

Preparación y caracterización de microesferas magnéticas de poliestireno mediante una técnica de emulsión múltiple

Heidy Suárez Pérez, Carlos Peniche Covas,* Alfredo de la Campa García,* Ariel D. Santana Gil** y Alán Alonso Palasí.

Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Avenida Universidad entre Calles G y Ronda, Código Postal 10400, Ciudad de La Habana. *Facultad de Física, Universidad de La Habana, Avenida Universidad entre Calles J y Ronda, Código Postal 10400, Ciudad de La Habana. **Instituto de Materiales y Reactivos para la Electrónica, Facultad de Física, Universidad de La Habana, Avenida Universidad entre Calles J y Ronda, Código Postal 10400, Ciudad de La Habana.

Recibido: 23 de marzo del 2000. Aceptado: 8 de septiembre del 2000.

Palabras clave: clave: líquido magnético, ferrofluido, magnetita superparamagnética, microesferas magnéticas de poliestireno.
Key words: magnetic liquid, ferrofluid, superparamagnetic magnetite, polystyrene magnetic microspheres.

RESUMEN. Las microesferas magnéticas encuentran diversas aplicaciones en medicina y biotecnología como portadores magneto-dirigibles de fármacos y en la separación y aislamiento de objetos biológicos, entre otros. La ventaja del empleo de las partículas magnéticas para este tipo de separaciones consiste en la disminución del tiempo empleado en ellas y en la facilidad para su aislamiento mediante un imán una vez concluido el proceso. Se presenta un método de obtención de microesferas magnéticas de poliestireno utilizando una emulsión múltiple agua-en aceite-en agua. En este método la fase acuosa interna consiste en una dispersión coloidal de partículas de magnetita superparamagnéticas; la fase oleosa se compone de poliestireno disuelto en diclorometano y la fase acuosa externa es una disolución de alcohol polivinílico en agua. Se evidencia que las condiciones de obtención tales como la concentración de magnetita en la fase acuosa interna y la cantidad de disolvente volátil en la fase oleosa tienen una marcada influencia sobre la eficiencia de encapsulación y las dimensiones de las microesferas. Las microesferas de poliestireno obtenidas contienen la magnetita dispersada dentro de la matriz polimérica, por lo que conservan su carácter superparamagnético. Cálculos basados en la curva de magnetización inicial indican que las partículas de magnetita contenidas en las microesferas tienen un tamaño promedio semejante al del ferrofluido de partida ($D_0 = 6,4 \text{ nm}$).

ABSTRACT. Magnetic microspheres have diverse applications in medicine and biotechnology as a magnetic carriers of drugs, and in the separation and isolation of biological objects. The advantage of these magnetic employed particles in this kind of separation processes consists of the decrease of employed time and in the easy way for their isolation by means of a magnet when the process has finished. A method for obtaining magnetic polystyrene microspheres using a water-in-oil-water multiple emulsion is presented. In this method the inner aqueous phase consists of a colloidal dispersion of superparamagnetic magnetite particles; the oil phase is composed of polystyrene dissolved in dichloromethane and the external aqueous phase is a solution of polyvinyl alcohol in water. It was evidenced that the preparation conditions, such as the magnetite concentration in the inner aqueous phase and the amount of volatile solvent in the oil phase have a marked influence on the encapsulation efficiency and the microsphere dimensions. The polystyrene microspheres obtained contained the magnetite dispersed inside the polystyrene matrix thus retaining its superparamagnetic character. Calculations based on the initial magnetization curve indicate that the magnetite particles contained in the microspheres have an average size similar to that of the starting ferrofluid ($D_0 = 6.4 \text{ nm}$).

