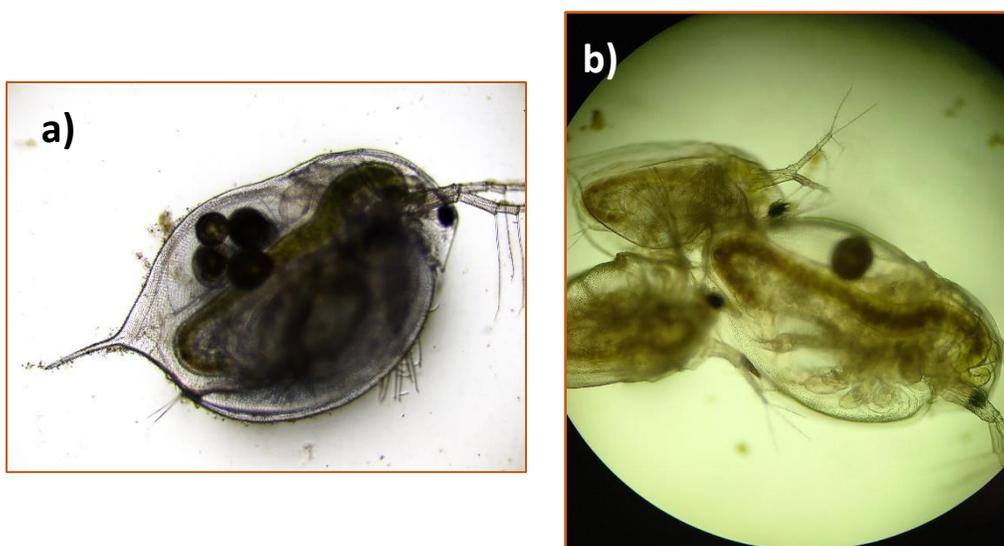


Fig. 3.11 a) Las hembras de *D. magna* son preservadas en los envases contenedores. Identificarlas es relativamente sencillo debido a que el saco embrionario contiene huevos esféricos. b) De lo contrario, las epifias generarán machos que posteriormente intentarán fecundar a las hembras de los envases.

contaminantes en el agua. En estos casos, se puede detectar con anticipación la presencia de machos en el envase debido a lo visible de las epifias en la cámara incubadora de la *D. magna* (Rosenkarnz, 2010).

Tasa de mortalidad en *D. magna* y determinación de LC_{50}

Antes de la aplicación de los bioensayos y las fases experimentales de RV1 sobre *D. magna* se debe cumplir estrictamente los lineamientos de la bioética. Es decir, se debe tener plena conciencia que se está trabajando sobre seres vivos para determinar el LC_{50} de la muestra sintetizada en el laboratorio. Por tal motivo, la preparación previa de los pasos a seguir, el cálculo de las concentraciones y los tiempos de exposición deben ser controlados de tal manera, que se pueda optimizar la obtención de resultados sin abusar de la cantidad empleada de individuos para las exposiciones. Finalizado el ensayo ecotoxicológico se debe sacrificar a los individuos sobrevivientes tras culminar el periodo de exposición y haber realizado las mediciones correspondientes.

En esta parte de la experiencia se comenzó con la selección de un gran grupo de *D. magna* adultas hembra, que se aclimatarán durante 2 semanas hasta tener una buena cantidad de neonatos. La edad considerada de los individuos (es decir, *D. magna*) es la etapa juvenil, esto debido a que no se considerará para este estudio la tasa de natalidad. Por lo que el tiempo de exposición de RV1 sobre los individuos será de 24 a 48 h. Respecto a las concentraciones escogidas para RV1 se basó el artículo de Baumann *et al.* (2014) que indicaban una proporción para NPM en estudios ecotoxicológicos. Para este estudio se eligió 5 concentraciones iniciales considerando un duplicado de la exposición por cada concentración de RV1. La preparación consistió en determinar la masa para un contenido de 200 mL de

agua CIELO, lo que puede conducir a un valor por litro de agua que permitirá homogenizar los cálculos estadísticos. Por lo tanto, la Fig. 3.12 muestra que, la cantidad medida para RV1 fue de 5, 10, 20, 40 y 80 mg la cual se disolvió en 200 mL para cada una. Entonces, las concentraciones por cada litro de agua CIELO es en realidad de 25, 50, 100, 200, y 400 mg L⁻¹. Estas cantidades se deben repetir para considerar el duplicado del experimento por lo que en total se tuvieron 10 beakers con esta solución de RV1 más agua. Antes de realizar la exposición de RV1 a las *D. magna*, se debe asegurar una adecuada dispersión del material en el beaker por lo que se empleó un sonicador para dicha finalidad.

Posteriormente se agrega cada cantidad en sendos *beakers* con 200 mL de agua marca CIELO debido a que esta es la que simuló el entorno acuático de los biomarcadores.



Fig. 3.12 Cantidad de RV1 medida. Estas cantidades se usaron por duplicado.

Para asegurar la dispersión completa de las NPM se procedió a sonicarlas por espacio de 15 min para cada beaker (Fig. 3.13). Tras observar que el agua contiene las partículas dispersas de RV1 se procedió a añadir 15 individuos (es decir, las *D. magna*) a cada *beaker*. En total se consideró para esta primera parte un total de 150 individuos. El tiempo de exposición fue de 24 h dentro de las cuales no debían ser alimentadas.

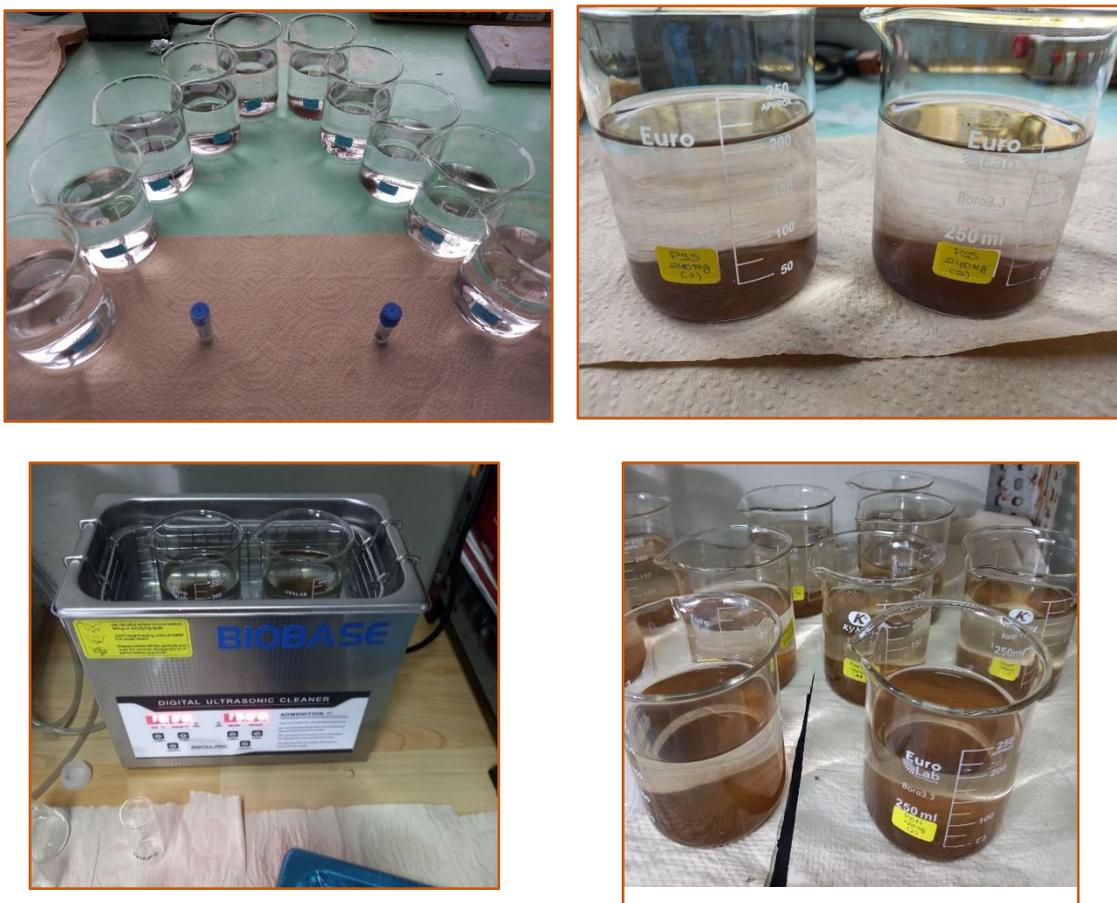


Fig. 3.13 a) Luego de añadir las cantidades de RV1 a cada beaker. b) Se observó la rápida floculación de RV1 al fondo de los beakers. c) Esto motivó a sonicar cada concentración para tener NPM disueltas en el medio. d) Se repite este procedimiento para las 5 concentración por duplicado.

El subsecuente resultado de la primera parte fue lo que motivó a que se repitiera el experimento. Iniciando desde la selección de los individuos y separándolos de la reserva

principal. En esta ocasión se utilizaron concentraciones más elevadas. Las concentraciones utilizadas para esta segunda parte tienen como la cantidad mínima a 400 mL^{-1} , luego siguió la de 400, 600, 800, 1000 y 1200 mg L^{-1} . La masa de RV1 para alcanzar estas concentraciones en beakers con 200 mL de agua CIELO fueron de 80, 120, 160, 200 y 240 mg^{-1} .

Tras culminar el periodo de 24 h para cada experimento se procede a contar las sobrevivientes. El porcentaje de los decesos determinará el grado de concentración letal que constituye RV1. Para ello se elaboró una tabla con las concentraciones el logaritmo de estas, el porcentaje de decesos y el correspondiente valor PROBIT asignado al porcentaje de decesos.

Capítulo 4

Resultados y discusiones

Análisis de difractograma

El resultado del ajuste por método de Rietveld de la DRX de los datos recogidos para RV1 se presenta en la Fig. 4.1, esta gráfica fue generada por la herramienta gráfica WinPlotr del software Fullprof Suite y ploteada con Origin Pro 9. La estructura de RV1 se obtuvo mediante el software VESTA con el archivo *.cif generado tras el refinamiento de esta. Los parámetros finales del refinamiento, geométricos y estadísticos, se muestran en la Tabla 4.1. Durante el refinamiento se mantuvo fijo el valor de las posiciones atómicas. Para esta estructura de espinela inversa que se sintetizó a través de la ruta de coprecipitación química se identificó una longitud en el parámetro de red de 8.35 \AA , este resultado también lo exhibe el trabajo de Shokrollahi del 2017. Los planos cristalográficos (hkl) correspondientes y su

respectivo ángulo obtenido con el refinamiento fueron: en el plano (111) en un ángulo de 18°; el plano (220) en el ángulo de 30°; el plano (311) y más intenso se identificó en 35°; la leve expresión del plano (222) se muestra alrededor de 37.5°; y los valores para (400), (331), (422) y (404) con ángulo respectivos de 43°, 47.3°, 53.7° y 62.9°. Y respecto al tamaño del cristalito este se pudo determinar a través de la ecuación modificada de Scherrer, que se indica en el manual de introducción al programa Fullprof de Rodriguez-Carvajal del 2001. Entre una de las ventajas de emplear este software se encuentra la de conseguir el tamaño para cada uno de los picos del difractograma con una función de armónicos esféricos. Esta función utiliza 5 coeficientes y debido a la forma cúbica de este óxido de hierro, se mantuvo la clase Laue en m3, la cual está contemplada para estructura de este tipo.

Tabla 4.1 Resumen de los parámetros geométricos y estadísticos de la muestra RV1.

Muestra	Átomos	Posiciones atómicas			Ocupancia	Parámetros de red (Å)	Coeficientes de Cagliotti
		x	y	z			
RV1 (Sistema cúbico) Fd $\bar{3}$ m	Fe-tet	0.125	0.125	0.125	0.041	a=b=c=8.35 $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$	U=0.305
	Fe-oct	0.500	0.500	0.500	0.074		V= - 0.008
	O	0.253	0.253	0.253	0.160		W=0.184 I _G =0.106 X=0.026 Y=0.353
Tamaño de cristalito (nm)				11.39	Tensión de red		26.11
Parámetros estadísticos		R _p = 18.0% R _{wp} = 8.46% R _{exp} = 7.86% $\chi^2 = 1.16$					

La estimación del tamaño del cristalito para RV1 resultó obteniendo el promedio conseguido en cada plano cristalográfico cuyo promedio es de 11.39 nm, este resultado difiere del conseguido por Ramos *et al.* (2014) para una γ -Fe₂O₃ de grupo espacial P4₁32 de un tamaño de cristalito de 5.7 nm. Esta diferencia se puede comprender mucho mejor a partir de dar lectura al artículo de Canchanya-Huamán *et al.* (2021), donde se describe que la

determinación del tamaño del cristalito logra ser más efectiva al ser tratada mediante el método de Rietveld frente la técnica de Scherrer. Los resultados en dicho artículo logran ser contrastados con el análisis mediante la técnica de espectroscopía Raman y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM por sus siglas en inglés) que se discutirá en una sección posterior.

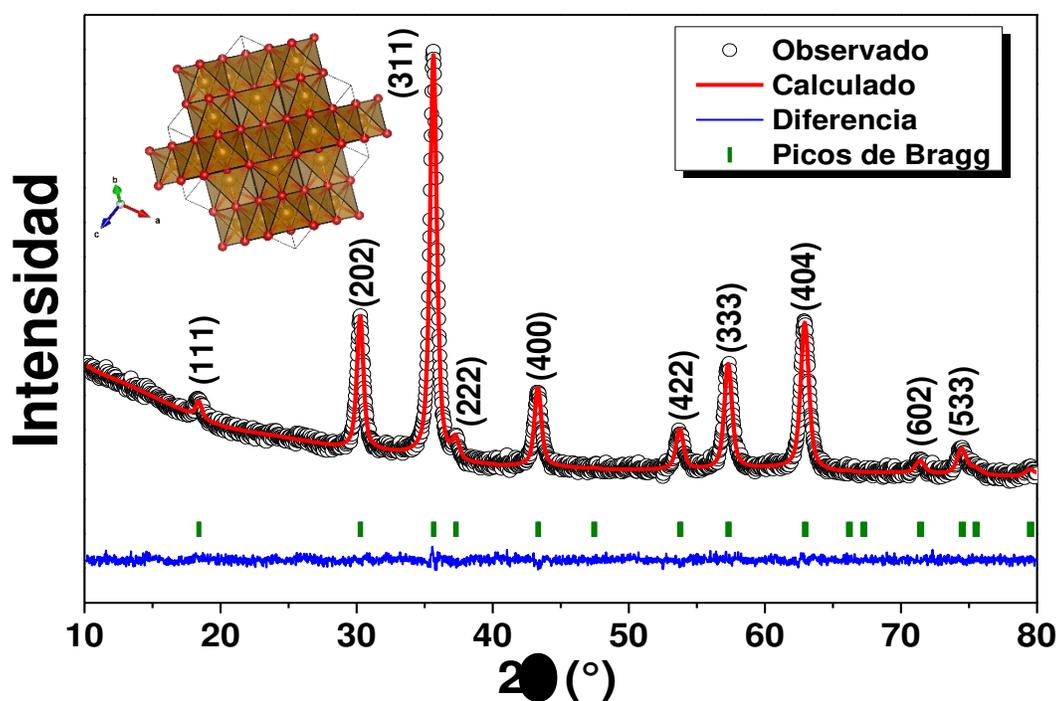


Fig 4.1 Refinamiento de RV1 indicando los índices de Miller adecuados para la estructura con $Fd\bar{3}m$. Además, se muestra el gráfico de la estructura de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ realizada con el software VESTA a partir del archivo *.cif que se puede generar en Fullprof Suite.

