

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Escuela de Ciencias

Departamento de Ciencias Químico-Biológicas



“Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Dióxido de Silicio carboxiladas superficialmente para Aplicaciones Biomédicas”.

Tesis que, para completar los requisitos del Programa de Honores presenta el estudiante:

FERNANDO GALINDO AMADOR

156263

Licenciatura en Nanotecnología e Ingeniería Molecular

DR. MIGUEL ÁNGEL MÉNDEZ ROJAS

San Andrés Cholula, Puebla.

Primavera 2020.

TESIS QUE, PARA COMPLETAR LOS REQUISITOS DEL PROGRAMA DE
HONORES PRESENTA EL ESTUDIANTE FERNANDO GALINDO AMADOR

156263

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Miguel Ángel Méndez Rojas

PRESIDENTE DE TESIS

Dr. Ricardo Navarro Amador

SECRETARIO DE TESIS

Dra. Jessica Rosaura Campos Delgado

A mi padre, Margarito Galindo, sin su sacrificio nunca podría haber logrado llegar hasta
donde estoy.

A mi hermana y mejor amiga, Casey A. Galindo, por todos sus consejos y por ser el mejor
ejemplo de quién debo de ser.

AGRADECIMIENTOS

A mi padre y a mi hermana, por apoyarme en todas mis decisiones y acompañarme en este trayecto profesional.

A Humberto y José, por estar siempre en los momentos más difíciles.

A mis profesores, por compartirme todo su conocimiento en cada sesión de clase.

A mis amigos, su apoyo y ayuda ha sido fundamental para mi formación académica y personal.

A mi asesor, el Dr. Miguel Ángel Méndez Rojas, por darme la oportunidad y confianza de trabajar en este proyecto, además de sus enseñanzas y consejos.

A mi profesor y amigo, Omar Aguilar, por ser el ejemplo perfecto de aquel docente que se preocupa por la educación de sus estudiantes.

A esta institución, el formar parte de esta comunidad ha cambiado de una manera considerable mi vida.

Agradezco la beca recibida por el proyecto ConTex-CONACYT, ya que este trabajo de investigación se llevó a cabo con apoyos recibidos de los proyectos ConTex-CONACYT (**“Metal-organic frameworks coated on magnetic nanoparticles for cancer therapy”**, Grant ConTex-2019-21B) y al proyecto CONACYT-Fronteras de la Ciencia “Sistema de comunicación eléctrica silente entre sinapsis químicas en el sistema nervioso central: activación, desactivación, interacción y función (Nº 2016-01-1600)”.

RESUMEN

En el presente proyecto de tesis se aborda la síntesis de Nanopartículas (NPs) de Dióxido de Silicio (SiO_2) con tamaño promedio entre 20 y 60 nm, sintetizadas por el método de Stöber. La caracterización de dichas NPs fue realizada empleando técnicas como Dispersión Dinámica de Luz (DLS), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopía de Infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR) y Análisis Termogravimétrico (TGA). Se evaluaron también las condiciones para la funcionalización superficial de las NPs de SiO_2 y de portaobjetos de vidrio con grupos carboximetilo (carboximetilación, $-\text{OCH}_3\text{-COOH}$) empleando un nuevo proceso químico experimental.

LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

° C	Grados centígrados.
µm	Micrómetro.
COOH	Ácido carboxílico.
DDSs	Drug Delivery Systems.
DLS	Dynamic Light Scattering (Dispersión Dinámica de Luz).
Er	Erbio.
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier).
g	Gramos.
GO	Graphene Oxide (Óxido de Grafeno).
h	Horas.
Ho	Holmio.
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía de Alta Eficacia en Líquidos).
mg	Miligramos.
min	Minutos.
mL	Mililitros.

mmol	Milimol.
MOFs	Metal-Organic Frameworks.
MSNs	Mesoporous Silica Nanoparticles (Nanopartículas de Sílice Mesoporosa).
NaOH	Hidróxido de Sodio.
NH ₄ OH	Hidróxido de Amonio.
nm	Nanómetros.
NPs	Nanopartículas.
O	Oxígeno.
PVA	Polyvinyl Acetate (Acetato de Polivinilo).
rpm	Revoluciones por minuto.
SEM	Scanning Electron Microscope (Microscopio Electrónico de Barrido).
Si	Silicio.
SiO ₂	Dióxido de Silicio.
SOP	Standard Operation Procedure (Procedimiento Estándar de Operación).
TEOS	Tetraetil Ortosilicato.
TGA	Thermogravimetric Analysis (Análisis Termogravimétrico).
TiO ₂	Dióxido de Titanio.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
2.1. Justificación	12
2.2. Hipótesis	12
2.3. Objetivos	13
3. MARCO TEÓRICO	14
3.1. Propiedades de las NPs de SiO ₂	14
3.2. Efecto en el tamaño de las NPs	16
3.3. Propiedades superficiales	17
3.4. Método de Stöber	19
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	21
4.1. Equipo	21
4.2. Síntesis de nanopartículas de dióxido de silicio	21
4.3. Metacarboxilación de nanopartículas de dióxido de silicio	22
4.3.1. Primera metodología de síntesis	22
4.3.2. Segunda metodología de síntesis	24
4.4. Carboximetilación de portaobjetos de vidrio	26

4.4.1. Limpieza de portaobjetos	26
4.4.2. Carboximetilación de la superficie de silicatos de portaobjetos	27
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
5.1. Caracterización de NPs de SiO ₂	28
5.2. Caracterización de NPs de SiO ₂ carboximetiladas	38
5.3. Introducción de grupos carboximetilo (-OCH ₂ -COOH) en la superficie de portaobjetos	47
6. CONCLUSIONES	50
6.1. Conclusión	50
6.2. Trabajo futuro	50
7. REFERENCIAS	52

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la nanotecnología se ha vuelto uno de los campos más importantes y emocionantes de investigación, pues requiere la aproximación interdisciplinaria de la física, la química, la ingeniería y la biología para resolver problemas complejos. Se ha mostrado como una gran promesa, para proporcionarnos en un futuro muy cercano numerosos descubrimientos que cambiarán la dirección de los avances tecnológicos en una amplia gama de aplicaciones (Poole y Owens, 2003).

La nanotecnología usualmente se define como la comprensión, control, y reestructuración de la materia a escala nanométrica (entre 1 y 100 nm) para crear materiales con propiedades y funciones totalmente nuevas. Debido al confinamiento espacial en 1, 2 o 3 dimensiones, muchos materiales nanoestructurados presentan efectos cuánticos que dan lugar al surgimiento de propiedades físicas y químicas exóticas.

Un nanómetro es la millonésima parte de un milímetro, por ejemplo, un simple cabello mide aproximadamente 80,000 nm de grosor, los glóbulos rojos entre 6,000 y 8,000 nm y el tamaño de las proteínas oscila entre los 3 y 10 nm (Boisseau y Loubaton, 2011).

El diseño y preparación de nanomateriales sigue dos enfoques principales: (i) el “top-down”, en el cual las estructuras de mayor tamaño se reducen en su composición a la nanoescala mientras mantienen sus propiedades originales sin control a nivel atómico, o son deconstruidas a partir de estructuras grandes a su parte compuesta más pequeña, y (ii) el enfoque “bottom-up”, también llamado “nanotecnología molecular”, en el cual los materiales se diseñan a partir de átomos o componentes moleculares por un proceso de ensamblaje o auto-ensamblaje (Sanchez y Sobolev, 2010).

En palabras de Bhushan (2017), una nanopartícula es un agregado de átomos unidos entre sí, con un radio de entre 1 y 100 nm. Típicamente consiste de 10 a 10^5 átomos. Las propiedades físicas de los materiales a la nanoescala pueden ser diferentes a aquellas a las de escala macroscópica. Cuando la dimensión de un material se reduce respecto de una escala macro, las propiedades físicas se mantienen con pocos cambios en un inicio, pero cuando el tamaño del material se reduce por debajo de los 500 nm, pueden ocurrir cambios drásticos en sus propiedades derivado del confinamiento cuántico.

La nanotecnología no sólo representa un cambio revolucionario en campos como la física, química, biología o electrónica, sino que también resulta muy prometedora por sus aplicaciones potenciales en medicina, debido a que las nanopartículas pueden utilizarse para diversos fines tales como biomarcadores, biosensores, acarreadores de fármacos, entre muchos otros. Entre las nanopartículas con mayor potencial en medicina se encuentran las NPs de dióxido de silicio (NPs-SiO₂) debido a su biocompatibilidad, su relación superficie/volumen y a la facilidad de funcionalización química que presenta su superficie.

Las NPs-SiO₂ han sido consideradas como sistemas ideales para el diseño de acarreadores no tóxicos para la liberación controlada de fármacos (*Drug Delivery Systems*, DDS por sus siglas en inglés), así como excelentes agentes marcadores para imagenología en tiempo real. Este tipo de nanopartículas son a menudo una opción excepcional para la liberación de sustancias de interés farmacológico, cosmético o nutricional de entre las nanopartículas inorgánicas, principalmente debido a su gran estabilidad, biocompatibilidad, y versatilidad química (Aravind, et. al., 2012).

Los grupos silanoles presentes en la superficie de las nanopartículas de sílice permiten explotar el crecimiento de estructuras más complejas sobre esta, en este proyecto de tesis se

menciona el aprovechamiento de estos grupos presentes en la superficie para la adhesión correspondiente de ácidos carboxílicos (COOH) en dichas nanoestructuras. A partir de estos grupos carboxilo se busca el crecimiento de arreglos ordenados de metal-organic frameworks (MOFs) con el fin de emplear su estructura mesoporosa para almacenamiento y liberación controlada de fármacos. De igual forma, se busca aprovechar la estructura mesoporosa de las NPs para encapsular agentes fluorescentes tales como Holmio (Ho) y/o Erblio (Er) con el fin de diseñar sistemas que puedan ser empleados en medicina nuclear para el tratamiento de cáncer.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. Justificación

Desde que se conocen las increíbles ventajas que la nanotecnología puede ofrecer en el desarrollo de la ciencia y tecnología, ésta ha sido utilizada en diversos campos de investigación, siendo uno de los campos más prometedores la medicina. Diversos tipos de materiales tales como nanotubos, liposomas, filmes, nanopartículas, entre otros han sido utilizados por sus potenciales aplicaciones en campos tales como biomarcadores fluorescentes o sistemas de liberación controlada de fármacos; su versatilidad está dada por la facilidad que tienen para modificar tanto en su estructura como en su superficie, para así poder encapsular algún agente farmacológico o para formar estructuras más complejas, por mencionar algunas opciones.

Por otra parte, es importante mencionar que se debe tener en consideración la toxicidad que presentan este tipo de materiales al ser introducidos en un organismo vivo, es por esto que en este proyecto de tesis se prepararán nanopartículas de dióxido de silicio buscando controlar las condiciones de síntesis que regulen de mejor forma la obtención de tamaños en un rango específico, ya que éstas han sido reportadas en diversas ocasiones por su gran biocompatibilidad y potenciales aplicaciones biomédicas.

2.2. Hipótesis

El tamaño y morfología de las nanopartículas de dióxido de silicio puede ser controlado dependiendo de la temperatura y velocidad de hidrólisis de sus precursores alcóxido al momento de su síntesis. Además, la carboximetilación de su superficie nos permite crear estructuras más complejas a partir de la formación de diversos tipos de derivados químicos.

2.3. *Objetivos*

- Sintetizar nanopartículas mesoporosas de dióxido de silicio de tamaño controlado a partir del método reportado por Stöber et. al. en 1968.
- Determinar las variables de reacción que permitan controlar el tamaño de las nanopartículas.
- Determinar el tamaño de las nanopartículas preparadas por medio de la técnica de Dispersión Dinámica de Luz (DLS) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
- Realizar la carboximetilación de la superficie de las nanopartículas de sílice y de un portaobjetos de vidrio.
- Determinar la presencia de los grupos carboxilo de las NPs y del portaobjetos mediante espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FT-IR), así como por Análisis Termogravimétrico (TGA).

3. MARCO TEÓRICO

3.1. *Propiedades de las NPs de SiO₂*

La importancia y ventajas que ofrecen las partículas monodispersas de tamaños nanométricos pueden verse en diversos campos, desde el meramente académico hasta aplicaciones y procesos industriales, con impacto en nuestra vida cotidiana. Entre los distintos tipos de materiales disponibles, los nanomateriales de SiO₂ se han empleado principalmente para el desarrollo de sustratos electrónicos, películas delgadas, aisladores eléctricos, aisladores térmicos, sensores de humedad, entre muchas otras aplicaciones (Park, et. al., 2002). Como mencionan Rao, et. al. (2005), la calidad de estos productos depende altamente del tamaño y la distribución de estas partículas.

Los materiales mesoporosos ordenados son una clase importante de materiales nanoporosos que juegan un papel clave como catalizadores, soportes, adsorbentes, intercambiadores iónicos, o como sistemas de administración de fármacos. La gran versatilidad de estos materiales se debe a sus canales ordenados y desordenados con diámetros controlables de sus poros entre 2 y 50 nm que generan sólidos con una gran área superficial y un volumen de poro amplio (Schwanke, et. al., 2018).

En la última década, las nanopartículas mesoporosas de sílice (MSNs) han atraído fuertemente la atención debido a sus potenciales propiedades para aplicaciones biomédicas. Debido a su estructura mesoporosa y su gran área superficial, las MSNs como sistemas de administración de fármacos (DDSs) muestran ventajas significativas en comparación a otros nanotransportadores de fármacos tradicionales (Tang, et. al., 2012).

Las MSNs (Figura 1), a las cuales se les atribuyen mesoporos uniformes, fácil funcionalización de su superficie y una biocompatibilidad significativa, han ganado gran atención en las últimas dos décadas para aplicaciones biomédicas. Los compartimientos porosos y su gran área superficial proporcionan una plataforma natural para construir un agente teranóstico multifuncional. Su topología única proporciona a las MSNs tres dominios distintos que pueden ser funcionalizados: la estructura de sílice, los nanocanales/nanoporos, y la superficie más externa de las nanopartículas (Wu, et. al., 2011).

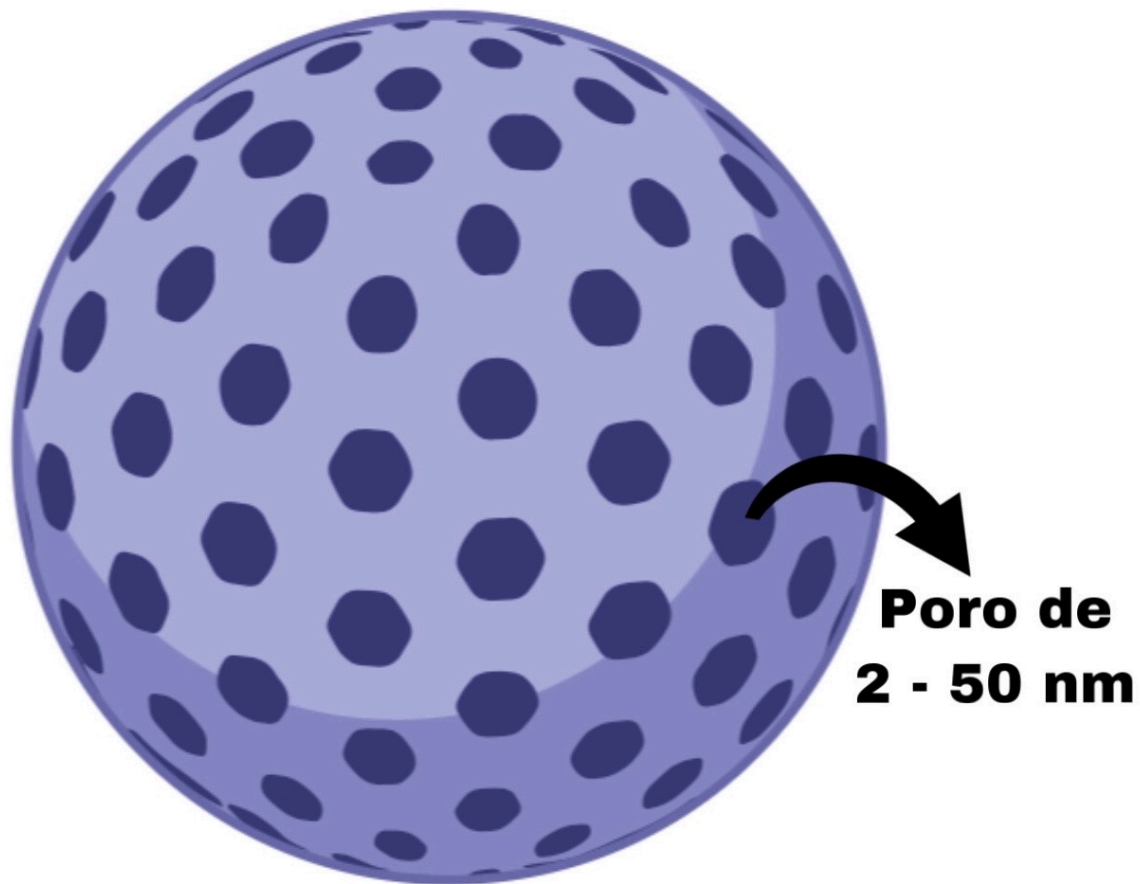


Figura 1. Representación de la estructura de una nanopartícula mesoporosa de sílice (MSNs).