INTRODUCCION

Las microesferas magnéticas encuentran diversas aplicaciones en medicina y biotecnología como portadores magneto-dirigibles de fármacos¹ y en la separación y aislamiento de objetos biológicos,² entre otros. La ventaja del empleo de las partículas magnéticas para este tipo de separaciones consiste en la disminución del tiempo empleado en ellas y en la facilidad para su aislamiento mediante un imán una vez concluido el proceso, a diferencia de las partículas no magnéticas, que necesitan ser aisladas por centrifugación.³ Estas consisten fundamentalmente en partículas de magnetita (Fe_3O_4) o maghemita ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) superparamagnéticas que se encuentran dispersas dentro de una matriz polimérica de forma esférica. El tamaño de estas microesferas suele variar grandemente en dependencia de la aplicación para la cual han sido diseñadas, yendo desde las dimensiones coloidales (látex magnético) hasta varios milímetros. Como matriz polimérica se han utilizado tanto polímeros naturales como sintéticos, para producir superficies con diferentes características, desde la superficie hidrófoba del poliestireno hasta superficies modificadas con

Correspondencia:

*Carlos Peniche Covas.

grupos funcionales como el carboxilo o amino.

Los látex magnéticos se pueden obtener por polimerización en emulsión en presencia de un fluido ferromagnético⁴ o por formación de las partículas de magnetita o maghemita *in situ*, dentro de las partículas de látex. En esta última variante, el método desarrollado por Ugelstad permite obtener una distribución de tamaños de las partículas de látex extremadamente uniforme, lo que las hace ideales para su aplicación en pruebas de aglutinación.⁵

Otras formas de recubrimiento utilizadas consisten en la adición, gota a gota, de una disolución del polímero que servirá de matriz a un medio precipitante donde están dispersas las partículas de magnetita, o por goteo de una disolución del polímero con la magnetita dispersa, sobre el medio precipitante. Estos dos últimos métodos se han utilizado con polímeros naturales solubles en agua, como la albúmina,⁶ la dextrana⁷ y el almidón,⁸ entre otros.

El presente trabajo tuvo como objetivo explorar una vía alternativa para atrapar las partículas de magnetita dentro de una matriz de un polímero hidrófobo: la encapsulación de magnetita en poliestireno utilizando una modificación del método de emulsión múltiple agua-en aceite-en agua (W/O)/W,⁹ donde la fase acuosa interna contiene el ferrofluido y la fase oleosa contiene el poliestireno disuelto en diclorometano.

PARTE EXPERIMENTAL

Se empleó magnetita superparamagnética (diámetro promedio 6,4 nm) estabilizada con ácido oleico (líquido magnético) obtenida en el laboratorio.¹⁰ El poliestireno utilizado se obtuvo a partir de látex comercial (MULTILATEX) producido en el Centro de Biomateriales. Se empleó diclorometano de la firma Riedel de Haën y NaOH (Merck). El alcohol polivinílico (PVA, PM = 14 000, grado de hidrólisis de 98,5 a 100 %) se utilizó como es suministrado (BDH).

Preparación de las microesferas magnéticas de poliestireno

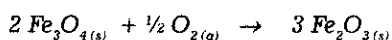
Las microesferas magnéticas de poliestireno se prepararon utilizando el método de evaporación-extracción del disolvente, a partir de una emulsión múltiple agua-en aceite-en agua (W/O)/W.

A una masa determinada de líquido magnético se le adicionan 3 mL de NaOH acuoso para formar

una dispersión coloidal estable de las nanopartículas de magnetita estabilizadas en agua a la que se le adiciona 0,1 g de trioleato de sorbitol (SPAN-85). A continuación, se le añade una disolución de 1 g de poliestireno en diclorometano, con agitación vigorosa (8 000 r/min, en Ultraturrax) durante 5 min, para dar lugar a la emulsión primaria de agua-en aceite (W/O). Esta emulsión se gotea lentamente sobre una disolución acuosa de PVA al 4 % con agitación a 300 r/min, para dar lugar así, a la emulsión múltiple agua-en aceite-en agua, (W/O)/W. El sistema se mantiene durante 24 h con agitación para eliminar el disolvente por evaporación. Las microesferas obtenidas se lavan varias veces con agua destilada y se secan en la estufa a 70 °C. Las microesferas sólidas fluyen libremente (Tabla 1).