Medida de RV1 por TEM

La Fig. 4.2 muestra la distribución de tamaño y la morfología de las partículas que componen a RV1, realizada mediante TEM, que en su mayoría lucen homogéneas y uniformes. El promedio en el tamaño de estas se identificó alrededor de 11 nm, lo cual

coincide con el tamaño estimado para el cristalito de la muestra medido mediante DRX. Además, en esta imagen se puede apreciar que la cobertura de PSS sobre la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ evita su

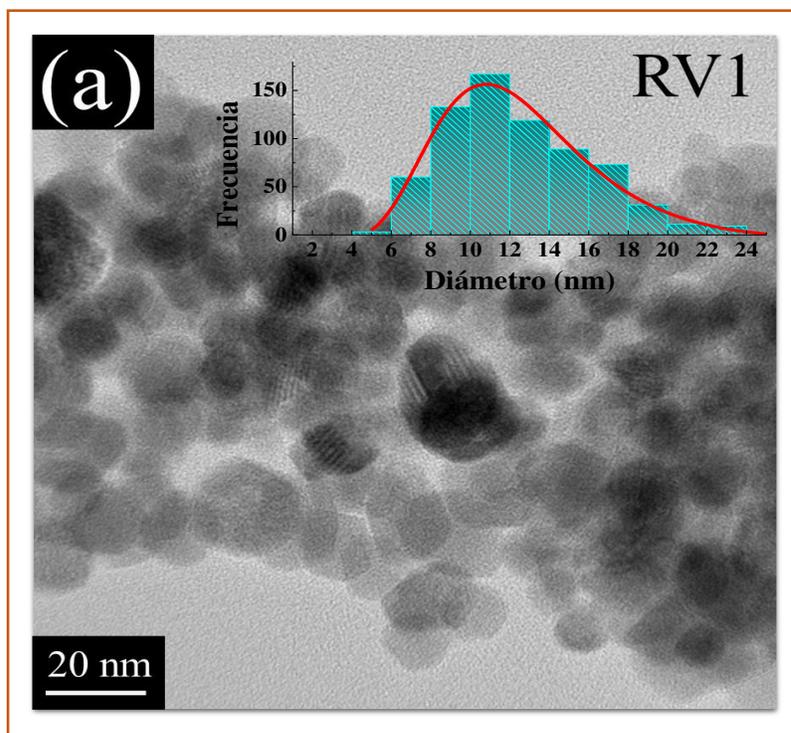


Fig. 4.2 Imagen TEM de RV1 donde se indica en el recuadro interior el gráfico de barras correspondiente al promedio del diámetro del cristalito.

aglomeración, lo que está de acuerdo con la literatura, es decir, los grupos funcionales de los polímeros recubren al cristalito de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ dotándole estabilidad.

Análisis de espectros Raman

Los datos obtenidos del espectrómetro Renishaw se graficaron con en el software Origin Pro-9, por lo que la identificación inicial de los picos se realizó con la herramienta Data Reader del mismo software. Solo cuando fue difícil de discernir la pertenencia e

identificación de las regiones para los modos vibracionales se realizará un ajuste al rango donde se encuentra el pico.

Para ubicar fácilmente al polímero en RV1 fue necesaria la medición del espectro Raman sobre este. La medida fue realizada primero con el láser de He-Ne con longitud de onda de 633 nm. Debido a la interferencia por fluorescencia presente en el espectro fue necesario el cambio de la fuente por una cercana al infrarrojo con longitud de onda de 785 nm. En la Fig. 4.3 se compara los espectros medidos para ambas fuentes del láser en el rango de 200 a 3000 cm^{-1} para entender cómo se corrige la interferencia por fluorescencia. Ambos espectros pertenecen a 3.59 mW de potencia. Además, se indican los picos característicos del polímero, donde, la señal medida a 633 nm expresa dichos picos a pesar de la interferencia por fluorescencia. También, se muestra la microscopía Raman del PSS antes de ser sometido a la medición.

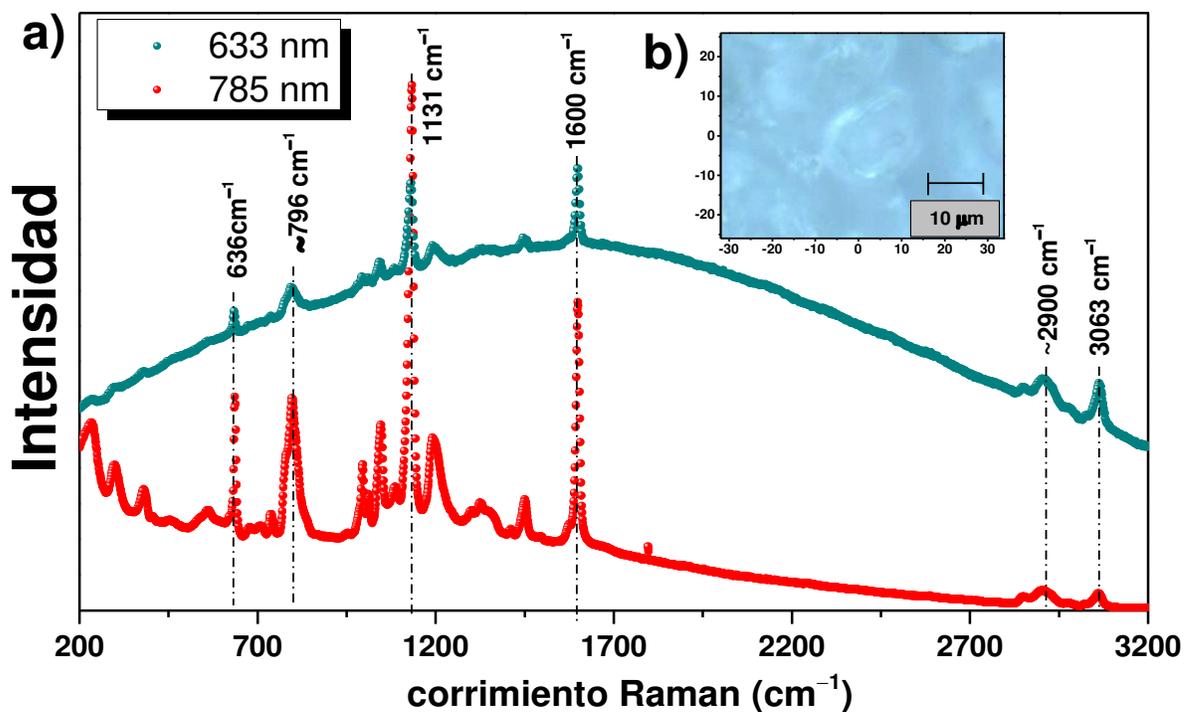


Fig. 4.3 a) Comparación entre los espectros del PSS medido a diferentes longitudes de onda de la fuente del láser. b) Microscopía Raman del polímero antes de ser sometido al proceso de medición.

La Fig. 4.4 muestra el espectro Raman de PSS con la fuente de 633 nm. Normalmente la interferencia por fluorescencia apantalla la manifestación de los picos, por tal motivo se varió la potencia inicial del láser (7.17 mW) desde 0.05 % hasta 50 % del mismo. A pesar de la fuerte interferencia es posible visualizar los picos característicos que se manifiestan aproximadamente a partir de 0.07 mW de potencia, que corresponde al 1 % de la potencia inicial del láser. Para este trabajo se consideró al pico característico de 1131cm^{-1} correspondiente a la presencia del PSS. Fan y Cornelius (2012) atribuyen el estiramiento asimétrico del ión sulfonato $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3^-)$ en el pico de 1127 cm^{-1} muy cercano a lo reportado por Yemata *et al.* (2020) mientras que el reporte de Kim *et al.* (2015), atribuyen sobre el pico de 1132 cm^{-1} la deformación de C–O–C y el estiramiento del anillo aromático a la contribución del grupo SO_3 . Edwards *et al.* (2000) atribuyen al estiramiento del cuadrante aromático CCH y CH en los picos 1598 y 3055 cm^{-1} , para este trabajo dichos picos se ubicaron en 1600 y 3060 cm^{-1} respectivamente. Al usar 3.59 mW (50 % de la potencia), se observan los picos en 634 , 797 y 1042 cm^{-1} , a los que se atribuye la deformación del grupo sulfona (δSO_2), al estiramiento del grupo fenil (νCS) (Fan y Cornelius, 2012) y la vibración antisimétrica del grupo SO_3 (Kim *et al.*, 2015) respectivamente. En esta misma potencia del láser aparece un pico en 2905 cm^{-1} , Socrates (2001) indica que en el rango de 2800 a 3000 cm^{-1} se aparece la vibración por tensión del enlace $=\text{C}-\text{H}$ del grupo alifático, por lo que puede ser atribuido esa presencia. Al interior del cuadro principal se muestra las señales a bajas potencias donde es posible observar a 0.07 mW que los picos si logran visualizarse.

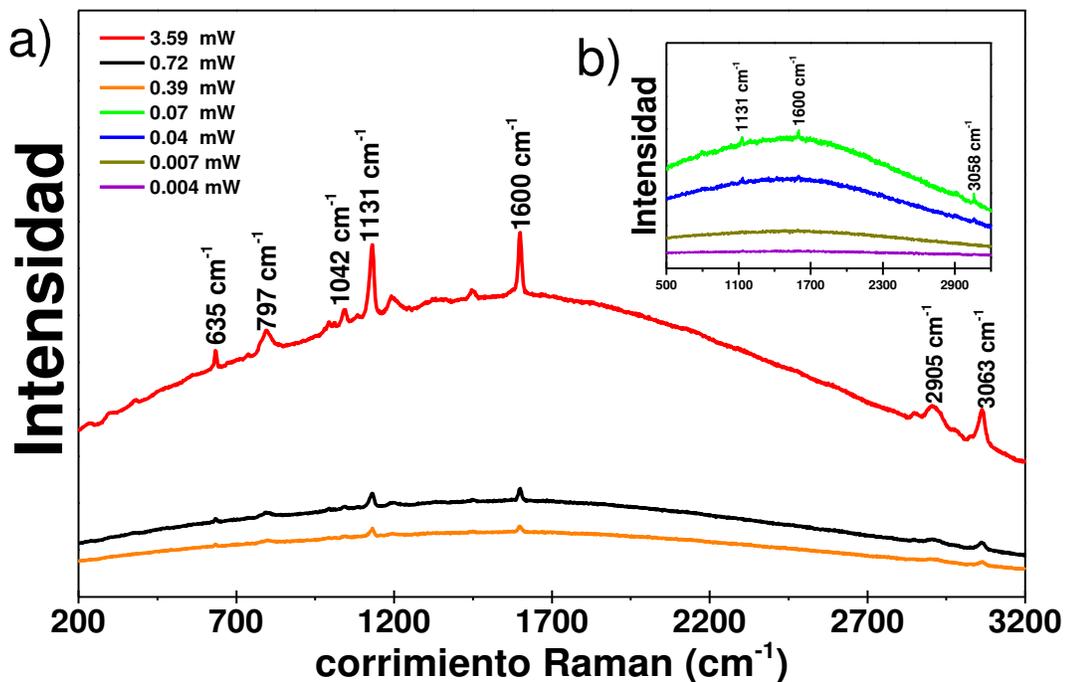


Fig. 4.4 Espectro Raman del polímero PSS en el rango de 200 a 3200 cm^{-1} medido con porcentajes de la potencia inicial en el rango de a) 3.59 a 0.39 mW y con b) potencias menores desde 0.07 a 0.004 mW.

En el apartado teórico, se menciona que, una de las maneras de solucionar la interferencia por fluorescencia es cambiar la fuente del láser. La Fig. 4.5 contiene los espectros de PSS usando una fuente con longitud de onda cercana al infrarrojo. Con esto, la relación señal-ruido mejoró considerablemente, lo que permitió apreciar los picos desde 0.04 mW de potencia. Los picos en 636 cm^{-1} y 798 cm^{-1} aparecen desde 0.04 mW hasta 3.59 mW bien definidos, a diferencia de lo reportado por Kellar *et al.* (1996), que para su estudio del poliestireno sindiotáctico (sPS) con características cristalinas, el primer pico aparece débilmente y el segundo lo atribuye al poliestireno isotáctico (iPS), lo que podría indicar cristalinidad de la muestra debido al incremento de la potencia del láser. El pico de 995 cm^{-1} que aparece débilmente, Menezes *et al.* (2007) y Mazilu *et al.* (2010), lo reportan cercano a 1002 cm^{-1} como el modo de respiración de anillo. Este pico, para Fan y Cornelius (2012) se debe a la presencia del anillo aromático $\nu(\text{CC})$ y para Socrates (2001) corresponde a la

manifestación del grupo vinilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$). El pico de 1042 cm^{-1} podría ser atribuido a la vibración antisimétrica como señaló Kim *et al.* (2015). El pico característico de PSS en 1133 cm^{-1} , aparece con pequeño desplazamiento respecto hacia las frecuencias mayores de la medida observada con fluorescencia (Kim *et al.*, 2015). Débilmente aparece el pico 1194 cm^{-1} , al que se atribuye la vibración del anillo aromático, debido a que Fan y Cornelius (2012) reportan esta información en 1198 cm^{-1} . El pico de 1600 cm^{-1} también es característico del PSS como lo indica Edwards *et al.* (2000). Los picos de 2905 y 3063 cm^{-1} aparecen con un desplazamiento respecto a los valores obtenidos para la potencia de 0.07 mW . El primero puede ser atribuido a la vibración de estiramiento del enlace $=\text{C}-\text{H}$ para Socrates (2001) mientras que el segundo, para Curtis *et al.* (2013) se deben al estiramiento del anillo aromático dado por $\text{C}-\text{H}$. En el cuadro interior se indican las señales a bajas frecuencias, donde no existe mucha variación respecto a las señales con potencias altas.