En palabras de Tang, et. al. (2012), los nanomateriales inorgánicos tienen estructuras especiales y propiedades fisicoquímicas únicas. Entre los materiales inorgánicos, las MSNs tienen una estructura mesoporosa, un área superficial específica y un volumen de poros que

las hacen sobresalientes en comparación a otros materiales porosos. Estas propiedades les otorgan ventajas únicas para encapsular una gran variedad de agentes terapéuticos. Es importante destacar que la fabricación de MSNs es simple, escalable, de bajo precio y controlable.

Con lo anterior, puede decirse que las nanopartículas de sílice mesoporosas ofrecen una amplia variedad de aplicaciones debido a sus distintas propiedades, por esto, para su aplicación biomédica el control preciso sobre el tamaño y forma de la nanopartícula es muy importante.

3.2. Efecto en el tamaño de las NPs

Se ha descubierto que el tamaño de las partículas puede afectar la eficiencia y vía de absorción celular al influir en la adhesión de las partículas y su interacción con las células. Por ejemplo, Vallhov et. al. (2007) reportaron en su investigación que el tamaño de las partículas de SiO₂ es un factor importante que afecta la respuesta de las células dendríticas humanas.

El tamaño de la partícula es considerado una de las propiedades más importantes de los nanomateriales. Se ha evaluado también el efecto que tiene el tamaño de las nanopartículas sobre su biocompatibilidad. En un trabajo previamente publicado, se reportó que el tamaño de las partículas es uno de los parámetros más importantes para la mediación de la biocompatibilidad para los nanomateriales (Tang, et. al., 2012). Además, Lu, et. al. (2009), afirman que, para aplicaciones biomédicas, el tamaño de las nanopartículas de sílice mesoporosa es muy importante ya que este puede afectar la eficiencia y la vía de absorción celular al influir en la adhesión de las partículas y su interacción con las células.

El diámetro de las MSNs afecta en gran escala sus efectos biológicos, tales como su capacidad de inducir hemólisis y su capacidad de absorción celular. En palabras de Silverstein y Hopper (2014) la hemólisis es la destrucción de los glóbulos rojos, la importancia de que esto no ocurra radica en que la regeneración de los glóbulos rojos de las células precursoras es inadecuada para reponer las células destruidas.

Existen distintos métodos para controlar los diámetros de las nanopartículas de sílice. En general, los diámetros de las MSNs pueden ser fácilmente controlados al cambiar las condiciones de preparación al utilizar el método de Stöber como estrategia de preparación para las NPs de SiO₂ (Yamamoto y Kuroda, 2016).

El tamaño de las partículas puede ser controlado de manera efectiva al añadir los agentes aditivos adecuados como lo son alcoholes, aminas, bases o sales inorgánicas. Estos agentes alteran la hidrólisis y la condensación del precursor de la sílice. Actúan como catalizadores, dando como resultado partículas de tamaño más pequeño (Narayan, et. al., 2018); lo anterior es debido a que los mecanismos de nucleación y el crecimiento de las MSNs se ven fuertemente afectados por dichos factores.

Existen otros factores que afectan el tamaño de las MSNs, siendo uno de los más notorios la temperatura; por ejemplo, Yu et. al. (2012) reportan la preparación de MSNs coloidales a diferentes temperaturas, y encontraron que el diámetro de las MSNs se incrementaba proporcionalmente con el aumento de la temperatura de reacción.

3.3. Propiedades superficiales

Según Qhobosheane et. al. (2001), la modificación de la superficie de las nanopartículas puede otorgarles nuevas propiedades (biocompatibilidad, reconocimiento molecular,

fluorescencia, transporte de fármacos, etc.), lo que mejora sus aplicaciones efectivas en una amplia variedad de campos. La modificación superficial agrega funciones químicas deseadas a las nanopartículas, lo que permite avances significativos en la derivatización de la superficie de éstas.

Las MSNs poseen una estructura bien definida y una alta densidad de grupos silanoles (Figura 2) que pueden ser modificados con una gran variedad de grupos funcionales orgánicos. Los grupos funcionales adheridos en la superficie pueden jugar distintos roles en las aplicaciones biomédicas de las MSNs: (i) para controlar la carga superficial de las MSNs; (ii) para unir químicamente moléculas funcionales dentro o fuera de los poros de la nanopartícula; y (iii) para controlar el tamaño de la entrada de los poros para atrapar moléculas dentro de estos (Wu, et. al., 2011).

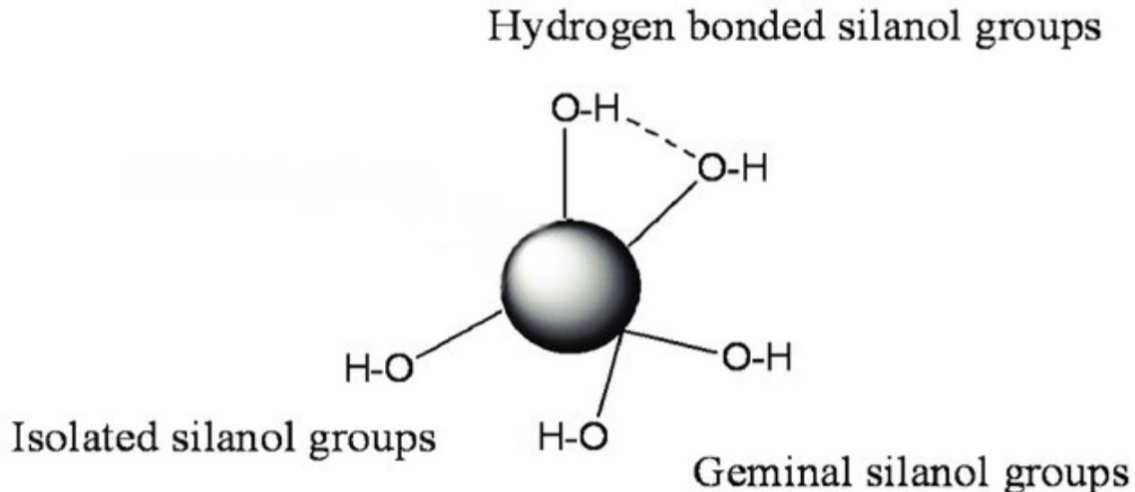


Figura 2. Grupos silanol en la superficie de sílice amorfa. Öchsner, A., Ahmed, W., & Ali, N. (2009). Nanocomposite coatings and nanocomposite materials. Trans Tech Publications Ltd.

La facilidad de introducir varios grupos funcionales orgánicos en la superficie de las MSNs, a través de la formación de enlaces covalentes o interacciones electrostáticas, proporciona un alto nivel de versatilidad y muchas otras propiedades (físicas, químicas o

biológicas) que pueden ser diseñadas por el usuario de los materiales mesoporosos de sílice. Sin embargo, para llevar a cabo la modificación covalente superficial de MSNs para introducir nuevos grupos funcionales por lo regular se requiere la introducción de estructuras orgánicas en la forma de derivados de silanos (Li, et. al., 2012). Existen numerosos derivados de organosilanos disponibles de distintos proveedores comerciales, pero por lo regular su aplicación en gran escala implica costos elevados por los precios que éstos presentan.

Tang et. al. (2012) mencionan que la introducción de grupos carboxilos en la superficie de NPs puede inducir una respuesta inmunológica atenuada y baja citotoxicidad, lo que mejora las características del nanomaterial para ser empleado para aplicaciones biomédicas. Además, en el trabajo reportado por Rajaeian et. al. (2015), se menciona que la carboxilación de NPs de TiO_2 redujeron la aglomeración de las nanopartículas. La carboxilación directa de la superficie de nanopartículas no es simple y la mayoría de los reportes que pueden encontrarse en la literatura emplean carboxi-silanos comerciales, costosos y que requieren técnicas cuidadosas de manipulación.

3.4. Método de Stöber

En 1968 Stöber et. al., en su artículo titulado *Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range*, reportaron la primera publicación sobre el empleo de partículas de sílice para una aplicación biomédica. En dicho trabajo se reportó la síntesis de partículas de SiO_2 de forma esférica con tamaños que variaban entre los 50 nm y 2 μm de diámetro.

Esta sencilla síntesis involucra la condensación de tetraetil ortosilicato (TEOS) en etanol. En palabras de Rossi et. al. (2005), el método de Stöber nos permite obtener un excelente control sobre el tamaño, así como la distribución de tamaño de partícula, y una morfología esférica casi ideal para las partículas de sílice resultantes.

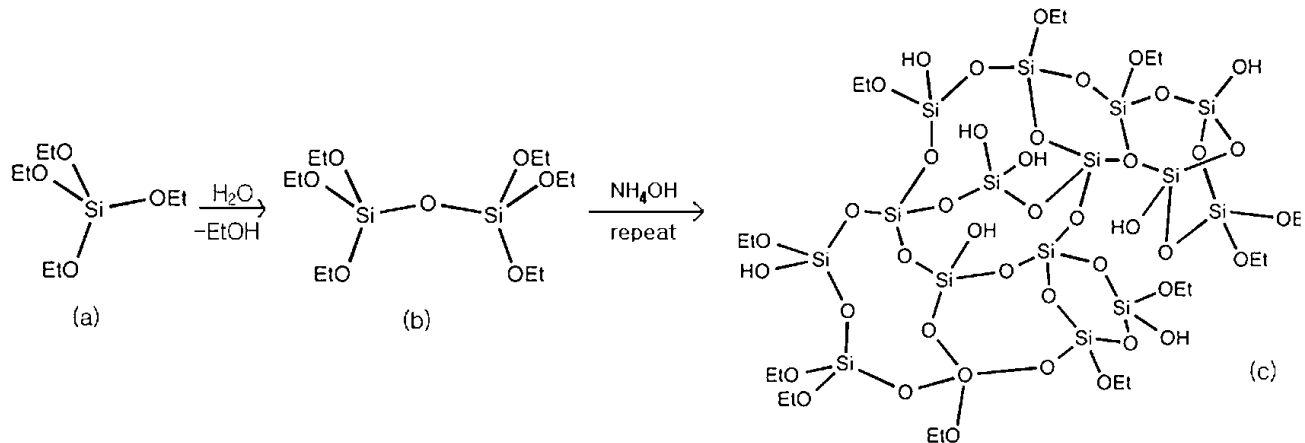


Figura 3. Representación simplificada de la hidrólisis y condensación de TEOS en el método de Stöber. Kim, S. Y., Heo, N. Y., Jeaan, J. U. N. G., Kim, W. J., Hwang, B. G., Kim, Y. S., & Lee, M. H. (2018). *U.S. Patent No. 10,067,138*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

En la Figura 3 se muestra gráficamente cómo en el método de Stöber se utiliza tetraetil ortosilicato (TEOS) como material precursor (a), el TEOS se disuelve en un solvente orgánico como etanol. Posterior a esto, se lleva a cabo una hidrólisis controlada para producir el precursor de la sílice (b). El precursor (b) puede ser condensado con NH_4OH , que promoverá la unión de Si-O-Si, produciendo agua como subproducto, para finalmente obtener la estructura de sílice (c).

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Los reactivos utilizados en este proyecto de tesis fueron adquiridos de por Sigma Aldrich y fueron empleados sin ninguna otra purificación. Como excepción, se empleó etanol absoluto comercial y agua triplemente destilada.

4.1. Equipo

- Microscopio electrónico de barrido de ultra-alta resolución de emisión de campo (FESEM), MAIA3 TESCAN, con detector EDS Bruker XFlash 6|30
- Equipo para determinación de distribución de tamaño de partícula por dispersión dinámica de luz (DLS), Microtrac, Nanotracs Wave II DLS
- Espectrofotómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR), Agilent Resolutions Pro IR Spectrometec
- Equipo para análisis por termogravimetría y análisis térmico diferencial TGA-DTA Regulus II, Netzsch

4.2. Síntesis de nanopartículas de dióxido de silicio

Reactivos:

- Etanol Absoluto
- Tetraetil ortosilicato (TEOS)
- Hidróxido de amonio (NH_4OH)

La síntesis de NPs de SiO_2 se llevó a cabo utilizando el método de Stöber; para llevar a cabo esta reacción se montó un sistema como el que se muestra en la Figura 4. En un matraz de

bola de 250 mL se colocaron 150 mL de etanol absoluto y se configuró la temperatura de la parrilla de calentamiento a tres distintas temperaturas (45, 55 y 65° C) para comparar la influencia de la temperatura sobre el diámetro de las NPs producidas en cada síntesis. Posterior a esto se agregan 4 mL (100.46 mmol) de NH_4OH con agitación y al paso de 10 minutos se añadieron 6 mL (27.07 mmol) de TEOS gota a gota en un lapso de entre 10 y 15 min. La reacción se dejó en agitación (600 rpm) por 12 h.



Figura 4. Diagrama del sistema utilizado para la síntesis de NPs de SiO_2 .

Al paso de 12 h de reacción, se detiene la agitación y el calentamiento y se coloca el matraz de bola en rotaevaporación para el secado de las nanopartículas de sílice. Al final del procedimiento se pudieron recuperar en promedio 2.01 g de nanopartículas de SiO_2 (96.21% de rendimiento promedio).

4.3. Metacarboxilación de nanopartículas de dióxido de silicio

4.3.1. Primera metodología de síntesis

Reactivos:

- Agua destilada

- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Ácido monocloroacético

Para la carboximetilación de la superficie de las NPs de SiO₂ (Si-O-CH₂-COOH) se adaptó la metodología empleada por Imani et. al. (2015) quienes reportaron la adición de grupos carboxilos a la superficie de óxido de grafeno (GO) con fines de bioconjugación; en su publicación *Nano-graphene oxide carboxylation for efficient bioconjugation applications: a quantitative optimization approach* mencionan que lograron exitosamente la funcionalización de la superficie de GO mediante la reacción de éste con ácido cloroacético bajo condiciones básicas para transformar los grupos hidroxilo superficiales en grupos carboxílicos (COOH). Además, siguiendo la metodología empleada por Verraest et. al. (1995) en su publicación *Carboxymethylation of inulin* en la cual utilizan NaOH y ácido monocloroacético para agregar grupos carboxilo a la superficie de la inulina, se tomaron en cuenta las condiciones de dicha reacción para adaptar las condiciones de la reacción de carboximetilación superficial de las nanopartículas de sílice.