Caracterización de las microesferas

El contenido de magnetita de las microesferas se determinó como sigue. Se depositó una cantidad determinada de muestra en un crisol previamente tarado y se colocó en una mufla a 900 °C durante 2 h. Se dejó enfriar y se pesó. Este ciclo se repitió hasta peso constante. El cálculo asume que el residuo es únicamente óxido férrico producto de la oxidación de la magnetita.⁴ Así, el contenido de magnetita en la muestra se determina a partir de la cantidad de óxido férrico obtenido según la reacción:



Para determinar la distribución de tamaños de las micropartículas de

poliestireno cada muestra se tamizó en seco, empleando para ello tamices de 0,63 y 0,5 mm de diámetro de poro. De esta forma, se obtienen tres fracciones: una mayor de 0,63 mm, una menor de 0,5 mm y otra con un intervalo de dimensiones mayores de 0,5 mm y menores de 0,63 mm.

Las mediciones magnéticas se hicieron empleando un magnetómetro vibracional VSM (OXFORD), Modelo 301 con un campo magnético máximo de 1,6 T y sensibilidad de 10⁻⁵ emu. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente, utilizando un paso de 2 OE para el barrido de campo en el origen de la curva inicial de magnetización.

Las imágenes de microscopía electrónica se obtuvieron mediante un equipo Hitachi H-7000. Para realizar las observaciones de transmisión se hicieron cortes finos, entre 50 y 60 nm de grosor, a las partículas incluidas en una resina. Estos cortes se colocaron en una rejilla de cobre y se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo. Las observaciones se realizaron utilizando un voltaje de aceleración de los electrones de 75 kV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de emulsión múltiple agua-en aceite-en agua (W/O)/W ha sido utilizado ampliamente para la encapsulación de fármacos solubles en agua.¹¹ En este trabajo, la magnetita a encapsular se encontraba estabilizada con ácido oleico. En medio básico, estas partículas se dispersan fácilmente en agua, formando una dispersión coloidal muy es-

Tabla 1. Condiciones experimentales empleadas en las experiencias de emulsión (W/O)/W.

Experiencia	Líquido magnético 19,2 % (g)	Diclorometano (mL)	Disolución de PVA 4 % (mL)
A	0,25	20	125
B	0,50	20	125
C	0,75	20	125
D	0,80	30	188
E	0,80	40	250

Tabla 2. Distribución de tamaños de las microesferas obtenida por tamizado.

Experiencia	> 0,63 mm	0,63 > D > 0,5 (mm) (%)	< 0,5 mm
A	5,11	5,47	89,42
B	35,37	21,51	43,12
C	25,25	24,21	50,54
D	4,64	3,58	91,78
E	14,58	4,55	85,99

table, por lo que a los efectos del método de encapsulación, puede ser tratada como la fase acuosa interna en el método de emulsión múltiple (W/O)/W.

Los tamaños de las partículas de polímero preparadas por el método (W/O)/W, así como la eficiencia de encapsulación dependen grandemente de las condiciones de obtención, tales como la relación de volúmenes entre las fases, las concentraciones de la sustancia a encapsular y del surfactante y la velocidad de agitación entre otras.⁹ En las experiencias realizadas la relación entre los volúmenes de las fases oleosa y acuosa externa fue siempre de 0,16.

La tabla 2 muestra la distribución de tamaños de las microsferas obtenidas en las distintas condiciones experimentales utilizadas, las cuales se han indicado anteriormente. En las experiencias de la A a la C, en que sólo varía la cantidad de magnetita en la fase acuosa interna, se aprecia que mientras menor es el contenido de magnetita de la fase acuosa interna menor es el tamaño de las partículas. El volumen del disolvente del polímero también tiene un efecto importante sobre el tamaño de las partículas, pues al aumentar el volumen de diclorometano, disminuye el tamaño de las microsferas.