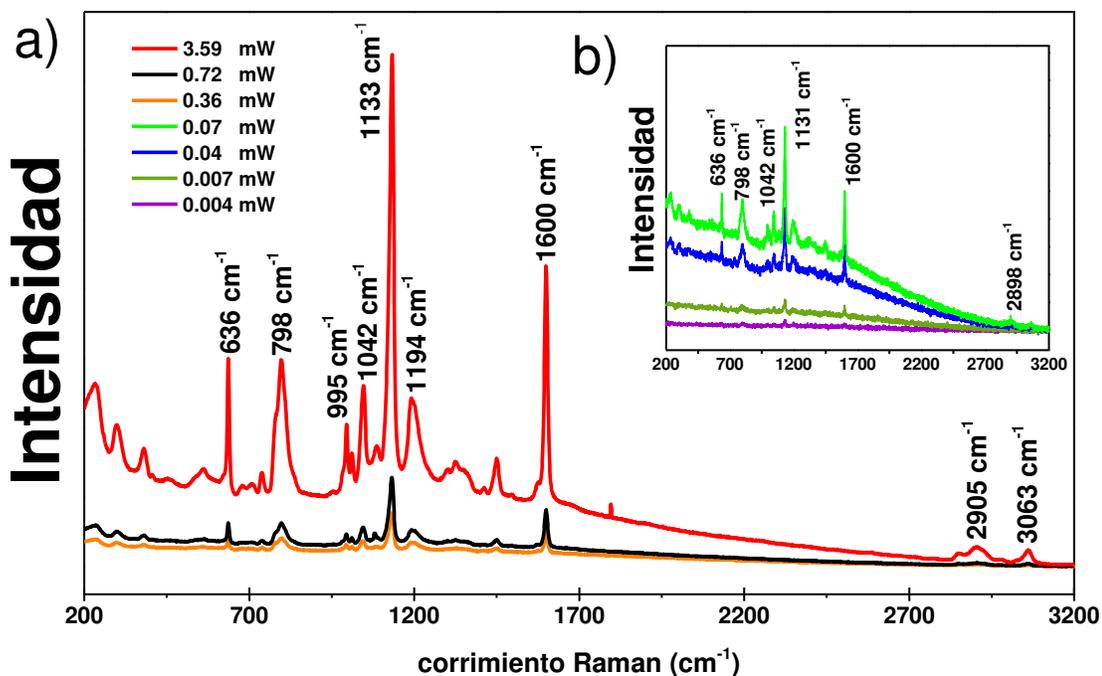


Fig. 4.5 Espectro Raman del polímero PSS en el rango de 200 a 3200 cm^{-1} medido con una fuente de 785 nm variando la potencia inicial del láser. Desde a) 0.39 a 3.59 mW y b) 0.07 a 0.004 mW .

Para el análisis de la muestra RV1, se toma en cuenta la medición antes y después del recocido de esta a diferentes potencias del láser considerando el rango de medida de 100 a 3200 cm^{-1} . En la Fig. 4.6a, el espectro correspondiente a 3.59 mW presenta un pico en 210 cm^{-1} lo cual no corresponde con alguna fase del óxido de hierro, en 271 cm^{-1} podría deberse a la presencia de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, sin embargo, Oh *et al.* (1998) lo señalan en 265 cm^{-1} . El pico de 380 cm^{-1} es la contribución de las fases γ y α de Fe_2O_3 , extraído de la información contenida en el artículo de Chowdhury *et al.* (2012) que notifican la existencia de ambas fases en el pico de 277 cm^{-1} . La banda de la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ puede ser atribuida también al pico adicional encontrado en 1300 cm^{-1} , lo que aparece cercano a lo encontrado por Hanesch (2009) en 1330 cm^{-1} . En la señal que emplea 0.72 mW aparece aislado el pico de 1586 cm^{-1} , lo que podría atribuirse a la presencia de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, lo que para Sousa *et al.* (2000) aparece en la banda de 1576 cm^{-1} en un pico ancho. Sin embargo, también puede atribuirse la presencia del polímero debido a la cercanía con lo reportado por Edwards *et al.* (2000) en 1598 cm^{-1} . La Fig. 4.6b indica las medidas a potencias menores en el rango de 200 a 1700 cm^{-1} , donde se identifican los picos en 370, 461, 490, 670 y 1596 cm^{-1} a 0.36 mW. En detalle, se discuten estos picos en la Fig. 4.6c, el pico que aparece en 370 cm^{-1} Jubb y Allen (2010) lo atribuyen a la presencia de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. La contribución de los picos de 461 y 490 cm^{-1} producen un pico ancho que Chowdhury *et al.* (2012) podrían atribuir a la presencia de las fases γ y α de Fe_2O_3 . Sin embargo, el ubicado en 490 cm^{-1} de este trabajo concuerda con lo reportado por Hanesch (2009), para su estudio de la ‘magnetita bacterial’ donde identificó a esta banda correspondiente con $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ medido con 0.01 mW por 10 min. El pico ancho que aparece entre en 670 cm^{-1} indica la presencia de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, de acuerdo con lo encontrado por Oh *et al.* (1998). El pico de 1596 cm^{-1} que aparece aislado puede ser atribuido al PSS, donde Edwards

et al. (2000) advertiría la presencia del polímero en 1598 cm^{-1} . La Fig. 4.6d corresponde a la microscopía de RV1 antes de ser sometido al proceso de medición.

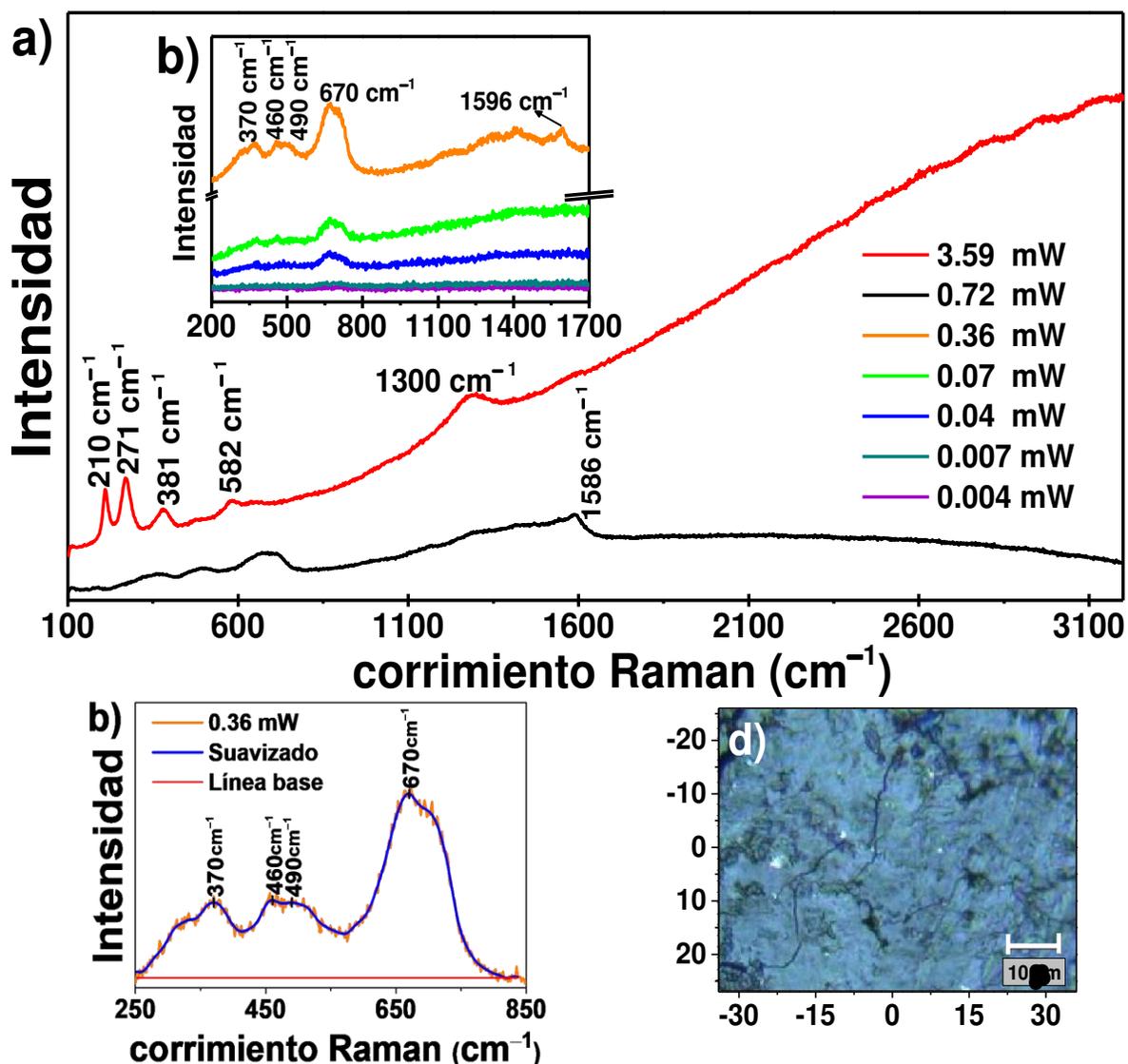


Fig. 4.6 espectros Raman de la muestra RV1 medido al a) 50 y 10 % de la potencia inicial del láser y medido a potencias menores b) desde 0.05 % hasta 5%. c) espectro Raman a 0.36 mW donde se exhibe de mejor manera los picos a esta potencia. d) Microscopía Raman de la muestra RV1 antes de ser recocida con la potencia total del láser.

Cuando la muestra es recocida usando el total de la potencia del láser, es posible observar un cambio significativo sobre la muestra RV1. Esto se muestra en la Fig. 4.7 a diferentes potencias del láser en el rango de medida de los espectros de RV1 variando la potencia del láser en el rango de $100\text{ a }3200\text{ cm}^{-1}$.

El estudio por espectroscopía Raman de RV1 se completa con la medición de esta luego de haberla sometido al 100 % de la potencia inicial del láser. Esto es para observar los efectos del aumento de la potencia sobre la muestra y corroboración de la fase de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Lo que se observó en los espectros de la Fig. 4.7a es una disminución del número de onda (desplazamiento hacia el rojo) a medida que se incrementaba la potencia del láser. A pesar de conseguir señales mejor definidas, aproximadamente a partir de 1500 cm^{-1} no se observó ningún pico adicional por lo que, en los gráficos solo se muestra el rango desde 100 a 1500 cm^{-1} . Los espectros Raman de RV1 medidos con potencias desde 0.36 a 3.59 mW, exhiben con mejor definición los picos respecto a las potencias bajas. La Fig. 4.7b muestra la microscopía Raman de RV1 de este análisis. En esta imagen, el abultamiento correspondería a la presencia de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ en la región de incidencia del láser. La Fig. 4.7c muestra la señal de 3.59 mW, donde se observó el desplazamiento hacia frecuencias inferiores respecto a las potencias menores a esta. Sin embargo, son valores cercanos a las bandas vibracionales de la fase $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ como lo indican Buzgar *et al.* en su trabajo del 2013, lo cual es coincide con lo reportado en la literatura. Además, estas bandas vibracionales surgen en 214, 279 y 392 cm^{-1} que son cercanos a los reportado por Li *et al.* (2019), quien los ubica en 219, 283 y 398 cm^{-1} . El artículo de El Mendili *et al.* (2015) ubica la presencia de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ en 485 y 598 cm^{-1} , cercano a lo presentado en este trabajo en 483 y 594 cm^{-1} . Adicionalmente en 647 cm^{-1} podría ser atribuida una banda de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y 1293 cm^{-1} de acuerdo con las referencias antes mencionadas. La presencia del PSS es menos evidente en cuanto a la expresión de sus picos.

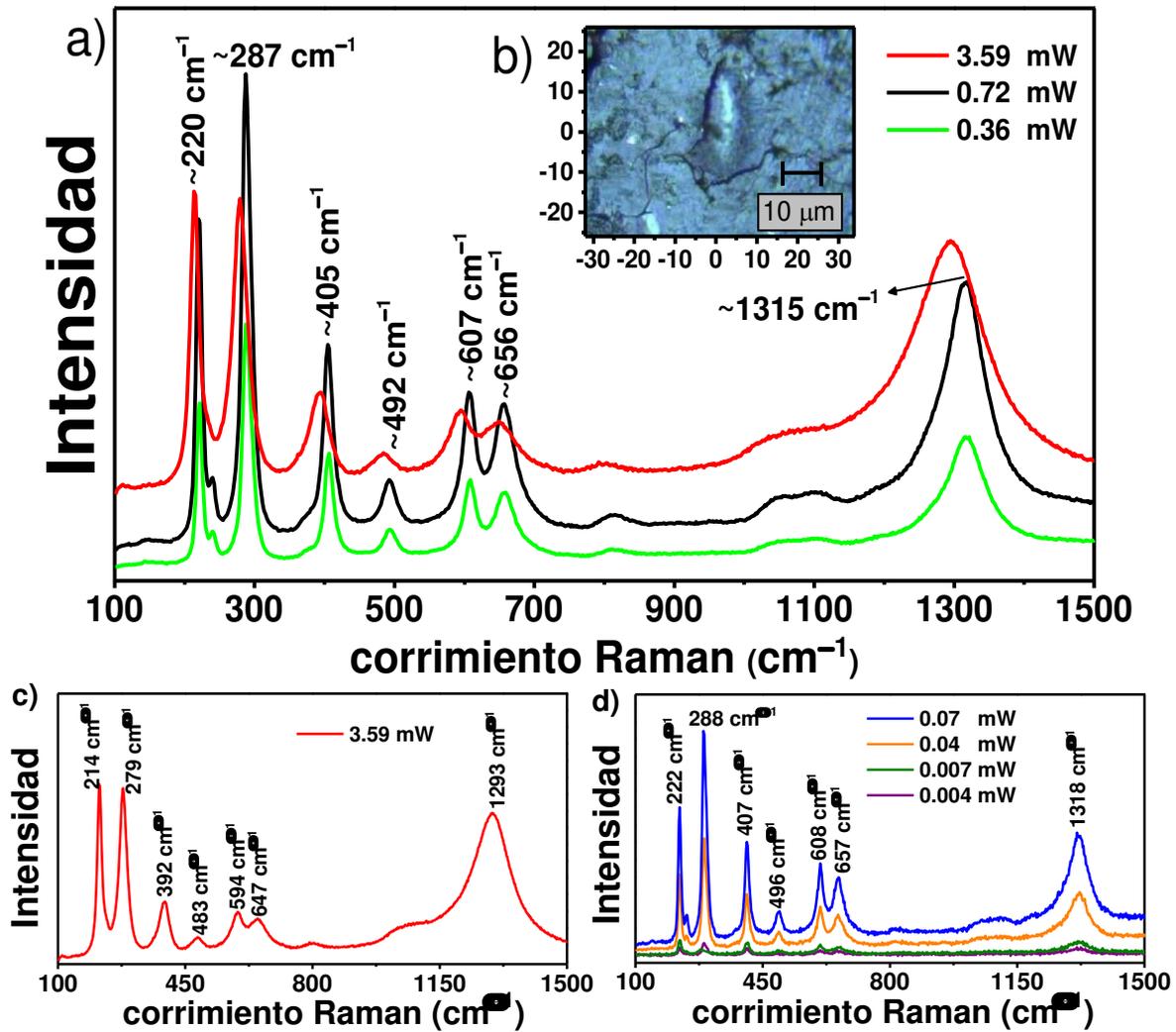


Fig. 4.7 Espectro Raman de RV1 tras haber recocido la muestra, a) las potencias mayores indican el corrimiento de la señal que puede atribuir a la presencia de la fase $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ como lo muestra la b) microscopía de RV1 recocida indicando un abultamiento en la región de incidencia del láser. c) Muestra el espectro de RV1 medido a 3.59 mW con sus bandas identificadas en este trabajo. d) Espectro Raman con potencias menores desde 0.004 mW a 0.07 mW.

La Fig. 4.7d muestra las potencias bajas en este análisis, esto es entre 0.004 y 0.07 mW de potencia. La señal de 0.07 mW indica que los picos de 222 cm^{-1} y 288 cm^{-1} pueden atribuirse a la fase $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, correspondiente con lo que Jain *et al.* (2019) señalaron en 221 cm^{-1} y 287 cm^{-1} como bandas activas Raman empleando una fuente de 514.5 nm .