La carboximetilación de la superficie de NPs de SiO₂ se llevó a cabo colocando 300 mg de las NPs de SiO₂ previamente preparadas por el método de Stöber en un matraz de bola de 50 mL que contenía 15 mL de agua destilada, el matraz se coloca en agitación vigorosa (1000 rpm). Cuando las NPs de sílice se disuelven por completo, se agregan aproximadamente 0.1998 g (5 mmol) de NaOH. Pasados 30 minutos de la adición del hidróxido se añadieron 0.2361 g (2.5 mmol) de ácido monocloroacético; es importante mencionar que la adición del ácido se hace lentamente, dejando que las perlas del sólido se

disuelvan completamente en el sistema antes de agregar la siguiente. La reacción se dejó en agitación por 24 h.

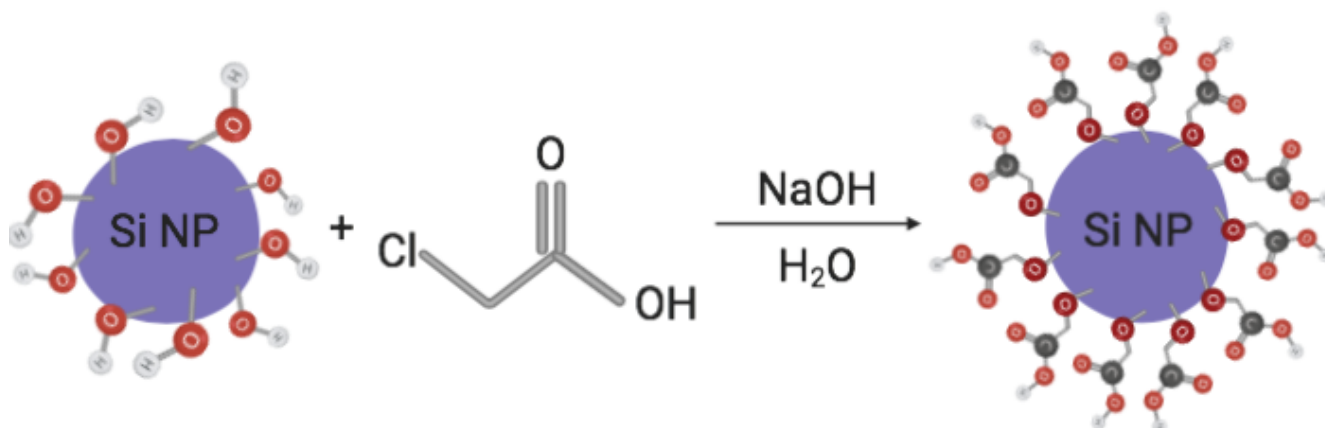


Figura 5. Esquema de la reacción de la metacarboxilación de la superficie de las nanopartículas de sílice.

Al terminar la funcionalización de la superficie de las NPs de SiO₂ se colocó el matraz de bola en un nido de calentamiento a aproximadamente 55° C conectado a vacío, la solución que contenía nanopartículas carboximetiladas se dejó en calentamiento por tres días hasta que se observó el precipitado de algunas NPs funcionalizadas. Posterior a esto, se vació el contenido del matraz en tubos falcon y se centrifugó por 20 min. a 4000 rpm para precipitar por completo las NPs. Se retiró el sobrenadante y el sólido con residuos de agua se colocó en un horno de vacío a 75° C por 6 h para recuperar el sólido seco.

4.3.2. Segunda metodología de síntesis

Reactivos:

- Agua destilada
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Ácido monocloroacético

Con el fin de controlar de una mejor manera la estequiometría de la reacción de carboximetilación, se para esta metodología se prepararon dos soluciones etiquetadas como A y B.

La solución A se preparó en un matraz de bola de 50 mL añadiendo 300 mg de NPs de SiO_2 en 10 mL de agua destilada, el sistema se colocó en agitación a aproximadamente 1150 rpm y se agregaron 100 mg (2.5 mmol) de NaOH.

Por otra parte, en un vaso de precipitados se preparó la solución B, agregando 100 mg (2.5 mmol) de NaOH en 5 mL de agua destilada, la solución se puso en agitación a aproximadamente 1150 rpm y posterior a esto se agregaron 236 mg (2.5 mmol) de ácido monocloroacético.

Las soluciones A y B se dejaron en agitación constante por 30 min., pasado este tiempo la solución B se retiró de agitación y se agregó gota a gota a la solución A. Al terminar de añadir los 5 mL de la solución B, se dejó la reacción en agitación por 5 horas.

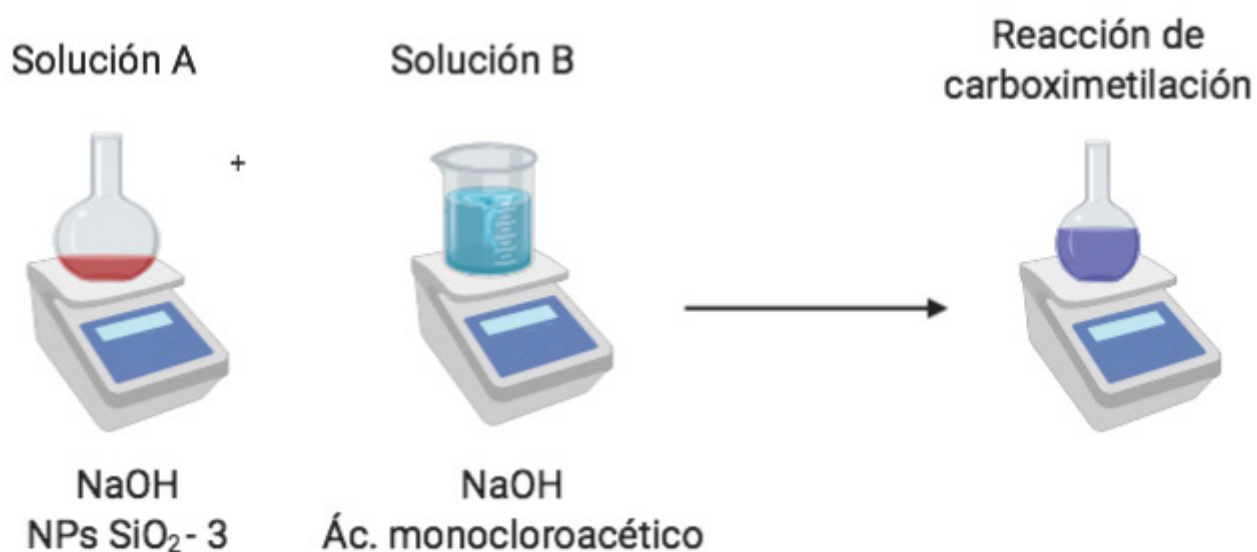


Figura 6. Esquema correspondiente al segundo método de síntesis para la carboximetilación de NPs de SiO_2 .

Al terminar la funcionalización de la superficie de las NPs de SiO₂ la recuperación del producto se realizó de la misma forma que en el primer método de síntesis.

4.4. Carboximetilación de portaobjetos de vidrio

Debido a que la estructura de los portaobjetos consiste en silicatos arreglados de manera amorfa, se pensó en su carboximetilación para poder generar filmes superficiales de sílice carboximetilados siguiendo la misma metodología empleada para la metacarboxilación de las nanopartículas de dióxido de silicio.

4.4.1. Limpieza de portaobjetos

Reactivos:

- Agua grado HPLC
- Acetona
- NaOH
- Nitrógeno gaseoso

Para la limpieza del portaobjetos éste se colocó en un vaso de precipitados con 20 mL de agua grado HPLC y se mantuvo en sonicación por 10 minutos; pasado este tiempo se retiró del agua y se colocó en otro vaso de precipitados con 20 mL de acetona y nuevamente se puso en sonicación por otros 10 minutos. Posterior a esto, se recogió el portaobjetos y se dejó en un horno de secado a una temperatura de 50° C por 20 min. Finalmente, el portaobjetos se puso en un vaso de precipitados que contenía 20 mL de una solución 1 M de NaOH en sonicación por 10 minutos. Al término de este tiempo se secó el portaobjetos aplicando nitrógeno gaseoso a presión sobre la superficie de éste.

4.4.2. Carboximetilación de la superficie de silicatos de un portaobjetos

Reactivos:

- Agua destilada
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Ácido monocloroacético

La metacarboxilación del portaobjetos (Figura 7) se realizó siguiendo el método 1 utilizado para carboximetilar la superficie de las NPs de SiO₂; posterior a la limpieza del portaobjetos como se indicó previamente, éste se colocó en un vaso de precipitados que contenía 15 mL de agua destilada. El vaso se puso en una placa de agitación orbital a 500 rpm y se añadió la cantidad correspondiente de NaOH según el peso del portaobjetos (considerando que para 1 g se necesitan 0.666 g (16.65 mmol) de NaOH). Pasados 30 min. se agregó la cantidad correspondiente de ácido monocloroacético (considerando que para 1 g se necesitan 0.787 g (8.33 mmol) de ácido monocloroacético) y se dejó en agitación por 24 h.

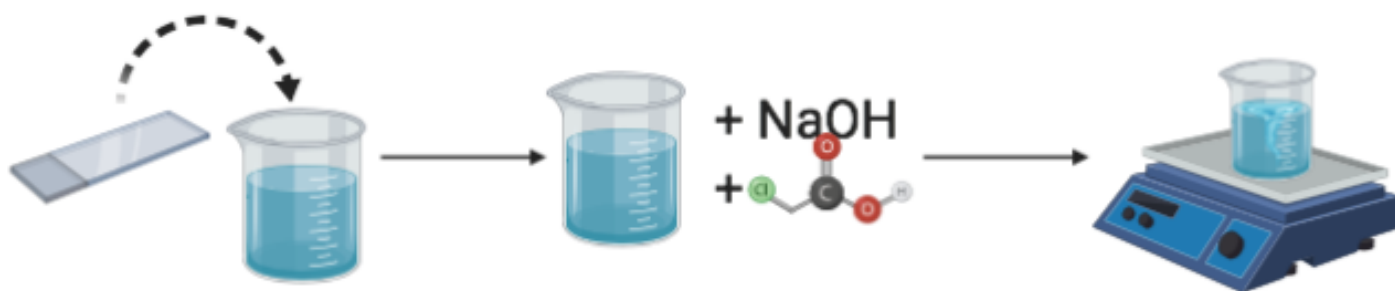


Figura 7. Esquema correspondiente al proceso de metacarboxilación de la superficie de silicatos de un portaobjetos.

Terminada la reacción de carboximetilación, el portaobjetos fue retirado de la reacción, secado con nitrógeno gaseoso a presión y caracterizado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Caracterización de NPs de SiO₂

Se realizaron tres distintas síntesis bajo la metodología reportada por Stöber et. al. (1968), a tres distintas temperaturas; los tres diferentes productos obtenidos fueron analizados por Dispersión Dinámica de Luz (DLS), empleando un equipo Microtrac, Nanotracs Wave II para conocer la distribución en el tamaño de las nanopartículas y su Potencial Z. El SOP se configuró indicando los índices de refracción correspondientes para la sílice y el agua; las NPs de SiO₂ se encontraban diluidas en 0.5 mL de agua destilada.

Las distintas síntesis de nanopartículas de sílice se realizaron a tres diferentes temperaturas siendo la primera síntesis a 45° C, la segunda a 55° C y la tercera a 65° C, sin ningún otro tipo de alteración en la cantidad de reactivo utilizado.

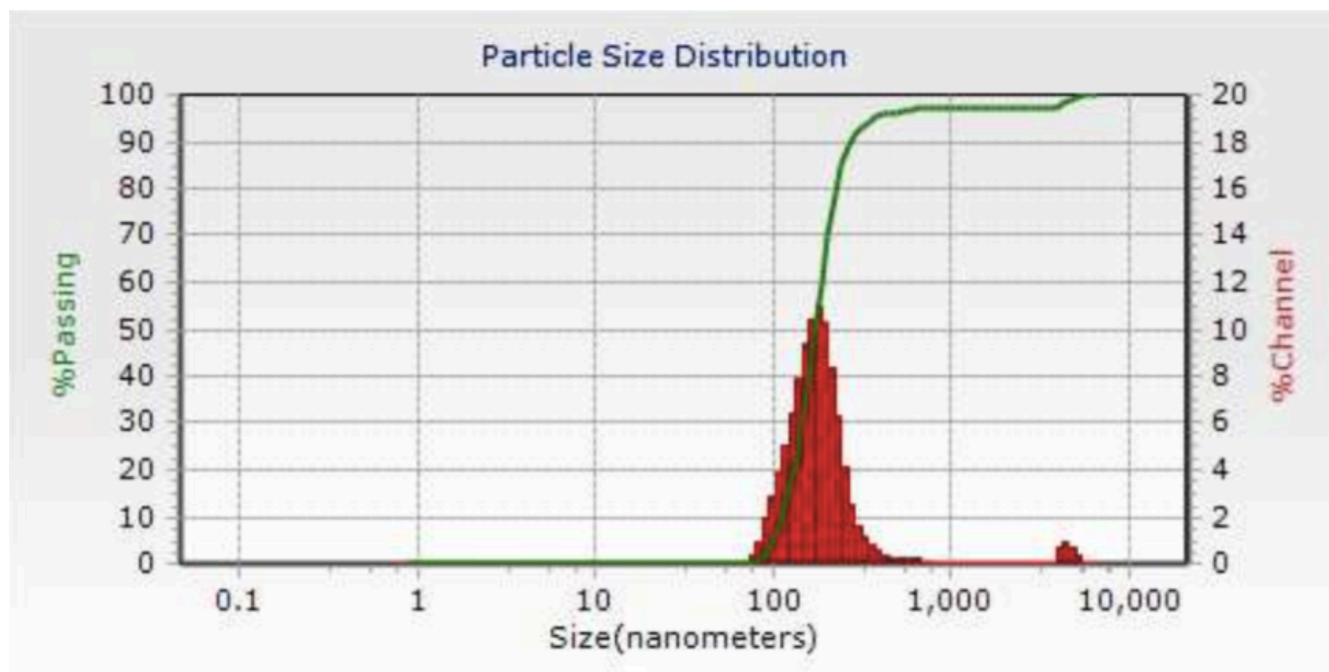


Figura 8. Gráfica de distribución de tamaño por DLS de la síntesis 1.