Cabe señalar aquí que las microsferas obtenidas (Tabla 3) mostraron todas una respuesta adecuada al imán, lo que facilitó su purificación, la cual pudo efectuarse por decantación mediante un imán de laboratorio.

Se apreció (Tabla 3) que la eficiencia de encapsulación resulta baja, pero es superior en las experiencias con mayor contenido de magnetita en la fase acuosa interna (A→C). Sin embargo, al aumentar el volumen de disolvente del polímero (C→E) disminuye considerablemente la eficiencia de encapsulación. Esto último puede estar vinculado con la menor viscosidad de la disolución del polímero. Resultados similares se han obtenido por diferentes autores al realizar la encapsulación de fármacos solubles en agua por este método. Es decir, se ha reportado que al aumentar la relación fármaco/polímero aumenta la eficiencia de encapsulación, y que esta disminuye al aumentar la cantidad del disolvente volátil.⁹

En la imagen de microscopía electrónica de transmisión realizada a un corte transversal de una de las microsferas (Fig.1) se apreciaron como puntos negros las partículas de

Tabla 3. Rendimiento, Fe_3O_4 (%) y eficiencia de encapsulación de las experiencias realizadas.

Experiencia	Rendimiento	Contenido de Fe_3O_4 (%)	Eficiencia de encapsulación
A	81,0	0,8	17,0
B	82,3	4,9	51,1
C	81,6	6,4	44,5
D	83,0	2,9	18,8
E	82,5	2,0	13,1

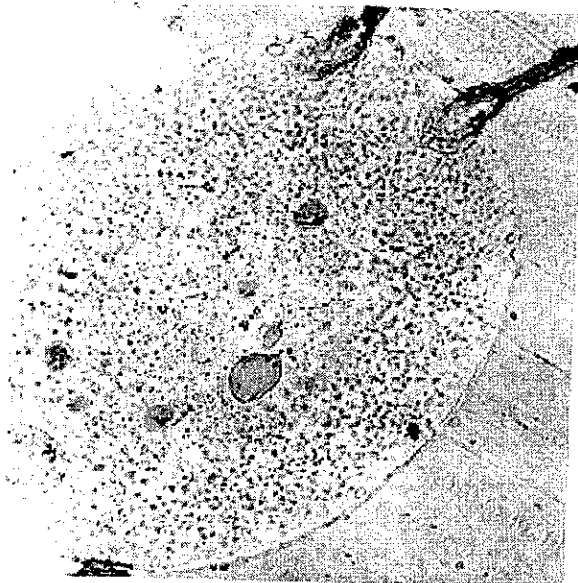


Fig. 1. Foto de microscopía electrónica de transmisión de un corte transversal de una micropartícula de poliestireno magnética.

magnetita ocluidas dentro de la matriz polimérica. Los tamaños de las partículas de magnetita de las microsferas fueron medidos por comparación con patrones esféricos de oro de 5 nm de diámetro. Estas mediciones indicaron que las partículas tienen un tamaño aproximado de 5 a 8 nm. En el caso de las microsferas poliméricas magnéticas, los lazos de histéresis obtenidos revelan una baja histéresis magnética, prácticamente igual que en el caso del líquido magnético de partida, lo que evidencia que el comportamiento de las partículas magnéticas en el interior de la matriz polimérica debe ser muy similar al que tenían en el líquido magnético (Fig. 2). El comportamiento fue similar para todas las muestras.

Cálculo de los tamaños de partículas de magnetita

El método de cálculo empleado para determinar los tamaños de partículas de magnetita se describe detalladamente en otro lugar.¹² En esencia se basa en considerar que el

comportamiento de las partículas de magnetita frente a un campo magnético externo se puede describir por la ecuación de Langevin¹³

$$M/M_s = L(\xi) = \coth(\xi) - 1/\xi \quad (1)$$

donde:

M magnetización para un valor de campo dado.