El pico en 407 cm^{-1} en esta muestra logra ser identificado por Sartoratto *et al.* (2007) como $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, en el pico 405 cm^{-1} tras haber calentado una muestra de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ desde 500 a 700°C . Los picos de 496 , 608 y 657 cm^{-1} son atribuidos a $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ por Kouotou *et al* (2013) en las bandas correspondientes a 492 , 609 y 656 cm^{-1} respectivamente. El pico presente en 1318 cm^{-1} de acuerdo con las referencias recogidas por Oh *et al.* (1998) corresponde también a hematita en la banda 1320 cm^{-1} . Entonces, por lo anteriormente expuesto se puede determinar que la potencia umbral en la que la fase $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ en RV1 pasa a la fase $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ se encuentra en 0.72 mW .

Lo obtenido mediante el análisis de RV1 fue que las fases del óxido de hierro tienen una mejor expresión en los picos de intensidad. Por este motivo, una forma de reconocer el PSS en la muestra podría ser por la fluorescencia residual utilizando el 50% de la potencia del láser, como se observó en la Fig. 4.5c que muestra la medición de RV1 antes del recocido. Para poder notar la presencia de PSS luego del recocido podría deberse también a la nula expresión de picos a partir de 1500 cm^{-1} .

Análisis FTIR de RV1

Para completar el análisis de las propiedades vibracionales del nanosistema RV1 se realizó la identificación de los picos que definen modos vibracionales en el espectro FTIR de la muestra funcionalizada RV1. El espectro es de transmitancia (%) versus número de onda (cm^{-1}) medido en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} como se muestra en la Fig. 4.8, donde se señalan algunos picos principales y otros secundarios de escasa absorción. En la Fig. 4.8a) se pudo observar que aparece un borde amplio cercano a 3360 cm^{-1} . Al encontrarse en la región de los grupos funcionales es natural que publicaciones como la de Bora y Deb (2009),

que entre $3398 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ señalan la presencia del enlace N-H. Además, se identificó el estiramiento de los enlaces O-H que de acuerdo con Rodríguez *et al.* (2018) se trata del agua que se absorbe durante el proceso de la toma de medidas. Hacia el pico de 2922 cm^{-1} se logró observar la absorción de la muestra debido al estiramiento nuevamente del enlace C-H, esto lo describe Bali *et al.* (2018) en su estudio sobre la citotoxicidad de las NPM de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ sintetizadas mediante árboles de mango. Hacia frecuencias inferiores se encuentran los picos de 434 y 524 cm^{-1} , lo que puede ser atribuido a las estructuras metálicas en forma de espinel que contienen modos vibracionales correspondientes a enlaces metálicos con átomos de oxígeno. Este resultado confirma que la presencia de los óxidos de hierro se encuentra en bandas inferiores a 730 cm^{-1} . Daou *et al.* (2010) confirma estas bandas en su artículo sobre el estudio de la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ mediante técnicas vibracionales y la de Mössbauer.

Uno de estos picos principales fue identificado alrededor de 434 y 524 cm^{-1} , donde Bora y Deb (2009) confirman enlace metal-oxígeno de la componente espinel de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Bali *et al.* (2018) registró un pico en la banda que se encuentra alrededor de 2925 cm^{-1} , debido al estiramiento del enlace O – H, lo que para este trabajo se encuentra cercano a dicho valor en 2922 cm^{-1} . Alrededor de 3400 y 1600 cm^{-1} se observó un lomo amplio y un pico que, de acuerdo con Rodríguez *et al.* (2018), corresponde a la banda que dota estiramiento y flexión al enlace O-H del agua absorbida.

En el pico de 1597 cm^{-1} se encuentra la vibración por estiramiento del enlace doble C=C, que Funda *et al.* (2016) lograron identificar con espectro de absorbancia en lugar de transmitancia. De acuerdo con Mulijani *et al.* (2014) la reducción en la intensidad es debido al estiramiento del enlace simple C–C, este autor identifica esta banda entre 1495 y 1475 cm^{-1} lo que, para este trabajo se identifica aproximadamente en 1413 cm^{-1} . Los picos

adicionales son característicos de la presencia del polímero. La región sombreada en la Fig. 4.8b) muestra principalmente los efectos del grupo sulfónico sobre la muestra. En el pico de 1034 cm^{-1} , Karri y Srinivasan *et al.* (2019), nos indica que se encuentra el estiramiento simétrico del enlace O-S-O propio del PSS.

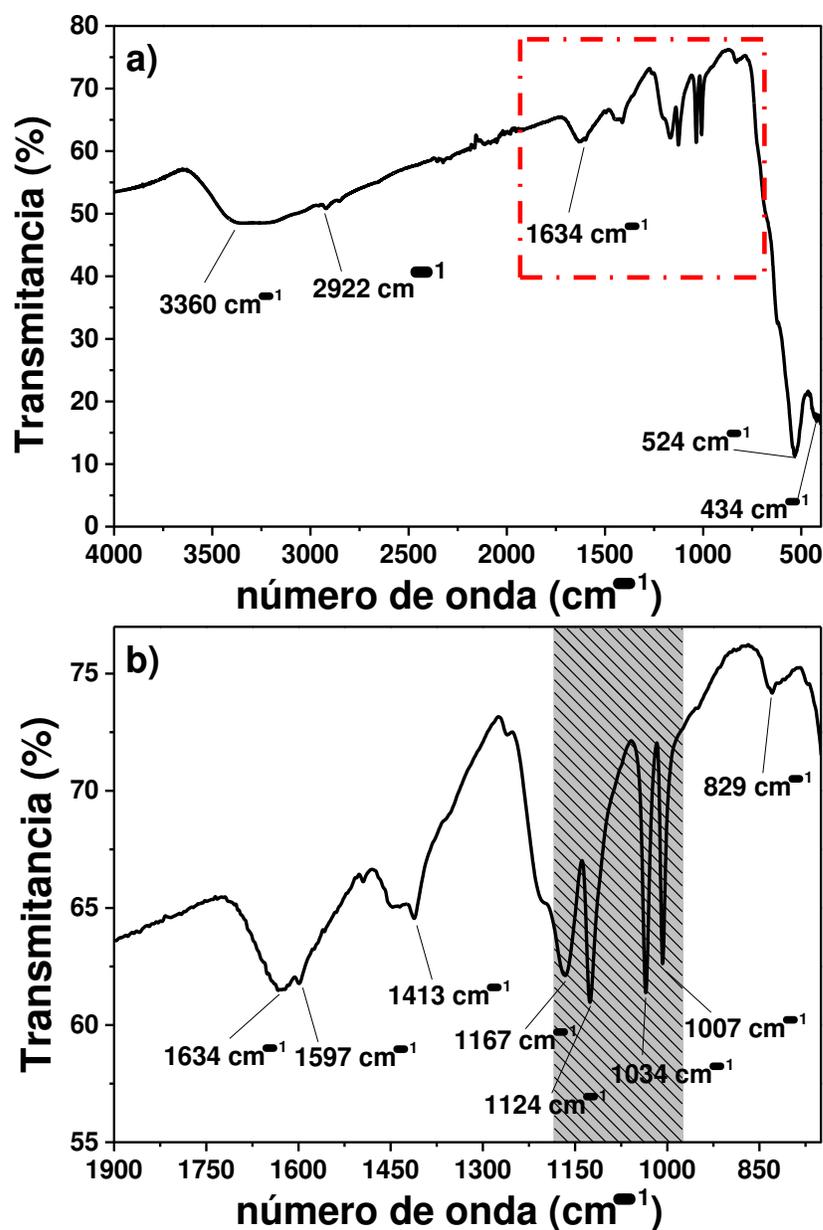


Fig. 4.8 a) Espectro FTIR de RV1 en el rango completo de 4000 a 400 cm^{-1} . b) acercamiento del espectro FTIR en el rango de 1900 a 750 cm^{-1} .

Análisis de espectro UV-Visible

La Fig. 4.9 muestra el espectro óptico de absorción de RV1 en el rango de 250 – 550 nm, donde la expresión de los compuestos ocurre en la región UV. En este trabajo se observó una caída pronunciada al redor de la banda de 350 nm y se levanta indicando un pico alrededor de 367 nm. Entre los trabajos encontrados, se encuentra el de Mehrdad y Parvini (2019) quienes discuten la presencia de dos bandas de absorción, una en 196 nm y la otra en 226 nm, indicando la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ para los substitutos de los anillos de benceno de NaPSS (solución acuosa de sodio-poliestireno sulfonato). En el trabajo de Cristovan *et al.* (2006), la presencia de PSS ocurre con un desplazamiento hacia las longitudes de onda mayores en el rango de 350 a 600 nm debido a la presencia de los grupos aromáticos del PSS por la transición $\pi \rightarrow \pi^*$, lo que es más exacto en este trabajo.

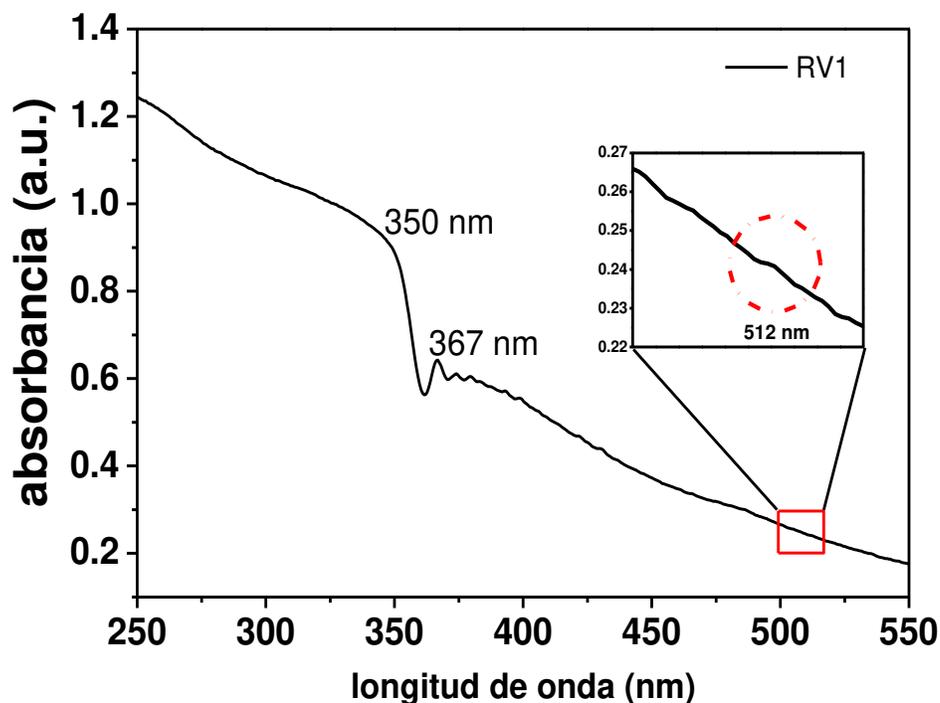


Fig. 4.9 Espectro UV – VIS de RV1 medido en el rango de 250 a 550 nm. Adicionalmente se indica al interior del cuadro un acercamiento alrededor de los 512 nm, donde Dhal *et al.* (2014) señalan la presencia de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

De acuerdo con lo anterior, los resultados de Lee *et al.* (2008), sobre la preparación y caracterización de PANI-PSS@Fe₃O₄, el pico de absorción aparece entre 325 y 551 nm debido a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos bencenoides y quinoides presentes en la polianilina (PANI). En el libro ‘*The Iron Oxides: structures, properties, reactions, occurrences and uses*’ de Cornell y Schwertmann (2003) muestra en el capítulo de la caracterización de los óxidos de hierro que, para la fase γ -Fe₂O₃ la posición cercana a 370 nm presenta la transición de ${}^6A_1 \rightarrow {}^4E$. Para Dhal *et al.* (2014) también ocurre esta transición libre del ligando de Fe³⁺ en la banda de 357 nm. También concluye que, alrededor de 512 nm corresponde a la huella dactilar del borde de γ -Fe₂O₃ de acuerdo con una referencia recogida por el autor. En este trabajo, dicha presencia se muestra casi imperceptible, se observa al interior del cuadro principal.

Banda prohibida de RV1

La banda prohibida E_g de RV1 obtenida con los datos de la absorción por UV-VIS fue obtenida experimentalmente del coeficiente de absorción α , medida a través de la fórmula de Tauc donde:

$$(\alpha h\nu) = A(h\nu - E_g)^n \quad (4.2)$$

donde, A es una constante ($h\nu$) es la energía de un fotón y n puede ser igual a 1/2 para la transmisión directa o 2 para la transmisión indirecta (Barakat 2012).

La Fig. 4.10, muestra el gráfico de la transmisión indirecta con $n = 2$. Esta cantidad fue obtenida extrapolando una línea recta sobre una porción recta de la curva, escogida entre

el rango de 3.44 y 3.52 eV. La intersección de esta línea recta con el eje x indica un valor de $E_g = 1.42$ eV.

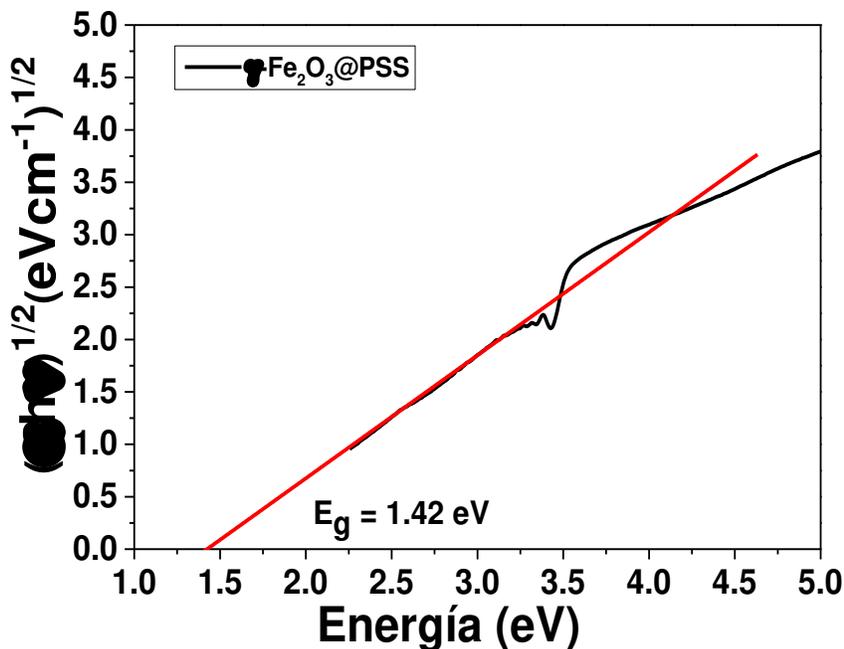


Fig. 4.10 Banda prohibida de RV1 usando el gráfico de $(\alpha h\nu)^{1/2}$ vs energía del fotón ($h\nu$). La intersección de esta recta con el eje de la energía indica el valor la banda prohibida.