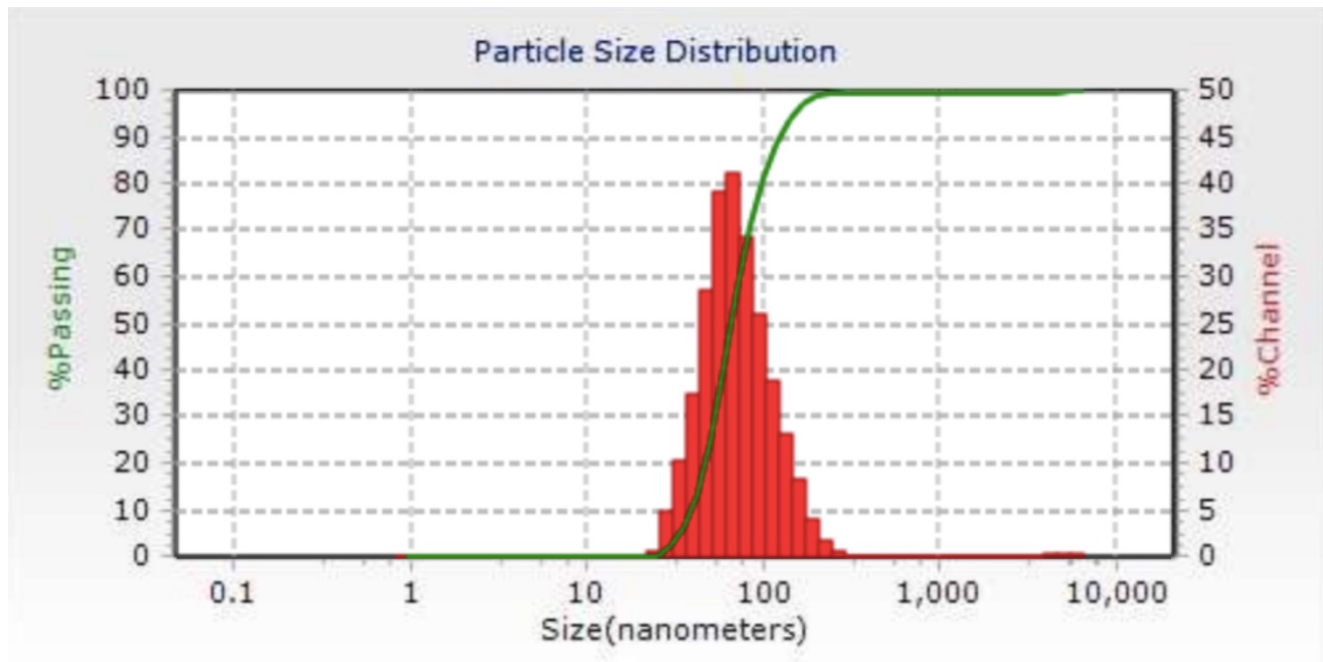


Figura 9. Gráfica de distribución de tamaño por DLS de la síntesis 2.

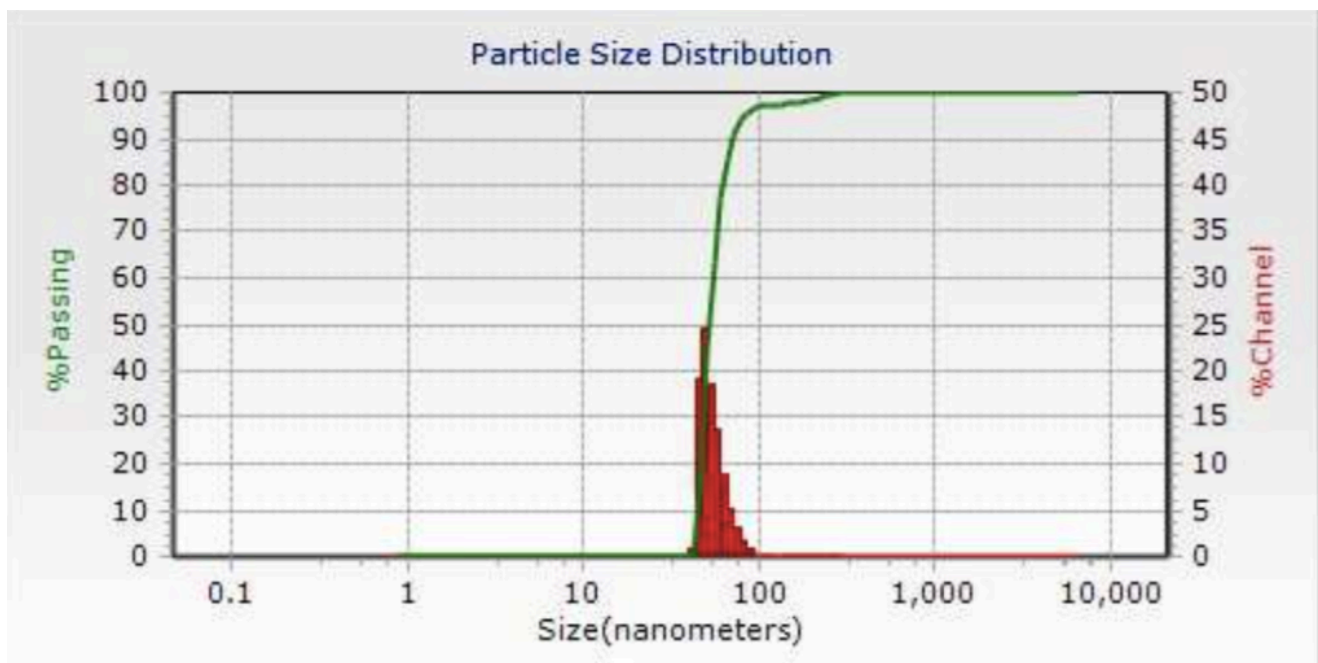


Figura 10. Gráfica de distribución de tamaño por DLS de la síntesis 3.

Las soluciones de NPs de SiO₂ muestran un Potencial Z promedio de 24.8 mV mientras que su distribución de tamaño se muestra en la Tabla 1.

Número de síntesis	Temperatura a la que se llevó a cabo la reacción (° C)	Tamaño promedio (nm)	Potencial Z (mV)
1	45	152	26.8
2	55	84	23.9
3	65	52	23.5

Tabla 1. Comparación de los diámetros de cada síntesis calculados por DLS con su Potencial Z.

Realizando el análisis de los resultados expuestos en la tabla uno se puede observar que, tal como mencionan Yu et. al. (2012), existe una relación entre la temperatura y el tamaño en el diámetro de las nanopartículas.

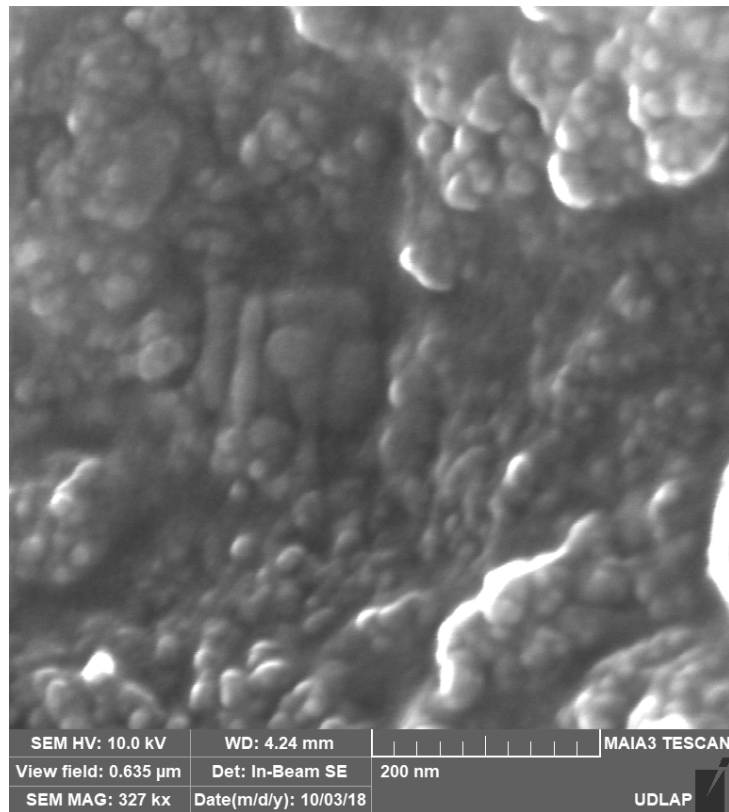


Figura 11. Micrografía por SEM de nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 1.

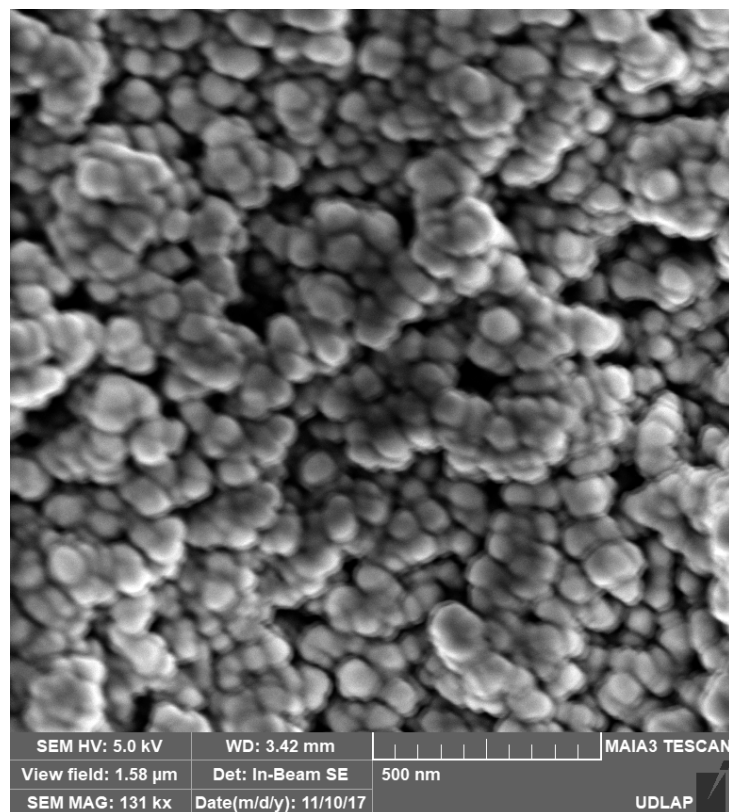


Figura 12. Micrografía por SEM de nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 1.

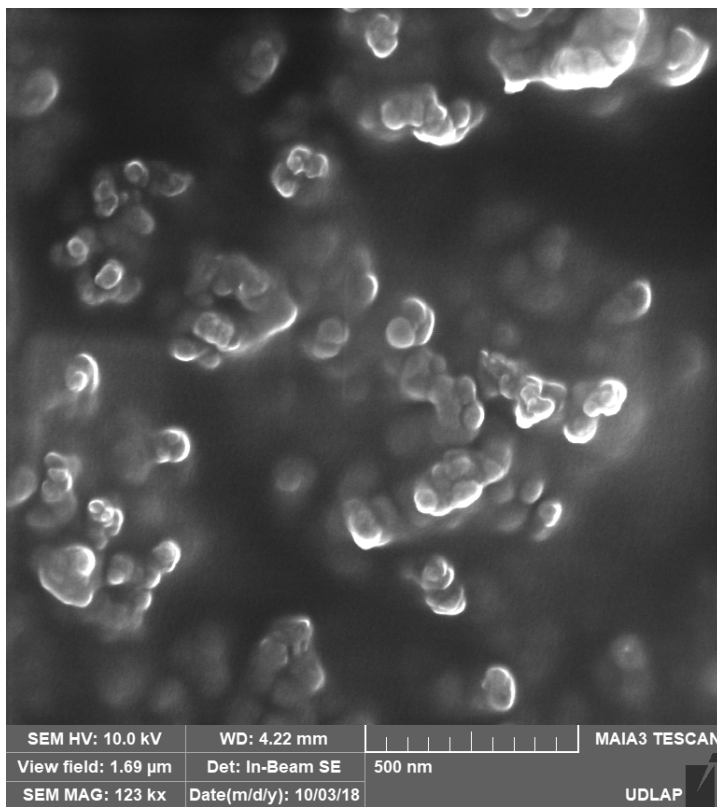


Figura 13. Micrografía por SEM de nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 2.

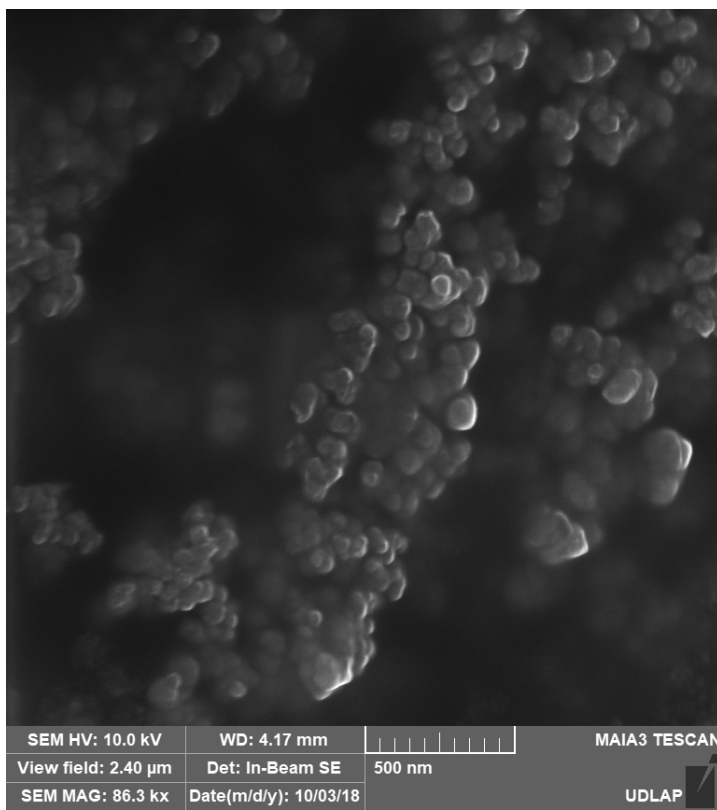


Figura 14. Micrografía por SEM de nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 2.

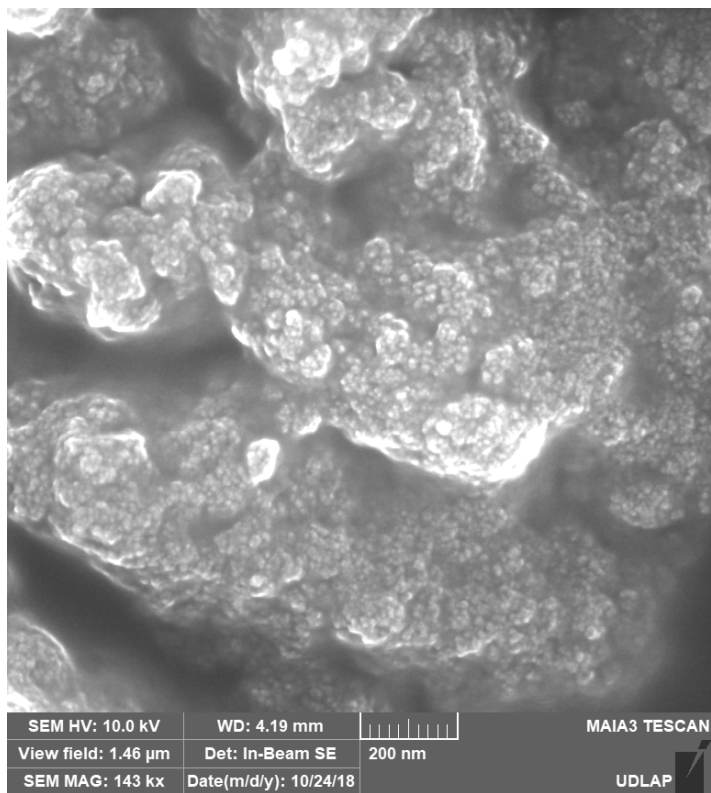


Figura 15. Micrografía por SEM de nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 3.