M_s magnetización de saturación.

$\xi = \mu H/kT$.

μ momento magnético de la partícula.

H campo externo.

k constante del Boltzmann.

T temperatura absoluta.

El momento magnético de la partícula se puede expresar como:

$$\mu = VM_0$$

donde:

V volumen de la partícula.

M_0 magnetización espontánea a la temperatura T de la sustancia ferro (o ferri) magnética que forma la partícula.

Como se puede apreciar, la dependencia M(H) es una función del volumen de las partículas. Como pri-

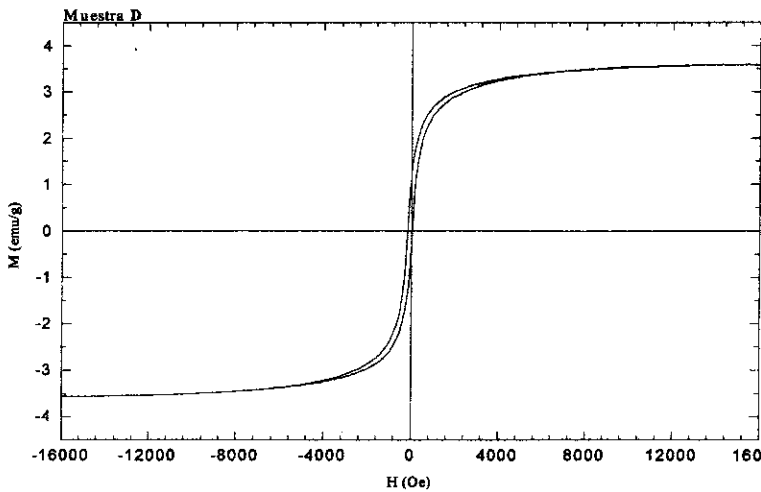


Fig. 2. Curva de magnetización donde se observa el lazo de histéresis para la muestra D.

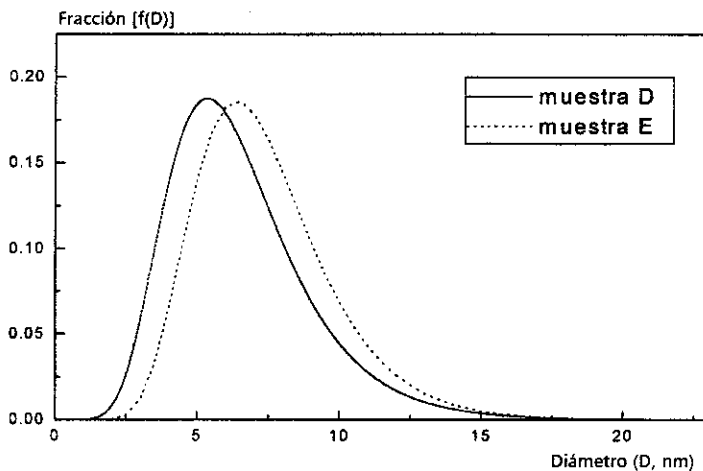


Fig. 3. Curva de distribución de tamaños de partículas por diámetros de las muestras D y E.