Análisis magnético de la muestra RV1

La Fig. 4.11a) muestra la curva de histéresis para RV1, donde se observa el efecto del campo magnético externo (FC, del inglés *Field Cooling*, o enfriamiento con campo en castellano) sobre la muestra a temperatura ambiente (300 K) y a baja temperatura (5 K) con y sin la presencia de un campo externo (ZFC, del inglés zero field cooling o enfriamiento sin campo, en castellano). Se puede reconocer de inmediato que la muestra a 300 K tiene un comportamiento casi superparamagnético, debido a la baja coercitividad de 100 Oe, ver Tabla 4.2, sugiriendo interacciones magnéticas débiles presentes en la muestra. El acercamiento de estos ciclos de histéresis se muestra en la Figura 4.11b), donde, se muestra

también el comportamiento magnético de RV1 a bajas temperaturas. Cuando se enfría la muestra sin la presencia de un campo externo se manifiesta un campo coercitivo, el cual se estima en un $H_c=0.22$ kOe y una $M_r=15.45$ emu g^{-1} . De la misma manera se procedió a estimar los mismos valores para la curva que indica la presencia de un campo externo, dando un valor de $H_c=0.22$ kOe y una magnetización remanente de $M_r=16.73$ emu g^{-1} . Esto significa que la muestra no presente interacciones del tipo intercambio de sesgo (del inglés *Exchange bias*), el cual favorece un corrimiento de la curva de magnetización hacia el eje negativo (Phan *et al.*, 2016). En la Fig. 4.11c) se muestra el ajuste por la ley de aproximación de saturación (LAS por sus siglas en inglés que significa Law of Approach to Saturation) de las curvas de histéresis en el rango de 20 a 70 kOe, donde se observa la saturación de las curvas, este ajuste se realizó tal y como lo indica Ramos *et al.*, 2016, donde la ecuación:

$$M = M_s \left(1 - \frac{b}{H^2}\right) + \chi H \quad (4.3)$$

es el valor para la magnetización de la muestra M_s es la magnetización de saturación y la constante de anisotropía efectiva puede obtenerse reemplazando el valor de M_s en

$$b = \frac{4}{15} \left(\frac{K_{eff}^2}{M_s^2}\right) \quad (4.4)$$

Este ajuste es aplicado a la porción positiva en el rango de 20 a 70 kOe, lo que permite encontrar la magnetización de saturación (M_s) estimada en un valor de 66.06 emu g^{-1} para 300 K y de 70.85 y 70.96 emu g^{-1} para ZFC y FC respectivamente.

Tabla 4.2 Resumen de parámetros magnéticos de la muestra RV1. n.d. (no determinado).

Temperatura (K)	M_r (emu g^{-1})	H_c (kOe)	M_s (emu g^{-1})	$K_{eff} \times 10^5$ (J m^{-3})	χ (emu g^{-1} kOe)	R^2
300	n.d.	0.1	66.06	0.78	0.02	0.999
5 K ZFC	15.45	0.22	70.85	1.08	0.00(4)	0.999
5 K FC	16.73	0.22	70.96	1.08	0.00(4)	0.998

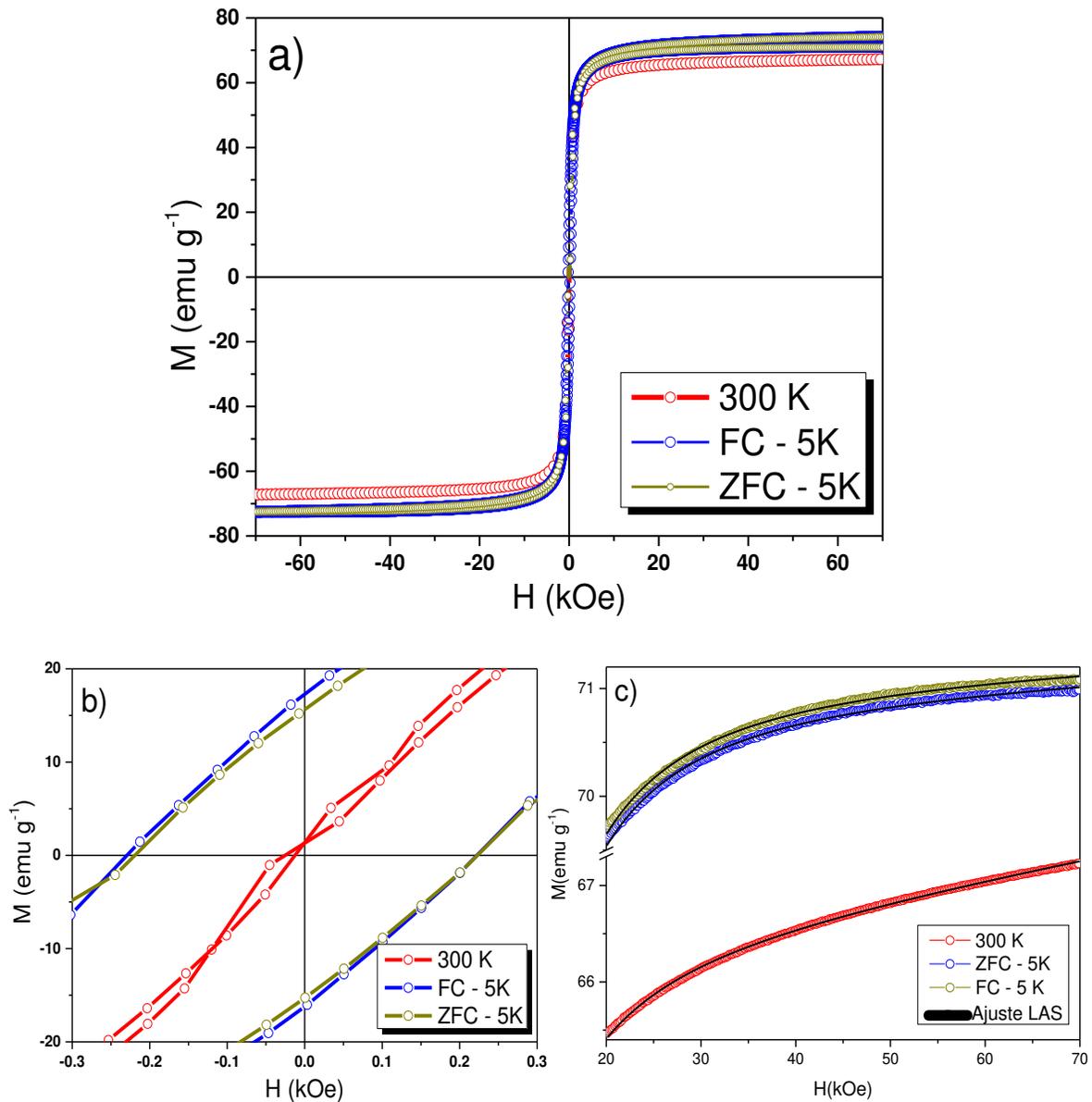


Fig. 4.11 Comportamiento magnético de la muestra RV1, donde se muestra a) las curvas de histéresis cuando se midió a 300 K y a una temperatura de 5 K con y sin la presencia de un campo externo. b) Acercamiento de la curva de histéresis en el origen de la gráfica para estimar el H_c y M_r . c) Ajuste LAS en el rango de 20 a 70 kOe para la determinación de la constante de anisotropía efectiva.

Análisis de los espectros ^{57}Fe Mössbauer a 300 K y 15 K

La Fig. 4.12a) y b) corresponden al espectro Mössbauer de RV1, sintetizada mediante la ruta de coprecipitación química, los espectros se han medido a temperatura ambiente (300 K) y a baja temperatura (15 K). La Tabla 4.3 reporta los parámetros hiperfinos como el corrimiento isomérico (CS) respecto al Fe (+0.114 mm/s), el campo hiperfino (B_h), la interacción cuadrupolar (Q) y el Área Relativa de Absorción (R.A.A. por sus siglas en inglés Relative Absorption Area), los anchos de línea para los perfiles lorentzianos (W) y gaussianos (σ). La muestra medida a 300 K indica que el ajuste se completó con dos sextetos que definen a los sitios tetraédricos (Sitio A) y octaédricos (Sitio B) del ion Fe^{3+} que ocupan la estructura de espinela inversa de la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, que al mostrar esta forma en el espectro se puede deducir que es altamente estequiométrica. Adicionalmente se añade un tercer subespectro para RV1 a 300 K. Es así como Zakharova *et al.* (2012) lo atribuye a Fe^{3+} no compensados, es decir que no se encuentran enlazados a los átomos de oxígeno y para poder estimar el espesor de esta coraza se recurre a una igualdad entre la fracción del área total del espectro, es decir el área superficial de estos Fe^{3+} y el área interna en el núcleo, y el radio de la partícula el cual fue determinado por TEM.

$$V_e/V = 3 \Delta r/r \quad (4.4)$$

donde $V_e = 4\pi r^2 \Delta r$, $V = 4/3 \pi r^3$. Por lo tanto, al disponer de la ecuación 4.4 para estimar el espesor de la coraza de iones sobre esta estructura núcleo – coraza.

$$\Delta r = \frac{\text{fracción del área total}}{6} \times \langle D_{\text{TEM}} \rangle \quad (4.5)$$

Esta fracción del área total se indica en la Tabla 4.3, es decir, se suma la contribución del área del sitio A con el sitio B dando un total de 43% y $\langle D_{\text{TEM}} \rangle = 11.4$ nm. Dando como resultado un espesor de $\Delta r = 0.91$ nm.

Sobre la muestra medida a baja temperatura, que se observa en la Fig. 4.12b), se puede concluir que el modelo completa a los datos experimentales, correspondiente con lo reportado en la literatura para una $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ altamente estequiométrica, asimétrica en las líneas 1:6 y los sitios magnéticos A y B resuelven muy bien al espectro Mössbauer. Como es de esperar en muestra puras, los valores para el CS y B_{hf} son cercanos entre ellos. Además, las relaciones de áreas para el sitio A y B (36.4 y 63.6% respectivamente) son cercanos a los reportados por Ramos et al. (2014).

Tabla 4.3 Parámetros hiperfinos obtenido de la curva de ajuste Mössbauer de RV1 a 300 K y 15 K. Se muestra el valor para el área relativa de absorción (R.A.A.) y el campo magnético hiperfino (B_{hf}).

	R.A.A. (%)	CS (vs Fe)	B_{hf} (T)	σ (T)	Q (mm/s)	W (mm/s)
RV1 300 K						
I,A	19(2)	0.26(1)	48.4(1)	1.2(1)	0.00(1)	0.37(1)
I,B	32(2)	0.47(1)	48.4(1)	1.5(1)	0.00(1)	0.37(1)
II,A	16(2)	0.30(1)	43.6(1)	4.1(2)	0.00(1)	0.37(1)
II,B	27(2)	0.48(1)	43.6(1)	4.1(2)	0.00(1)	0.37(1)
III	5(2)	0.44(4)	18.5(3)	2.0(2)	-	0.35(1)
“impureza“	2(2)	0.15(4)	-	-	0.8(1)	0.70(1)
RV1 15 K						
A	36.4(2)	0.36(5)	51.5(2)	1.1(1)	0.00(2)	0.24(1)
B	63.6(2)	0.48(5)	53.1(2)	1.1(1)	0.00(2)	0.24(1)

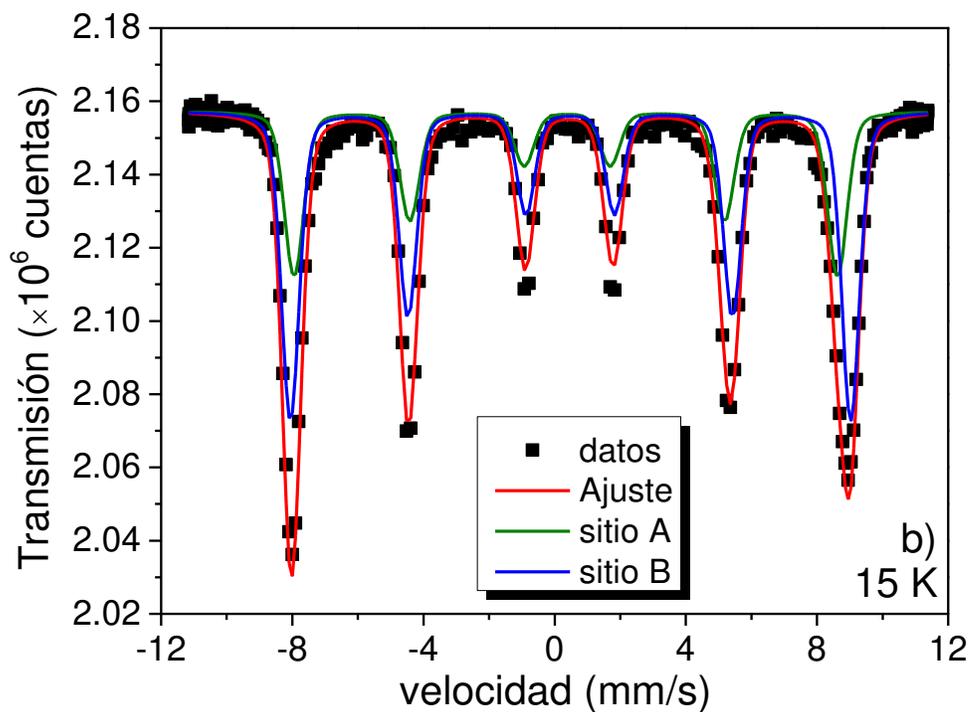
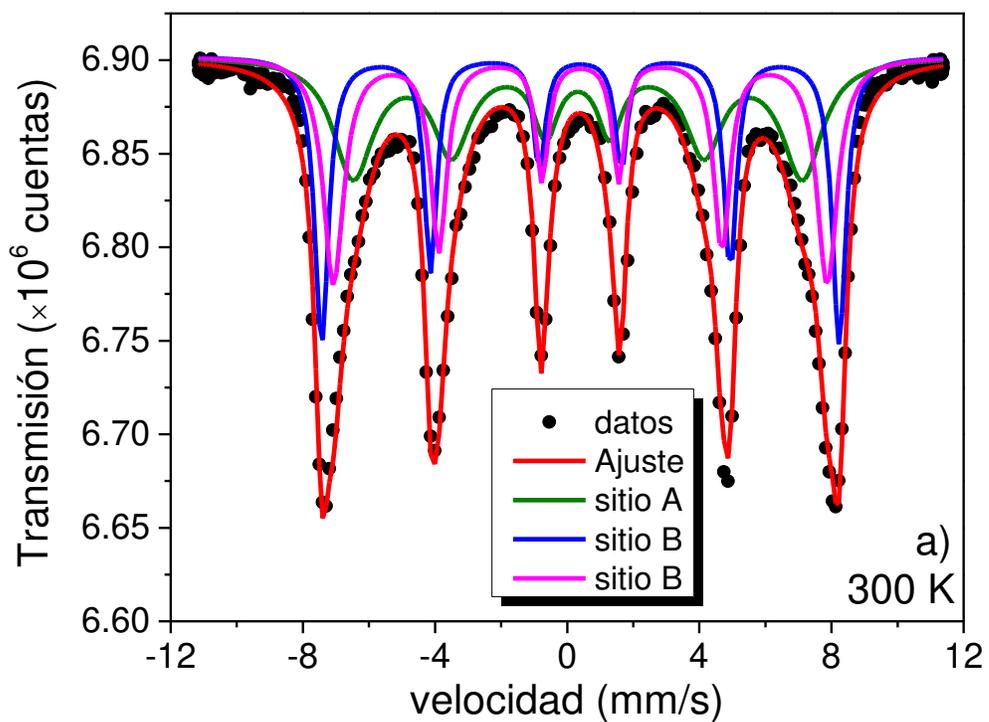


Fig. 4.12 Espectros Mössbauer de RV1 con los subespectros que definen el ajuste para los sitios A y B del ion Fe^{3+} registrados en a) 300 K y b) 15 K.