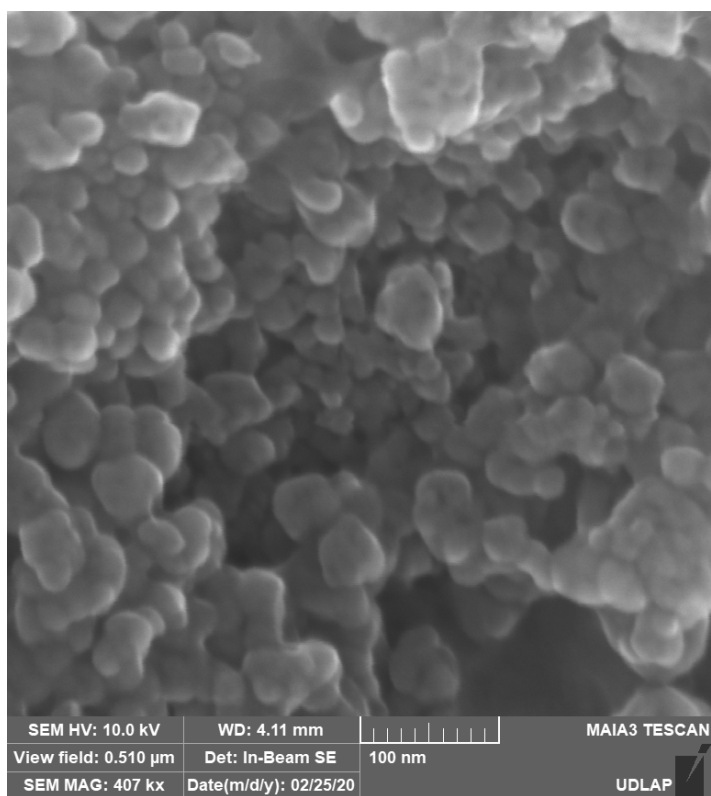
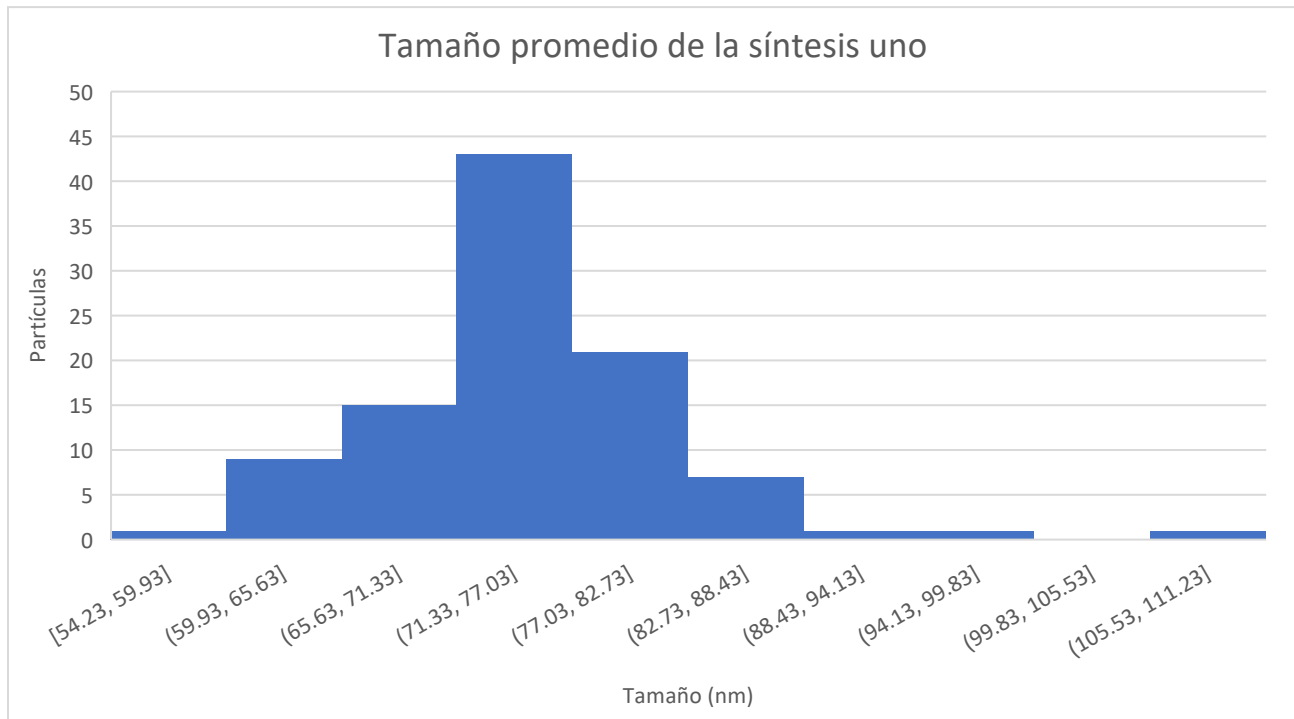


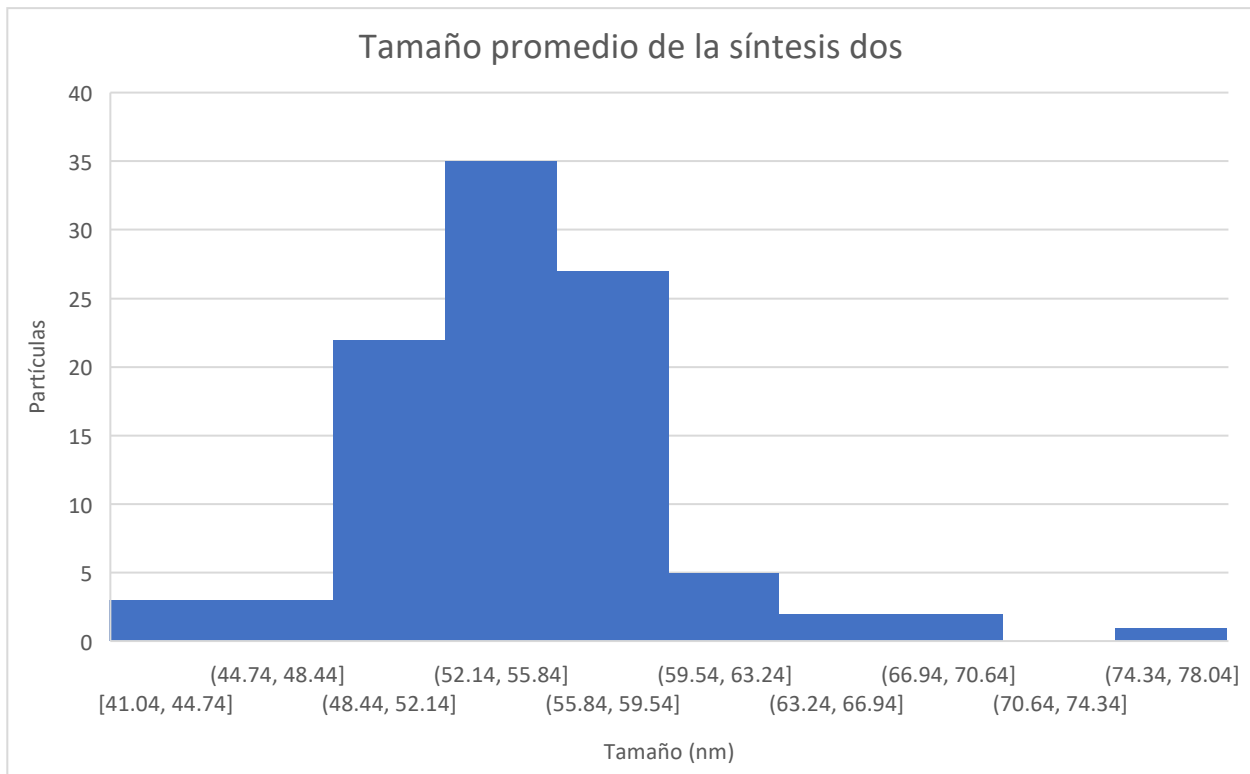
Figura 16. Micrografía por SEM de nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 3.

El análisis de las micrografías de SEM muestra los diferentes tamaños de las NPs de sílice de las síntesis a diferentes temperaturas. En estas se observan nanopartículas de tamaños inferiores a los 100 nm, pero muy aglomeradas, se cree que estos conglomerados pueden afectar notoriamente en las mediciones de análisis de DLS, recabando un diámetro promedio mayor al real.

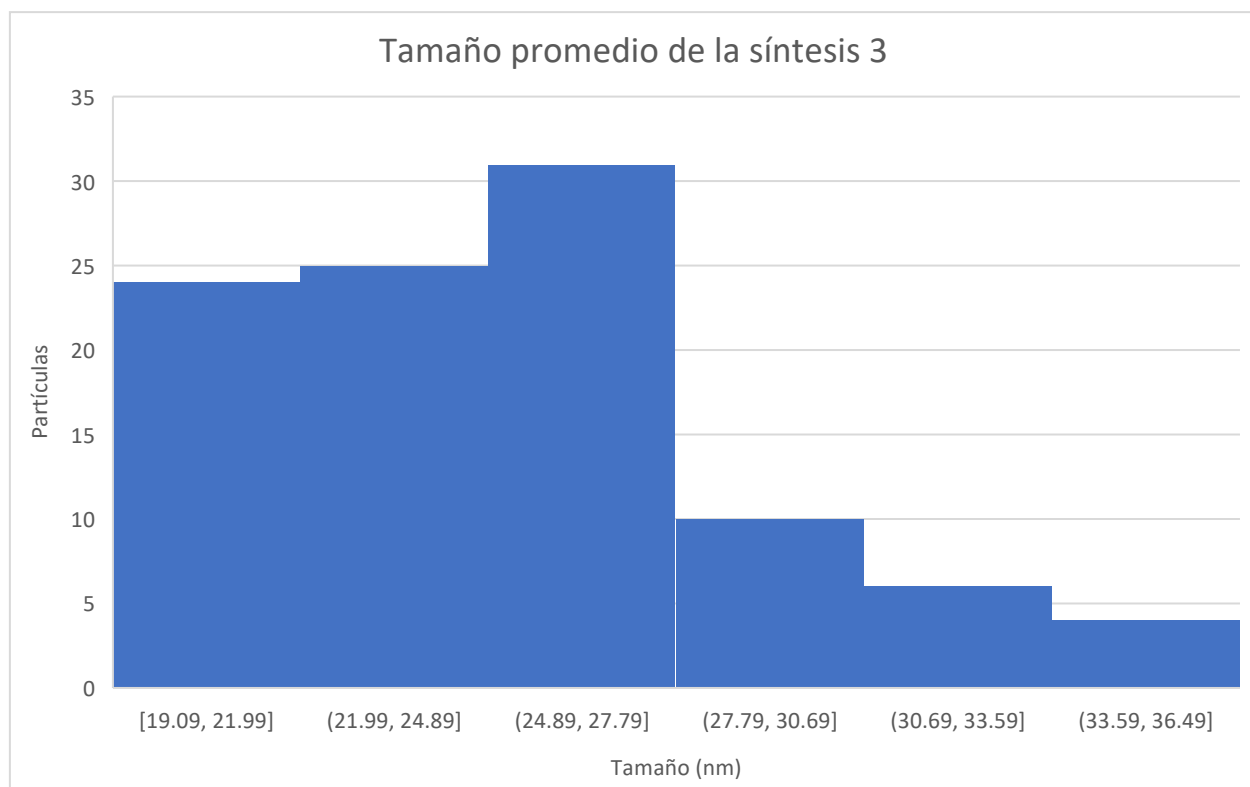
Por esto último, con ayuda del programa Image J, se realizó la medición de 100 nanopartículas de las que se muestran en las micrografías de cada síntesis, el tamaño promedio medido de cada una se observa en las gráficas 1 a 3.



Gráfica 1. Distribución del tamaño de las nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 1.



Gráfica 2. Distribución del tamaño de las nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 2.



Gráfica 3. Distribución del tamaño de las nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 3.

Tanto en las micrografías como en las gráficas puede observarse claramente una disminución en el tamaño de las nanopartículas de sílice con respecto al aumento de la temperatura de síntesis. Para la síntesis 1 se tiene un tamaño promedio de 75 nm, para la síntesis 2 se observa un tamaño promedio de 55 nm y de la síntesis 3 se obtiene un tamaño promedio de 25 nm de diámetro.

Se obtuvieron tres espectros FT-IR de cada una de las diferentes síntesis, en la Figura 17 pueden observarse los distintos espectros de infrarrojo, siendo a) las NPs de SiO₂ de la síntesis 1, b) las NPs de SiO₂ de la síntesis 2 y c) las NPs de SiO₂ de la síntesis 3.

En a) pueden observarse las bandas correspondientes de los estiramientos Si-O y Si-O-Si en 1052.984 y 793.918 cm⁻¹ respectivamente, en 958.638 cm⁻¹ se muestra la banda que corresponde al estiramiento del enlace Si-OH y por último en 1629.709 cm⁻¹ se puede observar el agua presente en la muestra.

En b) se atribuyen las bandas en 1047.972 y 793.219 cm⁻¹ a las vibraciones correspondientes de los enlaces Si-O y Si-O-Si respectivamente, además puede apreciarse en 962.166 cm⁻¹ la banda correspondiente al enlace de Si-OH.

Finalmente, en c) puede observarse la banda más notoria en 1055.547 cm⁻¹ corresponde a la vibración del enlace Si-O, también puede observarse el estiramiento de la interacción Si-O-Si en 793.515 cm⁻¹. Aparecen dos bandas en 2124.88 y 1633.434 cm⁻¹ las cuales corresponden a la vibración de SiO₂ y de agua presente en la muestra respectivamente. Por último, en 955.521 cm⁻¹ se encuentra la banda correspondiente a la vibración del enlace Si-OH.

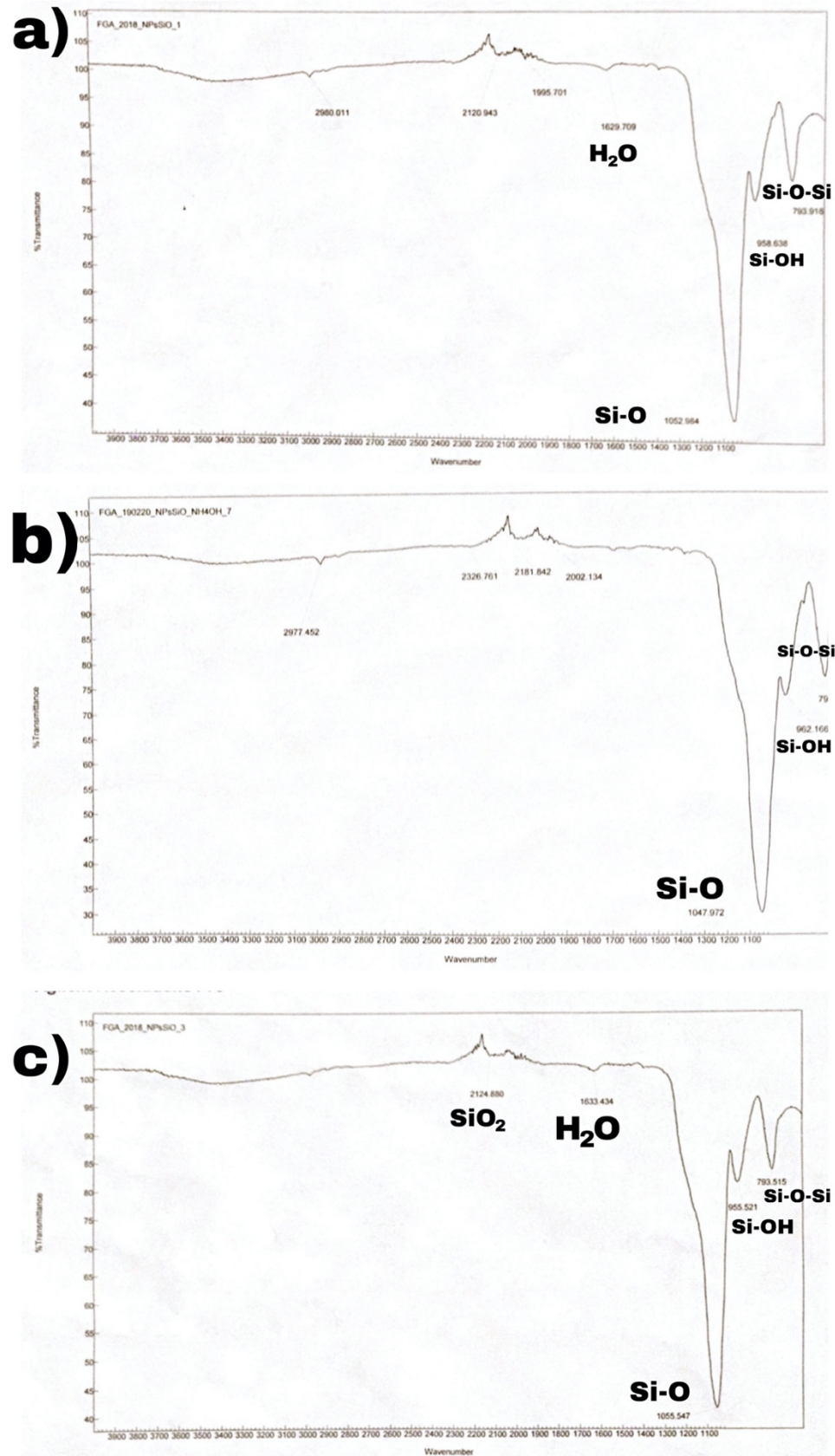


Figura 17. Espectros FT-IR de las diferentes síntesis de NPs de SiO₂.