mera aproximación, se asume que el sistema está compuesto por partículas esféricas no interactuantes, con una función de distribución de diámetros determinada $f(D)$. Así, en un sistema compuesto por N_0 partículas, el número de ellas cuyos diámetros se encuentran entre D y $D + dD$ vendrá dado por

$$dN = N_0 f(D) dD$$

Si el sistema cumple un comportamiento Langeviano,

$$M = \int_0^\infty dM = \int_0^\infty dN \mu L\left(\frac{\mu H}{kT}\right) \quad (2)$$

donde:

$$\mu = VM_0 = (\pi D^3/6)M_0$$

Para campos pequeños (aproximadamente cerca del origen de la curva de magnetización inicial), $L(\xi) = \xi/3$. Entonces

$$M_{H \rightarrow 0} \approx \int_0^\infty N_0 f(D) dD (M_0 V) \left(\frac{M_0 V H}{3kT}\right) \quad (3)$$

$$M = \left[\frac{N_0 M_0^2}{3kT} \int_0^\infty f(d) V^2 dD \right] H \quad (4)$$

que muestra que independientemente del tipo de distribución existirá una dependencia lineal entre M y H cerca del origen y que sólo cambiará el valor de la pendiente al cambiar $f(D)$.

El valor de $\xi = M_0 V H / kT$ para partículas nanométricas de magnetita con $M_0 = 460 \text{ emu/cm}^3$, a temperatura ambiente y valores de $H > 8000 \text{ Oe}$ es superior a 3, con lo que se puede suponer como válida (cerca de la saturación para todos los valores del diámetro) la aproximación $L(\xi)_{\xi \gg 1} \approx 1 - 1/\xi$, por lo que se puede escribir:

$$dM = N_0 f(D) M_0 V (1 - kT/M_0 V H) dD \quad (5)$$

de donde se obtiene que:

$$M(H) = M_s - N_0 K T (1/H) \quad (6)$$

$$\text{con } M_s = N_0 M_0 \int_0^\infty f(D) V(D) dD \quad (7)$$

de donde resulta que una gráfica de $M(H) f(1/H)$ para pequeños valores de H da una línea recta de intercepto igual a M_s y pendiente igual a $N_0 kT$.

Se ha podido comprobar¹⁴ que una magnífica aproximación sería considerar que la distribución de diámetros de las partículas se puede expresar mediante una distribución logarítmica normal en la forma:

$$f(D) = \frac{1}{D \sigma \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{\ln^2(D/D_0)}{2\sigma^2}\right) \quad (8)$$

donde:

D_0 diámetro medio de las partículas.

σ desviación estándar de la distribución.

Introduciendo la ecuación 8 en 4 y 6 se puede calcular a partir de la pendiente en el origen y la tendencia a la saturación en la curva virgen de magnetización experimental los valores de D_0 y σ que caracterizan la distribución de tamaños de las partículas, así como el valor de N_0 .

La figura 3 muestra las distribuciones de tamaños de las partículas de magnetita según su diámetro, atrapadas dentro de las microesferas de las experiencias D y E de la tabla 1, obtenidas según se ha descrito. Los valores de D_0 y σ fueron calculados a partir de la curva inicial de magnetización entre 0 y 16 Oe en todos los casos, y para la tendencia de saturación a partir de los 6000 Oe (Tabla 4).

El hecho de que los parámetros de la distribución obtenidos difieran muy poco de los del líquido magnético de partida muestra que no se producen cambios sustanciales en la distribución de tamaños de las partículas de magnetita debido a su encapsulación, por lo que estas se encuentran dispersas dentro de la matriz polimérica, manteniendo así, su comportamiento superparamagnético.

CONCLUSIONES

Utilizando un método de emulsión múltiple (W/O)/W es posible obtener microesferas magnéticas de poliestireno sin que el recubrimiento polimérico afecte el comportamiento superparamagnético de la magnetita. El tamaño de las microesferas y la eficiencia de encapsulación dependen fuertemente de factores experimentales tales como el contenido de magnetita en la fase acuosa interna y la concentración de poliestireno en la fase oleosa, aunque en todos los casos, se obtiene una amplia distribución de tamaños.

Tabla 4. Parámetros de las distribuciones de tamaños de las partículas magnéticas.