Mortalidad en *D. magna* y determinación de LC_{50} de RV1

Tras realizar la exposición de RV1 sobre las *D. magna* a diferentes concentraciones en mg L^{-1} por duplicado (teniendo un total de 30 individuos iniciales por cada concentración de la muestra), se obtuvieron los datos iniciales del primer ensayo de la exposición a concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 mg L^{-1} y las concentraciones de 400, 600, 800, 1000 y 1200 mg L^{-1} para el segundo ensayo que son presentados en la Tabla 4.4. Como se muestra en los datos para el primer ensayo de ecotoxicidad, la tasa de mortalidad para la exposición a 24 h fue muy baja por lo que la tendencia lineal del método Probit, que emplea los logaritmos de las concentraciones versus un número correspondiente al porcentaje de mortalidad resulta ser insuficiente para generar la estadística que requiere el estudio del LC_{50} . Un escenario similar se percibió con los datos del segundo ensayo de ecotoxicidad, donde se empleó una concentración mayor e igual de la concentración mayor del primer ensayo como punto de partida. A diferencia del primer ensayo, en este se puede observar una alta tasa de mortalidad, por lo que el LC_{50} no puede ser encontrado entre el rango de concentraciones que consiguió la mínima y máxima tasa de mortalidad.

Tabla 4.4 Valores de mortalidad de 24 h de exposición en *D. magna* para la muestra RV1 en el primer y segundo ensayo.

1er ensayo			2do ensayo		
Concentración (mg L^{-1})	Individuos muertos	Decesos (%)	Concentración (mg L^{-1})	Individuos muertos	Decesos (%)
25	1	3	400	28	93
50	4	13	600	24	80
100	1	3	800	27	90
200	2	7	1000	27	90
400	2	7	1200	24	80

A partir de la tabla anterior se obtiene la Fig. 4.13 a) que muestra la regresión lineal del método Probit, donde el principal problema radica en la baja tasa de mortalidad y por tal motivo no se alcanza el valor medio necesario para determinar el LC_{50} . Además, los datos se muestran dispersos, como lo indica el índice $R^2 = 0.22$, lo cual impide que estos resultados sean confiables. El caso para las concentraciones mayores e iguales a 400 mg L^{-1} se muestra en la Fig. 4.13 b), la cual indica valores por encima de la media de mortalidad por lo que tampoco es posible determinar el LC_{50} mediante este segundo ensayo. La relación entre la escasa mortalidad del primer ensayo con las NPM de RV1 permite interpretar que la baja concentración no genera un peligro para las *D. magna* durante el primer día de experimentación lo que nos lleva a pensar que el LC_{50} se encuentra por encima de los 400 mg L^{-1} . Por el contrario, en la Fig. 4.13 b) se entiende que, al incrementar la concentración se genera una mayor dispersión de las NP en el beaker, lo que significa que, para las *D. magna* existirá menos espacio libre de nado y por ende las hará más propensas a incluirla las NP de RV1 en su dieta alimenticia. Además, a mayores concentraciones se adhieren más NP

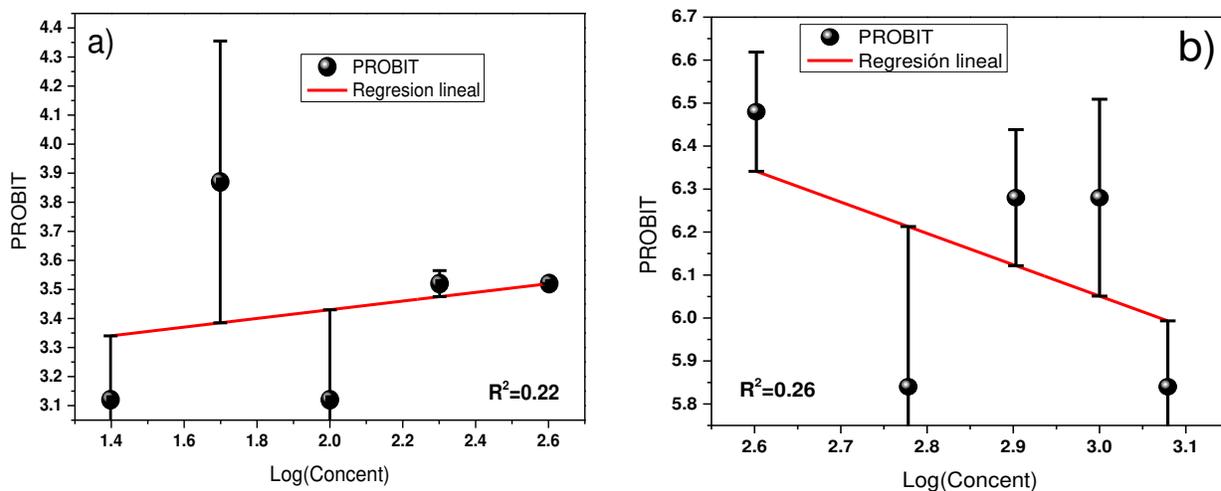


Figura 4.13: a) Recta de regresión lineal Probit para 4 valores de mortalidad (se retiró el valor de 400 mg L^{-1}). b) Recta de regresión lineal con los 5 valores de mortalidad obtenidos.

al exoesqueleto lo que podría producir un bloqueo de las extremidades de nado, reduciendo su movilidad y eventualmente siendo mortal para esta especie.

Ajuste sigmoidal de la curva de mortalidad de RV1

Teniendo en cuenta que, con los resultados anteriores el LC_{50} se encuentra entre dos conjuntos de valores que son extremos entre sí, por lo cual se realizó un ajuste sigmoidal de estos valores considerando las bajas y altas concentraciones. La concentración de 400 mg L^{-1} es compartida por ambos ensayos por tal motivo se retiró este valor del segundo para generar nuestro gráfico sigmoidal. Esto, debido a que los valores en la tasa de mortalidad tuvieron gran diferencia y el porcentaje de mortalidad a 400 mg L^{-1} del segundo ensayo alcanzaba un valor muy alto. Entonces, para poder generar esta gráfica sigmoidal se dispuso de 5 valores del primer ensayo y del segundo ensayo se excluye el valor de 400 mg L^{-1} lo que nos deja solo 4 valores para completar la Tabla 4.5, haciendo un total de 9 valores para generar la gráfica sigmoidal.

Tabla 4.5 Datos empleados para la determinación del LC_{50} a través de un ajuste sigmoidal.

Concentración (mg L^{-1})	Individuos muertos	Decesos (%)
25	1	3
50	4	13
100	1	3
200	2	7
400	2	7
600	24	80
800	27	90
1000	27	90
1200	24	80

El valor de LC_{50} determinado fue de 533.37 mg L^{-1} el cual se encuentra en el rango de las concentraciones empleadas en los ensayos. Este valor es 2 veces mayor al valor obtenido para RV1 por el método Probit (4 puntos) lo que indicaría un menor nivel de toxicidad causado por el PSS. La toxicidad de NPM funcionalizadas con polímeros es difícil de predecir, pero suele ser muy pequeña con valores de LC_{50} muy grandes ($> 10\,000 \text{ mg L}^{-1}$) (Heldebrant *et al.*, 2006). La Fig. 4.15 muestra los efectos visuales del nanosistema RV1 tras 24 h de exposición. El control negativo, sin exposición a RV1, se muestra en la Fig. 4.14A y se puede notar que las extremidades están libres y no hay obstrucción en el tracto digestivo. Esto difiere de lo mostrado en las siguientes imágenes donde se aprecia que las NP obstruyen las extremidades y se adhieren al exoesqueleto quitinoso bloqueando la capacidad de movimiento. En la Fig. 4.14B se muestra el exoesqueleto con las NP a una concentración de RV1 a 800 mg L^{-1} , C muestra a una *D. magna* inmersa en un medio con una concentración de 600 mg L^{-1} y D muestra los residuos dejados en el exoesqueleto a una concentración de RV1 de 400 mg L^{-1} .

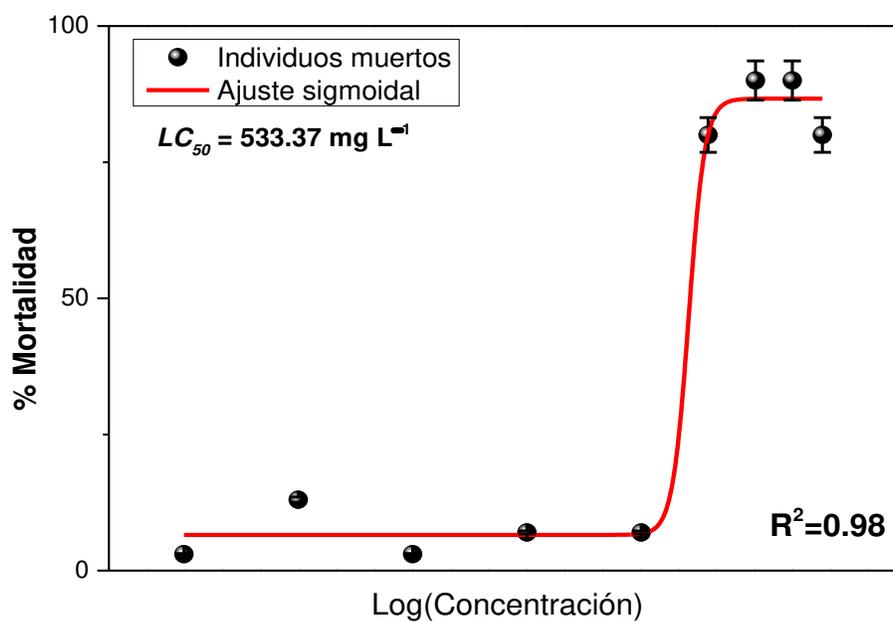


Figura 4.14 Ajuste sigmoide para mortalidad de *D. magna* expuesta a la muestra de RV1.

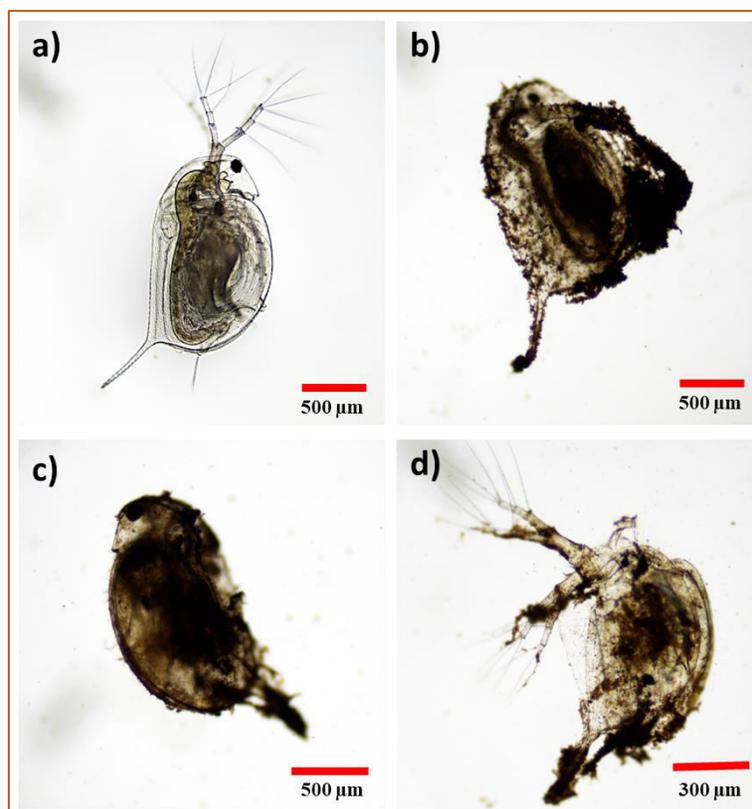


Figura 4.15 Observación de la interacción directa de RV1 sobre las *D. magna*. En a), se observa un individuo del control negativo, sin exposición a RV1, en b) y c) se observan 2 individuos muertos, expuestos a RV1 a 800 y 600 mg L⁻¹ respectivamente, en d) se observa una muda (sólo exoesqueleto) evidenciando la afinidad de RV1 al exoesqueleto quitinoso, la concentración aplicada fue de 400 mg L⁻¹. Fotografías tomadas con el objetivo de ×40 al microscopio de campo claro convencional.

La Tabla 4.6 presenta una breve recopilación de datos de los sistemas parentales utilizados por diferentes autores para determinar la LC_{50} en *D. magna*. Por ejemplo, García *et al.* 2011, obtuvieron resultados de toxicidad y mortalidad para Fe₃O₄ NPs, con un tamaño TEM promedio de aproximadamente 6 nm, donde la LC_{50} obtenida fue de 2.3 mg L⁻¹, y se estimó empleando pruebas bioluminiscentes. Magro *et al.* 2018, reportaron los efectos de una

Superficie Activa de Nanopartículas Maghemita (SAMN por sus siglas en inglés) sobre *D. magna*, los cuales fueron considerados como una bioacumulación de SAMN en su concentración mínima, observada en las micrografías ópticas localizadas en el exoesqueleto de *D. magna*. Por otro lado, Baumann et al. 2014, lograron recubrir un núcleo de Fe_3O_4 con el polímero Polivinil Pirrolidona (PVP) logrando la estabilización estérica superficial, formando el sistema PVP-IONP; el diámetro hidrodinámico de este sistema durante 3 días de estudio fue de 82 nm y la LC_{50} para esta población fue de 9750 mg L^{-1} y la exposición durante 48 h. El trabajo de Zarria et al. 2023, utiliza el sistema $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ funcionalizado con nanotubos de carbono (MWCNT) y dióxido de grafeno (GO), que fueron sintetizados por la ruta de coprecipitación química, para estudiar los efectos sobre *D. magna* de estos nanosistemas para una exposición durante 24 h, donde se logró el resultado de una LC_{50} de 381.8 mg L^{-1} para el sistema funcionalizado con MWCNTs y 0.94 mg L^{-1} para el sistema con GO. Por otro lado, en los ensayos de ecotoxicidad realizados por Farsi et al. 2021, con NPs comerciales de Fe_2O_3 y Co_2O_3 , obtuvo resultados para 96 h de exposición sobre *D. magna*, con una LC_{50} de 163.21 mg L^{-1} , cuando se comparó con sus NPs de Co_2O_3 , se observó que para el mismo tiempo de exposición se logró una LC_{50} de 121.04 mg L^{-1} . Shariaty et al., 2020 informó NP de Fe_2O_3 sintetizados con un tamaño inferior a 20 nm, y la exposición a *D. magna* se realizó a las 24, 48, 72 y 96 h, siendo el último reportado una LC_{50} de 654.65 mg L^{-1} , estos resultados fueron comparados con los datos obtenidos para NPs de SiO_2 para ensayos con una muestra de *D. magna* obtenida del mismo cultivo, obteniendo una LC_{50} de 1.73 mg L^{-1} , significativamente inferior a la de Fe_2O_3 NPs. Según el estudio de Nikitin et al. 2013, la LC_{50} en *D. magna* de poliestireno (PS) es de 197.35 mg L^{-1} para un tiempo de exposición de 48h. Sin embargo, lo más destacado de este estudio radica en los efectos morfofuncionales sobre *D. magna*. En su trabajo, se informó una reducción en la

capacidad de natación de *D. magna*, excluyendo el control negativo y la concentración mínima de 10 mg L⁻¹ donde no se observaron datos significativos. Además, disminuyó su actividad trófica del 86 al 19% para concentraciones de 50 y 200 mg L⁻¹ respectivamente. Esta disminución puede estar asociada a la sustitución del alimento principal de *D. magna* por microplásticos que lograron entrar por el tracto digestivo. Mattson et al. 2017 mencionan en su artículo que *D. magna* puede ingerir partículas con tamaños entre 20 nm a 70 µm, y el diámetro obtenido para sus NPs hechas de Poliestireno Modificado con Aminas Cargadas Positivamente (PAO₂N) alcanzó un valor medio de 52 nm, el diámetro hidrodinámico fue de 56 nm y las concentraciones utilizadas para la exposición a biomarcadores estuvieron entre 25 y 75 mg L⁻¹, donde se observó que, después de 24 h del inicio del bioensayo, la mitad de los individuos con 75 mg L⁻¹ murieron en las primeras 13 h.