5.2. Caracterización de NPs de SiO₂ carboximetiladas

Se realizaron cuatro distintas síntesis para la carboximetilación superficial de las nanopartículas de SiO₂, siendo una carboxilación de la síntesis 1 y 2 de NPs de sílice respectivamente, y tres carboxilaciones de la síntesis 3.

Mediante DLS se obtuvo el Potencial Z de las nanopartículas tanto carboxiladas como las no funcionalizadas superficialmente. En la Tabla 2 se comparan los valores del Potencial Z entre las NPs de sílice superficialmente modificadas con las que no se carboximetilaron en su superficie, además se muestra el tamaño promedio de las nanopartículas.

En dicha Tabla 2 puede observarse un aumento en el Potencial Z de las NPs de sílice metacarboxiladas, lo que concuerda con la presencia del grupo carboxilo superficial. El valor e incremento en el Potencial Z de las nanopartículas de sílice carboximetiladas nos indica que éstas partículas son más estables y dispersables en solución.

Número de síntesis	Tamaño promedio (nm)	Potencial Z (mV)	
		NPs de sílice sin modificación superficial	NPs de sílice carboximetiladas
1	114	26.8	52.1
2	89	23.9	34.1
3	68	23.5	40.6

Tabla 2. Comparación en el Potencial Z de las muestras sin modificación superficial y carboxiladas.

El análisis de las micrografías de SEM de las nanopartículas de sílice metacarboxiladas, muestra un sistema con menos aglomerados de NPs de sílice, con una mejor dispersión de las partículas debido probablemente a la carga superficial que tienen por el grupo carboxilo, que induce repulsiones y una mayor estabilidad en solución acuosa.

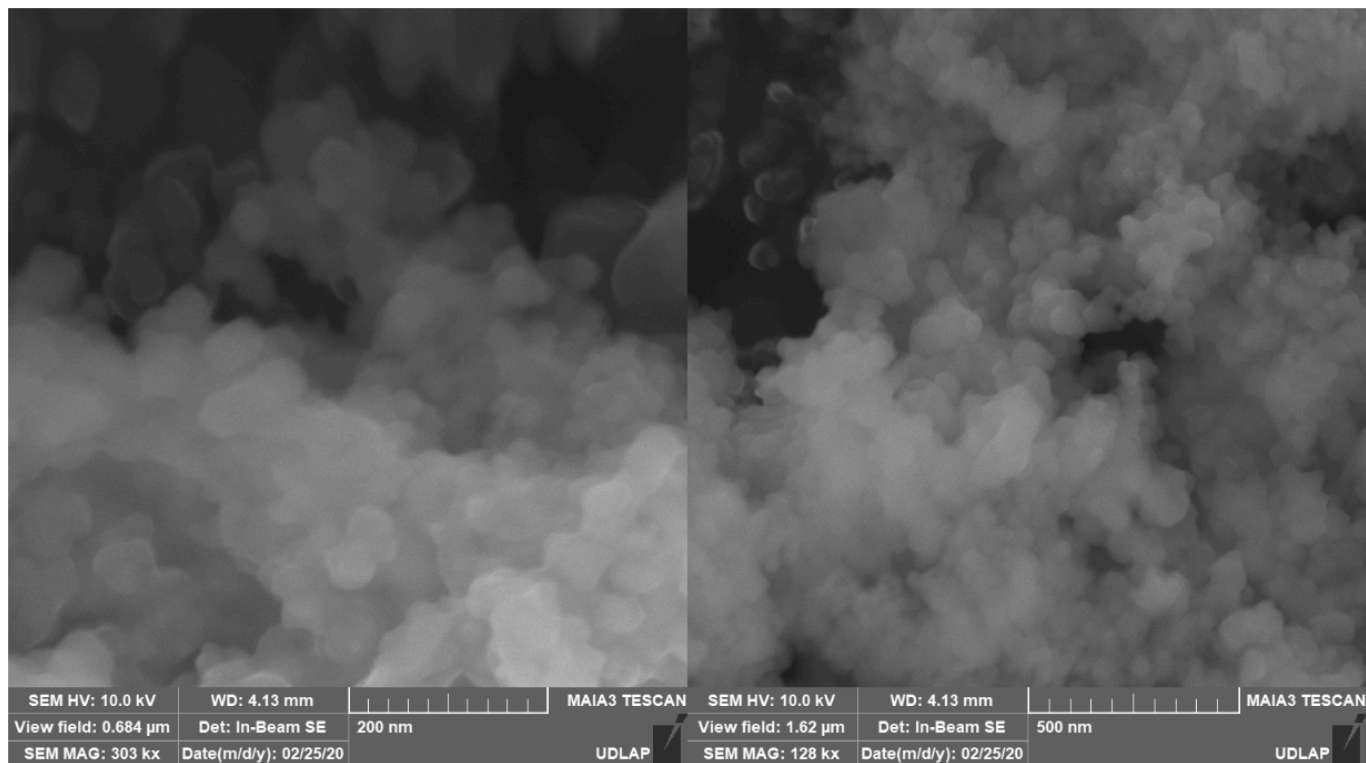


Figura 18. Micrografías por SEM de nanopartículas de la síntesis 1 metacarboxiladas.

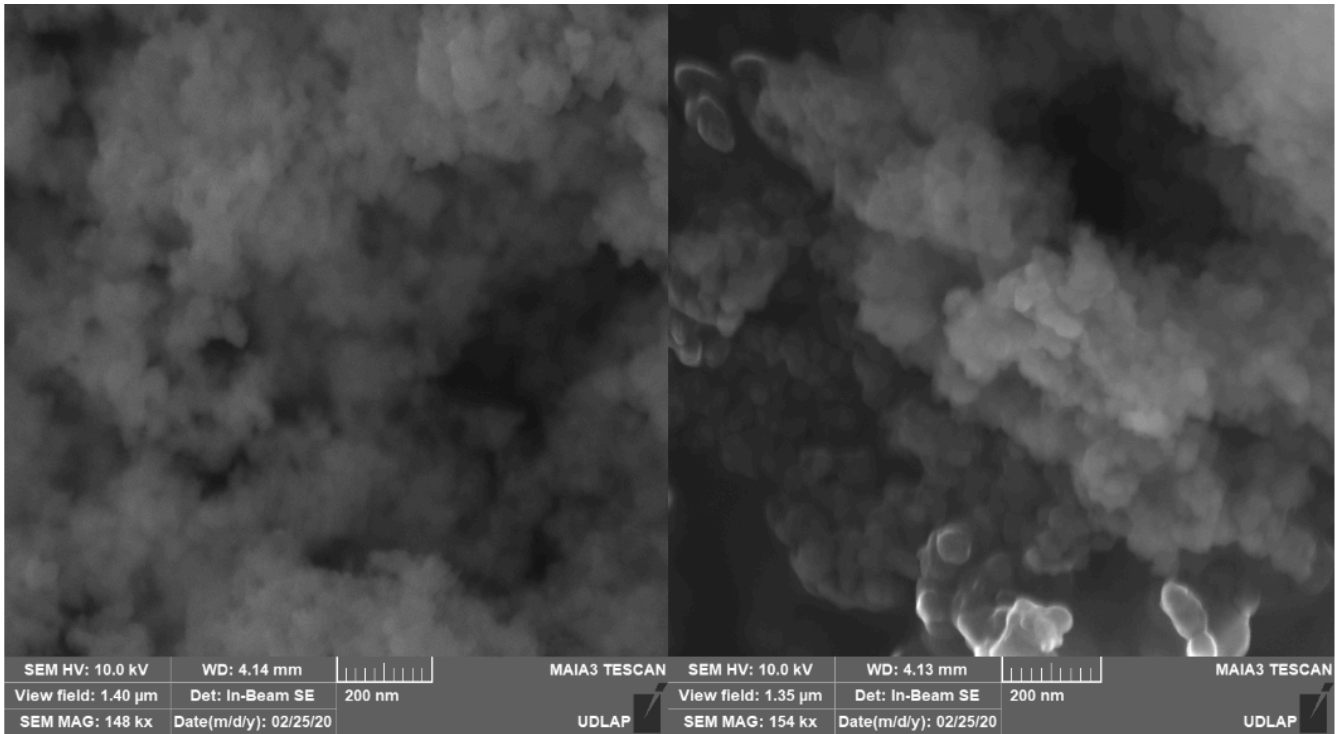


Figura 19. Micrografías por SEM de nanopartículas de la síntesis 2 metacarboxiladas.

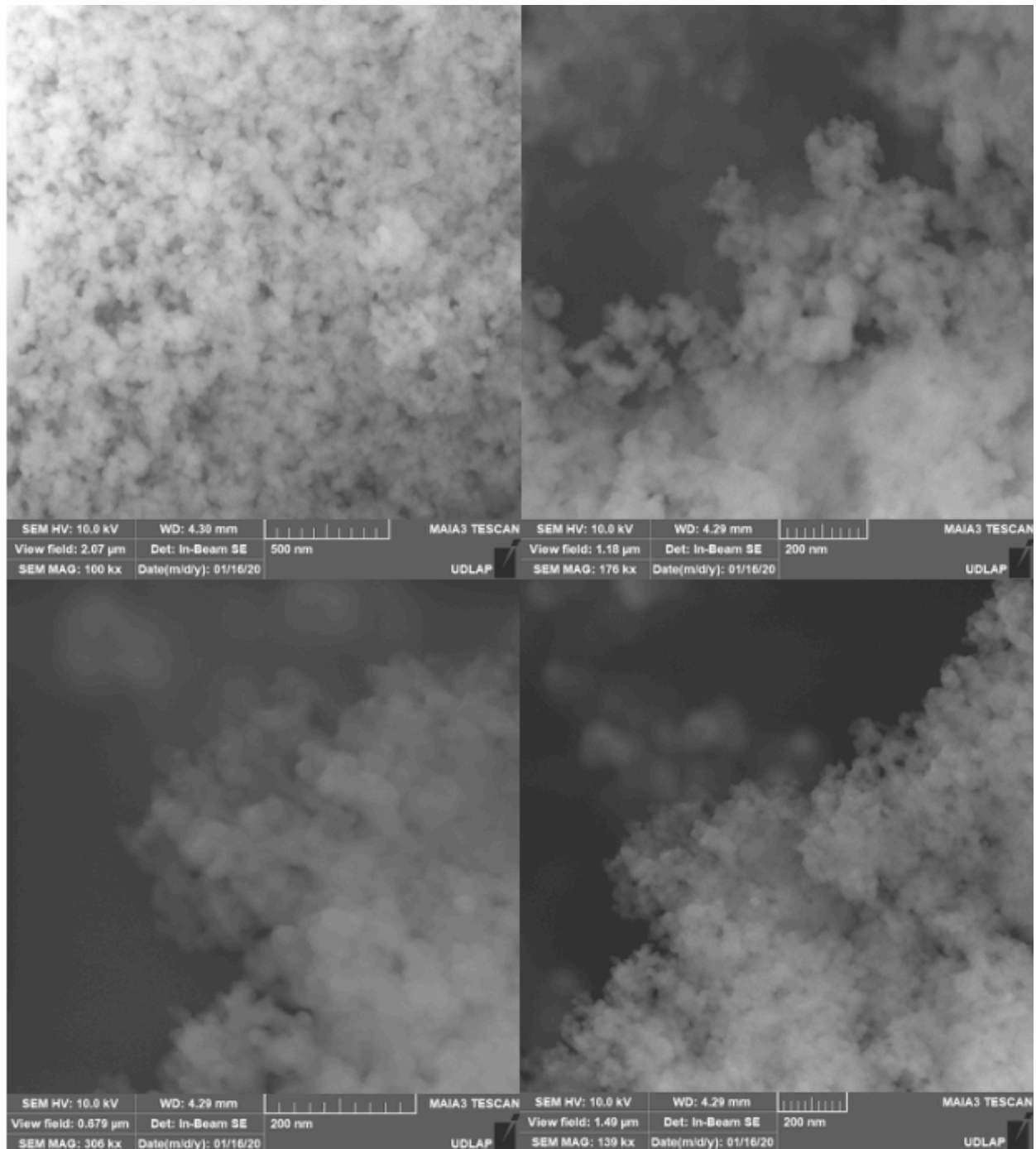
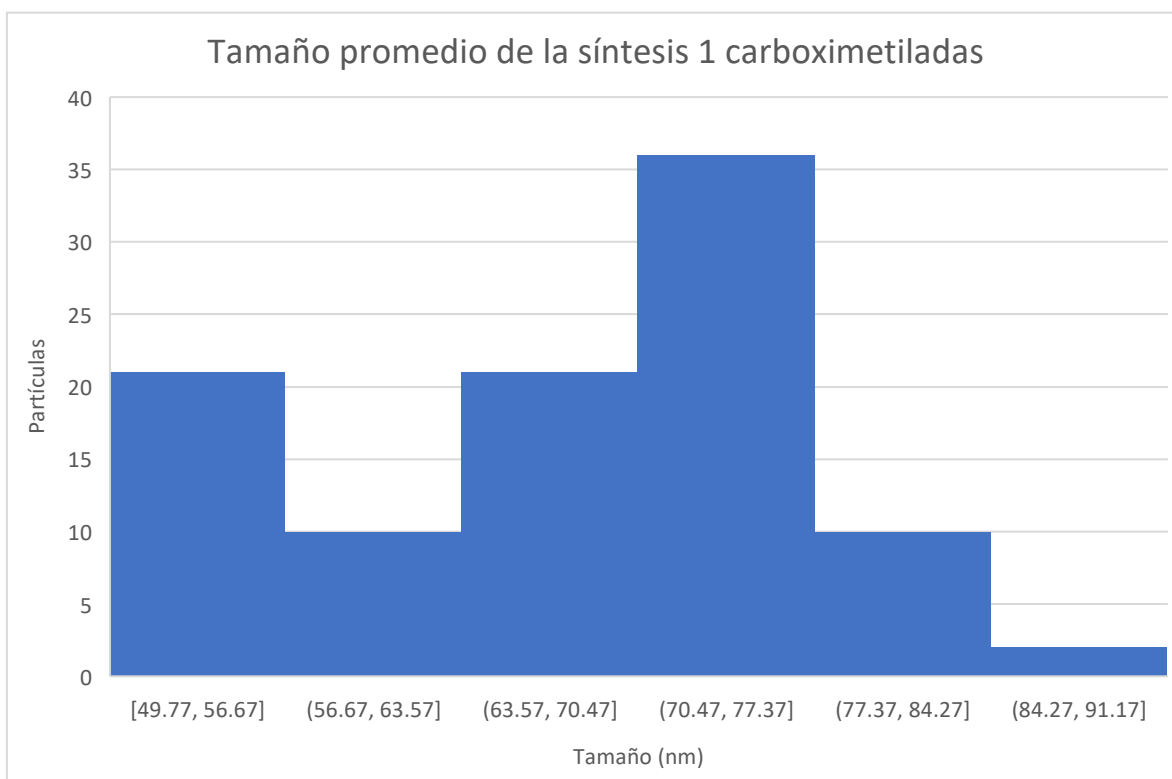