Muestra	σ	D ₀ (nm)	N/m (partículas/g)
D	0,37	6,1	$4,32 \cdot 10^{16}$
E	0,32	7,0	$2,26 \cdot 10^{16}$
Líquido magnético	0,33	6,4	$16,8 \cdot 10^{16}$

BIBLIOGRAFIA

- Morris R.M., Poore G., Howard Jr. D.P., Senyei A.E., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **78**, 579, 1981.
- Rembaum A., Yen S.P.S., Molday R.S., *J. Macromol. Sci. Chem.*, **A13**, 5, 603, 1979.
- Ugelstad J. et al., Biomedical Applications of Monodisperse Polymer Particles, en Future Directions of Polymer Colloids, Series E: Applied Sciences No. 138, Nato ASI Series, Boston, 355-369, 1986.
- Yanase N., Noguchi H., Asakura H., Susuta T., *J. Appl. Polymer Sci.*, **50**, 765, 1993.
- Ugelstad J. et al., Makromol. Chem., Macromolecular Symp., **17**, 177, 1988.
- Widder K.J., Senyei A.E., *Pharmac. Ther.*, **20**, 377, 1983.
- Schroder U., *Meth. Enzymol.*, **112**, 1116, 1985.
- Russell G.E.L., *Pharm. Int.*, **4**, 260, 1983.
- Wu. X.S., Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, Part A: Materials, Vol. 2, Chapter 33, Marcel Dekker, Inc., New York, 1151-1200, 1998.
- Veiga V., De la Campa A., Peniche C., Alonso A., Davidenko N., *Rev. Cubana de Química*, **9**, 77, 1997.
- Ogawa Y., Yamamoto M., Takada S., Shimamoto T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1502, 1988.
- Suárez H., Tesis en opción al título de Maestra en Ciencias, Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, 1998.
- Berkovskii B.M., Medvediev V.F., Krakov M.S., Líquidos Magnéticos, Ed. Jimiia, Moscú, 222, 1989.
- Chantrel R.W., Poplewell J., Charles S.W., *IEEE Trans. Magn. MAG-14*, 975, 1978.

ACTIVIDADES CIENTIFICAS

MINISTERIO DE EDUCACION SUPERIOR DE CUBA

III CONFERENCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA RENOVABLE

"CIER 2001"

Del 11 al 14 de septiembre del 2001.
Instituto Superior Politécnico "José Antonio Echeverría".

TEMATICAS:

Tecnología Fotovoltaica: Tecnología de las celdas fotovoltaicas; Instalaciones fotovoltaicas para áreas rurales y edificaciones; Mercados, comercialización y financiamiento.

Aplicaciones de la Energía Solar Térmica: Tecnología de los colectores; Calentamiento de agua y secado solar; Aplicaciones híbridas y térmicas.

Generación de Energía Eólica: Evaluación del potencial eólico. Impacto ambiental; Diseño y construcción de sistemas eólicos; Generación de electricidad con energía eólica; Bombeo de agua con energía eólica.

Conversión de Biomasa: Generación de calor y electricidad; Plantaciones energéticas; Combustibles líquidos y emulsiones; Impacto ambiental y aspectos económicos.

Arquitectura Bioclimática: Confort y ambiente interior e iluminación; Simulación ambiental y edificaciones; Uso racional de la energía en edificaciones; Turismo ecológico.

Refrigeración no Contaminante.

Educación Energética: Programa para la educación y el entrenamiento de los distintos niveles educacionales; Educación a distancia y otras formas de educación; Proyectos educativos internacionales.

Tensoactivos y Emulsiones: Producción y aplicación de tensoactivos a partir de productos naturales; Emulsiones ecológicas y combustibles emulsionados.

CUOTA DE INSCRIPCIÓN: 250,00 USD. Se pagará en el momento de la acreditación en el evento.

COMITE ORGANIZADOR: Dr. Omar Herrera Martínez.

TELEFONO: (53) (7) 205060. FAX: (53) (7) 272964. E-MAIL: uted@meccanica.ispjae.edu.cu