Tabla 4.6 Valores de LC_{50} para sistemas similares que fueron aplicados a *D. magna*. (n.d.= no determinado). Los valores entre paréntesis indican el diámetro MET de las NPs.

Sistema	Promedio de tamaño de partícula en medio acuoso (nm)	Origen de la NP	Tiempo de exposición (h)	LC_{50} (mg L ⁻¹)	Referencia
Fe ₃ O ₄ NPs (6 nm)	n.d.	Sintetizado	48	2.3	García et al 2011
SAMN*(11 (2) nm)	5 – 20	Sintetizado	48	1.25 – 40	Magro et al., 2018
PVP-IONP (6.1 (6 nm))	82.3	Sintetizado	48	9750	Baumann et al. 2014
MWCNTs- γ-Fe ₂ O ₃ (13.8 (6) nm for γ-Fe ₂ O ₃)	n.d.	Sintetizado	24	381.8	Zarria et al. 2023
GO- γ-Fe ₂ O ₃ (10.4 (2) nm for γ-Fe ₂ O ₃)	n.d.	Sintetizado	24	0.9	Zarria et al. 2023

Fe ₂ O ₃ (20 – 40 nm)	n.d.	Comercial	96	163.21	Farsi <i>et al.</i> 2021
NP-Fe ₃ O ₄ (< 20 nm)	n.d.	Sintetizado	48	977.24	Shariati <i>et al.</i> 2020
PS (< 75 μm)	n.d.	Comercial	48	78.94	Nikitin <i>et al.</i> 2013
PAO ₂ N (52 nm)	56	Comercial	<24	<75	Mattsson <i>et al.</i> 2017
γ-Fe ₂ O ₃ @PSS (11.39 nm)	232.2	Sintetizado	24	533.37	Esta tesis

Conclusiones

- Mediante la ruta de coprecipitación química se consiguió la funcionalización de las NPM de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ con el polímero PSS. Es decir que, esta ruta química es efectiva para la síntesis de nanomateriales basados en óxido de hierro funcionalizados, en este caso con un polímero que dota estabilidad química al material. Cuando se aproxima un imán de neodimio a la muestra en polvo obtenida pueden notarse efectos magnéticos sobre esta, como, por ejemplo, reacción al movimiento del imán alrededor del tubo porta muestra.
- La caracterización estructural de RV1 mediante el análisis de la DRX indica que el PSS no tiene un carácter cristalino debido a que no existe manifestación del polímero en el difractograma. El tamaño del cristalito, determinado a través del ajuste por el método de Rietveld sobre el difractograma, es de 11.4 nm, la estructura cúbica espinel inversa no presenta cambios o modificaciones de acuerdo con el refinamiento por el método de Rietveld. Esta estructura conserva los sitios octaédricos y tetraédricos para los iones de Fe^{3+} .
- El tamaño de las NPs de RV1 logradas por el método de coprecipitación química indican que, principalmente la fase del óxido de hierro ha conseguido formarse y tras ser analizada por la DRX se logró identificar los principales parámetros cristalográficos. Por ejemplo, el tamaño del cristalito como se mencionó en la conclusión anterior se ubica alrededor de 11.4 nm, lo cual es confirmado por la técnica MET, cuya distribución de diámetros se encuentra en 11 nm aproximadamente.

- La presencia del PSS se evidenció con la identificación de los modos vibracionales en la espectroscopía Raman alrededor de 1130 cm^{-1} y 1600 cm^{-1} indicado en la literatura como las deformaciones de los enlaces de carbono y la deformación del grupo sulfonato, característicos del PSS. Esto debido al principal efecto de la interferencia por fluorescencia que consiguen los polímeros de alto peso molecular cuando se realiza las mediciones con fuentes de longitud de onda menor. Para este trabajo el láser de He-Ne (633 nm) no fue suficiente para conseguir la resolución de todos los modos vibracionales, a pesar de poder observar los principales. En este sentido se buscó el cambio de la fuente por una de longitud de onda de infrarrojo cercano de 785 nm .
- Cuando RV1 es sometida a la potencia total del láser para realizar el recocido de esta, se puede apreciar, en los espectros Raman, que, entre los diferentes porcentajes de potencia empleada, la transición de la fase $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a la fase $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ se produce para 0.72 mW . Esto queda demostrado por la presencia de los modos vibracionales característicos en un espectro Raman para esta fase.
- El análisis mediante la técnica de FTIR indica la presencia del polímero PSS en las bandas características donde ocurren estiramientos debido a los grupos sulfónicos. Esto es respaldado por resultados similares de trabajos previos, donde la frecuencia de 1034 cm^{-1} se muestra como el estiramiento del enlace $\text{O} - \text{S} - \text{O}$ propia del PSS.
- El análisis de espectroscopía UV-Vis permitió observar las transiciones electrónicas para la fase nano de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ que se representa por el salto de ${}^6\text{A}_1 \rightarrow {}^4\text{E}$, que se encuentra en la posición cerca de 370 nm de acuerdo con la literatura. La

determinación de la banda prohibida fue de 1.49 eV a través del diagrama de Tauc para la banda prohibida indirecta.

- La magnetización de saturación de RV1 fue calculada a 300 K y se encontró un valor de 66.06 emu g⁻¹ cercana al valor bulk de la γ -Fe₂O₃, y para la determinación de los parámetros magnéticos se empleó el ajuste de Aproximación de Saturación (LAS) para la muestra medida a 5 K con (FC) y sin (ZFC) la presencia de un campo magnético externo, además se calculó la anisotropía magnetocristalina efectiva en 0.78 y 1.08 ×10⁵ J m⁻³ para temperatura ambiente y baja temperatura, respectivamente.
- Los espectros Mössbauer de RV1 indica que los parámetros hiperfinos se corresponden con la estructura espinela inversa de este óxido de hierro con los sitios octaédricos y tetraédricos del Fe³⁺ ubicados correctamente, el R.A.A. se encuentra en la proporción correspondiente con la literatura cuando se realiza la medición a 5 K. Además, fue necesario añadir un tercer subespectro a la medida de la muestra a 300 K, esto debido a que se conforma una estructura de núcleo-coraza donde los iones de Fe³⁺ se encuentran recubriendo los sitios A y B. El modelo empleado para la realización de este ajuste permitió determinar el espesor de esta coraza alrededor de 0.91 nm.
- RV1 presenta un LC_{50} de 533.4 mg L⁻¹ para los efectos considerados por 24 h de exposición a nuestro nanohíbrido. El principal efecto sobre las *D. magna* se muestra sobre el exoesqueleto, donde las NPM se han adherido a este, limitando su desplazamiento y probablemente impidiendo la ingesta de microalgas, lo que las llevó al deceso. Las *D. magna* que consiguieron sobrevivir lo hicieron al desprenderse de

su exoesqueleto, lo que nos indica que entre el grupo seleccionado algunas se encontraban en temporada de muda, por lo que es posible que algunos de los individuos hayan conseguido sobrevivir a la exposición a bajas concentraciones.

- El sistema híbrido RV1 fue comparado con trabajos donde se emplea a *D. magna* como biomarcador ambiental. En este sentido, nuestro sistema puede ser empleado para trabajos de nanorremediación por debajo del LC_{50} obtenido. Es decir, de acuerdo con los resultados del ajuste sigmoideal del porcentaje de mortalidad de *D. magna* vs concentración en este trabajo, se recomienda emplear una concentración menor de 533.4 mg L^{-1} para realizar los estudios de remediación de cuerpos de agua. Esto es importante puesto que, entre los trabajos previos se puede dar cuenta de los efectos que podría ocasionar una alteración del ecosistema de las *D. magna*, como reducción de movilidad o ingesta de NPM pudiendo ser mortal para estos organismos.

Bibliografía

- Adar, F. (2001). Evolution and revolution of Raman instrumentation-application of available technologies to spectroscopy and microscopy. *PRACTICAL SPECTROSCOPY SERIES*, 28, 11-40.
- Alvear, D., Galeas, S., Guerrero, V. H., and Debut, A. (2017). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Magnetita. *Revista Politécnica*, 39(2), 61-66.
- Bali Ogholbeyg, A., Kianvash, A., Hajalilou, A., Abouzari-Lotf, E., and Zarebkohan, A. (2018). Cytotoxicity characteristics of green assisted-synthesized superparamagnetic maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(14), 12135-12143.
- Barakat, N. A. (2012). Synthesis and characterization of maghemite iron oxide (γ -Fe₂O₃) nanofibers: Novel semiconductor with magnetic feature. *Journal of Materials Science*, 47, 6237-6245.
- Baumann, J., Köser, J., Arndt, D., and Filser, J. (2014). The coating makes the difference: Acute effects of iron oxide nanoparticles on *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 484, 176-184.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., and Rizzolio, F. (2020). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Belin, T., Guigue-Millot, N., Caillot, T., Aymes, D., and Niepce, J. C. (2002). Influence of grain size, oxygen stoichiometry, and synthesis conditions on the γ -Fe₂O₃ vacancies ordering and lattice parameters. *Journal of Solid State Chemistry*, 163(2), 459-465.
- Canchanya-Huaman, Y., Mayta-Armas, A. F., Pomalaya-Velasco, J., Bendezú-Roca, Y., Guerra, J. A., and Ramos-Guivar, J. A. (2021). Strain and Grain Size Determination of CeO₂ and TiO₂ Nanoparticles: Comparing Integral Breadth Methods versus Rietveld, μ -Raman, and TEM. *Nanomaterials*, 11(9), 2311.
- Cano, D. A. F., Quispe, A. R. C., Vellasmin, R. R., Anticono, J. A. O., González, J. C., and Guivar, J. A. R. (2021). Fifty years of Rietveld refinement: Methodology and guidelines in superconductors and functional magnetic nanoadsorbents. *Revista de Investigación de Física*, 39-48.
- Carlos, L., Einschlag, F. S. G., González, M. C., and Mártire, D. O. (2013). Applications of magnetite nanoparticles for heavy metal removal from wastewater. *Wastewater-treatment technologies and recent analytical developments*, 3, 64-73.

- Chowdhury, S. R., Yanful, E. K., and Pratt, A. R. (2012). Chemical states in XPS and Raman analysis during removal of Cr (VI) from contaminated water by mixed maghemite–magnetite nanoparticles. *Journal of hazardous materials*, 235, 246-256.
- Cornell, R. M., and Schwertmann, U. (2003). *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences, and uses* (Vol. 664). Weinheim: Wiley-vch.
- Cristovan, F. H., Nascimento, C. M., Bell, M. J. V., Laureto, E., Duarte, J. L., Dias, I. F., Cruz, W. O. and Marletta, A. (2006). Synthesis and optical characterization of poly (styrene sulfonate) films doped with Nd (III). *Chemical physics*, 326(2-3), 514-520.
- Curtis, A. D., Calchera, A. R., Asplund, M. C., and Patterson, J. E. (2013). Observation of sub-surface phenyl rings in polystyrene with vibrationally resonant sum-frequency generation. *Vibrational Spectroscopy*, 68, 71-81.
- Dave, P. N., and Chopda, L. V. (2014). Application of iron oxide nanomaterials for the removal of heavy metals. *Journal of Nanotechnology*, 2014.
- Dhal, J. P., Mishra, B. G., and Hota, G. (2015). Ferrous oxalate, maghemite and hematite nanorods as efficient adsorbents for decontamination of Congo red dye from aqueous system. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(6), 1845-1856.
- Dinnebier, R. E., and Billinge, S. J. (2008). *Powder diffraction: theory and practice*. Royal society of chemistry.
- Dinnebier, R. E., Leineweber, A., and Evans, J. S. (2018). *Rietveld refinement*. De Gruyter.
- Edwards, H. G. M., Brown, D. R., Dale, J. A., and Plant, S. (2000). Raman spectroscopy of sulfonated polystyrene resins. *Vibrational Spectroscopy*, 24(2), 213-224.
- Fan, Y., and Cornelius, C. J. (2013). Raman spectroscopic and gas transport study of a pentablock ionomer complexed with metal ions and its relationship to physical properties. *Journal of Materials Science*, 48(3), 1153-1161.
- Farsi, L., Sabzalipour, S., Khodadadi, M., Haghghi Fard, N. J., and Jamali-Sheini, F. (2021). The Ecotoxicity of Nanoparticles Co_2O_3 and Fe_2O_3 on *Daphnia magna* in Freshwater. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 43(6), 509-516.
- García, A., Espinosa, R., Delgado, L., Casals, E., González, E., Puentes, V., Barata, C., Font, X. and Sánchez, A. (2011). Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests. *Desalination*, 269(1-3), 136-141.
- Genc, S., and Derin, B. (2014). Synthesis and rheology of ferrofluids: a review. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 3, 118-124.

- Govan, J. (2020). *Recent Advances in Magnetic Nanoparticles and Nanocomposites for the Remediation of Water Resources*. *Magnetochemistry*, 6(4), 49.
- Grau-Crespo, R., Al-Baitai, A. Y., Saadoune, I., and De Leeuw, N. H. (2010). Vacancy ordering and electronic structure of γ -Fe₂O₃ (maghemite): a theoretical investigation. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 22(25), 255401.
- Graves, P. R. G. D. J., and Gardiner, D. (1989). *Practical raman spectroscopy*. Springer.
- Guadarrama-Tejas, R., Kido-Miranda, J., Roldan-Antunez, G. y Salas-Salgado, M. Contaminación del agua. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales* (2016), 2-5: 1-10
- Guivar, J. A. R., Sanches, E. A., Bruns, F., Sadrollahi, E., Morales, M. A., López, E. O., and Litterst, F. J. (2016). Vacancy ordered γ -Fe₂O₃ nanoparticles functionalized with nanohydroxyapatite: XRD, FTIR, TEM, XPS and Mössbauer studies. *Applied Surface Science*, 389, 721-734.
- Gupta, V. (2021). Nanoremediation-Clean up technology for water pollution. *Psychology and Education Journal*, 58(1), 4833-4841.
- Häder, D. P., and Erzinger, G. S. (2017). Arsenic pollution measured with an online monitoring system using *Daphnia*. *Open Journal of Environmental Biology*, 2(1), 027-034.
- Hanesch, M. (2009). Raman spectroscopy of iron oxides and (oxy) hydroxides at low laser power and possible applications in environmental magnetic studies. *Geophysical Journal International*, 177(3), 941-948.
- Heldebrant, D. J., Witt, H. N., Walsh, S. M., Ellis, T., Rauscher, J., and Jessop, P. G. (2006). Liquid polymers as solvents for catalytic reductions. *Green Chemistry*, 8(9), 807-815.
- Hewat, A., David, W. I., and van Eijck, L. (2017). Hugo Rietveld (1932–2016). *Neutron News*, 28(1), 19-20.
- Hua, M., Zhang, S., Pan, B., Zhang, W., Lv, L., and Zhang, Q. (2012). Heavy metal removal from water/wastewater by nanosized metal oxides: a review. *Journal of hazardous materials*, 211, 317-331.
- Hussain, A., Madan, S., and Madan, R. (2021). Removal of heavy metals from wastewater by adsorption. In *Heavy Metals-Their Environmental Impacts and Mitigation*. IntechOpen.
- Jubb, A. M., and Allen, H. C. (2010). Vibrational spectroscopic characterization of hematite, maghemite, and magnetite thin films produced by vapor deposition. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2(10), 2804-2812.