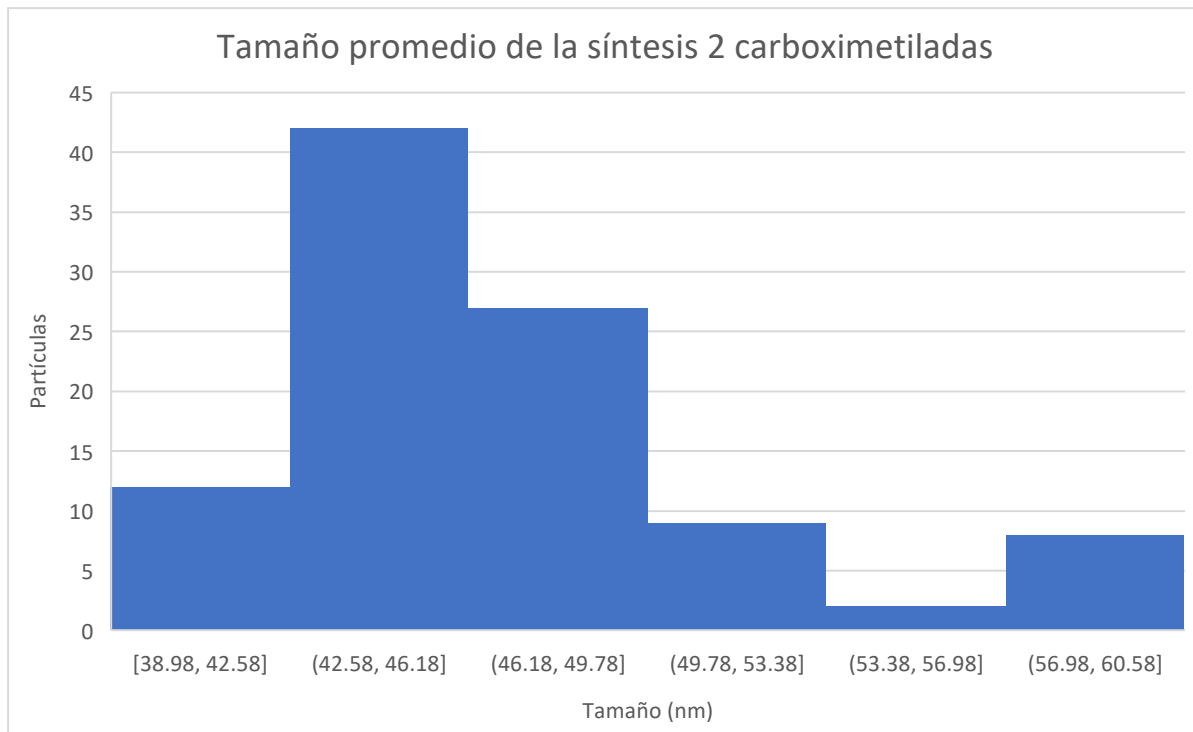
Figura 20. Micrografías por SEM de nanopartículas de la síntesis 3 metacarboxiladas.

Del mismo modo que las NPs de sílice sin modificación superficial, con ayuda del programa Image J, se realizó la medición de 100 nanopartículas de las que se muestran en las micrografías de cada síntesis, el tamaño promedio de cada una puede observarse en las gráficas 4 a 6.

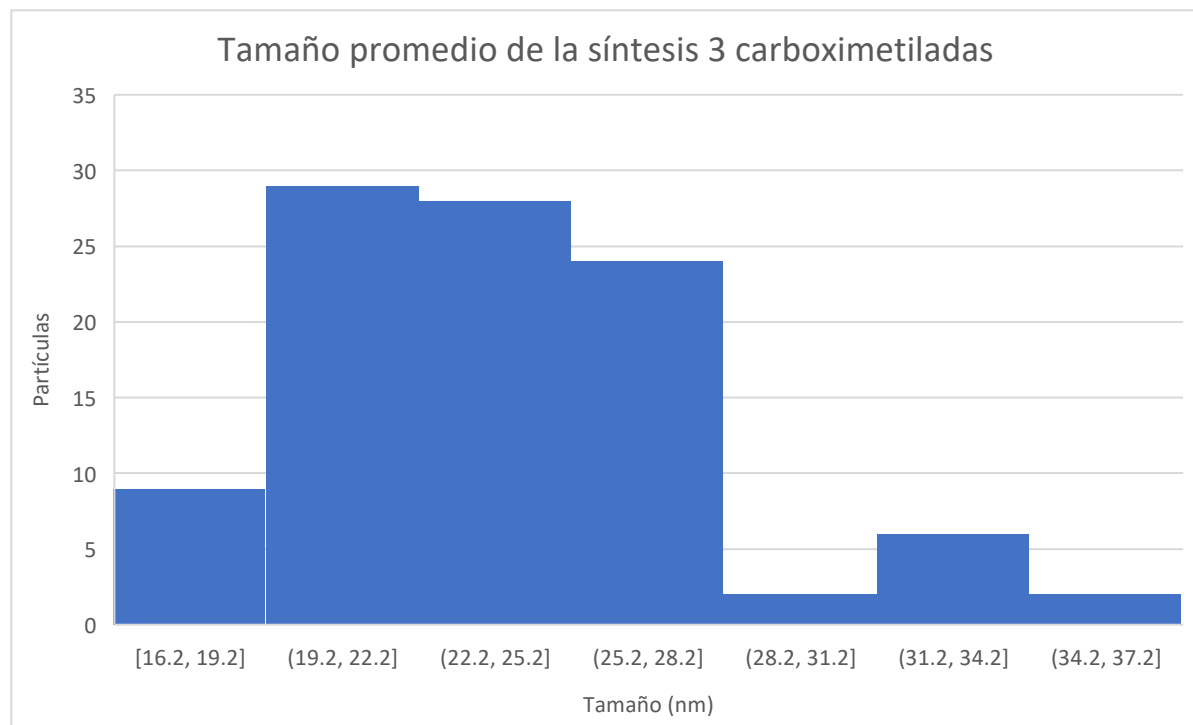
Tanto en las micrografías como en las gráficas puede observarse una ligera disminución en el tamaño de las partículas, siendo para las NPs de la síntesis 1 carboximetiladas un tamaño promedio de 67 nm, para las NPs de la síntesis 2 carboximetiladas se observa un tamaño promedio de 47 nm y de las NPs de la síntesis 3 carboximetiladas se obtiene un tamaño promedio de 23 nm de diámetro.



Gráfica 4. Distribución del tamaño de las nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 1 carboximetiladas.



Gráfica 5. Distribución del tamaño de las nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 2 carboximetiladas.



Gráfica 6. Distribución del tamaño de las nanopartículas de SiO₂ de la síntesis 3 carboximetiladas.

Para confirmar la carboximetilación superficial exitosa en las nanopartículas de sílice se obtuvieron los espectros FT-IR de cada una de las muestras. En la Figura 21 pueden observarse los tres diferentes espectros de infrarrojo, siendo a) las NPs de sílice metacarboxiladas de la síntesis 1, b) las NPs de sílice metacarboxiladas de la síntesis 2 y c) las NPs de sílice de la síntesis 3.

En a) puede observarse la banda más notoria en 1060.98 cm^{-1} correspondiente a la vibración de enlaces Si-O, también puede observarse en 783.584 cm^{-1} el estiramiento de la interacción de Si-O-Si y se le atribuye la banda de vibración en 1602.866 cm^{-1} al grupo carboxilo presente en la superficie.

En b) se observan las bandas correspondientes de los estiramientos Si-O y Si-O-Si en 1054.061 y 791.279 cm^{-1} respectivamente, el grupo carboxilo se nota en el espectro en 1606.134 cm^{-1} .

Finalmente, en c) se atribuyen las bandas en 1057.739 y 791.683 cm^{-1} a las vibraciones correspondientes de los enlaces Si-O y Si-O-Si respectivamente, además puede observarse en 1605.058 cm^{-1} la banda correspondiente al grupo carboxilo.

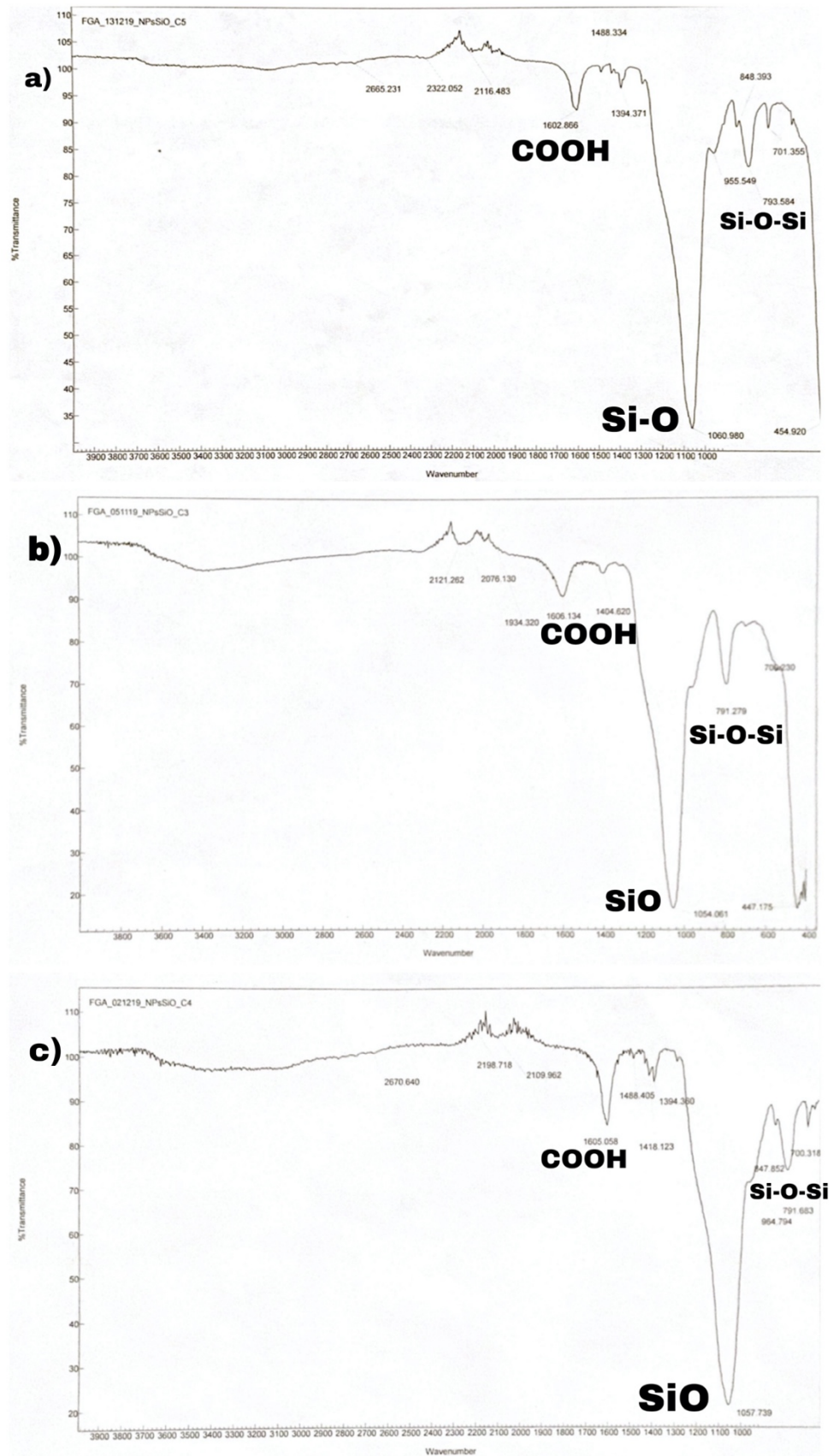


Figura 21. Espectros FT-IR de las diferentes síntesis de metacarboxilación en NPs de sílice.

La Figura 22 muestra la curva de análisis termogravimétrico (TGA) para las nanopartículas carboximetiladas preparadas realizadas en atmósfera de Nitrógeno; puede observarse una dependencia de la temperatura y las variaciones del porcentaje del peso para a) las NPs de sílice sin modificaciones superficiales y b) las NPs de sílice metacarboxiladas. Puede observarse en a) y en b) una degradación en el porcentaje de la masa entre 50 y 150° C correspondientes a la remoción de agua absorbida por el material mesoporoso. En el caso de a) puede observarse entre 350 y 450° C el proceso de deshidratación de sílice por descomposición térmica de los silanoles superficiales (Si-OH), y en b) se muestra entre 200 y 300° C la descarboxilación (pérdida de -COOH) de las NPs de SiO₂, por último, puede observarse también entre 350 y 450° C la deshidratación de las NPs de sílice.

A partir de la variación porcentual de la masa se calculó la masa relativa de grupos carbonilo superficiales, obteniendo un aproximado de 0.9 mg de COOHs superficiales para 10 mg analizados de nanopartículas de SiO₂.

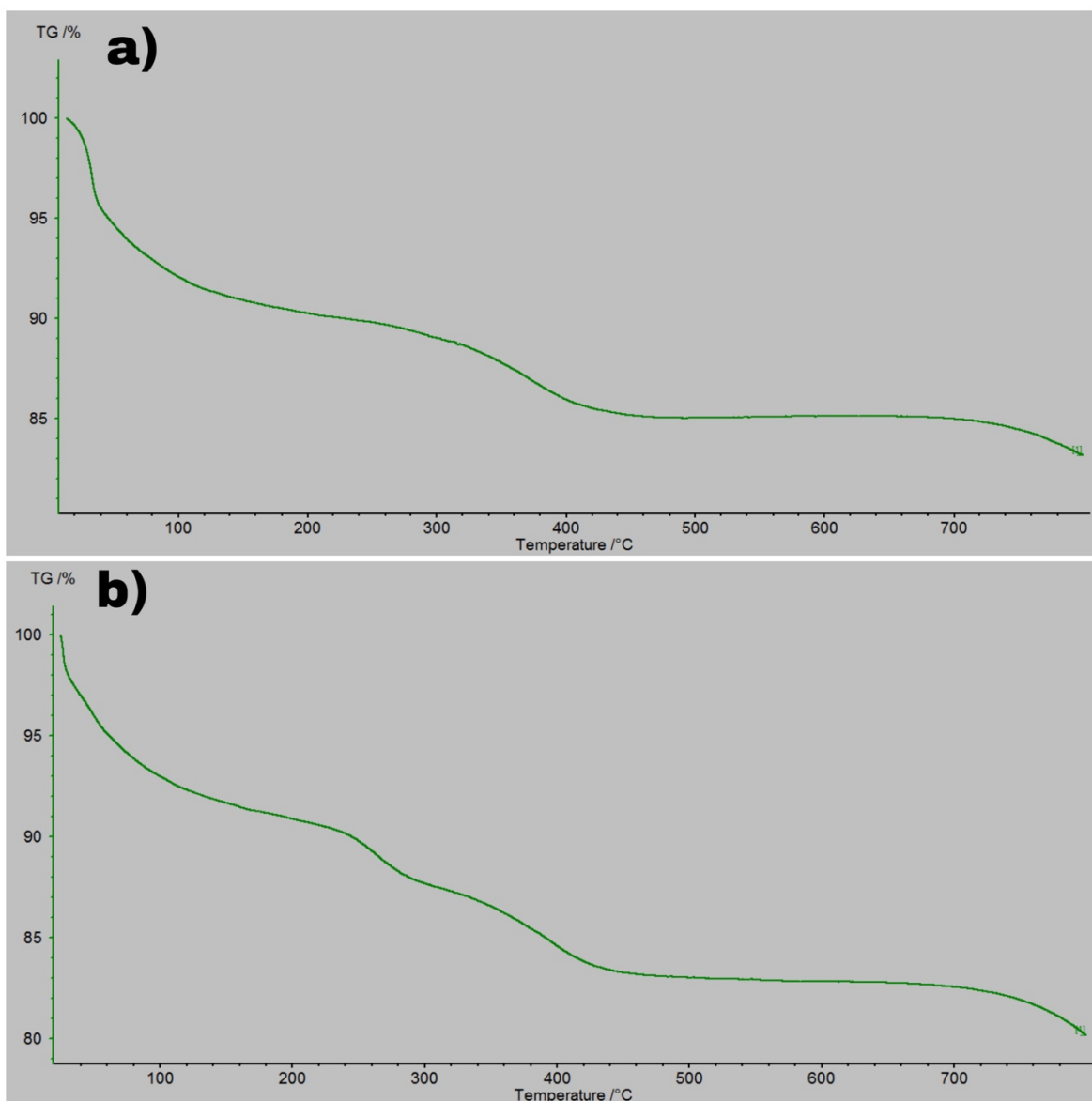


Figura 22. Curvas de TGA correspondientes a a) nanopartículas metacarboxiladas de sílice correspondientes a la síntesis 3 y b) nanopartículas metacarboxiladas de sílice correspondientes a la síntesis 1.