- Kiliç, Z. (2021). Water Pollution: Causes, Negative Effects and Prevention Methods. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 32-35.
- Kim, Y. Y., Hyun, W. J., Park, K. H., Ye, S. J., and Park, O. O. (2015). Synthesis of poly (3, 4-ethylenedioxythiophene): poly (styrene sulfonate)-capped silver nanoparticles and their application to blue polymer light-emitting diodes. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32(3), 534-539.
- Kinebuchi, I., and Kyono, A. (2021). Study on magnetite oxidation using synchrotron X-ray diffraction and X-ray absorption spectroscopy: Vacancy ordering transition in maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). *Journal of Mineralogical and Petrological Sciences*, 116(4), 211-219.
- Larkin, P. (2011). *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. Elsevier.
- Lee, H. Y., Rwei, S. P., Wang, L., and Chen, P. H. (2008). Preparation and characterization of core-shell polyaniline-polystyrene sulfonate@ Fe_3O_4 nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 112(3), 805-809.
- Li, Z., Chanéac, C., Berger, G., Delaunay, S., Graff, A., and Lefèvre, G. (2019). Mechanism and kinetics of magnetite oxidation under hydrothermal conditions. *RSC advances*, 9(58), 33633-33642.
- Lopez, J., Espinoza-Beltran, F. J., Zambrano, G., Gómez, M. E., y Prieto, P. (2012). Caracterización de nanopartículas magnéticas de CoFe_2O_4 y $\text{CoZnFe}_2\text{O}_4$ preparadas por el método de coprecipitación química. *Revista mexicana de física*, 58(4), 293-300.
- Magro, M., De Liguoro, M., Franzago, E., Baratella, D., and Vianello, F. (2018). The surface reactivity of iron oxide nanoparticles as a potential hazard for aquatic environments: A study on *Daphnia magna* adults and embryos. *Scientific reports*, 8(1), 13017.
- Malhotra, N., Lee, J. S., Liman, R. A. D., Ruallo, J. M. S., Villaflores, O. B., Ger, T. R., and Hsiao, C. D. (2020). Potential toxicity of iron oxide magnetic nanoparticles: A review. *Molecules*, 25(14), 3159.
- Mattsson, K., Johnson, E. V., Malmendal, A., Linse, S., Hansson, L. A., and Cedervall, T. (2017). Brain damage and behavioural disorders in fish induced by plastic nanoparticles delivered through the food chain. *Scientific reports*, 7(1), 11452.
- Mehrdad, A., and Parvini, E. (2019). Interactions of sodium polystyrene sulfonate with 4-methylpyridinium based ionic liquids in aqueous solution: Viscometry, conductometry, UV-Vis spectroscopy and density functional theory studies. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 131, 503-516.

- Mosca, S., Conti, C., Stone, N., and Matousek, P. (2021). Spatially offset Raman spectroscopy. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), 1-16.
- Nikitin, O. V., Nasyrova, E. I., Kuzmin, R. S., Minnegulova, L. M., and Latypova, V. Z. (2013). Effects of polystyrene microparticles on the morphofunctional parameters of *daphnia magna*. *БКК 28 М34*, 6, 117.
- Núñez, M., y Hurtado, J. (2005). Bioensayos de toxicidad aguda utilizando *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Daphniidae) desarrollada en medio de cultivo modificado. *Revista Peruana de Biología*, 12(1), 165-170.
- Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria, R. A., and Gallo, J. A. (2020). Water contamination by heavy metals, analysis methods and removal technologies. A review. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18.
- Parmar, T. K., Rawtani, D., and Agrawal, Y. K. (2016). Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Frontiers in life science*, 9(2), 110-118.
- Phan, M. H., Alonso, J., Khurshid, H., Lampen-Kelley, P., Chandra, S., Stojak Repa, K., Nemati, Z., Das, R., Iglesias, O. and Srikanth, H. (2016). Exchange bias effects in iron oxide-based nanoparticle systems. *Nanomaterials*, 6(11), 221.
- Purcell, F. J., and Bello, J. M. (1990). Fluorescence-free Raman spectra of polymers. *Raman and Luminescence Spectroscopies in Technology II*.
- Ramos Guivar, J. A., Bustamante, A., Flores, J., Mejía Santillan, M., Osorio, A. M., Martínez, A. I., De Los Santos Valladares, L. and Barnes, C. H. W. (2014). Mössbauer study of intermediate superparamagnetic relaxation of maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles. *Hyperfine Interactions*, 224(1), 89-97.
- Renzi, M., and Blašković, A. (2019). Ecotoxicity of nano-metal oxides: A case study on *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 28(8), 878-889.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Lagos, M. D., and Jimenez, E. E. G. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo: I2+ D*, 16(2), 66-77.
- Rietveld, H. M. (1969). A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. *Journal of applied Crystallography*, 2(2), 65-71.
- Rosenkranz, P. W. (2010). The ecotoxicology of nanoparticles in *Daphnia magna* (Doctoral dissertation, Edinburgh Napier University).
- Sartoratto, P. P. C., Caiado, K. L., Pedroza, R. C., Da Silva, S. W., and Morais, P. C. (2007). The thermal stability of maghemite-silica nanocomposites: an investigation using X-ray diffraction and Raman spectroscopy. *Journal of Alloys and Compounds*, 434, 650-654.

- Schwarzenbach, R. P., Egli, T., Hofstetter, T. B., Von Gunten, U., and Wehrli, B. (2010). Global water pollution and human health. *Annual review of environment and resources*, 35, 109-136.
- Shariati, F., Poordeljoo, T., and Zanjanchi, P. (2020). The acute toxicity of SiO₂ and Fe₃O₄ nanoparticles on *Daphnia magna*. *Silicon*, 12, 2941-2946.
- Shokrollahi, H. J. J. O. M. (2017). A review of the magnetic properties, synthesis methods and applications of maghemite. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 426, 74-81.
- Smith, E., and Dent, G. (2019). *Modern Raman spectroscopy: a practical approach*. John Wiley & Sons.
- Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts*. John Wiley and Sons.
- Song, J., Kong, H., and Jang, J. (2011). Adsorption of heavy metal ions from aqueous solution by polyrhodanine-encapsulated magnetic nanoparticles. *Journal of colloid and interface science*, 359(2), 505-511.
- Suryanarayana, C., and Norton, M. G. (1998). *X-ray diffraction: a practical approach*. Springer Science & Business Media.
- Tadros, T. (2013). *Encyclopedia of Colloid and Interface Science*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Thünemann, A. F., Schütt, D., Kaufner, L., Pison, U., & Möhwald, H. (2006). Maghemite nanoparticles protectively coated with poly (ethylene imine) and poly (ethylene oxide)-b lock-poly (glutamic acid). *Langmuir*, 22(5), 2351-2357.
- Toby, B. H. (2006). R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? *Powder diffraction*, 21(1), 67-70.
- Vašková, H. (2011). A powerful tool for material identification: Raman spectroscopy. *Int. J. Math. Model. Methods Appl. Sci*, 5, 1205-1212.
- Verma, R., and Dwivedi, P. (2013). Heavy metal water pollution-A case study. *Recent Research in Science and Technology*, 5(5).
- Vuorinen, H. S., Juuti, P. S., and Katko, T. S. (2007). *History of water and health from ancient civilizations to modern times*. *Water Science and Technology: Water Supply*, 7(1), 49-57.
- Will, G. (2006). *Powder diffraction: The Rietveld method and the two-stage method to determine and refine crystal structures from powder diffraction data*. Springer Science & Business Media.

- Wu, W., Wu, Z., Yu, T., Jiang, C., and Kim, W. S. (2015). Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and technology of advanced materials*.
- Yemata, T. A., Zheng, Y., Kyaw, A. K. K., Wang, X., Song, J., Chin, W. S., and Xu, J. (2020). Modulation of the doping level of PEDOT: PSS film by treatment with hydrazine to improve the Seebeck coefficient. *RSC Advances*, 10(3), 1786-1792.
- Yevjevich, V. (1992). *Water and civilization*. *Water international*, 17(4), 163-171.
- Young, R. A. (1993). The Rietveld method. *International union of crystallography*.
- Zakharova, I. N., Shipilin, M. A., Alekseev, V. P., and Shipilin, A. M. (2012). Mössbauer study of maghemite nanoparticles. *Technical Physics Letters*, 38(1), 55-58.
- Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 5(1), 69-81.
- Zarria-Romero, J. Y., Ocampo-Anticona, J. A., Pinotti, C. N., Passamani, E. C., Checca-Huaman, N. R., Castro-Merino, I. L., Pino, J., Shiga, B. and Ramos-Guivar, J. A. (2023). Ecotoxicological properties of functionalized magnetic graphene oxide and multiwall carbon nanotubes in *Daphnia magna*. *Ceramics International*.
- Zarria-Romero, J., Osorio, A., Carvallo, C., Pino, J., Shiga, B., and Vivas-Ruiz, D. (2015). Evaluación citotóxica y genotóxica producida por nanoparticulados de ZnO, TiO₂ y SiO₂ a nivel de médula ósea de ratón *Mus musculus*. *Theorēma (Lima, Segunda época, En línea)*, (3), 149-154.
- Zolotoyabko, E. (2014). *Basic concepts of X-ray diffraction*. John Wiley & Sons.

ANEXOS

Apéndice A

Certificado de Taller de Difracción de Rayos X y Refinamiento por el Método de Rietveld



REGISTRO N° 0170-2021-CERSEU-FCF

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

Centro de Responsabilidad Social y Extensión Universitaria

C E R S E U

CERTIFICADO

Otorgado a:

RENZO RUEDA VELLASMIN

Por su participación en calidad de PARTICIPANTE del Evento Académico Científico – TALLER FORMATIVO ESPECIALIZADO EN DIFRACCIÓN DE RAYOS-X Y REFINAMIENTO RIETVELD, realizado del 15 de marzo al 02 de abril de 2021, con una duración de 20 horas; Organizado por el Grupo de Investigación de Nanotecnología aplicada para Biorremediación Ambiental, Energía, Biomedicina y Agricultura (NANOTECH) de la Facultad de Ciencias Físicas-UNMSM; modalidad virtual.



Firmado digitalmente por
BUSTAMANTE DOMINGUEZ Angel
Guillermo FAU 20148092282.scn
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 20.06.2021 22:35:41 -05:00

Dr. Ángel Guillermo Bustamante Domínguez
Decano - FCF



Firmado digitalmente por SAAVEDRA
JUAN DE DIOS Miguel Fidencia FAU
20148092282.scn
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16.05.2021 18:54:01 -05:00

Lima, marzo 2021
Lic. Miguel Fidencia Saavedra Juan de Dios
Director del CERSEU- FCF



Apéndice B

Certificado del curso de Espectroscopía UV-Visible: Conceptos y aplicaciones



REGISTRO N° 0321-2021-CERSEU-FCF

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

Centro de Responsabilidad Social y Extensión Universitaria

C E R S E U

C E R T I F I C A D O

Otorgado a:

RENZO RUEDA VELLASMIN

Por su participación en calidad de **ASISTENTE** al **CURSO DE ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE: CONCEPTOS Y APLICACIONES**; realizado del 10 de Mayo al 23 de Junio del 2021 con una duración de 40 horas, **Organizado por el Grupo de Investigación de Nanotecnología aplicada para Biorremediación Ambiental, Energía, Biomedicina y Agricultura (NANOTECH)** de la Facultad de Ciencias Físicas-UNMSM; modalidad virtual.

Lima, setiembre 14 del 2021.



Firmado digitalmente por
BUSTAMANTE DOMINGUEZ Angel
Guillermo FAU 20146092262 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.09.2021 00:21:35 -05:00

Dr. Angel Guillermo Bustamante Domínguez
Decano - FCF



Firmado digitalmente por BOLARTE
CANALS Luis Alberto FAU
20146092262 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16.09.2021 08:30:06 -05:00

Mg. Luis Alberto Bolarte Canals
Director del CERSEU- FCF

Apéndice C

Certificado del curso llevado de manera virtual de Estadística Aplicada a la Tesis con SPSS

CINFO
CENTRO DE INFORMÁTICA

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

CENTRO DE INFORMÁTICA
TECNOLOGÍA QUE AVANZA, TRADICIÓN QUE RESPALDA

UNMSM

Expide el presente

CERTIFICADO

A **RENZO RUEDA VELLASMÍN**

Por haber **APROBADO**

El **CURSO VIRTUAL ESTADÍSTICA APLICADA A LA TESIS CON SPSS**

Realizado el **12 - oct - 2021 al 04 - nov - 2021**

 **Ing. CESAR AUGUSTO ANGULO CALDERÓN**
DIRECTOR
Centro de Informática – UNMSM



N. ° 0000072-2022-UAC-CINFO-DGSU/UNMSM Ciudad Universitaria, 21 de enero de 2022 – Lima – PERÚ

Apéndice D

Constancia de capacitación de en manejo de espectrofotómetro UV- Vis AVANTES de alta sensibilidad.



Apéndice E

Constancia de participación en calidad de asistente a la Conferencia Latinoamericana de Aplicaciones del Efecto Mössbauer 2022 (LACAME por sus siglas en inglés).



Apéndice F

Constancia como calidad de asistencia al Primer Taller Peruano de Espectrometría Mössbauer: Aspectos Fundamentales y Aplicaciones, realizado íntegramente de forma virtual.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

Centro de Responsabilidad Social y Extensión Universitaria

C E R S E U

CERTIFICADO

Otorgado a:

RENZO RUEDA VELLASMÍN

Por su participación en calidad de ASISTENTE al 1ER TALLER PERUANO DE ESPECTROMETRÍA MOSSBAUER: ASPECTOS FUNDAMENTALES Y APLICACIONES; realizado del 06 al 10 de junio del 2022 con una duración de 20 horas, Centro de Responsabilidad Social y Extensión Universitaria de la Facultad de Ciencias Físicas – UNMSM: modalidad virtual.

Lima, 16 de agosto de 2022.

Dr. ÁNGEL GUILLERMO BUSTAMANTE DOMÍNGUEZ
DECANO – FCF



Mag. LUIS ALBERTO BOLARTE CANALS
DIRECTOR DEL CERSEU – FCF



Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: <https://tramiteonline.unmsm.edu.pe/sgdfd/mcc/verifica/unmsm>, ingresando el número 0000022-2022-CERSEU-FCF/UNMSM y código de verificación 5177TDC.



Firmado digitalmente por:
UNMSM
Motivo: Servidor de
Agente Automatizado
Fecha: 16/08/2022 10:55:04-0500

N.º 0000022-2022-CERSEU-FCF/UNMSM

Activar Windows
Ve a Configuración para act