5.3. Introducción de grupos carboximetilo ($-OCH_2-COOH$) en la superficie de portaobjetos

Debido al cese de actividades debido a la contingencia ocasionada por la pandemia del COVID-19 en el periodo de primavera del presente año, no pudo realizarse la espectroscopía IR de un portaobjetos sin la presencia de grupos carboxilo en su superficie. Es por esto que se tomó el espectro reportado por Amma et. al. (2015) de un portaobjetos sin ningún tipo de tratamiento que modificara su estructura (Figura 23).

En la Figura 24 puede observarse el espectro FT-IR del portaobjetos con su superficie carboximetilada, en ésta pueden observarse las bandas correspondientes a los estiramientos de Si-O y Si-CH₂ en 931.843 y 1414.872 cm⁻¹ respectivamente. El estiramiento de la interacción de O-C se observa en la banda de 1247.126 cm⁻¹, y por último la banda de vibración en 1590.432 cm⁻¹ se atribuye al grupo carboxilo presente en la superficie.

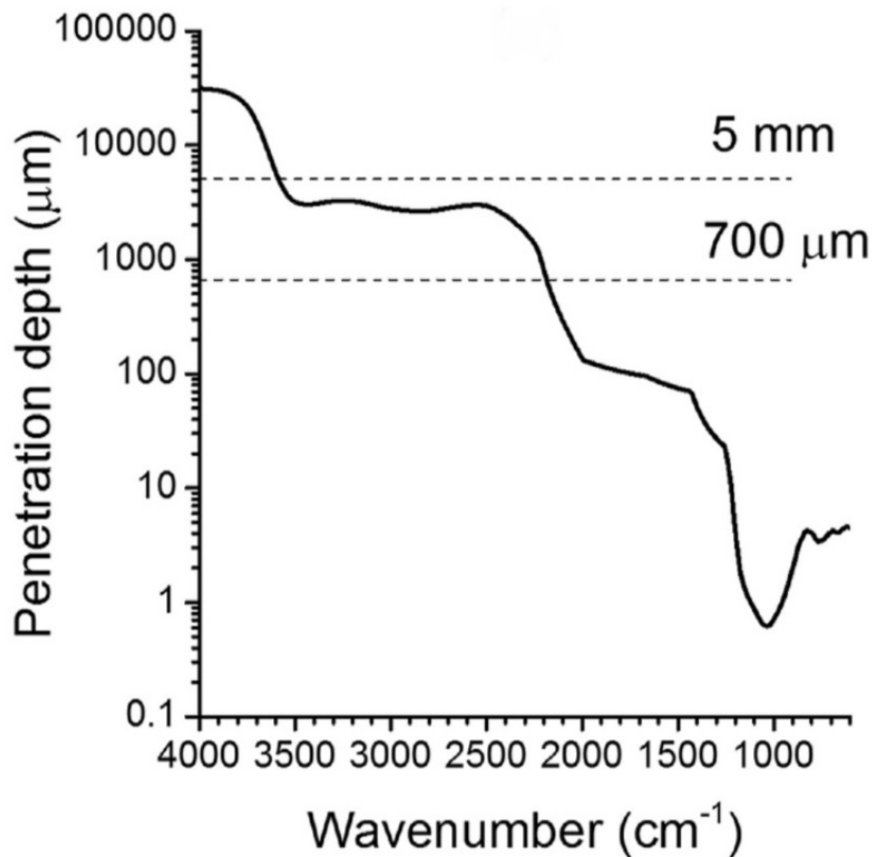


Figura 23. Espectroscopía IR de un portaobjetos de vidrio sin modificaciones superficiales. Amma, S. I., Luo, J., Pantano, C. G., & Kim, S. H. (2015). Specular reflectance (SR) and attenuated total reflectance (ATR) infrared (IR) spectroscopy of transparent flat glass surfaces: A case study for soda lime float glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 428, 189-196.

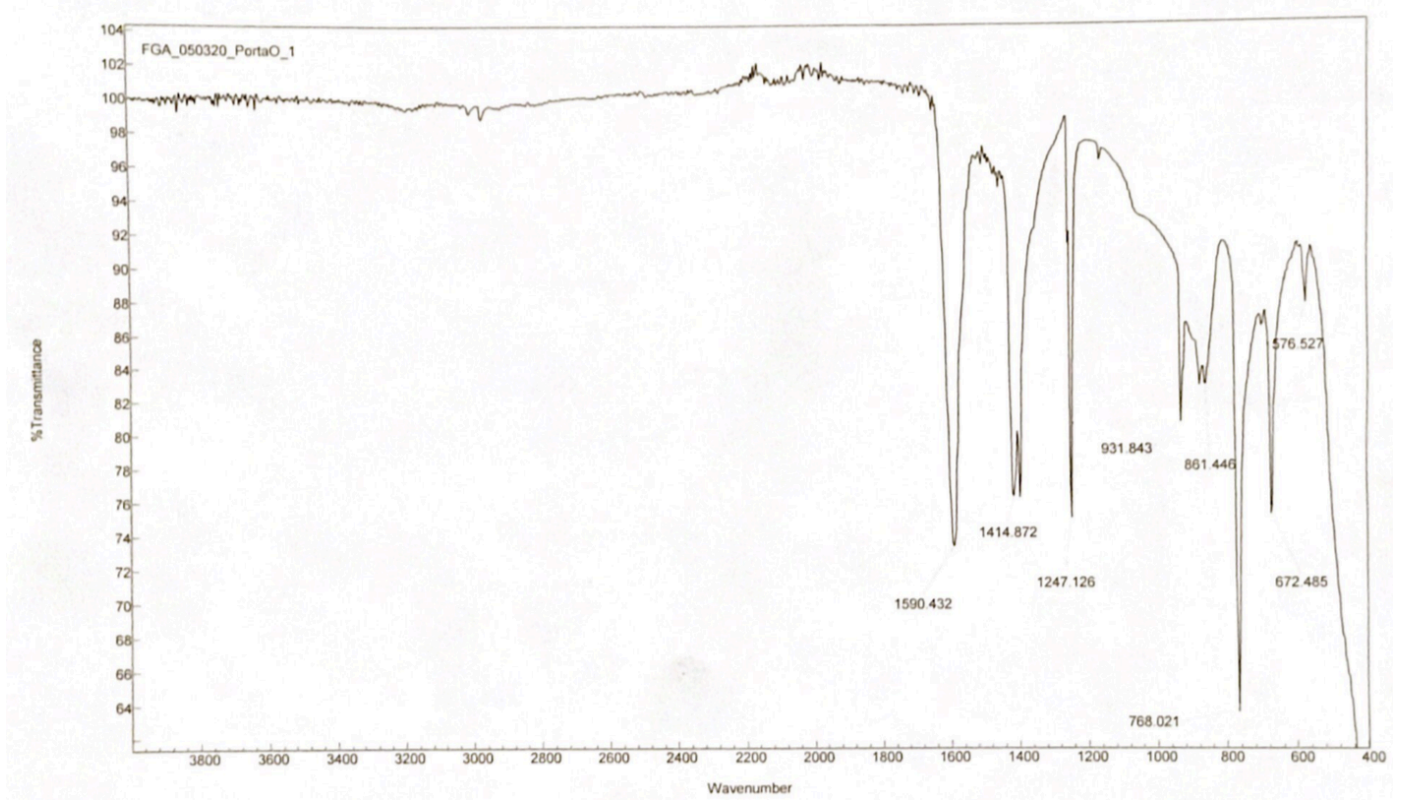


Figura 24. Espectroscopía IR de un portaobjetos con grupos carboxilo en su superficie.

6. CONCLUSIONES

6.1. Conclusión

El tamaño de las nanopartículas de dióxido de silicio puede ser controlado teniendo en cuenta las variantes que presenta su síntesis, siendo la más significativa la temperatura. A mayor temperatura se obtendrán NPs de sílice de menor tamaño y, de forma inversa, a menor temperatura en el proceso de preparación se obtendrán nanopartículas de mayor tamaño.

Los silanoles (Si-OH) presentes en la superficie de las NPs de sílice son de gran ayuda para la modificación superficial de estas, permitiéndonos añadir en la capa exterior grupos carboximetilo (-OCH₂-COOH). Éstos carboxilatos pueden permitir la inmovilización superficial de fármacos o marcadores fluorescentes, así como la modificación de la solubilidad y la carga electrostática superficial (Potencial Z) que influye directamente en la estabilidad de la suspensión acuosa de nanopartículas y su biocompatibilidad.

Finalmente, de la misma manera que la presencia de grupos silanoles en la superficie de las nanopartículas de SiO₂, que presentan también una estructura cristalina de dióxido de silicio es posible carboximetilar la superficie de éstos, lo cual abre la posibilidad de explorar su uso en el diseño de biosensores colorimétricos, sistemas diagnósticos, y componentes en sistemas de liberación controlada de fármacos.

6.2. Trabajo futuro

Siendo el principal objetivo de este proyecto el empleo de NPs de SiO₂ de tamaños menores a 50 nm para aplicaciones biomédicas, se recomienda el utilizar las NPs obtenidas de la síntesis 3 para incorporar en los defectos que presenta su estructura un agente fluorescente como fluoresceína, rodamina, Ho o Er, para poder explorar su uso como biomarcadores

luminiscentes. De igual manera, se recomienda explorar el desempeño de los sistemas carboximetilados superficialmente como sistemas para transporte y liberación controlada de fármacos (DDS). El uso de estos sistemas carboxilados para el crecimiento de películas ordenadas de redes de coordinación metálica (metal-organic frameworks, MOFs) conteniendo iones metálicos del bloque f como Holmio (III) o Erblio (III), nos permitirá implementarlos para su uso en radioterapia como tratamiento de cáncer. Así mismo, la estructura mesoporosa de los sistemas preparados nos permitirá explorar su uso en sistemas de liberación controlada de fármacos.

REFERENCIAS

- Amma, S. I., Luo, J., Pantano, C. G., & Kim, S. H. (2015). Specular reflectance (SR) and attenuated total reflectance (ATR) infrared (IR) spectroscopy of transparent flat glass surfaces: A case study for soda lime float glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 428, 189-196.
- Aravind, A., Veerananarayanan, S., Poullose, A. C., Nair, R., Nagaoka, Y., Yoshida, Y., ... & Kumar, D. S. (2012). Aptamer-functionalized silica nanoparticles for targeted cancer therapy. *BioNanoScience*, 2(1), 1-8.
- Bhushan, B. (Ed.). (2017). *Springer handbook of nanotechnology*. Springer.
- Boisseau, P., & Loubaton, B. (2011). Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Physique*, 12(7), 620-636.
- Imani, R., Emami, S. H., & Faghihi, S. (2015). Nano-graphene oxide carboxylation for efficient bioconjugation applications: a quantitative optimization approach. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2), 88.
- Kim, S. Y., Heo, N. Y., Jeaan, J. U. N. G., Kim, W. J., Hwang, B. G., Kim, Y. S., & Lee, M. H. (2018). *U.S. Patent No. 10,067,138*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Li, Z., Barnes, J. C., Bosoy, A., Stoddart, J. F., & Zink, J. I. (2012). Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2590-2605.

- Lu, F., Wu, S. H., Hung, Y., & Mou, C. Y. (2009). Size effect on cell uptake in well-suspended, uniform mesoporous silica nanoparticles. *Small*, 5(12), 1408-1413.
- Narayan, R., Nayak, U. Y., Raichur, A. M., & Garg, S. (2018). Mesoporous silica nanoparticles: A comprehensive review on synthesis and recent advances. *Pharmaceutics*, 10(3), 118.
- Öchsner, A., Ahmed, W., & Ali, N. (2009). *Nanocomposite coatings and nanocomposite materials*. Trans Tech Publications Ltd.
- Qhobosheane, M., Santra, S., Zhang, P., & Tan, W. (2001). Biochemically functionalized silica nanoparticles. *Analyst*, 126(8), 1274-1278.
- Park, S. K., Do Kim, K., & Kim, H. T. (2002). Preparation of silica nanoparticles: determination of the optimal synthesis conditions for small and uniform particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 197(1-3), 7-17.
- Poole Jr, C. P., & Owens, F. J. (2003). *Introduction to nanotechnology*. John Wiley & Sons.
- Rajaeian, B., Heitz, A., Tade, M. O., & Liu, S. (2015). Improved separation and antifouling performance of PVA thin film nanocomposite membranes incorporated with carboxylated TiO₂ nanoparticles. *Journal of Membrane Science*, 485, 48-59.
- Rao, K. S., El-Hami, K., Kodaki, T., Matsushige, K., & Makino, K. (2005). A novel method for synthesis of silica nanoparticles. *Journal of colloid and interface science*, 289(1), 125-131.

- Rossi, L. M., Shi, L., Quina, F. H., & Rosenzweig, Z. (2005). Stöber synthesis of monodispersed luminescent silica nanoparticles for bioanalytical assays. *Langmuir*, *21*(10), 4277-4280.
- Sanchez, F., & Sobolev, K. (2010). Nanotechnology in concrete—a review. *Construction and building materials*, *24*(11), 2060-2071.
- Schwanke, A. J., Balzer, R., & Pergher, S. (2018). Mesoporous Materials for Reduction of Air Pollutants: Volatile Organic Compounds. In *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications* (pp. 908-915). Elsevier.
- Silverstein, D., & Hopper, K. (2014). *Small Animal Critical Care Medicine-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Stöber, W., Fink, A., & Bohn, E. (1968). Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of colloid and interface science*, *26*(1), 62-69.
- Tang, F., Li, L., & Chen, D. (2012). Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery. *Advanced materials*, *24*(12), 1504-1534.
- Vallhov, H., Gabrielsson, S., Strømme, M., Scheynius, A., & Garcia-Bennett, A. E. (2007). Mesoporous silica particles induce size dependent effects on human dendritic cells. *Nano Letters*, *7*(12), 3576-3582.
- Verraest, D. L., Peters, J. A., Batelaan, J. G., & van Bekkum, H. (1995). Carboxymethylation of inulin. *Carbohydrate research*, *271*(1), 101-112.
- Wu, S. H., Hung, Y., & Mou, C. Y. (2011). Mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers. *Chemical Communications*, *47*(36), 9972-9985.

Yamamoto, E., & Kuroda, K. (2016). Colloidal mesoporous silica nanoparticles. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 89(5), 501-539.

Yu, M., Zhou, L., Zhang, J., Yuan, P., Thorn, P., Gu, W., & Yu, C. (2012). A simple approach to prepare monodisperse mesoporous silica nanospheres with adjustable sizes. *Journal of colloid and interface science*, 376(1), 67-75.